



Zdravotně  
sociální fakulta  
Faculty of Health  
and Social Sciences

Jihočeská univerzita  
v Českých Budějovicích  
University of South Bohemia  
in České Budějovice

Analýza rs1800497 a rs1799732 polymorfismů  
asociovaných s expresí *DRD2* genu u vybraných  
pacientů

## BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Studijní program: **LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA**

**Autor:** Elena Rejdová

**Vedoucí práce:** Mgr. Dagmar Riegert Bystřická, Ph.D.

České Budějovice 2024

### **Prohlášení**

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem „*Analýza rs1800497 a rs1799732 polymorfismů asociovaných s expresí DRD2 genu u vybraných pacientů*“ jsem vypracoval/a samostatně pouze s použitím pramenů v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské/diplomové práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby bakalářské/diplomové práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé bakalářské/diplomové práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 29.4.2024

.....

Podpis

### **Poděkování**

Především bych ráda poděkovala své vedoucí bakalářské práce Mgr. Dagmar Riegert Bystřické, Ph.D. za její odbornou pomoc, cenné rady, věnovaný čas a vstřícnost při konzultacích. Dále děkuji doc. Mgr. Janu Riegertovi, Ph.D. za odbornou pomoc při statistické analýze dat. Mé poděkování také směřuje Mgr. Žanetě Švecové za dohled a poskytnutí rad v laboratoři. V poslední řadě děkuji mé rodině a přátelům za trpělivost a podporu během studia.

# **Analýza rs1800497 a rs1799732 polymorfismů asociovaných s expresí *DRD2* genu u vybraných pacientů**

## **Abstrakt**

V bakalářské práci se zabývám *DRD2* genem a polymorfismy rs1800497 (TaqIA) a rs1799732 (-141C Ins/Del). Různé studie totiž ukázaly možnou asociaci Alzheimerovy choroby a schizofrenie právě s *DRD2* genem.

V teoretické části se zmiňuji o genu *DRD2*, který se skládá se z osmi exonů, šesti intronů a je umístěn je na chromozomu 11 v pozici q22-q23. Polymorfismus -141C Ins/Del leží v oblasti promotoru genu *DRD2* a polymorfismus TaqIA je lokalizován v genu *ANKK1*, ale díky své těsné blízkosti přímo ovlivňuje gen *DRD2* a řadí se tedy také k *DRD2* genu. *DRD2* gen je velmi důležitý pro funkci dopaminu. Dopamin ovlivňuje motorickou činnost a emoce člověka. V následujících kapitolách popisuji onemocnění, která mají souvislost s dopaminem a *DRD2* genem, konkrétně se jedná o schizofrenii a Alzheimerovu chorobu. Popsány jsou zde nejen příznaky těchto nemocí, ale i jejich průběh, různé formy, rizikové faktory jako je např. věk a také jejich léčba.

Analýza dvou uvedených polymorfismů v *DRD2* genu byla v rámci praktické části úspěšně vyšetřena pomocí metody PCR-RFLP u 35 jedinců. Vzorky byly analyzovány od pacientů s Alzheimerovou chorobou, schizofrenií a také u nedagnostikovaných jedinců (kontrolní skupina). V testovaných skupinách se zjišťovaly genotypové frekvence pro oba polymorfismy. Výsledky od 54 jedinců byly převzaty z předchozí studie jiné studentky. V rámci základní statistiky se porovnála frekvence genotypů obou polymorfismů v jednotlivých skupinách a výsledky byly testovány také pomocí multivariátní analýzy CCA v programu Canoco 5. Získané výsledky byly srovnány s dosud publikovanými daty jiných studií.

## **Klíčová slova**

*DRD2* gen; rs1800497; rs1799732; Alzheimerova choroba; schizofrenie

## **Analysis of rs1800497 and rs1799732 polymorphisms associated with *DRD2* gene expression in selected patients**

### **Abstract**

In my bachelor's thesis, I deal with the *DRD2* gene and polymorphisms rs1800497 (TaqIA) and rs1799732 (-141C Ins/Del). Various studies have shown a possible association of Alzheimer's disease and schizophrenia with the *DRD2* gene.

In the theoretical part, I talk about the *DRD2* gene. It consists of eight exons, six introns, and it is located on chromosome 11 at location q22-q23. The -141C Ins/Del polymorphism is located in the promoter region of the *DRD2* gene and the TaqIA polymorphism is located in the *ANKK1* gene, but due to its close proximity it directly affects the *DRD2* gene and is therefore also included in the *DRD2* gene. The *DRD2* gene is important for dopamine function. Dopamine affects a person's motor activity and emotions. In the following chapters, I describe diseases that are related to dopamine and the *DRD2* gene. Specifically, it is schizophrenia and Alzheimer's disease, for example: the symptoms of these diseases, course, forms, age, risk factors and treatment are described here.

The analysis of the two mentioned polymorphisms in the *DRD2* gene was successfully investigated using the PCR-RFLP method in 35 individuals as part of the practical part. Samples were analyzed from patients with Alzheimer's disease, schizophrenia and also from undiagnosed individuals (control group). Genotypic frequencies for both polymorphisms were determined in the tested groups. Results from 54 individuals were taken from a previous study by another student. As part of the basic statistics, the frequency of the genotypes of both polymorphisms in individual groups was compared, and the results were also tested using multivariate CCA analysis in the Canoco 5 program. The obtained results were compared with the published data of other studies.

### **Key words**

*DRD2* gene; rs1800497; rs1799732; Alzheimer's disease; schizophrenia

## Obsah

1. Úvod .....	8
2. Rešerše.....	9
2.1 Dopamin.....	9
2.1.1 GPCR.....	9
2.2 Gen <i>DRD2</i> .....	9
2.3 Receptory dopaminu .....	10
2.3.1 D2 receptor .....	11
3. Polymorfismy v <i>DRD2</i> genu .....	13
3.1 TaqIA ( <i>rs1800497</i> ) .....	13
3.1.1 TaqIA ( <i>rs1800497</i> ) a gen ANKK1 .....	13
3.1.2 TaqIA a schizofrenie.....	14
3.1.3 TaqIA a Alzheimerova choroba.....	14
3.1.4 TaqIA a další možné predispozice.....	15
3.2 -141C Ins/Del ( <i>rs1799732</i> ) .....	15
3.3 Příklady dalších polymorfismů v <i>DRD2</i> genu .....	15
4. Neurogenní onemocnění související s dopaminem .....	16
3.1.1 Příznaky schizofrenie .....	16
3.1.3 Věk nemocných .....	17
3.1.4 Rizikové faktory .....	17
3.1.6 Léčba schizofrenie.....	19
3.1.7 Nežádoucí účinky antipsychotik.....	19
3.1.8 Psychosociální léčba.....	19
3.1.9 Koordinovaná specializovaná péče .....	20
5. Neurodegenerativní onemocnění .....	21
5.1 Demence .....	21
5.1.1 Alzheimerova choroba.....	22
5.1.2 Parkinsonova nemoc .....	25
6. Cíle práce a výzkumné otázky.....	29
6.1 Cíl práce.....	29
6.2 Výzkumné otázky .....	29
7. Metodika.....	30
7.1 Získávání a odběr vzorků.....	30
7.2 Izolace DNA .....	31
7.2.1 Izolace DNA z bukalního stěru.....	31

7.2.2	Izolace DNA z plné krve .....	32
7.3	Měření koncentrace DNA pomocí fluorometru .....	32
7.4	Analýza polymorfismů .....	33
7.4.1	Analýza polymorfismu rs1800497 (TaqIA) .....	33
7.4.2	Analýza polymorfismu rs1799732 (-141C Ins/Del) .....	34
7.4.3	PCR produkty .....	36
7.4.4	Restrikční štěpení TaqIA .....	36
7.4.5	Restrikční štěpení -141C Ins/Del .....	37
8.	Výsledky .....	39
9.	Diskuze .....	43
10.	Závěr .....	46
11.	Seznam použitých zdrojů .....	47
12.	Přílohy .....	59
13.	Seznam tabulek .....	62
14.	Seznam obrázků .....	63
15.	Seznam zkratk .....	64

## 1. Úvod

Dopamin je nejhojnější katecholaminový neurotransmiter v mozku, který hraje důležitou roli v neuromodulaci, jako je motorická kontrola, motivace, emoce, odměna, kognitivní funkce a také neuroendokrinní regulace (Beaulieu a Gainetdinov, 2011; Iversen a Iversen, 2007). Dopaminový receptor, významný receptor spřažený s G proteinem (GPCR), je klasifikován do dvou rodin: D1-like (D1 a D5) a D2-like (D2, D3 a D4) receptory, podle jejich downstream signálních drah (Beaulieu et al., 2015; Micale et al., 2010). V posledních letech se objevuje stále více důkazů poukazujících na to, že dopaminergní systém je také narušen ve stavu Alzheimerovy choroby. *DRD2* gen byl nedávno indikován jako potenciální cíl v etiologii snížené sociability, což je příznak několika neuropsychiatrických poruch, jako je schizofrenie (Ike et al., 2023).

Hlavním cílem mé práce bylo vypracování odborné rešerše na téma *DRD2* genu a jeho dvou polymorfismů rs1800497 a rs1799732, které mohou být asociované se schizofrenií a Alzheimerovou chorobou. Praktická část bakalářské práce zahrnovala zpracování vzorků pomocí izolace DNA, metody PCR, gelové elektroforézy a PCR-RFLP. Do výzkumu bylo zahrnuto 19 pacientů s diagnózou schizofrenie, 25 seniorů s diagnózou Alzheimerovy choroby a 45 pacientů z kontrolní skupiny. Výsledné genotypy a informace byly zpracovány a porovnány s dostupnými populačními studiemi.



## 2. Rešerše

### 2.1 Dopamin

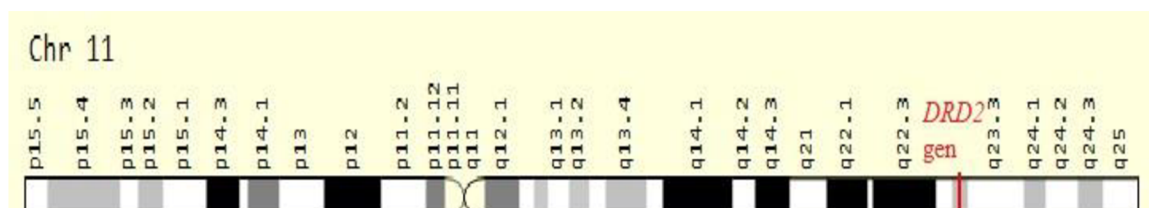
Dopamin (DA), důležitý katecholaminový neurotransmitter, hraje nedílnou roli ve fyziologických a patologických procesech různých tkání prostřednictvím odpovídajících receptorů (Feng et al., 2023). Dopamin je syntetizovaný jak v centrálním nervovém systému, tak na periférii. Působí po vazbě na receptory spojené s G proteinem. Dopaminergní signální dráhy jsou zásadní pro udržení základních fyziologických procesů a jejich nevyvážená aktivita může vést k dysfunkcím až neurodegenerativním onemocněním. Hlubší poznání neurobiologie a molekulárních mechanismů, které bývají základem těchto onemocnění, může přispět k vývoji nových terapií podporujících lepší kvalitu života pacientů po celém světě (Klein et al., 2019).

#### 2.1.1 GPCR

Receptory spojené s G proteinem (GPCR) představují největší rodinu proteinů kódovaných lidským genomem. Nachází se na buněčné membráně a převádějí extracelulární signály na klíčové fyziologické účinky (Insel et al., 2019). Jejich endogenní ligandy zahrnují pachy, hormony, neurotransmitery, chemokiny, od fotonů, aminů, sacharidů, lipidů, peptidů až po proteiny. GPCR se podílejí na velkém počtu onemocnění, jako je diabetes mellitus 2. typu, obezita, deprese, rakovina, Alzheimerova choroba (AD) a mnoho dalších (Sriram a Insel, 2018). GPCR se aktivují externími signály prostřednictvím navázání různých G proteinů nebo arestinů (Wooten et al., 2018).

### 2.2 Gen *DRD2*

Gen *DRD2* je lokalizován na chromozomu 11 v pozici 11q22-q23, má velikost 270 kb a je složen z osmi exonů a šesti intronů.



Obrázek 1 Umístění *DRD2* genu na 11. chromozomu ([www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=DRD2](http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=DRD2))

Alternativním splicingem vznikají dvě izoformy, označované jako krátká D2S a dlouhá D2L (Behravan et al., 2008; Gingrich a Caron, 1993). Krátká izoforma je také známá jako D2(415), zatímco dlouhá izoforma jako D2(444). Rozdíl mezi dlouhou a krátkou izoformou je způsoben přítomností/nepřítomností exonu, který je alternativně sestřižen a odpovídá 29 extra aminokyselinám nacházejících se ve třetí cytoplazmatické smyčce v proteinové struktuře dlouhé izoformy (Vallone et al., 2000). D2L je primárně lokalizován postsynapticky, zatímco D2S funguje jako presynaptický autoreceptor (Uziel et al., 2000). Tyto dvě izoformy mají podobné farmakologické charakteristiky (Missale et al., 1998; Pivonello et al., 2007).

Modifikace délky třetí cytoplazmatické smyčky naznačuje, že mezi těmito dvěma izoformami mohou existovat downstream signalizační rozdíly. U D2S a D2L byly zjištěny rozdíly v preferencích podtypu  $G_i$  proteinu a v regulaci internalizace receptoru (Uziel et al., 2000; Liu et al., 1996; Kim et al., 2004). Třetí delší izoforma byla hlášena v mozcích pacientů, kteří zemřeli na psychózu, ale tato izoforma nebyla plně charakterizována (Seeman et al., 2000). Studie, která zkoumala regulační polymorfismy v genu *DRD2*, ukázala, že alela T ve dvou vysoce propojených jednonukleotidových polymorfismech (SNP) v intronu 5, rs2283265 (G > T) a intronu 6, rs1076560 (G > T) posouvá sestřih z D2S do D2L (Zhang et al., 2007).

V genu *DRD2* bylo identifikováno více než 200 polymorfismů, většinou v intronech a intron-exon navazujících oblastech (Grandy et al., 1989), které byly studovány v souvislosti se závislostmi (alkohol, kokain, nikotin a opioidy), poruchami nálad, schizofrenií, onemocněními pohybového aparátu a odpovědí na léky (Noble, 2003; Zhang et al., 2010).

### **2.3 Receptory dopaminu**

Dopaminové receptory fungují nejen v periferním nebo v centrálním nervovém systému, ale jsou rozšířené po celém organismu (Klein et al., 2019). Aby mohl dopamin uplatnit své účinky, musí se vázat na určitou sadu receptorů umístěných na plazmatické membráně příslušných cílových buněk. Dopaminové receptory patří do nadrodiny GPCR. Dosud bylo popsáno pět různých podtypů dopaminových receptorů: D1, D2, D3, D4 a D5. Všechny dopaminové receptory jsou metabotropní a vedou k tvorbě druhých posílů, kteří spouštějí nebo blokují aktivaci specifických buněčných signálních drah (Baik, 2013; Beaulieu et al., 2015).

Dopaminové receptory jsou rozsáhle exprimovány v CNS, ale nacházejí se také v periferních cévách, ledvinách, srdci, sítnici a nadledvinách, které kontrolují uvolňování katecholaminů a renin-angiotensinový systém (Missale et al., 1998).

Dopaminové receptory D1 a D2 se vyskytují nejvíce v mozku (D1 receptoru je více), přičemž oba jsou zřídka koexprimovány na stejných buňkách (Missale et al., 1998; Baik, 2013). Podle struktury a farmaceutických vlastností dělíme dopaminové GPCR receptory do dvou hlavních skupin. D1-like receptory zahrnují D1 a D5 receptory a D2-like receptory zahrnují D2, D3 a D4 receptory (Baik, 2013). D1 a D5 receptory se nacházejí v postsynaptických buňkách, zatímco D2 a D3 mohou být lokalizovány jak post-, tak presynapticky (Beaulieu a Gainetdinov, 2011; Baik 2013). D4 receptory jsou z velké části exprimovány v sítnici oka (Cohen et al., 1992b).

### **2.3.1 D2 receptor**

Dopaminový receptor D2, známý také pod zkratkou D2R, je protein, kódován genem DRD2 (Madras, 2013). Receptor D2 se nachází na postsynaptických dopaminergních neuronech a je centrálně zapojen do mezokortikolimbických drah zprostředkovávajících odměnu (Neville et al., 2004) a většinou je exprimován v lidském striatu (Camps et al., 1989). Je také známý jako cíl antipsychotických léků, které se používají k léčbě neuropsychiatrických poruch, jako je schizofrenie (Abi-Dargham et al., 2000). Abi-Dargham et al., (2000) prokázali, že dopamin obsazuje větší podíl striatálních D2 receptorů u pacientů se schizofrenií ve srovnání s kontrolami.

#### **2.3.1.1 DRD2 a schizofrenie**

Dopaminová hypotéza je jednou z hlavních myšlenek pro vysvětlení etiologie schizofrenie (Arinami et al., 1994). Existuje několik směrů dokazujících, že dopaminový D2 receptor (DRD2) představuje hlavní kandidátní gen pro riziko schizofrenie (Lawford et al., 2005).

Asociace mezi rizikem schizofrenie a pěti SNP byly široce studovány. Jedná se o tyto SNP rs1799732 (-141C Ins/Del), rs1801028 (311 Ser/Cys), rs1800497 (TaqIA), rs6277 (C957T) a rs2242592 (Yao et al., 2015; Dubertret et al., 2010). V první fázi studie byly 3 SNP (rs2242592, rs6277 a rs1799732) významně spojeny se schizofrenií a dva další (rs244734 a rs1800497) vykazovaly tendenci k asociaci. V šetření byly výsledky replikovány a bylo genotypováno pět SNP. Pouze rs1800497 v genu *ANKK1* byl významně přenášen z rodičů na postižené dítě. Výpočty síly pro diskrétní znak poskytly

nejvyšší hodnotu 99 % pro frekvenci alely C v SNP rs6277 a nejnižší hodnotu 12 % pro frekvenci alely C v SNP rs18010278. Pro alelu A1 v SNP rs1800497 asociovanou se schizofrenií byla hodnota síly 77 % (Dubertret et al., 2010).

