

Ze současné medicíny

Jak naše geny podmiňují citlivost k infekcím a jak infekční choroby mění náš genom

JANA MUSILOVÁ – DAVID ŠMAJS

Lidská infekční onemocnění způsobují celosvětově asi 25 % všech úmrtí a zůstávají významným zdravotním problémem i v 21. století. Je přitom stále jasnější, že mikroorganismy se podílejí na vývoji celé řady dalších chorob i mimo tzv. choroby infekční. Tradiční výzkum infekčních onemocnění se zaměřoval zejména na studium mikroorganismu, zatímco jejich současný výzkum se stále více zaměřuje na studium interakce mikroorganismu a jeho hostitele. V poslední době narůstá množství poznatků o lidských genech a jejich úloze v míře citlivosti k infekčním chorobám.

Jak naše geny podmiňují citlivost k infekcím. Dva nepřibuzní lidé se na úrovni sekvence svých DNA vzájemně liší pouze jednou desetinou procenta. I tak to v genomu člověka představuje rozdílnost v přibližně 10 miliónech pásmen celogenomové sekvence DNA. Tyto drobné rozdíly v sekvenci DNA jsou podstatou individuální jedinečnosti každého jedince. Pro studium genetické variability člověka byl velkým přínosem projekt HapMap (viz Universitas 41, 2008, 1), který zmapoval genové polymorfismy v lidském genomu u téměř 300 jedinců ze čtyř geograficky vzdálených populací. (Existuje-li několik různých variant určitého genu (tzv. alel) v lidské populaci, a jsou-li jednotlivé alely v této populaci běžné (tzn. mají frekvenci vyšší než 1 %), mluvíme o tzv. genovém polymorfismu.)

Vliv genetické variability na rozvoj infekčního onemocnění ilustruje případ z Lübecku z roku 1929. Celkem 251 novorozenců bylo omylem naočkováno stejnou dávkou virulentního (t.j. plně infekčního) kmene *Mycobacterium tuberculosis* namísto neškodné vakcíny. 72 novorozenců zemřelo, 135 novorozenců mělo příznaky klinické tuberkulózy a 44 novorozenců bylo přechodně tuberkulin-pozitivní, ale klinické příznaky tuberkulózy se u nich neobjevily. Přitom všichni novorozenci byli naočkováni stejnou dávkou infekčních bakterií. Tento nešťastný případ názorně ukázal, že drobné odchylky v DNA různých jedinců (a asi i v dalších, vnějších faktorech) jsou podstatou různé vnímavosti k tuberkulóznímu bacilu. Jinými slovy, přítomnost určitých alel podmiňuje vyšší riziko, tzv. predispozici, pro vznik a průběh infekčních onemocnění.

Odlíšná vnímavost k infekčním onemocněním je ovlivněna především variantami v genech imunitního systému, které umožňují rozpoznání a zneškodnění patogenních mikroorganismů. Vliv na rozdílnou náchylnost k infekcím

mají také geny ovlivňující metabolismus určitých látek, nezbytných pro přežití patogenního mikroorganismu. Příspěvky jednotlivých genů na ovlivnění rozvoje a průběhu infekce jsou však relativně malé.

Studium dvojčat, které sleduje výskyt shodného onemocnění mezi jednovaječnými a dvojvaječnými dvojčaty, ukázalo, že genetické pozadí hostitele hraje důležitou úlohu v rozvoji a náchylnosti i k několika dalším infekčním chorobám. Rozsáhlé populační studie poté identifikovaly několik genů ovlivňujících vnímavost k malárii a k dalším infekčním nemocem (tab. 1).

Tab. 1. Známé geny, jejichž varianty ovlivňují rozdílnou citlivost k infekčním chorobám

Geny kódující:	Onemocnění:
hlavní histokompatibilní komplex	TBC, malárie, HIV infekce
interferony a jejich receptory	TBC, malárie, SARS
interleukiny	TBC, HIV infekce, infekce <i>Helicobacter pylori</i>
receptor pro vitamin D	TBC, lepra, HIV infekce
Toll-like receptory (TLR)	TBC, lepra, HIV infekce, malárie
manózu vázající lektin	TBC, lepra, HIV infekce
chemokinové receptory	HIV infekce
tumor nekrotizující faktor alfa	lepra
protein ligáza UBE3A	TBC, infekce virem HPV
adaptorový protein pro TLR CD14	TBC, chlamydióza, chronická infekce HBV
receptory na povrchu makrofágů	TBC

Vysvětlivky:

HBV – virus hepatitidy typu B; HIV – virus lidské imunodeficience;
 HPV – lidský papilomavirus; SARS – syndrom náhlého selhání dýchání;
 TBC – tuberkulóza; TLR – receptor typu Toll; UBE3A – protein ligáza E3A.

