

Lékařská biologie a genetika (III. díl)

Aleš Panczak a kolektiv
Berta Otová (ed.)



UČEBNÍ TEXTY UNIVERZITY KARLOVY V PRAZE

Lékařská biologie a genetika (III. díl)

**MUDr. Aleš Panczak, CSc. a kolektiv
doc. RNDr. Berta Otová, CSc. (ed.)**

Recenzovali:

prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc.

RNDr. Eduard Kočárek, Ph.D.

Autorský kolektiv:

doc. MUDr. Milada Kohoutová, CSc.

MUDr. Jaroslav Kotlas

doc. RNDr. Berta Otová, CSc. (ed.)

MUDr. Aleš Panczak, CSc.

RNDr. Lucie Schwarzová, Ph.D.

MUDr. Antonín Šípek

Vydala Univerzita Karlova v Praze, Nakladatelství Karolinum

jako učební text pro 1. lékařskou fakultu UK

Sazba DTP Nakladatelství Karolinum

Vydání první

© Univerzita Karlova v Praze, 2013

© Aleš Panczak a kolektiv, Berta Otová (ed.), 2013

Text neprošel jazykovou ani redakční úpravou nakladatelství

ISBN 978-80-246-2415-0

ISBN 978-80-246-2423-5 (online : pdf)



Univerzita Karlova v Praze
Nakladatelství Karolinum 2014

<http://www.cupress.cuni.cz>

Obsah

Předmluva	7
12. Imunogenetika (A. Panczak, B. Otová, M. Kohoutová)	9
12.1 Úvod – Základní pojmy a definice	9
12.2 Genetika antigenů	10
12.2.1 Charakteristika antigenů	10
12.2.2 Rozdělení antigenů	11
12.2.3 Krevně skupinové antigenní systémy	11
12.2.3.1 AB0	11
12.2.3.1.1- Genetická determinace AB0	12
12.2.3.1.2- Bombajský fenotyp	13
12.2.3.1.3- Sekretorství antigenů AB0 a krevní skupina Lewis	14
12.2.3.1.4- Význam AB0	14
12.2.3.2 Rh systém	15
12.2.3.2.1- Genetická determinace Rh systému	16
12.2.3.2.2- Inkompatibilita matky a plodu v Rh systému	17
12.2.3.3 Krátce o dalších krevně skupinových systémech člověka	18
12.2.3.3.1- MNS	18
12.2.3.3.2- Diego, Duffy a další	19
12.2.4 Histokompatibilní antigenní systémy	20
12.2.4.1 Hlavní histokompatibilní komplex	21
12.2.4.1.1 Hlavní histokompatibilní komplex člověka	22
12.2.4.1.1.1 Molekuly I. třídy HLA	24
12.2.4.1.1.2 Molekuly II. třídy HLA	25
12.2.4.1.1.3 Oblast III. třídy v HLA	25
12.2.4.1.1.4 Polymorfismus molekul HHK	26
12.2.4.1.1.5 Funkce molekul HHK	26
12.2.4.2 Slabé (minor) histokompatibilní systémy	27
12.3 Buňky imunitního systému	29
12.3.1 Fagocyty	29
12.3.2 Lymfocyty	30
12.3.2.1 Lymfocyty B	31
12.3.2.2 Lymfocyty T	31
12.3.2.3 Buňky NK – přirození zabíječi	32
12.3.2.4 Aktivace lymfocytů	33
12.3.2.4.1- Vazba specifických antigenů – teorie klonální selekce	34
12.3.2.4.2- Vazba nespecifických antigenů	34
12.3.2.5 Metodologie klasifikace buněčných subpopulací pomocí protilátek – imunofenotypizace	35
12.3.2.5.1- Morfologie buněk krvetvorby a imunitního systému	35
12.3.2.5.2- Imunofenotypizace	35