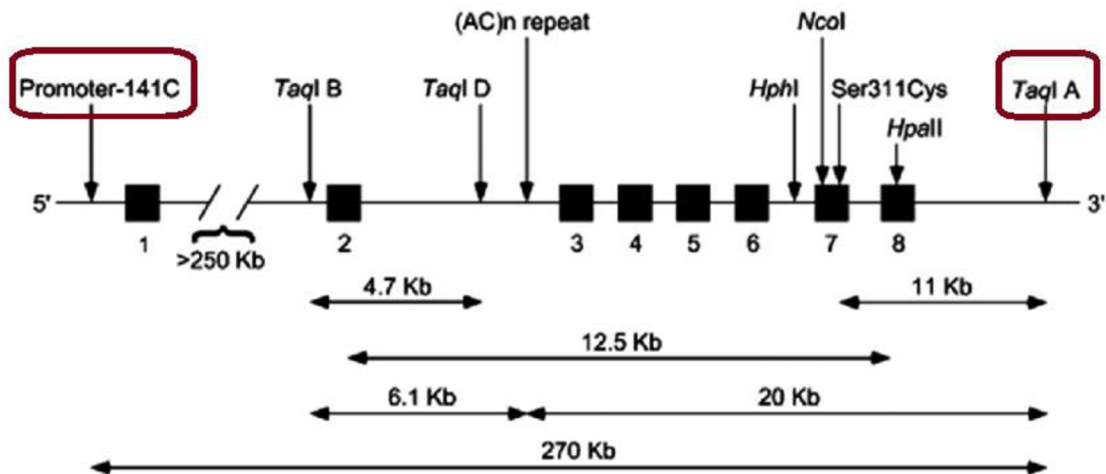
### **2.3.1.2 DRD2 a Alzheimerova choroba**

V posledních letech přibývá stále více důkazů o tom, že je dopaminergní systém narušen také ve stavu AD. Pitevní zprávy pacientů s AD prokázaly významné snížení jak D1-like, tak D2-like receptorů v prefrontálním kortexu a hippocampu (Cortés et al., 1988; Kumar a Patel, 2007).

Ačkoli mechanismus dysfunkce dopaminergního systému u AD je stále nejasný, objevila se hypotéza, že dysfunkce dopaminergního systému může být zapojena do patofyziologie AD, a farmakologická intervence zaměřená na dopaminergní systém může být novou terapeutickou strategií pro AD (Martorana a Koch, 2014).

### 3. Polymorfismy v *DRD2* genu

*DRD2* gen obsahuje polymorfismy, které mohou ovlivnit expresi *DRD2*, hustotu receptoru a přenos signálu. (Neville et al., 2004; Camps et al., 1989; Abi-Dargham et al., 2000). K nejvýznamějším a nejčastěji studovaným polymorfismům v genu *DRD2* patří *rs1800497* (TaqIA) a *rs1799732* (-141C Ins/Del). Proto byly vybrány i pro tuto studii.



Obrázek 2 Lidský gen *DRD2* s lokacemi nejvíce studovaných polymorfismů. Vyznačeny polymorfismy -141C Ins/Del a TaqIA (převzato z Pinto et al., 2016).

#### 3.1 TaqIA (*rs1800497*)

TaqIA, SNP (*rs1800497*) je jednonukleotidový polymorfismus v receptoru dopaminu D2. TaqIA (*rs1800497*) se nachází 10 kb downstream od *DRD2* a způsobuje substituci aminokyselin v 11. ankyrinové repetici *ANKK1* (Glu713LYS), která, i když je to nepravděpodobné, by mohla ovlivnit specifitu vazby substrátu (Neville et al., 2004).

V přítomnosti thyminu *rs1800497*(T) vzniká alela označovaná *DRD2*\*A1, zatímco cytosin *rs1800497*(C) dává vzniknout alele *DRD2*\*A2. Minoritní alela A1 je spojena se sníženým počtem vazebných míst dopaminu v mozku (Pohjalainen et al., 1998).

##### 3.1.1 TaqIA (*rs1800497*) a gen *ANKK1*

Lokus *rs1800497* sousedí s 3' nepřekládanou oblastí v genu *DRD2*. V současnosti je tento SNP přiřazen genu *ANKK1*. Dříve se předpokládalo, že je lokalizován v genu

*DRD2*, ale nedávno byl identifikován uvnitř exonu 8 *ANKK1* (ankyrin repeat and kinase domain containing 1) a pravděpodobně moduluje funkci a expresi *DRD2* díky své těsné blízkosti. *ANKK1* patří do rodiny serin/threoninových kináz RIP (Receptor-Interacting Protein) (Doehring et al., 2009). Tyto kinázy jsou důležité v buněčné proliferaci, diferenciaci a aktivují transkripční faktory. Gen *DRD2* je pravděpodobně regulován *ANKK1* prostřednictvím NF-kappaB (nukleární faktor-kappaB). *ANKK1* je aktivován apomorfín-dopaminergním agonistou, což naznačuje další spojení s dopaminergním systémem. Zkoumání asociace polymorfismů v genu *ANKK1* s poruchami dopaminergního systému je tedy velmi logické a nabízí se. Tento polymorfismus byl rozsáhle studován ve vztahu k závislosti na alkoholu, nikotinu a drogách, poruchám příjmu potravy, ADHD, schizofrenii a farmakogenetice (Suchanecka et al., 2011).

### **3.1.2 *TaqIA a schizofrenie***

Munafo et al. (2007) v jejich studii nespojili *TaqIA* se schizofrenií, ale zjistili, že gen *ANKK1* může ovlivnit fosforylaci aminokyselinových zbytků v klíčových proteinech zapojených do dopaminergní aktivity. Navíc je rs1800497 spojen s náchylností k akatizii vyvolané antipsychotiky druhé generace (Lawford et al., 2013). Několik dalších studií naznačilo, že jedinci s alelou *DRD2* rs1800497 T mají vyšší plazmatickou hladinu prolaktinu při užívání antipsychotik (Calarge et al., 2009; Miura et al., 2016; Aklillu et al., 2007).

### **3.1.3 *TaqIA a Alzheimerova choroba***

Jedinci nesoucí normální alelu A2, která je patrně spojená s vyšší účinností D2 receptoru, měli lepší výsledky při testování asociativní paměti než osoby s genotypem A1 (Papenberg et al., 2017). SNP, rs1800497 a rs2283265, nacházející se v blízkosti a uvnitř genu *DRD2* dopaminového receptoru 2, byly významně spojeny s lepšími výsledky během tréninku pracovní paměti (Söderqvist et al., 2014). A1 alela souvisí se sníženým počtem vazebných míst dopaminu v mozku (Gluskin a Mickey, 2016; Hirvonen et al., 2009; Jönsson et al., 1999a; Pohjalainen et al., 1998) a vykazuje horší výsledky v obráceném učení (Jocham et al., 2009), učení z chyb (Klein et al., 2007), epizodické paměti (Persson et al., 2014) a pracovní paměti (Berryhill et al., 2013).

### 3.1.4 *TaqIA a další možné predispozice*

Alela Taq A1 (rs1800497) byla dříve spojována, díky snížené hustotě dopaminového D2 receptoru (*DRD2*), také se stravovacími návyky, vyšší tělesnou hmotností a zvýšenou konzumací potravy, ačkoli její vztah k potravinové závislosti zůstává stále nejasný (Obregón et al., 2022). Předpokládá se, že hraje roli nejen v případě závislostí jako je alkoholismus nebo kouření, ale i u některých neuropsychiatrických poruch (Blum et al., 1996). Jiné SNP, konkrétně rs6276, rs6277 a rs1800497, v lidském genu *DRD2* jsou spojovány se sníženou expresí a funkcí D2R, stejně jako s vysokým krevním tlakem. Další studie podporují hypotézu, že funkce D2R chrání buňky lidských renálních proximálních tubulů (hRPTC) v ledvinách (Obregón et al., 2022).

### 3.2 **-141C Ins/Del (rs1799732)**

-141C Ins/Del, SNP (rs17997327) je jednonukleotidový polymorfismus *DRD2* receptoru dopaminu D2. rs1799732 představuje inserci/deleci cytosinu v poloze -141, která se nachází v 5' promotorové oblasti *DRD2* genu (Arinami et al., 1997). SNP rs1799732 nacházející se v oblasti promotoru *DRD2* je spojen se sníženou aktivitou promotoru s následnými účinky na genovou expresi (Parsian et al., 2000).

V přítomnosti thyminu rs17997327(T), který je přítomen v případě za delece 1 báze, vzniká alela *DRD2\*Del*, zatímco v přítomnosti cytosinu rs17997327(C) vzniká alela *DRD2\*Ins*. Minoritní alela s nižší expresí, alela *DRD2\*Del*, byla významně méně zastoupená u pacientů se schizofrenií ve srovnání s kontrolami (Arinami et al., 1997).

### 3.3 **Příklady dalších polymorfismů v *DRD2* genu**

SNP rs1801028 je missense variantou 960C/G v exonu 7 genu *DRD2* (Dubertret et al., 2004), která může změnit fyziologii a funkci receptoru D2 (Yao et al., 2015). Jiný polymorfismus, rs6277, nacházející se také v exonu 7 genu *DRD2*, mění strukturu mRNA, což vede ke snížení stability a translace mRNA a výrazně mění dopaminem indukovanou up-regulací exprese *DRD2* (Duan et al., 2003).

## **4. Neurogení onemocnění související s dopaminem**

### **3.1 Schizofrenie**

Schizofrenii označujeme závažné duševní onemocnění, kdy dochází k rozpolcení duševního stavu. Patří mezi nejčastěji se vyskytující chronické psychózy, přičemž postihuje asi jednoho člověka ze sta (Long, 2006). Od jiných psychických poruch se odlišuje neobyčejnou rozmanitostí příznaků a proto se její diagnostika stává velmi obtížnou. Lidský tvor je osobností přísně individuální, proto se schizofrenie projevuje u každého nemocného originálně. Mimořádnou roli při této chorobě hraje čas, bývá to nemoc v pohybu, postupující a měnící se v čase (Kučerová, 2010). Zvýšená hladina dopaminu v synapsích v centrální nervové soustavě bývá příčinou změn v chování nemocných (Martínková et al., 2018).

Společným znakem ve většině případů schizofrenie je iracionální chování a myšlení, často se mísící i s jinými projevy, které jsou úplně přirozené. Například jedinec se chová normálně, rozumně, ale může být přesvědčen, že jeho myšlení ovládají rentgenové paprsky, vysílané z radiátorů. Jiný pacient se chová abnormálně, mluví pomalu a váhavě, má neupravený vzhled, doprovází ho deprese (Long, 2006). Schizofrenie se považuje za jednu z nejkritičtějších psychiatrických nemocí na světě. Lidé s tímto onemocněním mají výrazně předčasnou úmrtnost (Crump et al., 2013).

#### **3.1.1 Příznaky schizofrenie**

Schizofrenie se vyznačuje různými poruchami. Patří mezi ně: porucha vnímání – halucinace, iluze, porucha myšlení – bludy, porucha kognitivních funkcí (pozornost, koncentrace, paměť), porucha emotivity – úzkost, deprese (vedou k sebevraždám), citová otupělost a nepřiměřenost, apatie, porucha vůle – abulie, hypobulie (oslabená vůle), porucha spánku – nespavost, trhaný spánek, porucha usínání, porucha pudů, jednání, vůle – agresivita vůči okolí, jednání pod vlivem halucinací, porucha identity osobnosti – člověk se cítí být někým jiným a psychomotorický neklid – nadměrná tělesná aktivita, abnormální pohyby těla (Kučerová, 2010; NIH, 2021). Schizofrenik má zachovanou orientaci, intelekt, paměť a narušené pracovní, rodinné a sociální vztahy (Martínková et al., 2018).



Většina jedinců se schizofrenií není násilná. Pokud se ale pacienti se schizofrenií nechtějí léčit, zvyšuje se riziko sebepoškození a násilí vůči ostatním (NIH, 2021).

### ***3.1.2 Průběh nemoci***

Průběh nemoci může být různorodý a těžko předvídatelný. Někteří pacienti zažívají pouze jednu psychotickou epizodu. Jiní popisují střídavé období exacerbace a remise nebo postupné zhoršování funkčnosti od samého počátku s trvalými negativními příznaky. Včasné a přesné rozpoznání a prognóza, zejména pokud jde o progres onemocnění, umožňuje použití vhodných preventivních opatření (Šumskiene et al., 2018; Raballo et al., 2019).

### ***3.1.3 Věk nemocných***

Lidé se schizofrenií jsou obvykle diagnostikováni ve věku od 16 do 30 let po první epizodě psychózy. Včasné zahájení léčby se jeví jako klíčové. Postupné změny v myšlení, náladě a sociálním fungování se často objevují před první epizodou psychózy (NIH, 2021). Výskyt schizofrenie u mladších dětí je vzácný, pokud se objeví, tak ne dříve než po třetím roce života. Onemocnět touto chorobou může kdokoli, dítě, mladý nebo starý člověk, žena i muž (Long, 2006; NIH, 2021).

### ***3.1.4 Rizikové faktory***

Genetické zatížení představuje nejsilnější faktor ovlivňující vývoj schizofrenie. Dalšími vlivy, které se mohou také značně podílet na vzniku této choroby jsou životní prostředí a životní zkušenosti. Příkladem jsou nutriční problémy před narozením, výchova, život v chudobě, rozvod, úmrtí, ztráta zaměstnání, užívání návykových látek, stres apod. (Long, 2006). Lidé se schizofrenií mohou vykazovat rozdíly ve velikosti určitých oblastí mozku a nebo v jejich propojení (NIH, 2021). Velmi často však není přesná příčina onemocnění známá (Martínková et al., 2018).

### **3.1.5 Formy schizofrenie**

#### **4.1.1.1 Paranoidní schizofrenie**

Vyskytuje se nejčastěji u osob v pozdějším věku. Hlavními symptomy jsou bludy, sluchové halucinace, porucha řeči, vůle, vnímání a nálady. Pacient má představu, že je někým pronásledován nebo se domnívá, že ho lidé ohrožují (Raboch et al., 2012).

#### **4.1.1.2 Katatonní schizofrenie**

Velmi vzácná forma. Typickým znakem je porucha pohybů, buď částečná nebo úplná, někdo se nepohne i několik let. Příčinou narušené motoriky bývá sluchová halucinace. Našeptávající hlasy nedovolují nemocným se hýbat (Kučerová, 2010).

#### **4.1.1.3 Simplexní schizofrenie**

První projevy onemocnění se mohou objevit již v patnácti letech. Do příznaků se zahrnuje porucha myšlení, citová otupělost, neschopnost prožívat nějaké potěšení a ztráta vůle (Kučerová, 2010).

#### **4.1.1.4 Hebefrenní schizofrenie**

K odhalení choroby dochází u mladých osob do dvaceti let. Jejimi příznaky bývají částečné bludy a halucinace, chování je lehkomyšlné a nevyzpytatelné, myšlení chaotické a zvláštní, nálada neúměrná a emočně plochá, řeč nesouvislá. Dotyčný zanedbává své povinnosti, vyčleňuje se ze společnosti, působí komplexně jako podivín (Raboch et al., 2012).

#### **4.1.1.5 Nediferencovaná schizofrenie**

Vyznačuje se souborem symptomů, které se nedají zařadit k žádné jiné formě schizofrenie. Mohou zde i existovat kombinované příznaky paranoidní, hebefrenní a katatonní schizofrenie (Kučerová, 2010).

#### **4.1.1.6 Reziduální schizofrenie (chronická)**

Pacienti mají pouze negativní symptomy, které znamenají ztrátu nebo snížení sociálních nebo emocionálních funkcí nebo dvě až více mírných poruch chování. Symptomy u tohoto potypu jsou mírnější než u ostatních typů a jedinci špatně odpovídají

na léčbu. Evidentně tu probíhá progresse z raného do pozdního stádia nemoci (Raboch et al., 2012; Moran, 2013).

### **3.1.6 Léčba schizofrenie**

Antipsychotika, léky určené k léčbě psychotických poruch, mají antipsychotické, antiagresivní a zklidňující účinky. Nedokážou psychózy vyléčit, mohou pouze zmírnit její příznaky. Nemocným to umožňuje ambulantní léčbu a mnohdy i návrat do normálního života (Martínková et al., 2018).

Dopaminový receptor D2 je lékovým cílem pro všechny léky používané k léčbě schizofrenie, které jsou v současnosti na trhu. Antipsychotika první a druhé generace jsou antagonisté dopaminového receptoru D2, zatímco léky třetí generace jsou částečnými agonisty nebo zkreslenými ligandy tohoto receptoru. Mnoho léků představuje antagonisty subtypů dopaminových receptorů podobných D2 (D3 a D4) (Luedtke et al., 2015).

Při použití antipsychotik v psychiatrických indikacích se dostaví účinek za 3–4 týdny. Zklidňující účinek u agresivního pacienta se dostaví rychle, již za 30 minut při intravenózním podání. Léčba bývá dlouhodobá. Po první epizodě nemoci trvá 2 roky, po druhé 4–5 let. Dlouhodobé užívání antipsychotik snižuje riziko návratu choroby. Léky se vysazují postupně (Martínková et al., 2018).

### **3.1.7 Nežádoucí účinky antipsychotik**

Lidé reagují na antipsychotické léky různými způsoby. Mnoho osob užívajících antipsychotická léčiva má vedlejší účinky, jako je zvýšená tělesná hmotnost, sucho v ústech, neklid, ospalost, zácpa, neostré vidění, poruchy menstruace, sexuální poruchy (Martínková et al., 2018; NIH, 2021).

Schizofrenici bývají vystaveni většímu riziku diabetu, chronické obstrukční plicní nemoci (CHOPN), chřípce nebo pneumonii (Crump et al., 2013).

### **3.1.8 Psychosociální léčba**

Psychosociální léčba pomáhá lidem najít řešení každodenních problémů a zvládat příznaky při školní docházce, práci a vytváření vztahů. Tato léčba se často používá společně s antipsychotickými léky. Lidé, kteří se účastní pravidelné psychosociální léčby, mají menší pravděpodobnost, že se příznaky znovu objeví nebo budou hospitalizováni (Raboch et al., 2012).

### ***3.1.9 Koordinovaná specializovaná péče***

Programy koordinované specializované péče (CSC) jsou programy zaměřené na zotavení pro lidi s první epizodou psychózy a nebo časným stádiem schizofrenie. Zdravotničtí pracovníci a specialisté spolupracují jako tým. CSC zahrnuje psychoterapii, medikaci a podporuje vzdělávání pacienta i jeho práci, ale i edukaci a podporu rodiny. Léčebný tým úzce spolupracuje s jednotlivcem tak, aby rozhodoval o léčbě, přičemž co nejvíce zapojuje členy rodiny. Ve srovnání s typickou péčí je CSC účinnější při snižování symptomů, zlepšování kvality života nemocných a zvyšuje jejich zapojení do práce nebo studia (NIH, 2021).