Ochranu před infekčními chorobami (např. před malárií, tuberkulózou, AIDS) zajišťuje řada imunitních mechanismů. Jejich efektivita závisí, mimo jiné, na variantách genů kódujících tzv. hlavní histokompatibilní komplex (MHC), který u lidí označujeme jako HLA (Human leukocyte antigens). Tyto geny se u lidí nacházejí na krátkém raménku chromozomu 6. Podle struktury a funkce se dělí na tři třídy, přičemž pro imunitní odpověď jsou důležité zejména geny I. a II třídy. HLA geny kódují buněčné povrchové proteiny, které mají zásadní význam při zahájení imunitní odpovědi prostřednictvím T-lymfocytů, protože tyto buňky rozpoznávají pouze ty antigeny, které jsou navázány na HLA molekulu na povrchu určitých (tzv. antigen-prezentujících) buněk. HLA systém je velmi variabilní a mezi jedinci i mezi populacemi existuje velká variabilita HLA variant. Každý člověk má jedinečnou kombinaci HLA alel,

keré zdědil po rodičích. Různorodost v HLA alelách působí na jedné straně problémy při transplantacích kostní dřeně a dalších orgánů, na druhou stranu tato různorodost zvyšuje množství a diverzitu antigenů, které imunitní systém dokáže rozoznat, a rozšiřuje tak odolnost k infekčním chorobám.

Dalšími kandidáty pro studium náchylnosti k malárii a k ostatním infekčním chorobám jsou i jiné imunologicky důležité molekuly, tzv. cytokiny, které umožňují přenos informací mezi jednotlivými buňkami imunitního systému a některými dalšími buňkami. Tumor nekrotizující faktor alfa (TNF- α) je cytokin, který produkují makrofágy jako odpověď na virové a bakteriální infekce. TNF- α v buňce aktivuje geny důležité pro zánětlivou reakci a indukuje buněčnou smrt infikované buňky. Změna v regulační oblasti genu *TNF- α* , která zřejmě mění množství produkovaného TNF- α , byla u afrických dětí spojená s vyšší náchylností k malárii. Kromě polymorfismů v genech kódujících cytokiny jsou pro správnou signalizaci cytokinů důležité receptory na povrchu buněk, kterými se přenáší vlastní signál. Mezi důležité receptory patří například receptor pro interferon α a interferon γ (viz dále).

Stejně jako v případě malárie jsou při rozvoji a průběhu infekce *M. tuberculosis* vedle určitých variant genů kódujících HLA antigeny a cytokiny důležité také receptory, které rozpoznávají antigeny mykobakterií. **Tuberkulóza** je chronické onemocnění vyvolané bakterií *Mycobacterium tuberculosis*. Sama nákaza většinou probíhá bez příznaků, až při rozvoji infekce jsou typicky postiženy plíce, mohou jí však být postiženy i ostatní orgány jako mozek či kosti. V roce 2008 bylo tuberkulózou celosvětově nakaženo odhadem 11,1 milionů lidí, z čehož 10 % nakažených nakaže podlehl. Mykobakterie napadají v plicích především makrofágy, buňky specializované na pohlcování cizorodých částic. Zatímco standardně makrofág pohlcenou částicí zničí ve svých specializovaných buněčných váčcích, mykobakterie tomu dokáží zabránit a uvnitř buňky se množí. Interferon gama (IFN- γ) je důležitým aktivátorem makrofágů, které získávají schopnost usmrcovat vnitrobuněčně parazitující bakterie právě jeho působením. Samotný IFN- γ působí prostřednictvím specifického receptoru na povrchu buněk. Geneticky podmíněné změny v produkci IFN- γ stejně jako geneticky podmíněné změny v odpovědi na něj, jsou patrně jednou z příčin vyšší náchylnosti k tuberkulóze.