12.3.2.5.3	Monoklonální protilátky v diagnostice	35
12.3.2.5.4	Vícebarevná imunofluorescence	36
12.3.2.5.5	Průtoková cytometrie	36
12.3.2.5.6	Třídíče buněk	38
12.4	Receptorové molekuly pro vazbu antigenu	39
12.4.1	Imunoglobuliny	39
12.4.1.1	Struktura protilátek	40
12.4.1.2	Funkce protilátek	41
12.4.2	Receptor T buněk	42
12.4.2.1	Struktura TCR _{αβ}	42
12.4.3	Genetika Ig, B a T receptorů	42
12.4.3.1	Genetika Ig a receptoru B buněk	43
12.4.3.1.1	IgK komplex (chr. 2p11.2)	43
12.4.3.1.2	IgL komplex (chr. 22q11.2)	44
12.4.3.1.3	IgH komplex (chr. 14q32.33)	44
12.4.3.1.4	Alelická exkluze	44
12.4.3.1.5	Variabilita Ig	45
12.4.3.2	Genetika receptoru T buněk	46
12.4.3.2.1	Somatická rekombinace	46
12.4.3.3	Imunoglobulinová superrodina	48
12.5	Imunitní odpověď	48
12.5.1	Rozpoznání antigenu	48
12.5.1.1	Rozpoznání antigenu imunoglobulinem	49
12.5.1.2	Rozpoznání antigenu receptorem na T buňkách	50
12.5.1.3	Zpracování a prezentace antigenu	51
12.5.2	Efektorové imunitní mechanismy – kooperace buněk	51
12.5.2.1	Kooperace buněk v protilátkové odpovědi	51
12.5.2.2	Kooperace buněk v buněčně zprostředkované odpovědi	53
12.5.2.3	Centrální role lymfocytů Th	54
12.6	Imunologická tolerance	54
12.6.1	Tolerance vlastních složek organismu	55
12.6.2	Tolerance indukovaná k cizím antigenům	56
12.7	Genetika transplantací	57
12.7.1	Transplantační zákony	57
12.7.2	Odhojení, odvržení (rejekce) štěpu	61
12.7.3	Reakce štěpu proti hostiteli	62
12.7.4	Typizace antigenů HLA	63
12.7.4.1	Sérologická typizace	63
12.7.4.2	Reakce ve smíšených lymfocytárních kulturách (MLR – mixed lymphocyte reaction)	63
12.7.4.3	Typizace pomocí molekulárních technik	64
12.7.5	Imunosuprese	64
12.8	Genetika imunopatologií	65
12.8.1	Imunodeficiencie	65
12.8.1.1	Primární imunodeficiencie	66
12.8.1.1.1	Deficiencie B buněk, protilátkové deficity	66
12.8.1.1.2	Deficiencie T buněk	68
12.8.1.1.3	Imunodeficiencie způsobené poruchami fagocytózy	69
12.8.1.1.4	Imunodeficiencie způsobené poruchami komplementu	69
12.8.1.1.5	Imunodeficiencie způsobené poruchami dalších mechanismů	71
12.8.1.2	Získané imunodeficiencie	72
12.8.2	Autoimunita	73
12.8.2.1	HHK a výskyt autoimunitních onemocnění	74
12.8.2.2	Hormonální faktory a výskyt autoimunitních onemocnění	75
12.8.3	Alergie, hypersensitivita	75
13.	Populační genetika (A. Panczak, A. Šípek ml.)	78
13.1.	Zákonitost Hardy-Weinbergova (H-W)	78
13.1.1	Populační polymorfismus	81
13.1.2	Odhad genových frekvencí	82
13.1.3	Geny X vázané a geny s mnohotnou alelií	82

13.2	Selekce	83
13.2.1	Selekce proti (recesivním) homozygotům	84
13.2.2	Selekce proti dominantnímu (AD) fenotypu	86
13.2.3	Selekce proti oběma typům homozygotů	87
13.2.4	Selekce proti heterozygotům	89
13.3	Mutace	89
13.3.1	Spontánní mutace	90
13.3.2	Indukované mutace	92
13.3.3	Mutačně-selekční rovnováha	95
13.4	Inbred	96
13.4.1	Inbred a jeho míry	96
13.4.2	Příbuzenské sňatky	99
13.4.3	Inbred v populaci	99
13.4.3.1	Genetická zátěž populace	99
13.5	Struktura populací	100
13.5.1	Genový drift	100
13.5.2	Efektivní velikost populace	104
13.5.3	Asortativní párování	105
13.6	Migrace	106
13.7	Klinický případ	109
13.7.1	Úvod	109
13.7.2	Řešení klinického případu s využitím populační genetiky	109
13.7.3	Řešení klinického případu s využitím molekulární genetiky	110
13.8	Příloha	110
13.8.1	H-W rovnováha pro dva geny	110
13.8.2	Podíl příbuzenských sňatků v populaci	111
13.8.3	Extrémně malé populace ($N = 2$)	112
13.8.4	Wahlundův rozptyl	115
13.8.5	Genový drift v lidských populacích	116
14.	Evoluční biologie (L. Schwarzová)	118
14.1	Co je evoluce?	118
14.1.2	Vývoj evolučního myšlení	118
14.2	Vznik života na Zemi	120
14.2.1	Počátky života	120
14.2.2	Vznik mnohobuněčných organismů	121
14.2.3	Evoluce genetického kódu	121
14.3	Evoluční mechanismy	122
14.3.1	Přírodní výběr	122
14.3.2	Pohlavní výběr	122
14.3.3	Mutace	123
14.3.4	Genetický drift	123
14.3.5	Migrace	124
14.4	Druh a speciace	124
14.4.1	Geografické modely speciace	125
14.4.2	Negeografické modely speciace	125
14.5	Evoluce genů	126
14.5.1	Vznik genů	126
14.5.2	Molekulární hodiny	127
14.6	Evoluce Y chromosomu	127
14.6.1	Formy určení pohlaví	127
14.6.2	Vznik Y chromosomu	128
14.6.3	Vývoj Y chromosomu	128
14.7	Evoluce člověka	129
14.7.1	Fylogeneze primátů	129
14.7.2	Od lidoopů k člověku	129
14.7.2.1	Chromosomální evidence	129
14.7.2.2	Molekulární evidence	130
14.7.3	Vznik moderního člověka	131
14.7.3.1	Nejstarší předkové	131