## 5. Neurodegenerativní onemocnění

Neurodegenerativní poruchy bývají charakterizovány progresivní ztrátou selektivně zranitelných populací neuronů, což kontrastuje s vybraným statickým úbytkem neuronů v důsledku metabolických nebo toxických poruch (Dugger a Dickson, 2017). Neurony mají ve srovnání s jinými buňkami velmi omezenou schopnost obnovy. Odumřelé buňky nejsou nahrazovány novými a ztráta je tedy trvalá. Úbytek nervových buněk vyvolá změny funkcí centrálního nervového systému spojené s demencí (Martínková et al., 2018). Neurodegenerativní onemocnění lze klasifikovat podle primárních klinických znaků (např. demence, parkinsonismus nebo onemocnění motorických neuronů), anatomické distribuce neurodegenerace (např. frontotemporální degenerace, extrapyramidové poruchy nebo spinocerebelární degenerace) nebo na základě hlavních molekulárních abnormalit (Dugger a Dickson, 2017).

### 5.1 Demence

Demencí označujeme získaný klinický syndrom, při kterém kognitivní úroveň člověka výrazně klesá, a tím zasahuje do jeho schopnosti vykonávat činnosti související s povoláním, rodinou, sociální interakcí a každodenním životem. Příčinou demence může být odumírání neuronů v důsledku špatného prokrvení centrálního nervového systému tzv. cévní multiinfarktová demence nebo je demence spojena s nemocemi jako Alzheimerova nebo Parkinsonova choroba (Martínková et al., 2018). Celosvětová prevalence demence se odhaduje na 7 % v populaci starší 65 let, s mírně vyšší prevalencí (8–10 %) v rozvinutých zemích. Důvodem je delší délka života v těchto zemích (Prince et al., 2013; Jia et al., 2020). Se zvyšujícím se stárnutím populace se předpokládá, že tento stav přinese světu obrovskou ekonomickou zátěž vzhledem k jeho vysoké prevalenci (Gale et al., 2018).

Demence se dělí především do dvou odlišných kategorií, a to na neurodegenerativní a neneurodegenerativní demenci (Gale et al., 2018). Mezi běžně se vyskytující typy neurodegenerativní demence patří Alzheimerova choroba (AD), frontotemporální lobární degenerace (FTLD), demence s Lewyho tělísky (DLB) a Parkinsonova choroba (PD). Kromě expozice úrazovým faktorům je v patogenezi neurodegenerativní demence velmi důležitý i dlouhodobý nebo závažný nedostatek protektivních faktorů (Martens a Hildebrand, 2021).

Progranulin (PGRN), také známý jako proepitelin (PEPI), prekurzor granulínu-epitelinu (GEP), akrogranin nebo růstový faktor odvozený od PCDGF (PC cell-derived

growth factor), je glykosylovaný protein (Bateman a Bennett, 2009), který je exprimován hlavně v neuronech a mikroglíích v mozku (Almeida et al., 2011). V roce 2006 bylo zjištěno, že haploinsuficience indukovaná mutacemi v genu GRN je jednou z hlavních příčin FTLD (Baker et al., 2006; Cruts et al., 2006). Tato studie podnítila širokou pozornost ke zkoumání klinického významu PGRN. Nyní je důležitá role PGRN při neurodegenerativní demenci široce uznávána pro jeho neuroprotektivní protizánětlivé účinky (Martens a Hildebrand, 2021). Dále podporuje přežití neuronů a růst neuritů (Van Damme et al., 2008) a podílí se také na regulaci lysozomální funkce (Tanaka et al., 2017; Galimberti et al., 2018).

### **5.1.1 Alzheimerova choroba**

Alzheimerova choroba (AD) je nejčastěji se vyskytujícím typem demence. Jedná se o závažné progresivní a nezvratné neurodegenerativní onemocnění končící smrtí (Zvěřová, 2017; Jarošová et al., 2022). Choroba se projevuje progresivní ztrátou paměti a rozpoznávacích funkcí, nejvíce bývá postižena krátkodobá paměť (Mačák et al., 2012). Včasná léčba může průběh nemoci pouze zpomalit a udržet pacienty ve nepostupujících stádiích demence, nikoliv je vyléčit (Zvěřová, 2017). Nemocní přežívají obvykle asi 10 let od diagnózy, která se stanovuje na základě psychologických testů. Podle odhadů Světové zdravotnické organizace (WHO) se AD celosvětově podílí na 60–70 % případů demence (Martínková et al., 2018).

#### **5.1.1.1 Příznaky AD**

K příznakům onemocnění patří porucha paměti, prostorové orientace, ztráta intelektuálních a sociálních dovedností, narušení cyklu spánku/bdění (Martínková et al., 2018). Poruchy spánku patří mezi jednu z nejčastějších poruch chování u osob s AD, přičemž 25 % až 50 % má velké problémy se spánkem a téměř 75 % spí po delší dobu během dne (David et al., 2010). Projevuje se zde i emocionální labilita v podobě úzkosti, deprese a agresivity (Martínková et al., 2018). Ačkoli je Alzheimerova choroba obvykle považována za kognitivní (poznávací) poruchu, téměř u všech lidí s diagnózou AD se v určité fázi onemocnění rozvinou neuropsychiatrické symptomy (NPS). Populační studie ukazují, že frekvence NPS je mnohem vyšší u lidí s AD a mírnou kognitivní poruchou (MCI) než v běžné populaci (Lyketsos et al., 2002; Geda et al., 2008).

Ze všech NPS jsou deprese a apatie nejčastěji pozorovanými příznaky u lidí s MCI a časnou AD, ačkoli výskyt verbálního a fyzického neklidu je také častý ve všech fázích

MCI a AD. Jak nemoc postupuje, bludy, halucinace a agrese se stávají postupně běžnějšími, zatímco apatie je nejtrvalejší a nejčastější NPS ve všech fázích AD. Kromě toho jsou cirkadiální rytmy spánku a bdění přehnané ve srovnání s fázovými posuny spojenými s normálním stárnutím (Žigorová, 2011).

Demence Alzheimerova typu je také spojena s poruchami řeči, které představují důležitý prvek pro stanovení diagnózy. Přesto bývá tento příznak často přehlížen vzhledem k výraznějšímu postižení paměti a exekutivních funkcí (Žigorová, 2011). Nejčastěji jde o poruchy paměti v různých složkách, kdy se objeví zapomětlivost, ztrácení věcí, nepoznávání přátel, neschopnost zapamatovat si nové a jednoduché věci. Intelekt postupně deterioruje (Vavrušová, 2012).

### **5.1.1.2 Průběh nemoci AD**

Onemocnění začíná pomalu, plíživě. Zpočátku se objeví změny, kterých si dříve všimne okolí než sám postižený (Vavrušová, 2012). Alzheimerova choroba probíhá v sedmi fázích. Fáze 1 – žádné poškození, fáze 2 – velmi mírný pokles, u osoby dochází k výpadkům paměti, ale lékařská prohlídka nezjistí žádné symptomy. Tyto příznaky mohou být způsobeny změnami souvisejícími s věkem, nikoli AD. Fáze 3 – mírný kognitivní pokles, ostatní si začnou všimnout potíží s pamětí. AD může být diagnostikována u některých, ale ne u všech lidí s mírným kognitivním poklesem. Fáze 4 až 7 – člověk přechází od středního do těžkého poklesu kognice. Progrese a průběh AD se u jednotlivců značně liší (Watwood, 2011).

Pacienti s AD nejsou schopni vykonávat své zaměstnání. V průběhu onemocnění ztrácejí i schopnost vykonávat běžné denní činnosti (Höschl et al., 2004). V terminálních stádiích je nemocný zcela nesamostatný a je odkázán na pečovatelskou službu. Poměrně často se v průběhu choroby přidružují i poruchy nekognitivních funkcí, k nimž patří poruchy chování, emotivity a spánku. Vyskytují se poruchy bez agresivity nebo s projevy verbální nebo brachiální agresivity. Časté je toulání, motání, bezcílné bloudění, neuvážené odchody a útoky z domu. Může docházet k depresivním stavům (Vavrušová, 2012).

Prognostický význam NPS v procesu demence AD by neměl být podceňován. Lidé s MCI progredují do AD mnohem rychleji, pokud mají depresi, zatímco u lidí s mírnou poruchou chování je pravděpodobnější, že se u nich rozvine demence, i když mají normální kognici (Taragano et al., 2009). Agitovanost, apatie, úzkost, disinhibice, euforie

a podrážděnost mohou mít silnější asociace s incidentem MCI než deprese (Geda et al., 2011).

### **5.1.1.3 *Formy AD a věk nemocných***

AD se dělí na formu s časným začátkem a pozdním začátkem. Forma s časným začátkem je presenilní, příznaky se projeví před 65. rokem života (Höschl et al., 2004). V tomto časovém období se vyskytuje nemoc u žen a mužů ve stejném poměru (Martínková et al., 2018). Ve druhé skupině s pozdním začátkem AD se příznaky onemocnění objeví po 65. roce života včetně (Höschl et al., 2004). V tomto případě je výskyt dvakrát častější u žen než u mužů (Martínková et al., 2018). AD můžeme rozlišovat na základě dědičnosti na sporadickou a dědičnou formu. U formy sporadické nejsou zkoumány genetické mutace. Dědičná forma se dále rozděluje na čtyři typy: AD1 vychází z mutace genu pro APP na chromozomu 21 (způsobuje formu s pozdním začátkem), AD2 vychází z přítomnosti genu pro ApoE4 na chromozomu 19 (způsobuje formu s pozdním začátkem), AD3 je spojená s defektem v genu pro membránový protein presenilin-1 na chromozomu 14 (způsobuje formu s časným začátkem) a AD4 s defektem v genu pro membránový protein presenilin-2 na chromozomu 1 (způsobuje formu s časným začátkem) (Zvěřová, 2017).

### **5.1.1.4 *Rizikové faktory AD***

Na vzniku AD mají vliv genetické faktory i faktory prostředí (Šútovský et al., 2012). Z faktorů prostředí to mohou být viry, toxiny nebo stres (Mačák et al., 2012). Gen APOE ve většině případů úzce souvisí s výskytem AD (Kanatsu a Tomita, 2017). Dalšími zapojenými geny jsou presenilin-1, presenilin-2 a mutace v  $\beta$  amyloidovém prekurzorovém proteinu (Van Cauwenberghe et al., 2016). Díky mutacím ve výše zmíněných genech se člověk stává náchylným k AD (Khan et al., 2020).

### **5.1.1.5 *Farmakologická léčba AD***

Ve farmakologické léčbě AD se uplatňují léky, které zmírňují symptomy, zpomalují progresi nemoci a usnadňují péči o pacienty. Léčiva, jež zlepšují pozornost i paměťové schopnosti, se označují jako kognitiva. Tyto látky působí zejména v centrálním nervovém systému. Další skupinu chemicky různorodých léčiv tvoří nootropika, která zlepšují okysličení a využití glukózy v mozkových buňkách a podporují i prokrvení mozku. Užívají se při poruchách pozornosti a paměti, ale jejich terapeutický přínos u AD nebyl



potvrzen (Martínková et al., 2018). V současnosti se nevyskytuje žádná kauzální terapie AD (Zvěřová, 2017).

#### **5.1.1.6 Nefarmakologická léčba**

Do nefarmakologické léčby můžeme zařadit různé rehabilitační programy např. počítačové, které se zaměřují na trénink kognitivních a nekognitivních funkcí pacientů. Úkolem je udržet nemocného co nejdéle zapojeného do chodu domácnosti a sociálních aktivit. Při léčbě AD dochází k propojení farmakologické a nefarmakologické léčby (Zvěřová, 2017).

#### **5.1.2 Parkinsonova nemoc**

Parkinsonova nemoc (PD) je druhá nejčastější neurodegenerativní pohybová porucha, způsobená patologickou ztrátou neuronů produkujících dopamin v *substantia nigra pars compacta*. Příčinou je přítomnost intraneuronálních agregátů nazývaných Lewyho tělíska (LB), která jsou obohacena o  $\alpha$ -synuklein (SNCA) (Dauer et al., 2003; Dexter a Jenner, 2013; Williams-Gray a Worth, 2016). Lewyho tělíska jsou acidofilní kulovité útvary velikosti jádra, obklopené úzkým světlým dvorcem, složené z jemných filament a z granulárního materiálu. Tělíska mohou být přítomna v ostatních subkortikálních oblastech mozku i v kůře mozku jako samostatné útvary (Mačák et al., 2012).

##### **5.1.2.1 Příznaky PD**

Onemocnění se projevuje souborem motorických příznaků tzv. parkinsonismem zahrnujícím bradykinezi, klidový třes, rigiditu, a posturální nestabilitu, které jsou běžně připisovány ztrátě striatálního dopaminu, stejně jako nemotorické rysy včetně deprese a kognitivní poruchy (Ghandi et al., 2005; Poewe, 2008; Kim a Choi, 2010; Dexter a Jenner, 2013; Kalia a Lang, 2015; Postuma et al., 2015; Williams-Gray a Worth., 2016).

Přestože je Parkinsonova nemoc definována jako pohybová porucha, bývá spojena s řadou nemotorických symptomů (NMS) prakticky u všech pacientů. Jedná se o hyposmni, zácpu, močové dysfunkce, ortostatické hypotenze, ztráty paměti, deprese, bolesti a poruchy spánku (Tolosa et al., 2021).

NMS pozorujeme intenzivně a opakovaně v raných stádiích. Pro některé pacienty to může být značně znepokojující. Studie naznačují, že bývají ve většině případů mírné, jejich závažnost se zvyšuje až s délkou onemocnění (Pont-Sunyer et al., 2015; Zis

et al., 2015). NMS představují ve vývoji Parkinsonovy choroby významnou zátěž, kdy snižují kvalitu života (Barone et al., 2017). Zejména pokles kognitivních funkcí a halucinace jsou příčinou hospitalizace i institucionalizace pacienta (Safarpour et al., 2015).

### **5.1.2.2 Průběh nemoci PD**

Nemoc se vyvíjí plíživě a její příznaky se mohou zaměňovat za normální projevy stárnutí. Na začátku postihují zdánlivě jen jednu polovinu těla, s postupem onemocnění však vždy zasáhnou obě části. Nejvíce nápadným se stává třes rukou, který ustává při cíleném pohybování končetinou. Pokud se končetina nachází v klidu, třes je patrný. Svaly bývají nápadně ztuhlé, zpočátku se objevuje bolest v okolí ramen a problémy po ranním vstávání. Následuje snížení pohyblivosti tváře a mimiky, obličej začíná mít maskovitý vzhled. Díky omezené pohyblivosti obličejových svalů dochází k těžko srozumitelné řeči. Chůze se s postupem nemoci stává obtížnou. Člověk trpící Parkinsonovou nemocí vytváří malé krůčky s nahrbením dopředu, přičemž má narušeny automatické obranné pohyby rukou. Proto může docházet k těžkým pádům. V prvních fázích není intelekt narušen, ale po několika letech může pacient ztratit schopnost řešit složité úlohy. V této fázi jsou již všechny tělesné pohyby obtížné (Long, 2006; Mačák et al., 2012).

### **5.1.2.3 Věk nemocných**

PD nejčastěji postihuje osoby ve věku 60 let a starší. Incidence se pohybuje od ~ 150 do 200 případů na 100 000 jednotlivců, přičemž se vyskytuje více u mužů než u žen (Schrag et al., 2000; Popat et al., 2005; Dexter a Jenner, 2013).

V odhadech založených na využití zdravotní péče se incidence PD pohybuje od 5 do více než 35 nových případů ročně na 100 000 (Twelves et al., 2003). Incidence PD se zvyšuje 5 až 10krát od šesté do deváté dekády života. Prevalence PD se také zvyšuje s věkem. V metaanalýze čtyř severoamerických populací se prevalence zvýšila z méně než 1 procenta mužů a žen ve věku 45–54 let na 4 procenta mužů a 2 procenta žen ve věku 85 let nebo starších (Marras et al., 2018). Mortalita není ve srovnání s nepostiženými jedinci v první dekádě po diagnostikování PD zvýšená, ale zvyšuje se později (Pinter et al., 2015). Jak globální populace stárne, očekává se, že prevalence PD dramaticky vzroste a v příštích dvou desetiletích se zdvojnásobí (Dorsey et al., 2018). Spolu s tímto nárůstem bude eskalovat společenská a ekonomická zátěž PD, pokud nebudou identifikovány účinnější způsoby léčby nebo prostředky prevence (Kaltenboeck et al., 2012).

#### **5.1.2.4 Rizikové faktory PD**

Věk patří k nejvýznamnějším rizikovým faktorům pro rozvoj Parkinsonovy choroby. Muži jsou náchylnější než ženy s poměrem prevalence přibližně 3:2. Riziko onemocnění je spojeno se silnou genetickou zátěží. V současnosti se identifikuje více než 90 rizikových míst v genomu (Blauwendraat et al., 2019). Dále bylo zjištěno, že v patogenezi Parkinsonovy choroby u různých populací hraje roli několik potenciálně modifikovatelných faktorů prostředí např. pesticidy, látky znečišťující vodu a behaviorální faktory např. užívání tabáku, spotřeba kofeinu nebo poranění hlavy (GBD, 2019).

#### **5.1.2.5 Léčba PD**

I když degenerativní změny mozkových buněk nelze zvrátit, podáváním léků, pravidelným cvičením a vhodnou výživou je pacientovi umožněno vést vcelku normální život nejméně po deset let od počátku choroby. Následně se nemoc již těžko ovlivňuje (Long, 2006).

K neúčinnějším přípravkům v léčbě PD se řadí L-dopa, prekurzor dopaminu. Ve tkáních je L-dopa dekarboxylována dopadekarboxylázou na dopamin. Dopamin sám neprochází hematoencefalickou bariérou, L-dopa však ano. L-dopa se dobře absorbuje z trávicího traktu. Bohužel skutečných účinků při podání samotné L-dopy dosáhne pouze 1% podané dávky, protože bývá přeměněna na dopamin v ostatních tkáních. Proto se L-dopa musí vždy podat s inhibitory COMT (Martínková et al., 2018). L-dopa obnovuje zásoby dopaminu v mozku. Dopamin patří k jednomu z mnoha nervových přenašečů, vytváří se v buňkách bazálních ganglií a zmírňuje příznaky onemocnění (Long, 2006).

Inhibitory COMT představují léky, které se užívají v kombinaci s L-dopou. COMT je enzym přeměňující L-dopu na neúčinný metabolit (Martínková et al., 2018). Agonisté dopaminu působí přímo na dopaminových receptorech v bazálních gangliích. Při dlouhodobém podávání se oddalují poruchy hybnosti (Martínková et al., 2018).