Receptory zodpovědné za rozpoznání struktur, které jsou pro patogenní mikroorganismy typické, se nazývají Toll-like receptory (TLR, receptory podobné Toll, viz tabulka 1). Tyto receptory byly nalezeny a popsány u octomilky (*Drosophila melanogaster*) a teprve poté byly identifikovány i u člověka. Po vazbě antigenu na TLR se spouští signální dráhy, které vedou k aktivaci různých cytokinů důležitých v imunitní odpovědi na přítomnost patogenního mikroorganismu. U člověka bylo popsáno celkem 10 TLR, přičemž změny v receptorech TLR2 a TLR8 již byly asociovány s náchylností k tuberkulóze. Protože gen pro receptor TLR8 leží na chromozomu X, mají muži – nesoucí pouze jeden chromozom X, a proto i jednu kopii tohoto genu – větší pravděpodobnost, že ponесou tuto alelu spojenou s náchylností k tuberkulóze. Tento

fakt by mohl vysvětlit klinickou zkušenost ukazující, že muži trpí tuberkulózou častěji než ženy. Změny v receptoru pro vitamín D mohou také ovlivnit vnímavost k infekci *M. tuberculosis*. Vitamín D je kromě metabolismu vápníku důležitý také při imunitní odpovědi organismu. V imunitním systému působí vitamín D prostřednictvím receptoru na povrchu makrofágů a lymfocytů, kde se na něj váže aktivní forma vitamínu D. Po jeho vazbě se aktivují geny pro antimikrobiální látky, které mají schopnost usmrtit bakterie *M. tuberculosis*, a zároveň je podporována fagocytóza makrofágů.

Genetické varianty kódující rozdílné verze dvou chemokinových koreceptorů (CCR5 a CXCR4) na povrchu buňky jsou podstatou rozdílné citlivosti buněk k viru HIV (i když hlavním receptorem viru HIV je antigen CD4). Virus HIV vyvolává syndrom získané imunodeficience (AIDS). Existují dva typy viru, HIV-1 a HIV-2, přičemž současnou pandemií AIDS vyvolává především typ HIV-1. HIV napadá hlavně pomocné T-lymfocyty a makrofágy, které mají na svém povrchu molekuly označované jako CD4. U nakažených osob se první příznaky onemocnění projeví až za 2-12 let po infekci, poté dojde k rozvoji klinických příznaků AIDS a brzy nastává smrt, nejčastěji na těžký průběh oportunních infekcí. V roce 2008 byl celkový počet nakažených AIDS 33,4 milionů, nově se nakazilo 2,7 milionu lidí a 2 miliony pacientů infekci podlely. Virus HIV využívá pro vstup do buňky koreceptory CCR5 a CXCR4. Změna v genu *CCR5* (CCR5), zahrnující delecii 32 párů bází, způsobuje tvorbu nefunkčního koreceptoru na povrchu buňky. Jedinci, kteří mají své obě alely tohoto genu mutantní, jsou rezistentní k infekci virem HIV. (Zatím není popsán žádný jiný projev této mutace kromě rezistence k viru HIV.)

Jak infekční choroby mění náš genom. O vlivu infekčních chorob na náš genom se zatím mnoho neví, není totiž snadné efekt infekčních chorob v genomu vysledovat. Přesto již dnes existuje několik takových příkladů. **Malárie** je infekční onemocnění vyvolané prvoky rodu *Plasmodium*. Jejich rezervoárem je pouze člověk a přenáší je samičky komára rodu *Anopheles*. Pro malárii jsou typické malarické záchvaty projevující se zimnicí, horečkou a následnou bezhorečnatou fází. Podle údajů Světové zdravotnické organizace (WHO) je malárie ohrožena téměř polovina světové populace. V roce 2008 se malárii nakazilo odhadem 243 milionů lidí a téměř 863 000 jí podlelo. Malárie je považována za nejsilnější selekční tlak v nedávné historii lidstva. Důkazem je častý výskyt poruch funkce červených krvinek v oblastech současného či nedávného výskytu malárie a jejich absence u populací ostatních. Srpkovitá anémie, talasémie a favismus (podmíněný deficitem glukózo-6-fosfát dehydrogenázy) jsou dnes nejčastějšími dědičnými monogenními chorobami lidstva a všechny tyto choroby jsou důsledkem mutací měnících funkci komponent červených krvinek. V takovýchto defektních krvinkách mají parazité horší podmínky pro dokončení svého životního cyklu a zároveň jsou tyto krvinky častěji zneškodňovány vlastními obrannými mechanismy člověka. Nevýhodou této strategie ochrany před malárií je riziko, že pokud jedinec zdědí po rodi-

čích obě tyto alely mutantní, bude trpět těžkými projevy těchto chorob souvisejícími se špatnou funkcí červených krvinek. Je-li však člověk nositelem jedné mutantní a jedné normální alely, je zajištěna dostatečná funkce krvinek normální alelou a mutantní alela poskytuje ochranu před rozvojem infekce a těžkými projevy malárie.