14.7.3.2 Australopitékové	131
14.7.3.3 Vývoj rodu Homo	131
14.7.3.3.1 Modely vzniku moderního člověka	132
15. Lékařská genetika (J. Kotlas)	134
15.1 Historie	134
15.2 Lékařská genetika v ČR	135
15.3 Genetická konzultace	135
15.3.1 Diagnóza	135
15.3.2 Stanovení rizika	136
15.3.3 Prognóza, návrh preventivních opatření a právo klienta být (nebýt) informován	136
15.4 Cíle a úkoly lékařské genetiky	137
15.4.1 Prekoncepční (primární) péče	137
15.4.2 Prenatální (sekundární) péče	138
15.4.3 Postnatální (terciární) péče	140
15.5 Etické a právní aspekty lékařské genetiky	143
15.5.1 Lékařské tajemství	143
15.5.2 Informovaný souhlas	144
15.5.3 Umělé ukončení těhotenství	144
15.6 Užitečné odkazy	145

Předmluva

Vážené studentky, vážení studenti,

dostává se vám do rukou poslední, třetí díl učebního textu Lékařská biologie a genetika. V prvním dílu našich skript (Karolinum 2008) jsou uvedeny základní poznatky z formální genetiky, o regulaci buněčného cyklu a přenosu signálu, o buněčném dělení, a z cytogenetiky. Druhý díl (Karolinum 2012) zahrnuje základy molekulární genetiky a onkogenetiky a vybrané poznatky genetiky vývoje (včetně vzniku vrozených vad, vlivu teratogenů a interakci genů s prostředím). Tento, třetí díl Lékařské biologie a genetiky obsahuje kapitoly Imunogenetika, Populační genetika, Evoluční biologie a Lékařská genetika.

Biologické školy současnosti i základní učebnice genetiky (obecné či ty více zaměřené na výuku na lékařských fakultách) se dělí podle toho, zda přinášejí výklad imunogenetiky či nikoli. Jakkoli na většině fakult v ČR výuka biologie a genetiky předchází výklad základů imunologie (a později i klinické imunologie), zařazujeme tradičně imunogenetiku do výukových plánů předmětu B00360 Biologie a genetika 2. V případě ÚBLG 1. LF UK to není jen proto, že imunogenetický výzkum zde měl dlouhá léta silnou pozici (a též vynikající výsledky), ale protože jsme přesvědčeni, že „klasická“ imunogenetika v kombinaci s nejnovějšími poznatky molekulární imunologie či obecněji molekulární biologie, přináší velmi zásadní poznatky a nové pohledy na fungování lidského genomu. Naším cílem bylo ukázat, že imunogenetika už dávno není jen o krevních skupinách, hemolytické nemoci novorozenců a transplantačních pravidlech.

Populační genetika je dnes, po více než 100 letech od položení základů svébytným oborem s multidisciplinárním přístupem (obecná genetika, molekulární genetika, epidemiologie, matematika a statistika, ale též ekologie, etologie a sociologie). Předkládaný text považujeme za (minimalistický) kompromis, který poslouží jako zdroj základních informací a zároveň nezachází do větších detailů, které by vyžadovaly rozsáhlejší matematický aparát.

Na výklad o „statické“ populační genetice navazuje poutavé čtení o jejích dynamických souvislostech – evoluční genetice. S potřebným nadhledem ukazuje úlohu a význam (populačně) genetických jevů v evoluci, biologickou a vývojovou determinaci našeho druhu.

Kapitola lékařská genetika je zpracována ve formě, která odpovídá požadavkům sylabu na znalosti studentů v teoretické části studia. Sdělení podstatně většího množství informací z tohoto proudu se rozvíjejícího oboru bude součástí stáží z klinické genetiky ve čtvrtém ročníku.

Stále narůstající množství poznatků v oblasti genetiky nelze předkládat v plné šíři. Proto jsme se ve třetím díle skript soustředili zejména na poznatky významné z hlediska studia medicíny a budoucí klinické praxe. Jsou zde uvedeny též informace (tištěny petitem), které rozšiřují základní text. Tyto informace jsou začleněny zejména pro ty studenty, které daná oblast zaujme.

Studium lékařské biologie a genetiky vyžaduje porozumění obecným principům, pochopení genetických zákonitostí a schopnost je aplikovat a propojovat. Proto se při studiu třetího dílu skript patrně budete muset vracet i k dílu prvnímu a druhému. Pro studium samotné i jeho úspěšné zakončení zkouš-

kou je důležitá vaše aktivní účast na přednáškách, ve kterých jednotliví přednášející přináší nejnovější poznatky a souvislosti v tomto dynamicky se rozvíjícím oboru. Stejně tak si myslíme, že k porozumění oboru přispívá vaše předběžná domácí příprava před praktickým cvičením a aktivita v jeho průběhu.