#### **5.1.2.6 Další způsoby léčby PD**

Do bazálních ganglií lze zasáhnout i chirurgicky. Provádějí se stereotaktické neurochirurgické operace, které nepoškodí jiné části mozku. Tyto operace mohou zmírnit třes pacientů, ale ostatní příznaky ovlivní jen málo. Dále se zkoušejí realizovat kontroverzní operace, při nichž se do poškozených oblastí mozku transplantuje mozková

tkáň bazálních ganglií. Tato tkáň zřejmě obnoví normální činnost těchto mozkových oblastí (Long, 2006).

## **6. Cíle práce a výzkumné otázky**

### **6.1 Cíl práce**

- Vypracování odborné rešerše na dané téma. Praktické zvládnutí metod molekulární biologie a, tzn. izolace DNA, metody PCR-RFLP a gelové elektroforézy.
- Analýza získaných výsledků a jejich vyhodnocení. V rámci praktické části bude vyšetřeno min. 30 vzorků DNA.

### **6.2 Výzkumné otázky**

- Jaký je výskyt konkrétních genotypů rs1800497 a rs1799732 u testovaných pacientů a jak mohou konkrétní genotypy ovlivnit celkový metabolismus dopaminu a následně i uvedenou diagnózu?

## 7. Metodika

Praktická část bakalářské práce probíhala v laboratoři GENLABS s.r.o. pod vedením Mgr. Dagmar Riegert Bystřické Ph.D.

### 7.1 Získávání a odběr vzorků

Ke stanovení polymorfismů TaqIA (rs1800497) a -141C Ins/Del (rs1799732) v genu *DRD2* byly použity primární vzorky získané izolací DNA z bukálního stěru a periferní krve, které byly vyšetřeny metodou PCR-RFLP (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism). Z 89 vyšetřených vzorků tvořily bukální stěry 28,09% a periferní krev 71,91%.

Pacientům se schizofrenií byla předána ošetřujícím lékařem odběrová souprava pro bukální stěr (*Isohelix SK1 Buccal Swab*) spolu s informovaným souhlasem, ve kterém byli seznámeni s obsahem studie a měli možnost rozhodnout se o nakládání se vzorkem po skončení výzkumu.

Před odběrem bukálního stěru bylo důležité přibližně hodinu před odběrem nic nejíst, nepít (kromě vody), nežvýkat a neprovádět ústní hygienu. Ruce by měly být důkladně umyté a vydesinfikované, aby nedošlo ke kontaminaci vzorku. Samotný odběr by měl být prováděn opakovanými pohyby dolů a nahoru z povrchu vnitřních stran obou lící v dutině ústní. Následně byl stěr zaslán zpět do laboratoře, kde byla provedena analýza.

Vzorky od pacientů s Alzheimerovou chorobou pocházely z Alzheimercentra a Seniorcentra v Českých Budějovicích. Ve všech případech se jednalo o vzorky periferní krve, které klientům odebral zdravotní personál přímo v centru a do laboratoře byly následně převezeny spolu s příslušnými dokumenty (se žádankou pro genetické vyšetření a s informovaným souhlasem).

Tato práce navazuje na magisterskou práci Lindy Jandové, která se zabývala možnou asociací polymorfismů v *DRD2* genu s lidským chováním (Jandová, 2019).

## 7.2 Izolace DNA

Izolace DNA byla provedena z bukalního stěru a plné krve pomocí izolačního kitu GeneAll ExGene™ Clinic SV mini (GeneAll Biotechnology). Použité reagensie pro izolaci z bukalního stěru jsou uvedeny v tabulce 1 a pro izolaci z periferní krve v tabulce 2.

### 7.2.1 Izolace DNA z bukalního stěru

Tabulka 1: Reagensie použité při izolaci DNA z bukalního stěru na jednu izolaci

Reagensie	Potřebný objem na 1 reakci (μl)
Proteináza K	25
BL pufr	300
100% ethanol	300
BW pufr	600
TW pufr	700
AE pufr	50

(Zdroj: vlastní)

Nejprve byly potřebné reagensie vytemperovány na pokojovou teplotu. Poté bylo do každé zkumavky s bukalním stěrem napipetováno 25 μl proteinázy K a 300 μl BL pufru. Vzorky byly promíchány pomocí vortexu (*Microspin FV-2400; BioSan*) a inkubovány v termostatu 20 minut při 56 °C (*Dry Block Thermostat TDB-120; BioSan*). Po uplynulé době byly vzorky krátce stočeny (*Centrifuge 5415 R; Eppendorf*), následně bylo přidáno 300 μl 100% ethanolu, směs byla zvortexována v pulzech a krátce stočena. Dále se stěrová tyčinka v nádobě stlačila z obou stran špičkou, aby došlo k uvolnění co největšího množství DNA do tekutiny a poté byla veškerá směs přenesena na kolonku. Vzorky byly centrifugovány 1 minutu při >8000 rpm. Použitá sběrná zkumavka s eluátem byla vyměněna za novou a na kolonku bylo napipetováno 600 μl BW pufru. Směs byla centrifugována 1 minutu při >8000 rpm a sběrná zkumavka opět vyměněna za novou. Na kolonku bylo přidáno 700 μl TW pufru a opět byla směs centrifugována 1 minutu při >8000 rpm. Supernatant ze sběrné zkumavky se vylil na buničinu a kolonka se vrátila do sběrné zkumavky, poté se centrifigovalo již při plných otáčkách (13 200 rpm) 1 minutu, aby se odstratnily zbytky promývacího pufru. Do řádně popsaných 1,5 ml mikrozkuavek s víčkem byla vložena kolonka a na její střed bylo naneseo 50 μl AE pufru. Posléze se zkumavky 5 minut inkubovaly při 56 °C a centrifigovaly znovu při nejvyšších (13 200 rpm) otáčkách 1 minutu. Získaný objem ze zkumavky se napipetoval znovu na střed kolonky, inkuboval se při 56°C po dobu 5 minut a byl opět centrifigován

při nejvyšších otáčkách. Zkumavka s vyizolovanou DNA byla označena štítkem s potřebnými informacemi.

### 7.2.2 Izolace DNA z plné krve

Tabulka 2: Reagencie při izolaci DNA z plné krve na jednu izolaci

Reagencie	Potřebný objem na 1 reakci (μl)
Proteináza K	20
BL pufr	200
100% ethanol	200
BW pufr	600
TW pufr	700
AE pufr	50

(Zdroj: vlastní)

Do sterilní a správně popsané 1,5 ml zkumavky bylo napipetováno 200 μl periferní krve, 20 μl proteinázy K a 200 μl BL pufru. Obsah zkumavek byl poté promíchán pomocí vortexu (*Microspin FV-2400; BioSan*), krátce stočen a inkubován 20 minut při 56 °C (*Dry Block Thermostat TDB-120; BioSan*) a znovu krátce stočen (*Mikrospin 12; BioSan*). Následně bylo přidáno 200 μl 100 % ethanolu, vortexovalo se v pulsech a opět krátce stočilo. Získaný objem byl přenesen na kolonku a centrifugován 1 minutu při >8000 rpm, použitá sběrná zkumavka byla vyměněna za novou. Na kolonku se napipetovalo 600 μl BW pufru a centrifugovalo se 1 minutu při >8000 rpm. Sběrná zkumavka se nahradila novou zkumavkou. Krok s BW pufrům se opakoval, dokud supernatant nebyl průhledný. Po zprůhlednění supernatantu se dále postupovalo stejným způsobem jako u bukálního stěru.

### 7.3 Měření koncentrace DNA pomocí fluorometru

Do nových popsaných mikrozkušavek (0,5 ml) bylo napipetováno 198 μl kvantifikačního roztoku (AccuGreen™ Broad Range dsDNA Quantitation Solution), který byl vytemperován na laboratorní teplotu. Získaná DNA byla přidána po 2 μl do každé mikrozkušavky. Mikrozkušavky byly krátce stočeny (*Mikrospin 12; BioSan*), zvortexovány (*Microspin FV-2400; BioSan*) a inkubovány 2 minuty při laboratorní teplotě. Po stanovené době byla DNA změřena pomocí přístroje Quibit Fluorometr 2.0 (*Invitrogen-Thermo Fisher Scientific*).



## 7.4 Analýza polymorfismů

Vybrané polymorfismy rs1800497 (*TaqIA*) a rs1799732 (-141C Del/Ins) byly zanalyzovány pomocí PCR-RFLP. Pro PCR byl použit amplifikační kit 2x PCRBIO HS Taq Mix (*PCR Biosystems*) pro polymorfismus *TaqIA* a My Taq™ Red DNA Polymerase (*Bioline*) pro polymorfismus -141C Del/Ins.

### 7.4.1 Analýza polymorfismu rs1800497 (*TaqIA*)

Tabulka 3: Složení reakčního mixu pro 1 reakci

Reagencie	Objem (μl) na 1 reakci
2x PCRBio HS Taq Mix Red	12,5
DMSO (100%)	1,25
Forward primer (20 pmol)	1
Reverse primer (20 pmol)	1
DNA	2
dH <sub>2</sub> O	7,25
<b>Celkový objem na 1 reakci:</b>	<b>25 μl</b>

(Zdroj: vlastní)

Reagencie, které uchovávané při – 20°C musely nejprve rozmraznout. Před použitím se řádně zvortexovaly a stočily. PCR mastermix byl míchán v chladícím stojánku v laminárním boxu (*ESCO PCR Cabinet*). Reakční mix pro potřebný počet reakcí, jehož složení je uvedeno v tabulce č. 3 byl připraven do 1,5 ml zkumavky. Po krátkém vortexu a stočení byla směs rozpipetována po 23 μl do 0,2 ml popsaných mikrozkušavek. Mimo laminární box se k reakčnímu mixu přidaly vždy 2 μl DNA izolátu. Zkušavky se opět krátce zvortexovaly, stočily a vložily do termocykleru (*MultiGene, Labnet*). Jako pozitivní kontrola sloužil vzorek, který se známým genotypem (jednalo se o heterozygota A1 A2) a k negativní kontrole byly přidány místo DNA 2 μl H<sub>2</sub>O. Celkový objem pro jednu reakci byl 25 μl.

#### 7.4.1.1 Primery pro amplifikaci *TaqIA* polymorfismu

Tabulka 4: Sekvence primerů pro polymorfismus *TaqIA*

Primery	Sekvence
Forward primer	5'-CCG TCG ACC CTT CCT GAG TGT CAT CA-3'
Reverse primer	5'-CCG TGA ACG GCT GGC CAA GTT GTC TA-3

(Zdroj: vlastní)

Pro detekci polymorfismu TaqIA byla použita metoda PCR-RFLP. Oligonukleotidové primery, uvedené v tabulce č. 4, použité k amplifikaci fragmentu o velikosti 310 bp pokrývajícího TaqIA polymorfismu genu *DRD2* byly převzaty z publikace (Riskind et al., 1991; Margo et al., 2006) PCR profil je uveden v tabulce č. 5.

Tabulka 5: Použitý reakční profil pro analýzu TaqIA polymorfismu

PCR reakce			
Počet cyklů	Druh cyklu	Teplota (°C)	Čas (s)
1	Denaturace	95	120
35	Denaturace	95	30
	Annealing	60	30
	Elongace	72	30
1	Finální elongace	72	300

(Zdroj: vlastní)

#### 7.4.2 Analýza polymorfismu rs1799732 (-141C Ins/Del)

Analýza polymorfismu -141C Ins/Del byla složitější než u předchozího polymorfismu a musela být optimalizována. Nejprve byl použit 2x PCR BIO HS Taq Mix (*PCR Biosystems*), avšak použití tohoto kitu nevedlo k úspěšné amplifikaci. Proto se reakce opakovala s jiným enzymem. Jednalo se o My Taq™ Red DNA Polymerase (*Bioline*). Složení jednotlivých reakčních mixů je uvedeno v tabulkách č. 6 a 7. Příprava reakčního mixu pro požadovaný počet reakcí probíhala stejně jako v případě TaqIA polymorfismu (viz kap.5.6.1) s rozdílem použitých primerů.

Tabulka 6: Složení reakčního mixu pro 1 reakci (2x PCR BIO HS Taq Mix)

Reagencie	Objem (μl) na 1 reakci
2x PCR Bio HS Taq Mix Red	12,5
DMSO	1,25
Forward primer (20 pmol)	1
Reverse primer (20 pmol)	1
DNA	2
DH <sub>2</sub> O	7,25
<b>Celkový objem na 1 reakci:</b>	<b>25 μl</b>

(Zdroj: vlastní)

Tabulka 7: Složení reakčního mixu pro 1 reakci (*My Taq<sup>TM</sup> Red DNA Polymerase*)

Reagencie	Objem (μl) na 1 reakci
My Taq <sup>TM</sup> DNA polymeráza (5U/μl)	0,2
5x My Taq Red Reaction Buffer	10
DMSO (100%)	2,5
Forward primer (20 pmol)	0,5
Reverse primer (20 pmol)	0,5
DH <sub>2</sub> O	34,3
DNA	2
<b>Celkový objem na 1 reakci:</b>	<b>50 μl</b>

(Zdroj: vlastní)

Příprava reakčního mixu probíhala v laminárním boxu (*ESCO PCR Cabinet*) v chladícím stojánku. Reakční mix pro požadovaný počet reakcí, jehož složení je uvedeno v tabulce č. 7, byl připraven do 1,5 ml zkumavky. Následně se zkumavka s reakčním mixem krátce zvortexovala, stočila. Do 0,2 ml popsaných PCR zkumavek byl reakční mix rozpipetován po 48 μl. Mimo laminární box byla přidána do každé zkumavky DNA o objemu 2 μl. PCR zkumavky se opět krátce zvortexovaly, stočily a vložily do termocykleru (*MultiGene, Labnet*). Jako pozitivní kontrola sloužil vzorek se známým polymorfismem 141C Ins/Del a k negativní kontrole byla přidána místo DNA H<sub>2</sub>O.

#### 7.4.2.1 Primery pro amplifikaci -141C Ins/Del polymorfismu

Tabulka 8: Sekvence primerů použitých pro analýzu polymorfismu - 141C Ins/Del

Primery	Sekvence
Forward primer	5'-ACT GGC GAG CAG ACG GTG AGG ACC C-3'
Reverse primer	5'-TGC GCG CGT GAG GTC GCC GGT TCG G-3'

(Zdroj: vlastní)

V tabulce 8 jsou uvedeny sekvence použitých oligonukleotidových primerů, které umožnily amplifikovat PCR produkt o velikosti 303 bp. (Polgar, 2017). Amplifikace DNA probíhala v termocykleru PCR (*MultiGene, Labnet*). Použitý reakční profil je zaznamenán v tabulce č. 9.

Tabulka 9: Použitý reakční profil pro analýzu -141C Ins/Del polymorfismu

PCR reakce			
Počet cyklů	Druh cyklu	Teplota (°C)	Čas (s)
1	Denaturace	95	300
35	Denaturace	95	30
	Annealing	63	30
	Elongace	72	30
1	Finální elongace	72	300

(Zdroj: vlastní)

#### 7.4.3 PCR produkty

Úspěšnost PCR amplifikace byla ověřena pomocí gelové elektroforézy, která umožnila vizualizaci získaných PCR fragmentů. Pro přípravu 4 % agarózového gelu bylo použito 50 ml TBE pufru (*Thermo Scientific*) a 4 agarózové tablety o celkové hmotnosti 2g (*Fast Gene Agarose Tablets, Nippon Genetics*). Takto připravený roztok byl vložen do mikrovlnné trouby a přerušovaně zahříván po dobu 2 minut. Do tekutého gelu se napipetovalo 5,5 µl fluorescenční barvy (*Midori Green Advanced DNA Station, Nippon Genetics*). Gel se s barvičkou následně promíchal a nalil do formy s hřebenem. Po ztuhnutí gelu byl hřeben odstraněn. Do vzniklých jamek bylo napipetováno dle potřeby 5 µl (v případě TaqIA) nebo 10 µl (v případě 144C Ins/Del) PCR reakce nebo 4 µl hmotnostního markeru 100 bp DNA ladder H3RTV (*Nippon Genetics*).

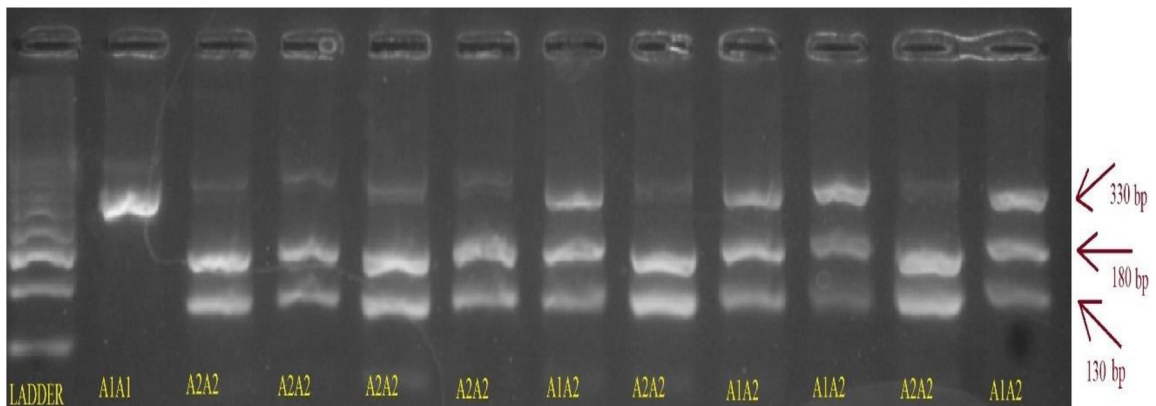
Elektroforéza probíhala 15 – 25 minut při 135 V (*Mupid®-One Electrophoresis System*). Pro odečtení velikosti získaných PCR fragmentů byl použit detekční systém Mupid™ LED Illuminator a fotografie gelu byla uložena přes paměťovou SD kartu do počítače. Výsledné PCR produkty měly velikost 310 bp pro TaqIA polymorfismus a 303 bp pro -141C Del/Ins polymorfismus.

#### 7.4.4 Restrikční štěpení TaqIA

V případě úspěšné amplifikace byla provedena restrikční analýza. Restrikční enzym byl připraven v chladícím stojanu a laminárním boxu (*ESCO PCR Cabinet*) do 0,2 ml zkumavky. Pro jednu reakci bylo použito vždy 2,5 µl pufru (*Thermo Scientific*) a 1 µl odpovídající 10 U enzymu TaqIA (*Thermo Scientific*). Restrikční enzym s příslušným puftrem o celkovém objemu 3,5 µl byl smíchán s 20 µl PCR produktu.