Frekvence alely CCR5, která způsobuje sníženou citlivost k HIV infekci je nejvyšší v populaci Západní Evropy a Ruska (10 %), zatímco směrem na východ její četnost klesá a v Africe se prakticky nevyskytuje. Tuto rozdílnou četnost alely CCR5 však nelze vysvětlit pandemií AIDS, protože virus HIV nepůsobí na lidskou populaci dostatečně dlouho. Efektivní selekční tlak by tak mohly představovat epidemie vyvolané patogenními mikroorganismy, které využívají pro vstup do buňky stejný receptor jako virus HIV. Prvním kandidátem je bakterie *Yersinia pestis*, která vyvolávala epidemie **dýmějového moru** a ve 14. století dokonce usmrtila téměř třetinu tehdejší evropské populace. Druhým kandidátem je virus *Variola major*, který v Evropě působil opakovaně epidemie **černých neštovic**. Virus těchto pravých neštovic patrně využíval pro vstup do buňky receptor CCR5.

Cystická fibróza je recesivně děděná porucha iontového transportu v epitelálních buňkách způsobená mutacemi v genu pro regulaci transmembránové vodivosti (CFTR). Je to běžné onemocnění v Severní Evropě, kde je téměř každý 25. člověk přenašečem mutantní alely. Poruchu může způsobit až několik stovek různých mutací, přičemž pro každou populaci je typický jejich určitý panel. Nejčastější mutací vůbec je delece F508 (F508), mutace G5551D je (pro zajímavost) častá ve Francii a také v Brně. Příčina vysokého výskytu cystické fibrózy v evropské populaci může spočívat ve výhodě nositelů mutantní a normální alely vůči některým infekčním chorobám, stejně jako v případě malárie a srpkovitě anémie. Jedincům postižených cystickou fibrózou se tvoří na sliznicích hustý a lepivý hlen, který se hromadí v dýchacích cestách, kde brání dýchání, a v trávicím traktu. V trávicím traktu by vrstva hustého hlenu mohla chránit před fatální dehydratací způsobenou průjmovými infekcemi, vyvolanými bakteriemi *Vibrio cholerae* či *Salmonella typhi*, které způsobují **choleuru** respektive **břišní tyfus**.

Genetické predispozice, zlepšující šance na přežití během epidemie **tuberkulózy** dnes zřejmě zvyšují náchylnost k revmatoidní artritidě. Analýzou genů a genetických polymorfismů asociovaných s náchylností k revmatoidní artritidě byly identifikovány geny, které jsou zároveň studovány ve spojitosti s náchylností k infekci vyvolanou bakterií *Mycobacterium tuberculosis*. Epidemie tuberkulózy v Západní Evropě a v USA během 19. století tak mohla způsobit dnešní zvyšující se počet případů revmatoidní artritidy.

Podaří se infekčních choroby eradikovat?

Ačkoliv se může zdát, že infekční onemocnění jsou principiálně dobře zvládnutelná – lze medikamentózně zastavit množení mikroorganismu nebo lze ovlivnit proces infekce makroorganismu, nelze do budoucna očekávat vý-

razný ústup ve výskytu infekčních onemocnění. Důvody pro toto tvrzení jsou empirické i teoretické. Ze zkušenosti víme, že jen za posledních několik desetiletí se objevilo (ev. bylo nově popsáno) několik infekčních onemocnění (tab. 2). Přitom víme, že za stejnou dobu se podařilo celosvětově eradikovat (vymýtit) pouze pravé neštovice, a to již v roce 1977. Eradikace viru dětské obrny byla úspěšná pouze v Evropě, kde byl certifikát o jeho eradikaci udělen WHO až v červnu 2002. Teoretické argumenty se opírají o fakt, že ekologická nika hostitelských organismů nevyhnutelně vede k evoluci mikroorganismů, kteří jsou toto prostředí schopni využít pro svou replikaci. Působení infekčních mikroorganismů a parazitů je navíc zásadní obecnou hybnou silou evoluce, kdy evoluční schopnost choroboplodných zárodků vede k evolučnímu vývoji hostitele a naopak. Tento bludný kruh „závodů ve zbrojení“ mezi jednotlivými mikroorganismy a hostiteli je patrně jednou ze skutečných hnacích sil evoluce a lze tedy předpokládat, že infekční choroby nás budou formovat i v budoucnu.