*Autoři děkují prof. MUDr. Radimu Brdičkovi, DrSc. a odb. as. RNDr. Eduardu Kočárkovi, Ph.D. za vysoce kvalifikovanou recenzi učebního textu. Poděkování patří také všem našim kolegům, kteří opo-
novali text a obrazový doprovod již v průběhu jeho vzniku, zejména doc. MUDr. Františkovi Liškovi,
Ph.D.; jemu též za pomoc s obrazovou dokumentací v kapitole Imunogenetika a Populační genetika.
Hlavní redaktorce celého cyklu skript paní doc. RNDr. Bertě Otové, CSc. autoři děkují za podporu,
shovívavost a výdrž.*

*Vážené studentky, vážení studenti! Přejeme vám hodně úspěchů při studiu předmětu a úspěšné zvlád-
nutí zkoušky z biologie a genetiky. Přejeme vám též, abyste nabyté poznatky dlouho podrželi v paměti
a využili je při studiu dalších preklinických a klinických předmětů a ve vaší budoucí praxi.*

Autoři

Doporučená literatura a internetové zdroje informací:

Šeda O., Liška F., Šedová L.: Aktuální genetika (<http://biol.lf1.cuni.cz/ucebnice/>)

Šeda O., Šedová L.: Genomika v medicíně ([http://biol.lf1.cuni.cz/extensions/Genomika_v_Medicine/
index.html](http://biol.lf1.cuni.cz/extensions/Genomika_v_Medicine/index.html))

Strachan T., Read AP.: Human Molecular Genetics 3, 2004

Online Mendelian Inheritance in Man (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>)

12. Imunogenetika

Aleš Panczak, Berta Otová, Milada Kohoutová

12.1 Úvod – Základní pojmy a definice

Imunitní systém se vedle systému nervového a endokrinního podílí na udržení stálého vnitřního prostředí – homeostázy organismu. Prvořadou vlastností imunitního systému je schopnost rozlišit cizorodý materiál zevního prostředí (např. patogen a jeho některé toxické produkty), ale i vlastní poškozené nebo staré buňky od běžných složek organismu, proti kterým za fyziologických podmínek nereaguje.

Zmiňujeme-li **makroorganismus**, je třeba uvést, že do současného značně složitého stavu se mechanismy imunitních reakcí vyvinuly během evoluce jako obranná odpověď na napadení infekčními **mikroorganismy** (viry, bakterie atd.), které jsou přítomné v okolním prostředí a které mohou způsobit poškození až smrt svého hostitele. Avšak na každém stupni evolučního vývoje je systém imunologické obranyschopnosti nejdokonalejší možný, protože by jinak příslušný druh nemohl v neustálém souboji s agresivními patogeny přežít.

Imunitní odpověď na cizorodý materiál má dvě základní složky – začíná rozpoznáním cizích struktur a pokračuje rozvojem imunitní reakce, která má za cíl jejich zneškodnění. Různé **typy imunitních odpovědí** lze zařadit do dvou kategorií:

- 1) **vrozené** (nespecifické; evolučně starší), které fungují jako první obranná linie proti infekci. Je to úkol především pro **fagocytující buňky** (monocyty, makrofágy, polymorfonukleární neutrofilny). Buňky této skupiny jsou schopné invazivní mikroorganismy vázat na svých površích, pohltit je (tzv. fagocytóza) a posléze zneškodnit. Neméně důležité jsou **přirozeně cytotoxické buňky NK** (angl. *natural killers*), které používají primitivní, nespecifické rozpoznávací systémy. Na nespecifické imunitě se podílí i **humorální složka**; patří do ní složky komplementu, interferony a další proteiny. Nespecifické složky imunity reagují rychle, ale nemají imunologickou paměť (viz dále).
- 2) **adaptivní** (specifické), které navazují na časné nespecifické imunitní reakce (činnost fagocytů apod.). Na rozdíl od vrozených odpovědí je adaptivní imunitní odpověď vysoce specifická. Uplatňují se při ní **lymfocyty**, které prostřednictvím svých specializovaných struktur – **antigeně specifických receptorů** rozpoznávají např. jednotlivé antigenní determinanty mikroorganismů (v hostitelských buňkách i mimo ně) nebo změny struktury a funkce vlastních buněk (starých, mutacemi změněných atp.). Humorální složku specifické imunity tvoří zejména **protilátky**, které kromě uvedené funkce rozpoznávací plní i další úkoly při obraně organismu. Při specifické imunitní reakci se ustavuje **imunologická paměť** – imunitní odpověď se zdokonaluje a zrychluje po opakovaném setkání s tímž antigenem.

Rozlišujeme dvě velké skupiny lymfocytů (podrobně dále – Buňky imunitního systému):

- a) **lymfocyty B**, které vytvářejí protilátky a uplatňují se zejména v obraně proti extracelulárním patogenům nebo jejich produktům,
- b) **lymfocyty T**, které v závislosti na jejich rozdílných aktivitách lze dále rozdělit do několika subpopulací. Některé T buňky zajišťují buněčně zprostředkovanou imunitu, jiné kontrolují vývoj B buněk a tím i produkci protilátek, další spolupracují s fagocyty atp.

Antigen byl původně definován jako jakákoliv substance nebo velká molekula, která je po vstupu do organismu schopná vyvolat tvorbu protilátek (*antibody generator*). V současnosti se tato definice rozšiřuje: antigen je jakákoliv substance nebo molekula, která může být specificky rozpoznána buňkami imunitního systému. Důsledkem je aktivace buněk imunitního systému s následnou řadou buněčných i látkových interakcí, které vyústí v **imunitní odpověď** – buněčnou nebo humorální.