Restrikční štěpení probíhalo při 65 °C v termocykleru (*MultiGene, Labnet*) po dobu 4 hodin. Pro odečtení restrikčních fragmentů byl použit opět 4% agarózový gel. Gelová

elektroforéza probíhala 15-30 minut při 135 V. Možné výsledky restrikčního štěpení byly následující: homozygotní genotyp A1A1 odpovídal jenomu fragmentu o velikosti 310 bp, homozygotní genotyp A2A2 dvěma restrikčním fragmentům o délce 180 a 130 bp a heterozygotní genotyp A1A2 pak třem fragmentům o velikosti 310, 180 a 130 bp. Příklad restrikčního štěpení pro polymorfismus TaqIA je uveden na obrázku č. 3.



Obrázek 3: Příklad restrikčního štěpení pro TaqIA polymorfismus. Hmotnostní marker (ladder), je napipetován v první jamce. Jednotlivé genotypy jsou uvedeny pod jamkami.

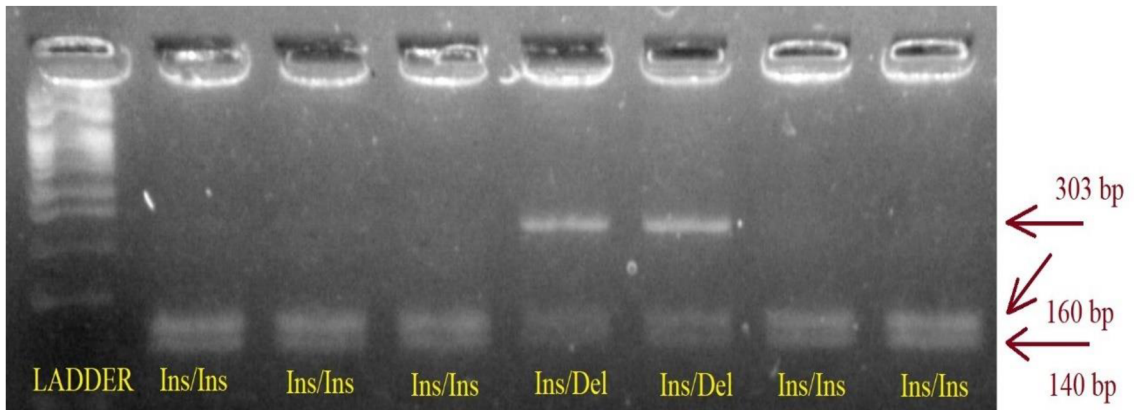
(Zdroj: vlastní)

#### 7.4.5 Restrikční štěpení -141C Ins/Del

Restrikční štěpení v případě polymorfismu -141C Ins/Del probíhalo velmi podobně jako u polymorfismu Taq1A (viz kapitola 7.4.4). Pro jednu reakci bylo použito 5  $\mu$ l pufru (*Thermo Scientific*) a 2  $\mu$ l (10U/ $\mu$ l) enzymu MvaI (*BstNI*) (*Thermo Scientific*). Ke každému PCR produktu o objemu cca 43  $\mu$ l bylo přidáno 7  $\mu$ l restrikčního enzymu s pufrům.

Restrikční štěpení probíhalo v termostatu (*Mini incubator, Labnet*) při 37°C nejméně jednu hodinu. Následovala gelová elektroforéza (použit 4% agarózový gel), která probíhala 15-40 minut při 135 V. Možné výsledky restrikčního štěpení byly odečteny pomocí detekčního systému *Mupid®-One Electrophoresis Systém*. Výsledné velikosti fragmentů a jim odpovídající genotypy byly následující: v případě homozygotního genotypu Ins/Ins vznikly fragmenty o velikosti 160 bp a 140 bp, v případě homozygotního genotypu Del/Del pak fragment o velikosti 303 bp, heterozygotní genotyp vykazoval tři

fragmety o velikosti 160 bp, 140 bp a 303 bp. Příklad restrikčního štěpení polymorfismu -141C Ins/Del je uveden na obrázku č. 4.



Obrázek 4: Příklad restrikčního štěpení pro polymorfismus -141C Ins/Del. Hmotnostní marker (ladder), je napipetován v první jamce. Odečtené genotypy jsou uvedeny pod jednotlivými jamkami.

(Zdroj: vlastní)

## 8. Výsledky

Datový soubor zahrnoval 89 testovaných jedinců, kteří byli rozděleni do tří skupin. V první skupině bylo 19 pacientů se schizofrenií a ve druhé skupině 25 pacientů s Alzheimerovou chorobou. Ve třetí skupině se vyskytovalo 45 zdravých jedinců, kteří sloužili jako kontrolní skupina. Příloha 1 bakalářské práce obsahuje tabulku s informacemi o jednotlivých testovaných subjektech a výsledky analýz.

Pro hodnocení výsledků byla použita deskriptivní statistika. Grafy byly zpracovány v programu Excel. Polymorfismy rs1800497 (Taq1A) a rs1799732 (-141C Ins/Del) byly pro tuto práci nově analyzovány u 35 jedinců, výsledky 54 jedinců byly převzaty z diplomové práce Lindy Jandové (Jandová, 2019).

Tabulka 10: Celkové počty jedinců a zastoupení pohlaví v jednotlivých skupinách

Pohlaví	AD		Schizofrenie		Kontrolní skupina	
	Počet jedinců	%	Počet jedinců	%	Počet jedinců	%
Žena	20	80	13	68,42	31	68,89
Muž	5	20	6	31,58	14	31,11
<b>Počet celkem</b>	25		19		45	

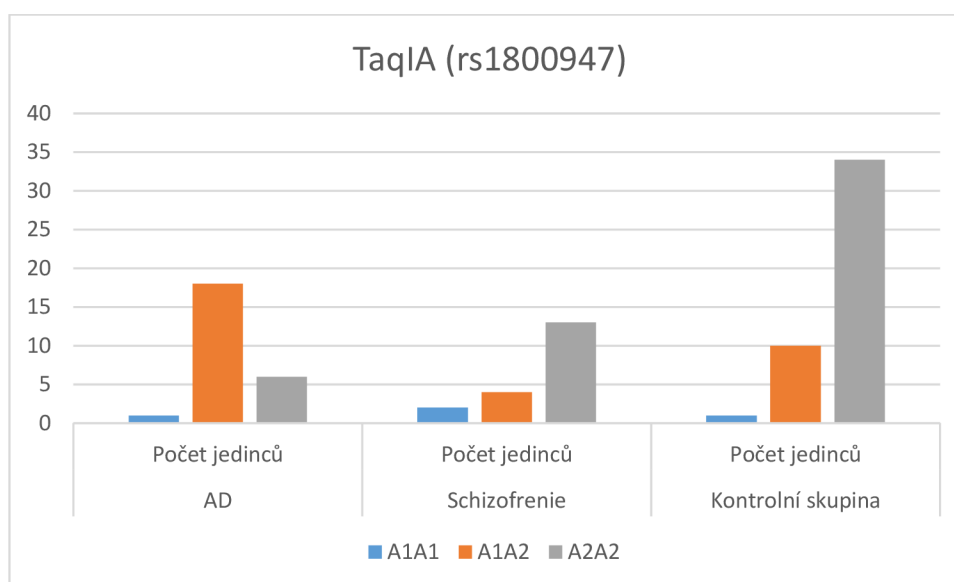
(Zdroj: vlastní)

Mezi testovanými na polymorfismy v *DRD2* genu se vyskytovali muži i ženy. Žen se nacházelo ve všech skupinách více než mužů. Počet a podíl žen a mužů je uveden v tabulce 10.

Tabulka 11: Zastoupení jednotlivých genotypů pro polymorfismus TaqIA u *DRD2* genu v testovaných skupinách

Genotyp	AD		Schizofrenie		Kontrolní skupina	
	Počet jedinců	%	Počet jedinců	%	Počet jedinců	%
A1A1	1	4	2	10,53	1	2,22
A1A2	18	72	4	21,05	10	22,22
A2A2	6	24	13	68,42	34	75,56
<b>Počet celkem</b>	25		19		45	

(Zdroj: vlastní)



Obrázek 5: Grafické znázornění genotypů podle jednotlivých skupin v polymorfismu TaqIA. (Zdroj: vlastní)

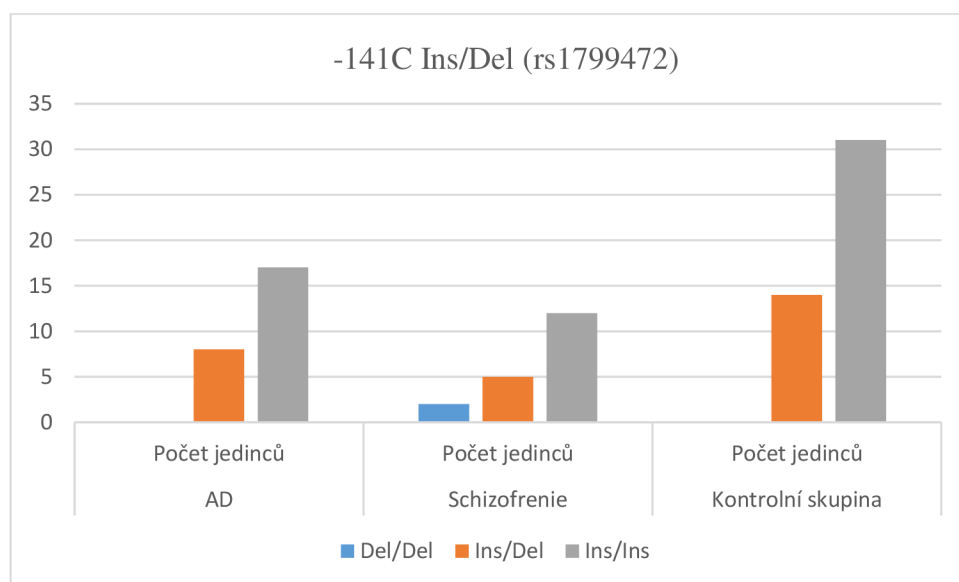
Nejčetnější genotyp u Alzheimerovy choroby byl genotyp A1A2 se 72%. Kontrolní skupina a pacienti se schizofrenií se v zastoupení tohoto genotypu téměř nelišily, přičemž nejvíce zastoupený genotyp u těchto dvou skupin byl A2A2. Počet a podíl jednotlivých genotypů u jednotlivých skupin je uveden v tabulce 11 a znázorněn na obrázku 5.



Tabulka 12: Zastoupení jednotlivých genotypů pro polymorfismu – 141C Ins/Del u *DRD2* genu v testovaných skupinách

Genotyp	AD		Schizofrenie		Kontrolní skupina	
	Počet jedinců	%	Počet jedinců	%	Počet jedinců	%
Del/Del	0	0	2	10,52	0	0
Ins/Del	8	32	5	26,32	14	31,11
Ins/Ins	17	68	12	63,16	31	68,89
<b>Počet celkem</b>	25		19		45	

(Zdroj: vlastní)

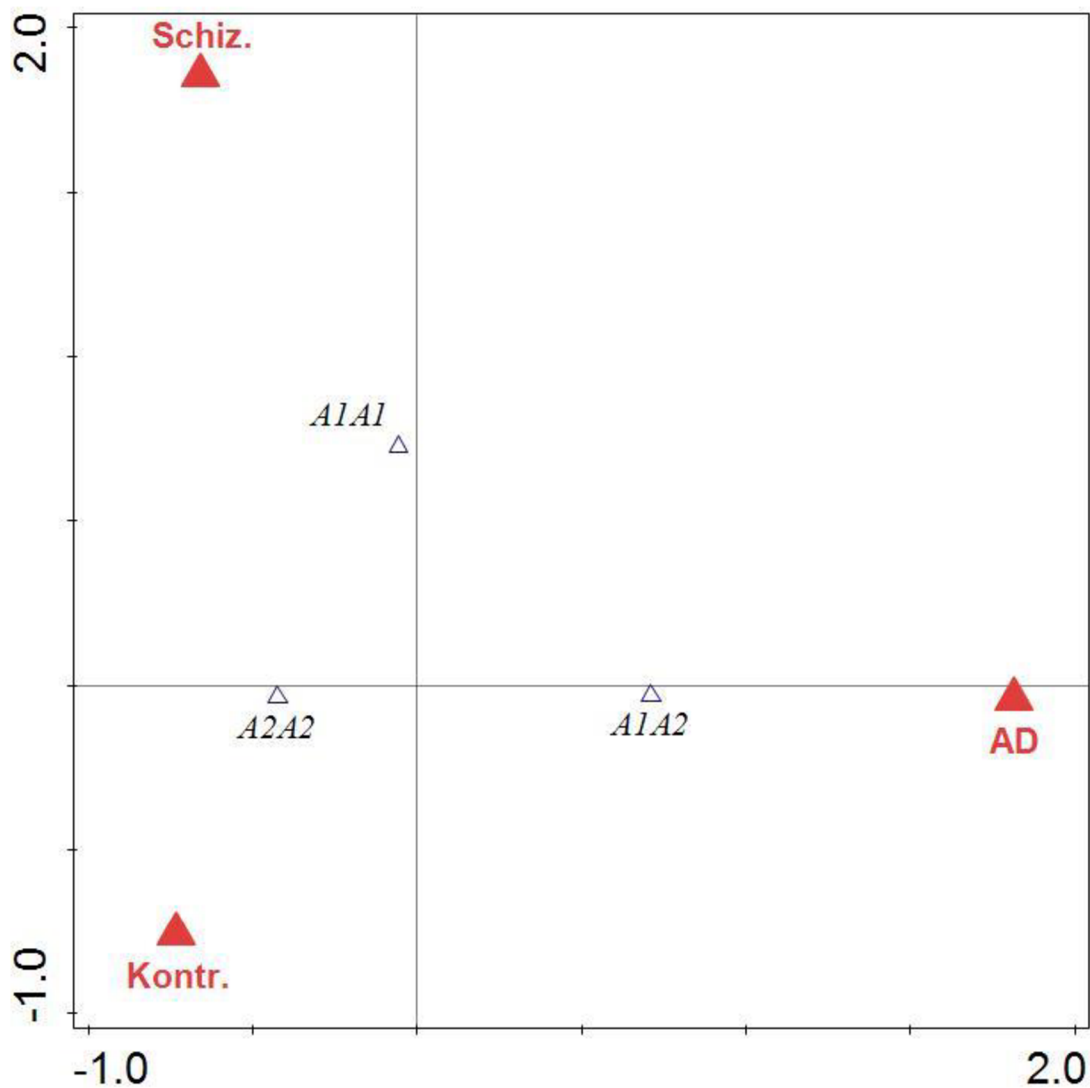


Obrázek 6: Grafické znázornění genotypů podle jednotlivých skupin v polymorfismu – 141C Ins/Del. (Zdroj: vlastní)

Výsledky u všech třech skupin byly velmi podobné. Počet a podíl jednotlivých genotypů -141C Ins/Del u jednotlivých skupin je uveden v tabulce 12 a znázorněn na obrázku 6.

Data byla dále hodnocena v programu Canoco 5 a pro statistický výpočet byla použita multivariatní analýza, konkrétně přímá metoda CCA (Canonical Correspondence Analysis) (obr. 6). V případě TaqIA polymorfismu byla průkazná souvislost výskytu konkrétního polymorfismu TaqIA v jednotlivých testovaných skupinách (pseudo-F = 11,00; P = 0,002). Získaná hodnota Explained variation vyjadřuje okolo 11,22 %

variability osy 1 a 12,43 % variability osy 2. Výsledky této analýzy pro TaqIA polymorfismus jsou znázorněny na obrázku 8 a ukazují asociaci genotypu A1A2 s Alzheimerovou chorobou, genotypu A1A1 spíše se schizofrenií a genotypu A2A2 s kontrolami. V případě polymorfismu -141C Ins/Del se nepodařilo asociaci tohoto polymorfismu v testovaných skupinách prokázat.



Obrázek 7: Ordinační diagram pro výskyt polymorfismu TaqIA (CCA, první osa vysvětluje 11,2 % a druhá osa vysvětluje 12,43 %). Celkem bylo testováno 89 jedinců, 19 s diagnózou schizofrenie, 25 s diagnózou AD a 45 kontrol).

(Zdroj: vlastní)

## 9. Diskuze

Gen *DRD2* představuje jeden z kauzálních genů, u kterého se může objevit souvislost schizofrenie a Alzheimerovy choroby.

Hlavním cílem praktické části této bakalářské práce bylo otestovat minimálně 30 vzorků pomocí molekulárně-genetické metody PCR-RFLP. Celkový počet otestovaných vzorků, u kterých byly analyzovány dva polymorfimy: TaqIA a -141C Ins/Del v genu *DRD2* byl nakonec 35. Zbýlých 54 vzorků bylo převzato z předchozí studie Lindy Jandové (Jandová 2019). Datový soubor tedy zahrnoval výsledky získané od 89 jedinců. Na základě předpokládané souvislosti schizofrenie a Alzheimerovy choroby s dopaminergním systémem, byly vyšetřeni pacienti s těmito diagnózami a výsledné genotypy byly porovnány s kontrolní skupinou.

Analýza TaqIA polymorfismu probíhala bez problémů. Při analýze polymorfismu -141C Ins/Del byla nutná optimalizace metody. Nejprve byl použit stejný kit, jako u polymorfismu TaqIA (2xPCRBIO HS Taq Mix) se specifickými primery, ovšem aplikace se nezdařila. Proto se analýza opakovala s odlišným enzymem (My Taq<sup>TM</sup>Red DNA Polymerase). V tomto případě byla amplifikace úspěšná a následná restrikční analýza vzorků také.

Genetické vyšetření pacientů i kontrol nám ukázalo zastoupení všech možných kombinací genotypů, které se u TaqIA mohou objevit (A1A1, A1A2, A2A2) stejně jako u polymorfismu 141C Ins/Del (Del/Del, Ins/Del, Ins/Ins) v různých poměrech, přičemž alely A2 a Ins u TaqIA a -141C Ins/Del jsou považovány za wild-type tedy normální alely. Mutované alely A1 a Del se vyskytovaly v homozygotním stavu v testovaných souborech velmi zřídka a pouze ve skupinách pacientů, což bylo zajímavé a současně to odpovídá publikovaným výsledkům jiných studií.

Z 89 vzorků, které byly zahrnuty do studie, nesli vzácný genotyp Del/Del pouze 2 pacienti, přičemž oba byly ze skupiny s diagnostikovanou schizofrenií. V kontrolní i AD skupině nebyl ani jeden takový pacient. Heterozygotní forma Ins/Del se u schizofreních pacientů vyskytovala v 26,32%, u AD pacientů ve 32% a u zdravých jedinců se ve 31,11%. Data byla zpracována v programu Canoco 5 pomocí Canonical Correspondence Analysis (přímá metoda CCA). Jako response variables byly zvoleny genové polymorfimy. Z výsledků analýz jsme vyvodili, že alela Del nemá žádnou zásadní roli ani v případě onemocnění schizofrenie ani AD. Výsledek studie nepotvrdil asociaci -

141C Ins/Del se schizofrenií a AD v testovaném souboru. Alela Ins se vyskytovala u pacientů ve stejné míře jako u kontrolní skupiny.