Tab. 2: První výskyt některých nově popsaných infekčních onemocnění

Onemocnění	původce	popsáno v roce
horečka Dengue	virus	1953
legionářská nemoc	bakterie	1976
Marburská horečka	virus	1967
HTLV infekce	virus	1977
Pontiacká horečka	bakterie	1968
AIDS	virus	1981
horečka Lassa	virus	1969
žaludeční vředy	bakterie	1983
Lymská borelióza	bakterie	1975
hantavirový plicní syndrom	virus	1993
Ebola	virus	1976
SARS	virus	2002

V našem uvažování o léčbě infekčních chorob převládá snaha o likvidaci patogenních mikroorganismů pomocí antibiotik či antivirotik. Naštěstí účast hostitele na vývoji infekčního onemocnění umožňuje i „zasáhnout hostitele“ namísto infekčního mikroorganismu. To je asi nejvýznamnější příslib, který přináší studium molekulárních mechanismů interakce mikroorganismu a hostitele. Např. u tuberkulózy platí, že rozsáhlé poškození tkání je způsobeno z velké části reakcí hostitelského organismu na mykobakteriální antigeny než mykobakteriemi samotnými. Je to tedy sám hostitelský organismus, který produkuje látky vyvolávající chronickou zánětlivou reakci. Studium molekul, za-

pojených v odpovědi na mykobakteriální antigeny, má tak velký význam v budoucí léčbě tuberkulózy, protože nám umožní specificky potlačit poškození, způsobená pozdní přecitlivělostí hostitele, podáním látek, které blokují aktivitu zánětlivých cytokinů.

Genetické varianty vedoucí k necitlivosti na dané infekční onemocnění budou vodičkou pro takové ovlivnění hostitele, které nám umožní infekci úspěšně zdolat. Možný je např. návrh nových léčiv zacílených na určité molekuly hostitelského organismu. Se znalostí individuální náchylnosti k infekcím bude také možné specificky podpořit imunitní reakci organismu, aby se jedinec mohl s infekcí vypořádat sám. Do budoucna je tedy třeba nalézt způsoby, jak v léčbě infekčních chorob specificky negativně ovlivnit nejen mikroorganismus, nýbrž také pozitivně organismus hostitele.

Slovník pojmů:

- Allel** – jedna či více variant téhož genu, který se nachází v určitém místě na chromozomu.
- Antigen** – cizorodá molekula resp. částice nebo její část, která má schopnost vyvolat imunitní reakci.
- Cytokiny** – skupina látek produkovaných lymfocyty a makrofágy. Ovlivňují intenzitu a dobu trvání imunitní reakce organismu. Mezi cytokiny patří interleukiny, interferony, chemokiny, rodina tumor nekrotizujících faktorů a další.
- Eradikace** – vymýcení původce infekčního onemocnění.
- Fenotyp** – pozorovatelná vlastnost jedince jako důsledek interakce genotypu a prostředí.
- Gen** – základní jednotka dědičné informace tvořená úsekem DNA a lokalizovaná na určitém místě chromozomu. Člověk má v každé buňce (kromě svých buněk pohlavních) jeden pár genů, z něhož zdědil od každého z rodičů jeden. Počet genů člověka se odhaduje přibližně na 23 000.
- Genom** – soubor všech struktur nesoucích genetickou informaci ve formě DNA. Genom bakteriální buňky se skládá z genů v jaderné a v plasmidové DNA. Genom živočišné – i lidské – buňky je tvořen chromozomy uloženými v buněčném jádře a DNA v mitochondriích.
- Genotyp** – souhrn všech dědičných vloh jedince uložených v genech.
- Chemokiny** – prozánětlivé cytokiny, které mají schopnost přitahovat imunitní buňky na určité místo.
- Lymfocyty** – bílé krvinky, které se účastní specifické imunitní odpovědi organismu. Rozlišují se B-lymfocyty, které tvoří protilátky, a T-lymfocyty, které ostatní buňky imunitní odpovědi řídí a likvidují infikované buňky.
- Makrofágy** – specializované bílé krvinky schopné pohlcovat a zabít bakterie, infikované a nádorové buňky. Produkují řadu cytokinů, které vyvolávají horečku a stimuluji imunitní systém. Indukují specifickou imunitní reakci vedoucí k tvorbě protilátek a k aktivaci cytotoxických T-lymfocytů. Makrofágy se uplatňují v obraně proti všem vnitrobuněčným parazitům.
- Patogenita** – schopnost mikroorganismu poškozovat hostitele a vyvolat u něj onemocnění.
- Polymorfismus** – výskyt dvou či více variant v populaci, přičemž nejméně dvě z těchto variant se vyskytují s četností vyšší než 1 %.
- Receptory** – molekuly na buněčném povrchu, které rozpoznávají unikátní části exogenních molekul. Po aktivaci receptorů spouští receptory specifickou odpověď buňky na podnět.
- Virulence** – míra patogenity, schopnost mikroorganismu proniknout do hostitele, odolat jeho obranným mechanismům, získat v něm živiny a množit se.