Funkcí imunitního systému je zneškodnění cizorodého materiálu, který by mohl poškodit organismus. V určitých situacích však tento systém může být sám příčinou poškození organismu. Těmito situacemi jsou:

- 1) chybné rozpoznání vlastních (autologních) antigenů, v důsledku toho se rozvíjí **autoimunitní reakce, autoimunitní onemocnění**;
- 2) defekt (často geneticky podmíněný) některé ze složek imunitního systému, vzniká tak **imunodeficiencie** (imunodeficit);
- 3) dojde k imunitní odpovědi, která způsobí větší poškození než patogen nebo cizí látka, hovoříme o **hypersensitivitě** (alergii).
- 4) imunitní systém funguje normálně, ale **imunitní odpověď je nevýhodná** z pohledu potřeb jedince a současné medicíny – např. jako překážka krevní transfúze nebo při transplantacích orgánů.

12.2 Genetika antigenů

12.2.1 Charakteristika antigenů

Antigeny jsou **organické makromolekuly**. Jako antigeny nejlépe fungují proteiny, které vyvolávají imunologickou odpověď T lymfocytů. Ostatní antigeny aktivují především B lymfocyty. Polysacharidy jsou slabšími antigeny, zatímco čisté lipidy a nukleové kyseliny imunitní odpověď zpravidla nevyvolávají.

Velikost molekuly antigenu má značný význam pro odezvu imunitního systému. Existují nízkomolekulární substance – **hapteny**, které mohou vázat protilátky, ale imunitní odpověď indukují pouze tehdy, jsou-li vázány na nějakou velkou molekulu jako **nosič**. Hapteny mohou být zcela syntetické. Mohou to být krátké peptidy nebo větvené oligosacharidy podobné mikrobiálním nebo krevněskupinovým antigenům (viz dále 12.2.3.1 ABO).

Vazby antigenu s membránovými receptory lymfocytů nebo s volnými protilátkami se nezúčastní celá molekula antigenu, ale pouze její určitá místa – tzv. **antigenní determinanty** – **epitopy**. Receptory a protilátky jsou tedy specifické pro epitopy. Takto na každé antigenní molekule může být rozpoznáváno několik epitopů. Proto imunizace jedním antigenem (molekulou) vede k aktivaci lymfocytů s různými specifickými receptory a k produkci směsi protilátek (viz dále Teorie klonální selekce).

Cizorodé látky z vnějšího prostředí (exoantigeny, např. mikroorganismy či jejich součásti nebo produkty) procházejí po vstupu do organismu řadou změn. Imunitní odpověď vyvolávají zejména tehdy, jestliže vniknou do organismu parenterální cestou (mimo trávicí trakt), např. při poranění kůže nebo dýchacími cestami. Při perorálním podání mohou být molekuly s potenciální antigenní aktivitou v gastrointestinální soustavě enzymaticky rozštěpeny dřív, než se dostanou do krve (existuje však řada bakterií a dalších mikroorganismů, které mohou proniknout gastrointestinálním systémem až do střev, aniž by byly při průchodu trávicí trubici zlikvidovány enzymy). Důležitá je rovněž dávka antigenu. Příliš nízká

dávka nestačí aktivovat lymfocyty, zatímco příliš velké množství antigenu může způsobit neodpovídavost organismu.

12.2.2 Rozdělení antigenů

Každý organismus má svou individuální, jedinečnou antigenní výbavu, která je součástí jeho integrity a kterou se zároveň liší od jiných organismů. Antigeny lze posuzovat a třídit podle různých hledisek, např. na základě genetické rozdílnosti.

Exoantigeny jsou cizorodé látky vnějšího prostředí. Většinou jsou to **mikroorganismy** a jejich produkty. Mezi exoantigeny patří **alergeny** (nejrůznějšího původu), které jsou schopny vyvolat patologickou imunitní reakci u predisponovaných jedinců.

Autoantigeny jsou antigeny vlastní organismu; imunitní odpověď vyvolávají u daného jedince pouze v abnormálních patologických situacích.

Aloantigeny navzájem rozlišují jedince téhož druhu (více viz Genetika transplantací – transplantační zákony).

Xenoantigeny rozlišují příslušníky různých druhů.

12.2.3 Krevně skupinové antigenní systémy

Krevní skupina každého jedince závisí na přítomnosti specifických antigenů. Stanovuje se na povrchu erytrocytů a je určována reakcí erytrocytů se známými (testovacími) antiséry. Dnes se namísto antisér ponejvíce používají reagentie s monoklonálními protilátkami (viz dále).

U člověka je známo více než 20 krevně skupinových systémů. Mezi nejvýznamnější patří AB0, Rh a MN, Ss systém.

Znalosti o dědičnosti krevních skupin se dříve mimo jiné využívalo ve sporech o otcovství. V současnosti jsou v paternitních sporech serologické hematologické metody (v kombinaci s metodami antropologickými) plně nahrazeny molekulárně genetickými postupy.