Výsledky u polymorfismu TaqIA byly zajímavější. Ukazaly, že genotyp A1A1 byl schizofrenních pacientů (10,53%) významně více zastoupen než u kontrolní skupiny (2,22%). Heterozygotní genotyp A1A2 (72%) ukazuje významnou spojitost s Alzheimerovou chorobou. Kontrolní skupina ve stejném genotypu dosahovala pouze 22,22%.

Druhá výzkumná otázka se zabývala konkrétními genotypy a tím, jak by mohly ovlivnit metabolismus dopaminu i uvedenou diagnózu. V současné době není vědecky potvrzena asociace TaqIA a -141C Ins/Del se schizofrenií nebo Alzheimerovou chorobou, proto je obtížné říci, jak genotypy u těchto polymorfismů ovlivňují metabolismus dopaminu i zmíněné diagnózy. Blum et al. (1990) zpočátku prokázali asociaci minoritní TaqIA alely (A1) genu *DRD2* s AD. Od té doby bylo publikováno několik studií provedených na různých populacích, z nichž mnohé potvrzují toto zjištění (Parsian et al., 1991; Amadeo et al., 1993; Noble et al., 1994; Neiswanger et al., 1995; Hietala et al., 1997; Lawford et al., 1997), zatímco jiné ne (Sander et al. 1999; Kasiakoglia-Worley et al., 2011). Z dostupných studií zabývajících se polymorfismem TaqIA se ukazuje, že funkce dopaminu je spojena s normální kognicí a pamětí a nositelé alely *DRD2* TaqIA A1 mají významnou ztrátu hustoty receptoru D2 v mozku, ve srovnání s nositeli alely A2. Nositelé A1 alely mají horší paměťový výkon během dlouhodobé paměti (LTM) a vykazují menší aktivaci závislou na hladině v kyslíku v krvi (BOLD) v bazálních gangliích, které jsou také důležité pro dlouhodobou paměť (Blum et al., 2018).

He et al. (2016) provedli meta-analýzu 22 studií, kde bylo testováno 4 017 případů a 4209 kontrol. Asociace TaqIA a schizofrenie nebyla prokázána. Ze studie vyplynulo, že variantní alela A2 byla spojena se sníženým rizikem schizofrenie v populačních kontrolách a současně při testování jednotlivých podskupin na základě etnického původu nebyla odhalena spojitost s etnickým původem testovaných.

První studie pro polymorfismus -141C Ins/Del byla provedena Arinami et al. (1997). Zde byla nalezena spojitost mezi alelou -141C Ins a schizofrenií. Nicméně v dalších studiích, provedených na pacientech s různou etnickou příslušností byla nalezena souvislost spíše s alelou Del. Výsledky tedy naznačují, že význam -141C Ins/Del polymorfismu jako predispozičního faktoru pro schizofrenii se může lišit v různých etnických populacích. To ukazuje na důležitost provádění šetření v různém etnickém

kontextu (Kampman et al.,2003; Meira-Lima et al.,2005). Např. ve studii Cordeiro, et al. (2009) byla v brazilské populaci nalezena asociace alely -141C Ins u pacientů se schizofrenií. Zvýšená frekvence alely -141C Ins u pacientů se schizofrenií může přispívat ke zvýšení hustoty receptoru DRD2. Tyto důkazy podporují dopaminovou hypotézu pro schizofrenii, která naznačuje, že přítomnost alely -141C Ins může být spojena s hyperaktivitou dopaminu, provokující psychotické symptomy (Harrison a Weinberger, 2005). Přestože alela Ins polymorfismu -144C Ins/Del obecně neovlivňuje náchylnost ke schizofrenii, lze ji stále považovat za rizikový faktor. Polymorfismus -144C Ins/Del odpovídá za přibližně 30% rozdíl v hladinách exprese promotoru genu *DRD2* (Arinami et al., 1997). Deleční varianta tohoto polymorfismu prokázala buď negativní asociaci se schizofrenií v japonské populaci (Arinami et al., 1997; Ohara et al., 1998; Inada et al., 1999), nebo nebyla nalezena žádná asociace (Hori et al.,2001; Himei et al., 2002). U kavkazských populací se ukázalo, že frekvence alely Del a schizofrenie má negativní asociaci ve Švédsku (Jönsson et al., 1999b), žádnou asociaci v Německu (Stöber et al., 1998) nebo Spojeném království (Li et al., 1999) a pozitivní asociaci ve Skotsku (Breen et al., 1999).

Závěrem lze říci, že asociace -141C Ins/Del s Alzheimerovou chorobou se v naší studii nepotvrdila a v zahraničních studiích nebyly dosud nalezeny důkazy, které by vysvětlily spojitost tohoto polymorfismu s AD nebo schizofrenií. Ovšem zajímavý je nález dvou pacientů s homozygotním genotypem Del/Del pouze ve skupině schizofreniků, která nebyla příliš velká (19 jedinců). V celé této studii se jeví jako nejvíce průkazná asociace TaqIA polymorfismu a jeho genotypu A1A2 s Alzheimerovou chorobou.

## 10. Závěr

V rámci bakalářské práce byla teoretická část zaměřena na Alzheimerovu chorobu a schizofrenii, které jsou již dlouho spojovány s genem *DRD2*. V *DRD2* genu se nachází mnoho polymorfismů, pro tuto studii byly zvoleny dva nejčastěji studované: rs1800497 (TaqIA) a rs1799732 (-141C Ins/Del).

Cílem práce bylo jednak vypracování odborné rešerše a v rámci praktické části zvládnutí metod molekulární biologie zahrnující izolaci DNA a měření její koncentrace, metodu PCR-RFLP a gelovou elektroforézu. Pomocí uvedených metod jsme zanalyzovali vzorky od pacientů s Alzheimerovou demencí, schizofrenií a také vzorky kontrolní skupiny. V testovaných skupinách byly úspěšně vyšetřeny genotypové frekvence pro oba polymorfismy. Prakticky bylo analyzováno 35 vzorků DNA a výsledky od 54 jedinců byly převzaty z předchozí studie. Všechny cíle práce byly splněny.

Na základě poznatků odborné literatury a výsledků naší analýzy bych řekla, že polymorfismus rs1799732 (-141C Ins/Del) není hlavním ukazatelem AD ani schizofrenie. Spojitost schizofrenie s polymorfismem rs1800497 (TaqIA) mnoho nalezených zdrojů vyvrací nebo jejich výsledky nejsou jednoznačně potvrzující. V této studii sice schizofrení pacienti vykazovali vyšší frekvenci alely A1 než kontrolní skupina, ale vzhledem k malému počtu testovaných jedinců mohou být výsledky zkreslené. Naopak polymorfismus rs1800497 (TaqIA) byl ve skupině AD průkazně asociován s onemocněním AD a to v heterozygotní formě A1A2 (72%) i homozygotní A1A1 (4%) variantě ve srovnání s kontrolní skupinou.

Získané výsledky by mohly vést k testování větší skupiny AD diagnostikovaných pacientů a tím dopomoci ke konečnému vyřešení otázky, zda spolu polymorfismus rs1800497 (TaqIA) a Alzheimerova demence skutečně kauzálně souvisí anebo ne.

## 11. Seznam použitých zdrojů

ABI-DARGHAM, A., RODENHISER, J., PRINTS, D., et al., 2000. Increased baseline occupancy of D2 receptors by dopamine in schizophrenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(14), 8104–8109. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.14.8104>

AKLILLU, E., et al., 2007. CYP2D6 and DRD2 genes differentially impact pharmacodynamic sensitivity and time course of prolactin response to perphenazine. *Pharmacogenet. Genomics* 17, 998–993. [doi.org/10.1097/FPC.0b013e3282f01aa3](https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e3282f01aa3)

AMADEO, S., ABBAR, M., FOURCADE, M., L., et al., 1993. D2 dopamine receptor gene and alcoholism. *J Psychiatr Res.* 27: 173–179.

ALMEIDA, S., ZHOU, L., GAO, F., B., 2011. Progranulin, a glycoprotein deficient in frontotemporal dementia, is a novel substrate of several protein disulfide isomerase family proteins. *PLoS One.* 6,e2645. [doi.org/10.1371/journal.pone.0026454](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026454)

ARINAMI, T., ITOKAWA, M., ENGUCHI, H., et al., 1994. Association of dopamine D2 receptor molecular variant with schizophrenia. *Lancet (London, England)*, 333 (8899), 703–704. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(94\)91581-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(94)91581-4)

ARINAMI, T., GAO, M., HAMAGUCHI, H., TORU, M., 1997. A functional polymorphism in the promoter region of the dopamine D2 receptor gene is associated with schizophrenia. *Human Molecular Genetics.* 6:577–582.

BAIK, J., H., 2013. Dopamine signaling in reward-related behaviors. *Front Neural Circuits.* 11;7:152. doi: 10.3389/fncir.2013.00152.

BAKER, M., MACKENZIE, I., et al., 2006. Mutations in progranulin cause tau-negative frontotemporal dementia linked to chromosome. *Nature.* 442(7105), 916–919. [doi.org/10.1038/nature05016](https://doi.org/10.1038/nature05016)

BATEMAN, A., BENNETT, H., P., J., 2009. The granulin gene family: from cancer to dementia. *BioEssays: news and reviews in molecular, cellular and developmental biology.* vol. 31,11. 1245–54. doi:10.1002/bies.200900086

BARONE, P., ERRO, R., PICILLO, M., 2017. Quality of Life and Nonmotor Symptoms in Parkinson's Disease. *Int Rev Neurobiol.* 133:499–516. doi: 10.1016/bs.irn.2017.05.023

BEAULIEU, J., M., GAINETDINOV, R., R., 2011. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacological reviews* vol. 63,1; 182–217. doi:10.1124/pr.110.002642

BEAULIEU, J., M., ESPINOZA, S., GAINETDINOV, R., R., 2015. Dopamine receptors – IUPHAR. *Pharmacological reviews* vol.172(1):1–23. doi: 10.1111/bph.12906.

BEHRAVAN, J., HEMAYATKAR, M., TOUFANI, H., ABDOLLAHIAN, E., 2008. Linkage and association of DRD2 gene TaqI polymorphism with schizophrenia in an Iranian population. *Arch Iran Med.* 11(3):252–256. PMID: 18426314.

- BERRYHILL, M., E., WIENER, M., STEPHENS, M., LOHOFF, J., A., et al., 2013. COMT and ANKK1-Taq-Ia genetic polymorphisms influence visual working memory. *PLoS ONE* 8(1): e55862. doi:10.1371/journal.pone.0055862
- BLAUWENDRAAT, C., NALLS, M., A., SINGLETON, A., B., 2019. The genetic architecture of Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* (2):170–178. doi: 10.1016/S1474-4422(19)30287-X
- BLUM, K., NOBLE, E., P., SHERIDAN, P., J., et al., 1990. Allelic association of human dopamine D2 receptor gene in alcoholism. *JAMA.* 263:2055–2060.
- BLUM, K., et al., 1996. Increased prevalence of the Taq I A1 allele of the dopamine receptor gene (DRD2) in obesity with comorbid substance use disorder: a preliminary report. *Pharmacogenetics* vol. 6,4 (1996): 297-305. doi:10.1097/00008571-199608000-00003
- BLUM, K., BADGAIYAN, R., D., et al., 2018. The DRD2 Taq1A A1 Allele May Magnify the Risk of Alzheimer's in Aging African-Americans. *Mol Neurobiol.* 55(7):5526-5536. doi: 10.1007/s12035-017-0758-1.
- BREEN, G., et al., 1999. – 141 C del/ins polymorphism of the dopamine receptor 2 gene is associated with schizophrenia in a British population. *American journal of medical genetics.* 88.4: 407-410. [doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8628\(19990820\)88:4<407::AID-AJMG19>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8628(19990820)88:4<407::AID-AJMG19>3.0.CO;2-3)
- CALARGE, C., A., et al., 2009. Variants of the dopamine D2 receptor gene and risperidone-induced hyperprolactinemia in children and adolescents. *Pharmacogenet. Genomics* 19, 373–382. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e328329a60f>
- CAMPS, M., CORTÉS, R., GUEYE, B., PROBST, A., PALACIOUS, J., M., 1989. Dopamine receptors in human brain: autoradiographic distribution of D2 sites. *Neuroscience,* 28(2), 275–290. doi:10.1016/0306-4522(89)90179-6
- COHEN, A., I., et al., 1992a. Photoreceptors of mouse retinas possess D4 receptors coupled to adenylate cyclase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* vol. 89,24: 12093-7. doi:10.1073/pnas.89.24.12093
- COHEN, I., TODD, R., D., HARMON, S., O'MALLEY, K., L., 1992b. Photoreceptors of mouse retinas possess D4 receptors coupled to adenylate cyclase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 89:12093–12097. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.24.12093>
- CORDEIRO, Q., SIQUEIRA-ROBERTO, J., ZUNG, S., VALLADA, H., 2009. Association between the DRD2-141C Insertion/Deletion polymorphism and schizophrenia. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria.* 67(2A):191-4 doi:[10.1590/S0004-282X2009000200004](https://doi.org/10.1590/S0004-282X2009000200004)
- CORTÉS, R., PROBST, A., PALACIOS, J., M., 1988. Decreased densities of dopamine D1 receptors in the putamen and hippocampus in senile dementia of the Alzheimer type. *Brain research.* 475(1), 164–167. doi.org/10.1016/0006-8993(88)90212-0
- CRUMP, C., WINKLEBY, M., A., SUNDQUIST, K., SUNQUIST, J., 2013. Comorbidities and mortality in persons with schizophrenia: A Swedish national cohort study. *Am. J. Psychiatry* 170, 324–333. [doi.org/10.1176/appi.ajp.2012.12050599](https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2012.12050599)



- CRUTS, M., GIJSELINCK, I., et al., 2006. Null mutations in progranulin cause ubiquitin-positive frontotemporal dementia linked to chromosome 17q21. *Nature*. 442(7105), 920–924. doi.org/10.1038/nature05017
- DAUER, W., PRZEDBORSKI, S., 2003. Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron*. 39:889–909.
- DAVID, R., ZEITZER, J., FRIEDMAN, L., NODA, A., et al., 2010. Non-pharmacologic management of sleep disturbance in Alzheimer's disease. *The Journal of nutrition, health and aging*. 14:203–206.
- DEXTER, D., T., JENNER, P., 2013. Parkinson disease: from pathology to molecular disease mechanisms. *Free Radical Biology and Medicine*. 62:132–144.
- DICKSON, D., W., BRAAK, H., DUDA, J., E., et al., 2009. Neuropathological assessment of Parkinson's disease: refining the diagnostic criteria. *Lancet Neurol*. 8(12):1150-7. doi: 10.1016/S1474-4422(09)70238-8.
- DOEHRING, A., HENTING, N., GRAFF, J., SALAMAT, S., et al., 2009. Genetic variants altering dopamine D2 receptor expression or function modulate the risk of opiate addiction and the dosage requirements of methadone substitution. *Pharmacogenet Genomics*. 19:407–414.
- DORSEY, E., R., SHERER, T., OKUN, M., S., BLOEM, B., R., 2018. The Emerging Evidence of the Parkinson Pandemic. *J Parkinsons Dis*. 8(s1):S3-S8. doi: 10.3233/JPD-181474.
- DUAN, J., WAINWRIGHT, M., S., COMERON, J., M., et al., 2003. Synonymous mutations in the human dopamine receptor D2 (DRD2) affect mRNA stability and synthesis of the receptor. *Human Molecular Genetics*. 12(3):205–216. doi.org/10.1093/hmg/ddg055
- DUBERTRET, C., GOUYA, L., HANOUN, N., et al., 2004. The 3' region of the DRD2 gene is involved in genetic susceptibility to schizophrenia. *Schizophrenia research*, 67(1), 75–85. [https://doi.org/10.1016/s0920-9964\(03\)00220-2](https://doi.org/10.1016/s0920-9964(03)00220-2).
- DUBERTRET, C., BARDEL, C., RAMOZ, N., et al., 2010. A genetic schizophrenia-susceptibility region located between the ANKK1 and DRD2 genes. *Progress in Neuro-Psychoopharmacology & Biological Psychiatry*. 34(3):492–499. doi.org/10.1016/j.pnpbp.2010.02.003.
- DUGGER, B., N., DICKSON, D., W., 2017. Pathology of Neurodegenerative Diseases. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. Jul 5;9(7):a028035. doi: 10.1101/cshperspect.a028035.
- FAIR, D., et al., 2008. The maturing architecture of the brain's default network. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* vol. 105,10; 4028-32. doi:10.1073/pnas.0800376105
- FENG, C., et al., 2023. The Dopamine D1 Receptor Attenuates Titanium Particle-Induced Inhibition of Osteogenesis by Activating the Wnt Signaling Pathway." *Mediators of inflammation* vol. 2023; 6331650. doi:10.1155/2023/6331650
- FERNANDEZ, F., COLSON, N., QUINLAN, S., MACMILLAN, J., et al., 2009. Association between migraine and a functional polymorphism at the dopamine beta-hydroxylase locus. *Neurogenetics*. 10(3):199-208. doi: 10.1007/s10048-009-0176-2.

- GALE, S., A., ACAR, D., et al., 2018. Dementia. *The American Journal of Medicine*. 131:10:1161-1169.
- GALIMBERTI, D., FENOGLIO, C., SCARPINI, E., 2018. Progranulin as a therapeutic target for dementia. *Expert opinion on therapeutic targets*. 22(7), 579–585. doi.org/10.1080/14728222.2018.1487951
- GANDHI, S., WOOD, N., W., 2005. Molecular pathogenesis of Parkinson's disease. *Human Molecular Genetics*. 14:2749–2755.
- GBD 2016 NEUROLOGY COLLABORATORS. 2019. Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet Neurology*.18(5):459–480. doi: 10.1016/S1474-4422(18)30499-X.
- GEDA, Y., E., ROBERTS, R., O., KNOPMAN, D., S., et al., 2008. Prevalence of neuropsychiatric symptoms in mild cognitive impairment and normal cognitive aging: population-based study. *Arch Gen Psychiatry*.65(10):1193-8. doi: 10.1001/archpsyc.65.10.1193.
- GEDA, Y., E., et al., 2011. Underlying neuropsychiatric symptoms and risk of mild cognitive impairment: *Mayo Clinic Aging Study*; AAN Annual Meeting; Honolulu, Hawaii.
- GINGRICH, J.A., CARON, M., G., 1993. Recent advances in the molecular biology of dopamine receptors. *Annual review of neuroscience* vol. 16; 299-321. doi:10.1146/annurev.ne.16.030193.001503
- GLUSKIN, B., S., MICKEY, B., J., 2016. Genetic variation and dopamine D2 receptor availability: A systematic review and meta-analysis of human in vivo molecular imaging studies. *Translational Psychiatry*, 6, e747.
- GRANDY, D., K., et al., 1989. The human dopamine D2 receptor gene is located on chromosome 11 at q22-q23 and identifies a TaqI RFLP. *American journal of human genetics* vol. 45,5; 778-85.
- HARRISON, P., J., WEINBERGER D., R., 2005. Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Molecular Psychiatry*. 10(1):40-68 doi:[10.1038/sj.mp.4001558](https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001558)
- HE, H., WU, H., et al., 2016. Associations between dopamine D2 receptor gene polymorphisms and schizophrenia risk: a PRISMA compliant meta-analysis. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 9;12:3129-3144. doi: 10.2147/NDT.S118614.
- HIETALA, J., POHJALAINEN, T., HEIKKILA-KALLIO, U., et al., 1997. Allelic association between D2 but not D1 dopamine receptor gene and alcoholism in Finland. *Psychiatr Genet*.7: 19–25.
- HIMEI, A., KOH, J., et al., 2002. The influence on the schizophrenic symptoms by the DRD2Ser/Cys311 and -141CIns/Del polymorphisms. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*. 56, pp. 97-102. [doi.org/10.1046/j.1440-1819.2002.00935.x](https://doi.org/10.1046/j.1440-1819.2002.00935.x)

HIRVONEN, M., M., LAAKSO, A., et al., 2009. C957T polymorphism of dopamine D2 receptor gene affects striatal DRD2 in vivo availability by changing the receptor affinity. *Synapse*. 63, 907–912.

HORI, H., OHMORI, O., et al., 2001. Association analysis between two functional dopamine D2 receptor gene polymorphisms and schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics*. 105, pp. 176-178. [doi.org/10.1002/ajmg.1196](https://doi.org/10.1002/ajmg.1196)

HÖSCHL, C., ŠVESTKA, J., LIEBIGER., 2004. *Psychiatrie*. 2. vydání. Praha: Tigris. 883 s. ISBN 80-900130-7-4.

IKE, K., G., O., LAMERS, S., J., C., KAIM, S., et al., 2023. The human neuropsychiatric risk gene *Drd2* is necessary for social functioning across evolutionary distant species. *Molecular Psychiatry*. <https://doi.org/10.1038/s41380-023-02345-z>

INADA, T., ARINAMI, T., YAGI, G., 1999. Association between a polymorphism in the promoter region of the dopamine D2 receptor gene and schizophrenia in Japanese subjects: replication and evaluation for antipsychotic-related features. *International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2, pp. 181-186. [doi.org/10.1017/S1461145799001492](https://doi.org/10.1017/S1461145799001492)

INSEL, T., R., 2010. Rethinking schizophrenia. *Nature*. (468), 187-193. [doi.org/10.1038/nature09552](https://doi.org/10.1038/nature09552)

INSEL P., A., SRIRAM, K., GORR, M., W., et al., 2019. GPCRomics: An Approach to Discover GPCR Drug Targets. *Trends in Pharmacol Sciences*. 40(6):378-387. doi: 10.1016/j.tips.2019.04.001.

IVERSEN, S., D., IVERSEN, L., L., 2007. Dopamine: 50 years in perspective. *Trends in neurosciences*, 30(5), 188–193. [doi.org/10.1016/j.tins.2007.03.002](https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.03.002)

JÄÄSKELÄINEN, S., K., LINDHOLM, P., VALMUNEN, T., et al., 2014. Variation in the dopamine D2 receptor gene plays a key role in human pain and its modulation by transcranial magnetic stimulation. *Pain*. 155(10):2180-7. doi: 10.1016/j.pain.2014.08.029.

JANDOVÁ, L., 2019. *Možné asociace polymorfismů v genu DRD2 pro dopaminový receptor D2 (DRD2) s lidským chováním*. České Budějovice. Diplomová práce. PŘF JU.

JAROŠOVÁ, R., et al., 2022. Impaired Dopamine Release and Latent Learning in Alzheimer's Disease Model Zebrafish. *ACS chemical neuroscience* vol. 13,19. 2924-2931. doi:10.1021/acschemneuro.2c00484

JIA, L., et al. 2020. Prevalence, risk factors, and management of dementia and mild cognitive impairment in adults aged 60 years or older in China: a cross-sectional study." *The Lancet. Public health*.vol. 5,12: e661-e671. doi:10.1016/S2468-2667(20)30185-7

JIANG, X., et al.,2014. Single-nucleotide polymorphisms of the dopamine D2 receptor increase inflammation and fibrosis in human renal proximal tubule cells. *Hypertension (Dallas, Tex.:1979)* vol. 63: e74-80. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02569

- JOCHAM, G., KLEIN, T., A., NEUMANN, J., et al., 2009. Dopamine DRD2 polymorphism alters reversal learning and associated neural activity. *Journal of Neuroscience*, 29, 3695–3704.
- JÖNSSON, E., G., NÖTHEN, M., M., GRUNHAGE, F., et al., 1999a. Polymorphisms in the dopamine D2 receptor gene and their relationships to striatal dopamine receptor density of healthy volunteers. *Molecular Psychiatry*. 4, 290–296.
- JÖNSSON, E., G., NÖTHEN, M., M., et al., 1999b. Association between a promoter polymorphism in the dopamine D2 receptor gene and schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 40, pp. 31-36. doi.org/10.1016/S0920-9964(99)00033-X
- KALIA, L., V., LANG, A., E., 2015. Parkinson's disease. *Lancet*. 386:896–912. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61393-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61393-3)
- KALTENBOECK, A., JOHNSON, S., J., DAVIS, M., R., et al., 2012. Direct costs and survival of medicare beneficiaries with early and advanced Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 18(4):321-6. doi: 10.1016/j.parkreldis.2011.11.015
- KAMPMAN, O., ANTILLA, S., ILLI, A., et al., 2003. Dopamine receptor D2 -144C Insertion/Deletion polymorphism in a Finnish population with schizophrenia. *Psychiatry Research*. 121:89-92.
- KANATSU, K., TOMITA, T., 2017. Molecular mechanisms of the genetic risk factors in pathogenesis of Alzheimer disease. *Front. Biosci*. 22:180–192. doi: 10.2741/4480.
- KASIAKOGIA-WORLLEY, K., MCQUILLIN, A., et al., 2011. Lack of allelic association between markers at the DRD2 and ANKK1 gene loci with the alcohol-dependence syndrome and criminal activity. *Psychiatric Genetics*. 21:323-324.
- KHAN, S., BARVE, K., H., KUMAR, M., S., 2020. Recent Advancements in Pathogenesis, Diagnostics and Treatment of Alzheimer's Disease. *Curr Neuropharmacol*. 18(11):1106-1125. doi: 10.2174/1570159X18666200528142429.
- KIM, E., K., CHOI, E., J., 2010. Pathological roles of MAPK signaling pathways in human diseases. *Biochim Biophys Acta (BBA)*. 1802:396–405
- KIM, S., J., KIM, M., Y., LEE, E., J., et al., 2004. Distinct regulation of internalization and mitogen-activated protein kinase activation by two isoforms of the dopamine D2 receptor. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)*. 18(3), 640–652. doi.org/10.1210/me.2003-0066
- KLEIN, T., A., NEUMANN, J., REUTER, M., et al., 2007. Genetically determined differences in learning from errors. *Science*. 318, 1642–1645.
- KUMAR, U., PATEL, S., C., 2007. Immunohistochemical localization of dopamine receptor subtypes (D1R-D5R) in Alzheimer's disease brain. *Brain research*, 1131(1), 187–196. doi.org/10.1016/j.brainres.2006.10.049
- KLEIN, M., O., BATTAGELLO, D., S., CARDOSO, A., R., et al., 2019. Dopamine: Functions, Signaling, and Association with Neurological Diseases. *Cell Mol Neurobiol*. 39(1):31-59. doi: 10.1007/s10571-018-0632-3.
- KUČEROVÁ, H., 2010. *Schizofrenie v kazuistikách*. Praha: Grada. s.9-15. ISBN 978-80-2045-6

- LAWFORD, B., R., YOUNG, R., M., et al., 1997. Association of the D2 dopamine receptor A1 allele with alcoholism: medical severity of alcoholism and type of controls. *Biol Psychiatry*. 41:386–393.
- LAWFORD, B., R., YOUNG, R., M., SWAGELL, C., D., et al., 2005. The C/C genotype of the C957T polymorphism of the dopamine D2 receptor is associated with schizophrenia. *Schizophrenia research*. 73(1), 31–37. doi.org/10.1016/j.schres.2004.08.020
- LAWFORD, B., R., BARNES, M., SWAGELL, C., D., et al., 2013. DRD2/ANKK1 Taq1A (rs 1800497 C>T) genotypes are associated with susceptibility to second generation antipsychotic-induced akathisia. *J Psychopharmacol*. 27:343– 348.
- LI, T., et al., 1998. Case-control, haplotype relative risk and transmission disequilibrium analysis of a dopamine D2 receptor functional promoter polymorphism in schizophrenia. *Schizophrenia research*. 32.2: 87-92. [doi.org/10.1016/S0920-9964\(98\)00024-3](https://doi.org/10.1016/S0920-9964(98)00024-3)
- LIU, L., X., MONSMA, F., J., et al., 1996. D2L, D2S, and D3 dopamine receptors stably transfected into NG108-15 cells couple to a voltage-dependent potassium current via distinct G protein mechanisms. *Synapse (New York, N.Y.)*. 24(2), 156–164. doi.org/10.1002/(SICI)1098-2396(199610)24:2<156::AID-SYN7>3.0.CO;2-E
- LONG, M., 2006. *Rodinná encyklopedie medicíny a zdraví*. Praha: Rebo. s.533-563, 743-747. ISBN 80-7234-074-3
- LUEDTKE, R., R., RANGEL-BARAJAS, C., et al., 2015. Bitropic D3 Dopamine Receptor Selective Compounds as Potential Antipsychotics. *Current pharmaceutical design* vol. 21,26; 3700-24. doi:10.2174/1381612821666150724100830
- LYKETSOS, C., G., LOPEZ, O., JONES, B., et al., 2002. Prevalence of neuropsychiatric symptoms in dementia and mild cognitive impairment: results from the cardiovascular health study. *JAMA*. 25;288(12):1475-83. doi: 10.1001/jama.288.12.1475.
- MADRAS, B., K., 2013. History of the Discovery of the antipsychotic dopamine D2 receptor: a basis for the dopamine hypothesis of schizofrenia. *Journal of the history of the Neurosciences*. 22 (1): 62-78. doi: 10.1080/0964704X.2012.678199.
- MAČÁK, J., MAČÁKOVÁ, J., DVOŘÁKOVÁ, J., 2012. *Patologie*. 2. vydání. Praha: Grada. s. 300-301. ISBN 978-80-247-3530-6
- MARTENS, R., HILDEBRAND, C., 2021. Dementia care, robot pets, and aliefs. *Bioethics* vol. 35,9: 870-876. doi:10.1111/bioe.12952
- MARTÍNKOVÁ, J., et al., 2018. *Farmakologie*. 2. vydání. Praha: Grada. s. 150-155. ISBN 978-80-247-4157-4
- MARTORANA, A., KOCH, G., 2014. Is dopamine involved in Alzheimer's disease? *Front Aging Neurosci*. 25;6:252. doi: 10.3389/fnagi.2014.00252.
- MARGO, F., CUNHA, E., et al., 2006. Dopamine D2 Receptor Polymorphisms in Inflammatory Bowel Disease and the Refractory Response to Treatment. *Digestive Diseases and Sciences*. 51:2039 – 2044.

- MARRAS, C., BECK, J., C., BOWER, J., H., et al., 2018. Parkinson's Foundation P4 Group. Prevalence of Parkinson's disease across North America. *NPJ Parkinsons Dis.* 10;4:21. doi: 10.1038/s41531-018-0058-0.
- MEIRA-LIMA, I., MICHELON, L., CORDEIRO, Q., et al., 2005. Allelic association analysis of the functional insertion/deletion polymorphism in the promoter region of the serotonin transporter gene in the bipolar affective disorder. *Journal of Molecular Neuroscience.* 27:219-224.
- MICALE, V., CRISTINO, L., TAMBURELLA, A., et al., 2010. Enhanced cognitive performance of dopamine D3 receptor "knock-out" mice in the step-through passive-avoidance test: assessing the role of the endocannabinoid/endovanilloid systems. *Pharmacological research.* 61(6), 531–536. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2010.02.003>
- MISSALE, C., NASH, S., R., ROBINSON, S., W., et al., 1998. Dopamine receptors: from structure to function. *Physiological Reviews.* 78(1):189-225. doi: 10.1152/physrev.1998.78.1.189.
- MIURA, I., et al., 2016. Variants in the DRD2 locus and antipsychotic-related prolactin levels: A meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology.* 72,1-10. [doi.org/10.1016/j.psyneuen.2016.06.002](https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2016.06.002).
- MORAN, M., 2013. American Psychiatric Association. Schizophrenia Spectrum And Other Psychotic Disorders: DSM-5 Selections. Arlington, VA: *American Psychiatric Publishing.* <https://doi.org/10.1176/appi.pn.2013.2a5>
- MUNAFO, M., R., MATHESON, I., J., et al., 2007. Association of the DRD2 gene Taq1A polymorphism and alcoholism: A meta-analysis of case-control studies and evidence of publication bias. *Mol. Psychiatry.* 12, 454-461. [doi.org/10.1038/sj.mp.4001938](https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001938)
- NEISWANGER, K., HILL, S., Y., KAPLAN, B., B., 1995. Association and linkage studies of the TAQI A1 allele at the dopamine D2 receptor gene in samples of female and male alcoholics. *Am J Med Genet.* 60:267–271.
- NEVILLE, M., J., et al., 2004. Identification and characterization of ANKK1: a novel kinase gene closely linked to DRD2 on chromosome band 11q23.1. *Human mutation.* vol. 23,6; 540-5. doi:10.1002/humu.20039
- NIH (National Institutes of Health). 2021. *NIH Publication NO.21*. [online]. [cit. 2023-08-12]. Dostupné z: [Schizophrenia - National Institute of Mental Health \(NIMH\) \(nih.gov\)](https://www.nimh.nih.gov)
- NOBLE, E., P., SYNDULKO, K., et al., 1994. D2 dopamine receptor TaqI A alleles in medically ill alcoholic and nonalcoholic patients. *Alcohol Alcohol.* 29:729–744.
- NOBLE, E., P., 2003. D2 dopamine receptor gene in psychiatric and neurologic disorders and its phenotypes. *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics: the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics* vol. 116B,1; 103-25. doi:10.1002/ajmg.b.10005
- OBREGÓN, A., M., OYARCE, K., et al., 2022. Association of the dopamine D2 receptor rs1800497 polymorphism with food addiction, food reinforcement, and eating behavior in Chilean adults. *Eat Weight Disord.* 27, 215–224. doi.org/10.1007/s40519-021-01136-

- OHARA, K., NAGAI, K., TANI, K., et al., 1998. Functional polymorphism of -141C Ins/Del in the dopamine D2 receptor gene promoter and schizophrenia. *Psychiatry Research*. 81, pp. 117-123 doi.org/10.1016/S0165-1781(98)00092-4
- PAPENBERG, G., BECKER, N., et al., 2017. Dopamine Receptor Genes Modulate Associative Memory in Old Age. *Journal of cognitive neuroscience*. vol. 29,2: 245-253. doi:10.1162/jocn\_a\_01048
- PARSIAN, A., TODD, R., D., DEVOR, E., J., et al., 1991. Alcoholism and alleles of the human D2 dopamine receptor locus. Studies of association and linkage. *Arch Gen Psychiatry*. 48:655–663.
- PARSIAN, A., et al., 2000. Functional variant in the DRD2 receptor promoter region and subtypes of alcoholism. *American journal of medical genetics*. vol. 96,3; 407-11. doi:10.1002/1096-8628(20000612)96:3<407::aid-ajmg32>3.0.co;2-1
- PERSSON, J., RIECKMANN, A., et al., 2014. Influences of a DRD2 polymorphism on updating of long-term memory representations and caudate BOLD activity: Magnification in aging. *Human Brain Mapping*. 36, 1325–1334.
- PINTER, B., DIEM-ZANGERL, A., WENNING, G., K., et al., 2015. Mortality in Parkinson's disease: a 38-year follow-up study. *Movement Disorders*. 30(2):266-9. doi: 10.1002/mds.26060
- PINTO, R., COMINETTI, C., et al., 2016. Basic and Genetic Aspects of Food Intake Control and Obesity: Role of Dopamin Receptor D2 TaqIA Polymorphism. *Obesity Research – Open Journal*. 2. 119-127. doi:10.17140/OROJ-2-119.
- PIVONELLO, R., FERONE, D., et al., 2007. Novel insights in dopamine receptor physiology. *European journal of endocrinology*. 156 Suppl 1, S13–S21. <https://doi.org/10.1530/eje.1.02353>
- POEWE, W., 2008. Non-motor symptoms in Parkinson's disease. *European journal of neurology*. 15 Suppl 1, 14–20. doi.org/10.1111/j.1468-1331.2008.02056.x
- POHJALAINEN, T., et al., 1998. The A1 allele of the human D2 dopamine receptor gene predicts low D2 receptor availability in healthy volunteers. *Molecular psychiatry*. vol. 3,3; 256-60. doi:10.1038/sj.mp.4000350
- POLGAR, M., 2017. *The impact of “dopamine genes” polymorphisms on novelty seeking behavior*. Praha. Diplomová práce. PřF UK.
- PONT-SUNYER, C., HOTTER, A., et al., 2015. The Onset of Nonmotor Symptoms in Parkinson's disease (The ONSET PDStudy). *Movement Disorders* [online]. 30(2), 229-2 doi:10.1002/mds.26077
- POPAT, R., A., et al., 2005. Effect of reproductive factors and postmenopausal hormone use on the risk of Parkinson disease. *Neurology*. 65:383–390.
- POSTUMA, R., B., BERG, D., et al., 2015. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Mov Disord* 30:1591–16012016. *Lancet Neurology*. 18(5):459–480. doi: 10.1016/S1474-4422(18)30499-X
- PRINCE, M., BRYCE, R., ALBANESE, E., et al., 2013. The global prevalence of dementia: A systematic review and metaanalysis. *Alzheimer's & Dementia*. 9:63-75.e2