12.2.3.1 AB0

Podle přítomnosti antigenů A a B na plazmatické membráně erytrocytů lze rozlišit 4 základní **krevní skupiny A, B, AB a 0**. Antigeny systému AB0 se vyskytují nejen na erytrocytech a erytroidních tkáních, **ale jsou přítomny i** na většině epiteliálních a endoteliálních buněk. Exprese se mění během vývoje, diferenciaci a zrání. Změny v expresi bývají **často pozorovány v lidských premaligních a maligních buňkách**.

Pro fenotyp (příslušnost k určité krevní skupině) systému AB0 je **charakteristická přítomnost protilátek typu IgM a IgG v séru**. Tyto přirozené protilátky jsou v séru přítomné trvale, aniž došlo k předchozí imunizaci erytrocyty s odlišnou antigenní výbavou. Pravděpodobně vznikají jako následek imunizace (již od časného postnatálního období) mikroorganismy, které jsou vybaveny antigenními determinanty velmi podobnými antigenům A a B.

Antigeny AB0 systému jsou tvořeny oligosacharidy, které vyčnívají z povrchu buněčné membrány a jsou napojeny na polylaktosaminové řetězce přichycené ponejvíce k transportním proteinům (např. band 3 proteinu; zodpovědnému za zprostředkování výměny chloridových a bikarbonátových iontů napříč buněčnou membránou), zčásti pak k lipidovým molekulám (neutrálním glykosfingolipidům, ceramidům) uloženým v plazmatické membráně. Molekuly A a B jsou skoro identické, liší se v cukerném zbytku na větveném konci řetězce. U antigenu A je posledním připojeným N-acetyl-galaktosamin, u antigenu B je to galaktosa. Konce řetězců tak podle připojeného cukerného zbytku představují různé epitopy a jsou příčinou toho, že jsou obě molekuly rozpoznávány jako různé antigeny.

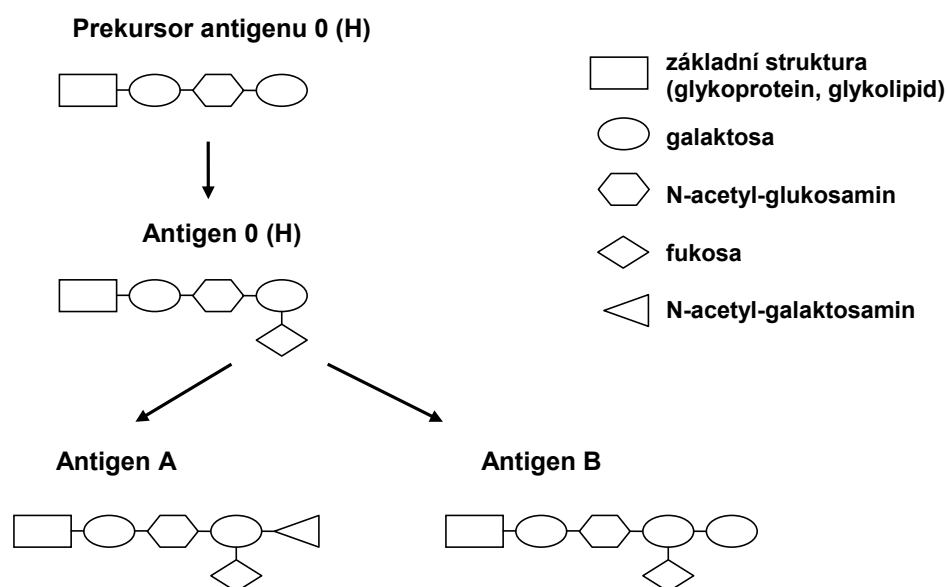
12.2.3.1.1 Genetická determinace AB0

Pro expresi antigenů systému AB0 je nutná souhra několika genů, které mají své lokusy na různých chromosomech. Především jsou to dva na sobě nezávislé lokusy, **lokus AB0** (chromosom 9) a **H lokus** (chromosom 19). Primárními produkty obou genů jsou enzymy – glykosyltransferasy. Protože v případě lokusu *H* je to fukosyltransferasa, dostal postupně synonymní označení *FUT1* (současná nomenklatura viz Tab. 12.2.1).

Tab. 12.2.1 Geny účastníci se produkce antigenů AB0 (*FUT1* dříve jako *H* lokus, *FUT2* určuje tzv. sekretorství antigenů a *FUT3* určuje krevní skupinu Lewis – více dále v textu)

Lokus	Chr.	Alela	Glykosyltransferasa
<i>FUT1</i>	19q13.3	<i>H</i>	α -2-L-fukosyltransferasa
		<i>h</i>	Žádná
<i>FUT2</i>	19q13.3	<i>Se</i>	α -2-L-fukosyltransferasa
		<i>se</i>	Žádná
<i>FUT3</i>	19q13.3	<i>Le</i>	α -3/4-L-fukosyltransferasa
		<i>le</i>	Žádná
<i>AB0</i>	9q34	<i>A1</i>	α -3-N-acetyl-D-galaktosaminyltransferasa
		<i>A2</i>	α -3-N-acetyl-D-galaktosaminyltransferasa
		<i>B</i>	α -3-D-galaktosyltransferasa
		<i>0</i>	Žádná

V lokusu *H* (*FUT1*) se vyskytují **alely *H*, *h***. Dominantní alela *H* kóduje enzym fukosyltransferasu, který přenáší cukr fukosu na konec prekursorového oligosacharidového řetězce tvořeného 4 cukernými zbytky. Fukosa tak kompletuje kmenový pěticukerný řetězec, tzv. substanci či antigen H nebo též 0. Tento antigen může být dále přeměňován enzymy produkovanými alelami lokusu AB0; **antigen 0 (H)** je tedy **prekursor antigenů A a B** (Obr. 12.2.1).



Obr. 12.2.1 Postupná syntéza antigenů systému AB0 (Schéma genové kontroly antigenů AB0 a struktury antigenů A, B, 0)

Lokus AB0 lze zjednodušeně definovat jako **trialelní** systém s alelami **A, B, 0**. Alely **A** a **B** jsou vůči sobě kodominantní a obě jsou dominantní vůči alele **0**. Alela **A** kóduje enzym transferasu A (chemicky správně $\alpha 1 \rightarrow 3$ -N-acetyl-D-galaktosaminyltransferasu), která připojuje k 0 (H) substanci N-acetyl-galaktosamin a vytváří tak větvený hexasacharid – antigen A. Produktem alely **B** je enzym transferasa B ($\alpha 1 \rightarrow 3$ galaktosyltransferasa), která připojuje k prekurzoru 0 (H) koncovou galaktózu a vytváří tak antigen B. Produktem alely **0** genu AB0 je inaktivní krátký protein, který není schopen přenášet žádný cukerný zbytek. Proto mají jedinci krevní skupiny 0 na membránách buněk pouze pentasacharidovou 0 (H) substanci. Fenotyp (krevní skupina) A je pak určován přítomností antigenu A, krevní skupina B přítomností antigenu B a krevní skupina AB pak přítomností obou typů hexasacharidů současně na těže buněčné membráně.

Molekulárně genetické studie prokázaly, že alely **A** a **B** se liší v několika málo nukleotidových substitucích, které znamenají záměnu 4 aminokyselin (AMK) v enzymatickém řetězci. To způsobuje různou specifitu A a B transferas. Sekvence počátečních 260 nukleotidů alely **0** je identická s alelou **A**, ale v pozici 261 byla prokázána delece jednoho nukleotidu (guanin), která má za následek posun čtecího rámce (*frameshift*) genetického kódu. Výsledkem je zkrácený protein bez glykosyltransferasové funkce (Tab. 12.2.2).

Při určování krevní skupiny s použitím konvenčních (polyklonálních) testovacích antisér byla zaznamenána u různých osob různě silná serologická (hemaglutinační) reakce. Skupiny A a B tak byly rozděleny do 11 podskupin. Rozdíly mezi nimi jsou kvantitativní, tzn., že podskupiny se liší množstvím antigenu/ů na povrchu erytrocytu. Nejčastější jsou podskupiny A1 a A2, ostatní podskupiny jsou většinou vzácné. Po zavedení monoklonálních typizačních reagensů anti-A nejsou odstupňované reakce, popisované s polyklonálními typizačními séry, již pozorovány. Monoklonální protilátka reaguje dobře nebo vůbec ne v závislosti na specifitě A epitopu.

Tab. 12.2.2 Sekvenční odlišnosti mezi jednotlivými alelami AB0 systému

alela	Nukleotidová a aminokyselinová pozice						
	NT AMK	261	526 amk176	703 amk235	796 amk266	803 amk268	1059-1061
A1		G	C arg	G gly	C leu	G gly	CCC
A2		G	C arg	G gly	C leu	G gly	CC frameshift + 21 AMK
B		G	G gly	A ser	A met	C ala	CCC
0		del frameshift					

Při analýze DNA u podskupin A se ukázalo, že alela **A** má řadu variant, které, ačkoliv stále kódují transferasu A, odlišují se svojí výkonností. Hlavní příčinou, ale nikoli nezbytně jedinou, jsou různé mutace v alele **A**. Např. alela **A2** má v místě přiléhajícím terminačnímu tripletu posunovou (frame-shift) mutaci, stop kodon tak zaniká a výsledný protein je o 21 AMK delší. V důsledku toho je transferasa A enzymaticky méně výkonná a dochází ke kvantitativnímu snížení exprese antigenu A. Vztahy mezi těmito alelami jsou vztahy dominance a recesivity – **A1** je dominantní nad **A2** (Tab. 12.2.2 výše).

12.2.3.1.2 Bombajský fenotyp

Vzácně (např. jako důsledek příbuzenského sňatku) se vyskytují jedinci, kteří nemají dominantní alelu lokusu H (FUT1) – jsou **recesivní homozygoti hh**. V důsledku toho neprodukují enzym fukosyltransferasu 1 a nevytvářejí antigen 0 (H substanci). Na povrchových membránách těchto jedinců tak

zůstává exprimován pouze nezměněný tetrasacharidový prekursorový řetězec. Tento fenotyp se nazývá podle místa prvního zachytu a popisu **bombajský fenotyp** (nebo fenotyp O_h).