- RABALLO, A., MECHELLI, A., et al., 2019. Risk syndromes in psychiatry: a state-of-the-art overview. *Archives of Psychiatry and Psychotherapy*. 21no.2: 7-14. doi:10.12740/APP/109506.
- RABOCH, J., PAVLOVSKÝ, P., et al., 2012. *Psychiatrie*. Praha: Karolinum. s. 250-251 ISBN 978-80-246-1985-9.
- RISKIND, P., N., et al., 1991. The role of prolactin in autoimmune demyelination: suppression of experimental allergic encephalomyelitis by bromocriptine. *Annals of neurology*. vol. 29,5; 542-7. doi:10.1002/ana.410290514
- SAFARPOUR, D., THIBAUT, D., P., et a., 2015. Nursing home and end-of-life care in Parkinson disease. *Neurology*. 85(5):413–419. doi: 10.1212/WNL.0000000000001715
- SANDER, T., HARMAS, H., PODSCHUS, J., et al., 1995. Dopamine D1, D2 and D3 receptor genes in alcohol dependence. *Psychiatr Genet*. 5:171– 176.
- SCHIZOPHRENIA WORKING GROUP OF THE PSYCHIATRIC GENOMICS CONSORTIUM. 2014. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature*. 24;511(7510):421-7. doi: 10.1038/nature13595.
- SCHRAG, A., et al., 2000. Cross sectional prevalence survey of idiopathic Parkinson's disease and Parkinsonism in London. *BMJ (Clinical research ed)* 321:21–22
- SEEMAN, P., NAM, D., et al., 2000. New dopamine receptor, D2(Longer), with unique TG splice site, in human brain. *Brain research. Molecular brain research*, 76(1), 132–141. [doi.org/10.1016/s0169-328x\(99\)00343-5](https://doi.org/10.1016/s0169-328x(99)00343-5)
- SÖDERQVIST, S., et al., 2014. Polymorphisms in the dopamine receptor 2 gene region influence improvements during working memory training in children and adolescents. *Journal of cognitive neuroscience* vol. 26,1; 54-62. doi:10.1162/jocn\_a\_00478
- SRIRAM, K., INSEL, P., A., 2018. G Protein-Coupled Receptors as Targets for Approved Drugs: How Many Targets and How Many Drugs? *Mol Pharmacol*. 93(4):251-258. doi: 10.1124/mol.117.111062.
- STÖBER, G., et al., Insertion/deletion variant (-141C Ins/Del) in the 5' regulatory region of the dopamine D2 receptor gene: lack of association with schizophrenia and bipolar affective disorder. *Journal of neural transmission*. 105.1: 101-109.
- SUCHANECKA, A., GRZYWACZ, A., SAMOCHOWIEC, J., 2011. Gen ANKK1 w psychiatrii [ANKK1 gene in psychiatry]. *Psychiatria polska*. 45(3), 349–356. PMID: 22232965
- ŠÚTOVSKÝ, S., KRÁLOVÁ, M., IZÁKOVÁ, L., TURČÁNI, P., 2012. Alzheimerova choroba a zmiešaná demencia – jedna entita alebo dve? *Neurologie pro praxi*. 13 (1): 27-30. ISSN 1213-1814
- ŠUMSKIENE, E., PETRUŽYTE, D., KLIMAITE, V., 2018. Biomedical and psychosocial interventions in the mental health care system in Lithuania: Leaving the psychiatrist's clinic – with at least a couple of prescriptions. *Archives of Psychiatry and Psychotherapy*. 20 no.1: 67-75. doi:10.12740/APP/81552.



- TANAKA, Y., SUZUKI, K., et al., 2017. Progranulin regulates lysosomal function and biogenesis through acidification of lysosomes. *Human molecular genetics*. 26(5), 969–988. doi.org/10.1093/hmg/ddx011
- TARAGANO, F., E., ALLEGRI, R., F., KRUPITZKI, H., et al., 2009. Mild behavioral impairment and risk of dementia: a prospective cohort study of 358 patients. *The Journal of clinical psychiatry*. 70(4), 584–592. <https://doi.org/10.4088/jcp.08m04181>
- TER-BRAAK, C., J., F., ŠMILAUER, P., 2012. Canoco reference manual and user's guide: software for ordination, version 5.0. Microcomputer Power, Ithaca, USA, 496 pp.
- TOLOSA, E., GARRIDO, A., et al., 2021. Challenges in the diagnosis of Parkinson's disease. *The Lancet Neurology*. 20(5), 385-397. doi:10.1016/S1474-4422(21)00030-
- TWELVES, D., PERKINS, K., S., COUNSELL, C., 2003. Systematic review of incidence studies of Parkinson's disease. *Mov Disord*18(1):19-31. doi: 10.1002/mds.10305.
- USIELLO, A., BAIK, J., H., et al., 2000. Distinct functions of the two isoforms of dopamine D2 receptors. *Nature*. 408(6809), 199–203. <https://doi.org/10.1038/35041572>
- VALLONE, D., PICETTI, R., BORRELLI, E., 2000. Structure and function of dopamine receptors. *Neuroscience and biobehavioral reviews*. 24(1), 125–132. [doi.org/10.1016/s0149-7634\(99\)00063-9](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(99)00063-9)
- VAN CAUWENBERGHE, C., VAN BROECKHOVEN, C., SLEEGERS, K., 2016. The genetic landscape of Alzheimer disease: clinical implications and perspectives. *Genet. Med.* 18(5):421–430.
- VAN DAMME, P., VAN HOECKE, A., et al., 2008. Progranulin functions as a neurotrophic factor to regulate neurite outgrowth and enhance neuronal survival. *The Journal of cell biology*. 181(1), 37–41. doi.org/10.1083/jcb.200712039
- VAVRUŠOVÁ, L., 2012. *Demencia*. Martin: Osveta 2012. 180 s. ISBN 987-80-8063-382-0.
- WATWOOD, C., 2011. Alzheimer's Disease. *DLPS Faculty Publications*. Paper 39. [http://digitalcommons.wku.edu/dlps\\_fac\\_pub/39](http://digitalcommons.wku.edu/dlps_fac_pub/39)
- WILLIAMS-GRAY, C., H., WORTH, P., F., 2016. Parkinson's disease. *Medicine*. 44(9):542.546. doi: 10.1016/j.mpmed.2016.06.001.
- WOOTTEN, D., CHRISTOPOULOS, A., et al., 2018. Mechanisms of signalling and biased agonism in G protein-coupled receptors. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 19(10):638-653. doi: 10.1038/s41580-018-0049-3.
- YAO, J., PAN, Y., Q., et al., 2015. Association between DRD2 (rs1799732 and rs1801028) and ANKK1 (rs1800497) polymorphisms and schizophrenia: a meta-analysis. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 168B(1):1–13. [doi.org/10.1002/ajmg.b.32281](https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32281)

ZHANG, J., P., et al., 2010. D2 receptor genetic variation and clinical response to antipsychotic drug treatment: a meta-analysis. *The American journal of psychiatry*. vol. 167,7;763-72. doi:10.1176/appi.ajp.2009.09040598

ZHANG, Y., BERTOLINO, A., et al., 2007. Polymorphisms in human dopamine D2 receptor gene affect gene expression, splicing, and neuronal activity during working memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 104(51), 20552–20557. [doi.org/10.1073/pnas.0707106104](https://doi.org/10.1073/pnas.0707106104)

ZIS, P., MARTINEZ, M., P., et al., 2015. Non-motor symptoms burden in treated and untreated early Parkinson's disease patients: argument for non-motor subtypes. *Eur J Neurol*. 22(8):1145-50. doi: 10.1111/ene.12733.

ZVĚŘOVÁ, M., 2017. *Alzheimerova demence*. Praha: Grada. s 7,80, 161-167. ISBN 978-80-271-0561-8

ŽIGOROVÁ, E., 2011. Alzheimerova choroba a jej liečba. *Edukafarm medinews*; 5(3): 18-21. Dostupné z: [03-2011.pdf \(edukafarm.sk\)](#)

## 12. Přílohy

### Příloha 1

Tabulka s informacemi o jednotlivých testovaných subjektech a výsledky analýz.

Vzorek	Pohlaví	Onemocnění	koncentrace DNA	TaqIA	Ins/Del
PET 31	F	schizofrenie	95,9	A2A2	Ins/Ins
PET 44	F	schizofrenie	x	A2A2	Ins/Ins
PET 51	F	schizofrenie	3,99	A2A2	Ins/Del
PET 52	M	schizofrenie	3,97	A2A2	Ins/Del
PET 55	M	schizofrenie	18,2	A2A2	Ins/Ins
PET 56	F	schizofrenie	55,3	A1A2	Ins/Del
PET 58	M	schizofrenie	32,3	A2A2	Ins/Ins
PET 59	M	schizofrenie	13,3	A1A1	Ins/Del
PET 60	F	schizofrenie	3,05	A2A2	Del/Del
P2	F	schizofrenie	38,6	A1A1	Ins/Ins
P3	F	schizofrenie	63,1	A2A2	Ins/Ins
P4	F	schizofrenie	42,2	A2A2	Ins/Ins
P8	M	schizofrenie	46,1	A2A2	Ins/Ins
P10	F	schizofrenie	41,2	A2A2	Ins/Ins
P11	F	schizofrenie	39,4	A1A2	Ins/Ins
P12	F	schizofrenie	106	A2A2	Ins/Ins
P14	F	schizofrenie	83,6	A1A2	Ins/Ins
P15	F	schizofrenie	23,5	A1A2	Del/Del
P16	M	schizofrenie	91,6	A2A2	Ins/Del
A1	F	alzheimer	23,6	A2A2	Ins/Ins
A2	F	alzheimer	49,6	A1A2	Ins/Ins
A3	F	alzheimer	68,8	A2A2	Ins/Ins
A4	M	alzheimer	45,2	A2A2	Ins/Ins
A5	F	alzheimer	35,8	A1A2	Ins/Ins
A6	F	alzheimer	36,7	A2A2	Ins/Ins
A7	F	alzheimer	34,4	A2A2	Ins/Del
A8	F	alzheimer	39,9	A1A2	Ins/Ins
A9	F	alzheimer	35,6	A1A2	Ins/Ins
A10	F	alzheimer	37,3	A2A2	Ins/Del
A11	F	alzheimer	49,6	A1A2	Ins/Ins
A12	M	alzheimer	32,7	A1A2	Ins/Ins
A13	F	alzheimer	35,7	A1A2	Ins/Ins
A14	F	alzheimer	18,9	A1A2	Ins/Del
A15	M	alzheimer	41,6	A1A2	Ins/Del
A16	F	alzheimer	28,9	A1A2	Ins/Ins
A17	F	alzheimer	56,3	A1A2	Ins/Ins
A18	F	alzheimer	66,8	A1A2	Ins/Del
A19	F	alzheimer	38,5	A1A1	Ins/Ins
A20	M	alzheimer	53,6	A1A2	Ins/Del

A21	F	alzheimer	46,6	A1A2	Ins/Ins
A22	F	alzheimer	43,8	A1A2	Ins/Del
A23	F	alzheimer	36,3	A1A2	Ins/Del
A24	F	alzheimer	37,7	A1A2	Ins/Ins
A25	M	alzheimer	35,6	A1A2	Ins/Ins
PET 3	M	kontrola	13,8	A2A2	Ins/Del
PET 4	F	kontrola	167	A2A2	Ins/Ins
PET 5	M	kontrola	37,7	A2A2	Ins/Ins
PET 6	M	kontrola	2,36	A2A2	Ins/Ins
PET 7	M	kontrola	32,9	A2A2	Ins/Ins
PET 8	M	kontrola	38,3	A1A2	Ins/Ins
PET 9	M	kontrola	5,67	A2A2	Ins/Ins
PET 10	M	kontrola	5,32	A2A2	Ins/Ins
PET 11	M	kontrola	3,75 (po přečištění)	A1A2	Ins/Del
PET 16	M	kontrola	43,8	A2A2	Ins/Ins
PET 18	M	kontrola	39,3	A2A2	Ins/Ins
PET 19	F	kontrola	213	A2A2	Ins/Ins
PET 22	M	kontrola	19,6	A2A2	Ins/Del
PET 26	M	kontrola	308	A2A2	Ins/Ins
PET 27	F	kontrola	252	A1A2	Ins/Ins
PET 28	F	kontrola	151	A1A1	Ins/Ins
PET 29	F	kontrola	14,8	A2A2	Ins/Ins
PET 30	F	kontrola	218	A2A2	Ins/Ins
PET 40	F	kontrola	25,3	A2A2	Ins/Ins
PET 49	F	kontrola	10,3	A1A2	Ins/Ins
PET 54	F	kontrola	6,69	A1A2	Ins/Ins
PET 64	F	kontrola	17	A2A2	Ins/Ins
PET 2	F	kontrola	18,7	A2A2	Ins/Del
PET 13	F	kontrola	26,6	A2A2	Ins/Del
PET 17	F	kontrola	128	A1A2	Ins/Ins
PET 25	F	kontrola	221	A2A2	Ins/Del
PET 33	F	kontrola	>930	A1A2	Ins/Ins
PET 34	F	kontrola	402	A1A2	Ins/Ins
PET 35	F	kontrola	20,2	A1A2	Ins/Ins
PET 36	F	kontrola	94	A2A2	Ins/Ins
PET 37	F	kontrola	32,7	A2A2	Ins/Ins
PET 38	F	kontrola	53,8	A2A2	Ins/Ins
PET 39	M	kontrola	43,6	A2A2	Ins/Del
PET 41	M	kontrola	173	A2A2	Ins/Ins
PET 42	F	kontrola	22,5	A2A2	Ins/Ins
PET 43	F	kontrola	194	A2A2	Ins/Ins
PET 45	F	kontrola	100	A2A2	Ins/Del
PET 46	F	kontrola	86,7	A2A2	Ins/Del
PET 47	F	kontrola	80,7	A2A2	Ins/Del
PET 48	F	kontrola	708	A2A2	Ins/Del
PET 53	F	kontrola	61	A1A2	Ins/Del

PET 57	F	kontrola	101	A2A2	Ins/Del
PET 61	F	kontrola	27,5	A2A2	Ins/Del
PET 66	F	kontrola	29,4	A2A2	Ins/Ins
PET 67	F	kontrola	x	A2A2	Ins/Ins

**RŮŽOVĚ KONTROLA**

**ŽLUTĚ SCHIZOFRENICI**

**ZELENĚ ALZHEIMER**

### 13. Seznam tabulek

Tabulka 1: Reagencie použité při izolaci DNA z bukálního stěru na jednu izolaci .....	31
Tabulka 2: Reagencie při izolaci DNA z plné krve na jednu izolaci .....	32
Tabulka 3: Složení reakčního mixu pro 1 reakci .....	33
Tabulka 4: Sekvence primerů pro polymorfismus TaqIA .....	33
Tabulka 5: Použitý reakční profil pro analýzu TaqIA polymorfismu .....	34
Tabulka 6: Složení reakčního mixu pro 1 reakci (2x PCRBIO HS Taq Mix) .....	34
Tabulka 7: Složení reakčního mixu pro 1 reakci (My Taq™ Red DNA Polymerase) ...	35
Tabulka 8: Sekvence primerů použitých pro analýzu polymorfismu - 141C Ins/Del ....	35
Tabulka 9: Použitý reakční profil pro analýzu -141C Ins/Del polymorfismu .....	36
Tabulka 10: Celkové počty jedinců a zastoupení pohlaví v jednotlivých skupinách .....	39
Tabulka 11: Zastoupení jednotlivých genotypů pro polymorfismus TaqIA u DRD2 genu v testovaných skupinách .....	40
Tabulka 12: Zastoupení jednotlivých genotypů pro polymorfismu -141C Ins/Del u DRD2 genu v testovaných skupinách .....	41

## 14. Seznam obrázků

Obrázek 1 Umístění DRD2 genu na 11. chromozomu ( <a href="http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=DRD2">www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=DRD2</a> ).....	9
Obrázek 2 Lidský gen DRD2 s lokacemi nejvíce studovaných polymorfismů. Vyznačeny polymorfismy -141C Ins/Del a TaqIA (převzato z Pinto et al., 2016). .....	13
Obrázek 3: Příklad restriční štěpení pro TaqIA polymorfismus. Hmotnostní marker (ladder), je napipetován v první jamce. Jednotlivé genotypy jsou uvedeny pod jamkami. .....	37
Obrázek 4: Příklad restriční štěpení pro polymorfismus -141C Ins/Del. Hmotnostní marker (ladder), je napipetován v první jamce. Odečtené genotypy jsou uvedeny pod jednotlivými jamkami. ....	38
Obrázek 5: Grafické znázornění genotypů podle jednotlivých skupin v polymorfismu TaqIA. (Zdroj: vlastní).....	40
Obrázek 7 Grafické znázornění genotypů podle jednotlivých skupin v polymorfismu - 141C Ins/Del. (Zdroj: vlastní).....	<b>Chyba! Záložka není definována.</b>
Obrázek 8: Ordinační diagram pro výskyt polymorfismu TaqIA (CCA, první osa vysvětluje 11,2 % a druhá osa vysvětluje 12,43 %). Celkem bylo testováno 89 jedinců, 19 s diagnózou schizofrenie, 25 s diagnózou AD a 45 kontrol). ....	<b>Chyba! Záložka není definována.</b>

## 15. Seznam zkratek

- AD – Alzheimerova choroba
- ADHD – attention deficit hyperactivity disorder
- ANKK1 – ankyrin repeat and kinase domain containing 1
- CCA – Canonical Correspondence Analysis
- CHOPN – chronická obstrukční plicní nemoc
- CNS – centrální nervová soustava
- CSC – programy koordinované socializované péče
- DA – dopamin
- D2R – dopaminový receptor D2
- DLB – demence s Lewyho tělísky
- DNA – deoxyribonukleová kyselina
- FTLD – frontotemporální lobární degenerace
- GEP – prekurzor granulinu-epitelinu
- GPRC – receptor spřažený s G proteinem
- hRPTC – buňky renálních proximálních tubulů
- LB – Lewyho tělíska
- MCI – mírná kognitivní porucha
- NF-kappa – nukleární faktor-kappaB
- NMS – nemotorické symptomy
- NPS – neuropsychiatrické symptomy
- PD – Parkinsonova choroba
- PCDGF – PC cell-derived growth factor
- PCR – polymerázová řetězová reakce



PGRN – progranulin

PEPI – proepitelin

RFLP – restriction fragment length polymorphism

RIP – receptor – interacting protein

SNP – jednonukleotidový polymorfismus

WHO – Světová zdravotnická organizace