Substanci O (H) jsme shora zmínili jako substrát následné reakce zajišťované glykosyltransferasami A nebo B. V situaci, kdy antigen O (H) chybí, tak antigeny A či B nemohou být vytvářeny. A to přesto, že v genotypu konkrétního jedince jsou přítomny alely A nebo B a jejich produkty, příslušné enzymy glykosyltransferasy A a B, jsou v erytroidních buňkách normálně přítomny. Fenotyp těchto osob se jeví jako skupina O , avšak v cirkulaci jsou přítomny přirozené protilátky nejen anti-A a anti-B, ale také anti- O (anti-H). Vztah těchto dvou genů, *ABO* a *FUT1* (H), je příkladem recesivní epistáze u člověka (viz Díl I – Interakce nealelních genů).

12.2.3.1.3 Sekretorství antigenů *ABO* a krevní skupina Lewis

Antigeny A, B a O (H) lze nalézt u většiny jedinců i v tělních tekutinách (sliny, mléko atd.). Zde se však vyskytují ve formě glykoproteinů, které jsou rozpustné ve vodě (srovnej: na membránách přítomny jako glykolipidy). Za **sekreci do tělních tekutin** je zodpovědný další nezávislý gen *Se* (sekretor, nebo též *FUT2*) se dvěma alelami *Se* a *se*. Produktem tohoto genu (leží v blízkosti *FUT1* na 19p13.3) je také α -2-L-fucosyltransferasa. Přibližně u 80 % lidí se vyskytuje dominantní alela *Se* a lze u nich prokázat antigeny A, B a O (H) v tělních tekutinách, u recesivních homozygotů (*se se*) nikoliv.

Oba geny, *FUT1* i *FUT2*, jsou v těsné vazbě a produktem obou je α -2-L-fucosyltransferasa. Rozdíl mezi geny je v tkáňově specifické expresi – fukosyltransferasa v epiteliálních buňkách je produktem genu *Se* (*FUT2*) a byly popsány dvě transkripční varianty téhož proteinu, zatímco enzym v buňkách mesodermálního původu je produktem genu *H* (*FUT1*). Rozdíl je patrně i v typu zpracovávaného přirozeného substrátu.

Na genu *FUT2* (*Se*) je rovněž závislý další krevně skupinový systém, **systém Lewis**. Pro expresi této krevní skupiny Lewis je však nutná i aktivita dalšího genu – *FUT3* (*Lewis*), který se nachází v téže oblasti chromosomu 19 jako *FUT1* a *FUT2*. Produktem aktivní alely *Le* genu *FUT3* je také fukosyltransferasa, avšak tato, na rozdíl od produktu genu *FUT1*, připojuje fukózu k prekursovému oligosacharidu v jiné, nikoliv koncové, ale „boční“ pozici.

Antigeny Lewis jsou sice exprimovány na červených krvinkách, avšak nejsou jimi produkovány. Jsou exokrině secernovány epitelii a až následně adsorbovány na povrchu erytrocytů. K adsorpci však dochází jen u těch osob, které mají alespoň jednu alelu *Se* genu *FUT2*. Dva hlavní typy antigenů Lewis se označují Lewis a, Lewis b, zkráceně Le(a) či Le(b). Ve fenotypu mohou být přítomny jeden či druhý, oba nebo ani jeden; nejběžnější fenotyp je Lewis a negativní Lewis b pozitivní, tedy Le(a–b+). **Vztah mezi skupinou Lewis a sekretorstvím antigenů systému *ABO*** byl jeden z prvních příkladů pleiotropního efektu některého genu u člověka. Stejná fukosyltransferasa, která konvertuje membránově vázané antigeny A, B či O (H) na antigeny rozpustné (a tedy secernované do tělních tekutin), konvertuje antigen Lewis a na Lewis b. Proto jedinci Lewis a pozitivní neseccernují antigeny A, B či H (označují se jako ABH **non-sekretori**). Antigen Lewis b je přítomen pouze u **sekretorů**. Lewis negativní jedinci Le(a–b–) pak mohou být jak sekretory, tak nonsekretory.

12.2.3.1.4 Význam *ABO*

Funkce antigenů A, B, O zůstává neznámá. Zjevně však absence antigenů A a B, tedy krevní skupina O , není spojena s žádnou patologií ani není jako nevýhodná předmětem selekce, když je její zastoupení v populacích tak vysoké. V evropské populaci se vyskytuje krevní skupina A přibližně s četností 0,42; B 0,12; AB 0,08 a skupina O s četností 0,38.

Nicméně mezi jednotlivými evropskými státy (národy) existují ve výskytu jednotlivých krevních skupin výrazné rozdíly. Ještě výraznější rozdíly byly zaznamenány mezi jednotlivými etniky; obecně lze říci, že u Asiatů a Afričanů přibývá ve srovnání s Kavkazany skupiny B a poklesá zastoupení skupiny A nebo O . Ještě přesněji lze rozdíly mezi národy a etniky demonstrovat na rozdílech v zastoupení jednotlivých alel (viz dále populační genetika).

Rozdíly v zastoupení alel systému *ABO* podnítily i úvahy o evoluci tohoto systému a obecně o evoluci člověka v období posledních 50 000 let. Alela B se podle těchto závěrů považuje za nejmladší. A pokud jsme výše zmínili pojem selekce, pak