

GENETIKA ÉS GENOMIKA

Szerkesztette: Szalai Csaba

Szerzők:

1. fejezet: László Valéria

2., 3., 4., 6., 7. fejezetek: Tóth Sára

5. fejezet: Pap Erna

8., 9., 10., 11., 12., 13., 14. fejezetek: Szalai Csaba

15. fejezet: Falus András és Oberfrank Ferenc

A könyv a Semmelweis Egyetem orvostan-, gyógyszerész- és fogorvostan-hallgatók számára tartott 'Genetika és genomika' tárgy előadásainak és részben gyakorlatainak anyagát tartalmazza. A középiskolai genetikai és a biokémiából tanult molekuláris biológiai ismeretekre épülve a könyv a humángenetikának leginkább az orvostudományokhoz kapcsolódó részeit tárgyalja bővebben. A 15 fejezet egy része orvosi genetikával foglalkozik, de fejezetei ismertetik a genetikai információátadás folyamatát, citogenetikát, epigenetikát, fejlődés-genetikát, onkogenetikát, immunogenetikát, populációgenetikát, evolúciógenetikát, illetve a humángenetikából kinőtt új tudományágnak, a humángenomikának az alapismereteit, és alkalmazásait, például komplex betegségek vizsgálatában, farmakogenomikában, nutrigenomikában vagy a genom-környezet kölcsönhatásának tanulmányozásában. Mivel a genomika a rendszerbiológiai tudományokhoz tartozik, egy fejezet a rendszerbiológiai alapfogalmakat ismerteti, szintén orvosbiológiai, betegség-központú megközelítéssel. A modern humángenetika és genomika eredményei számos társadalmi, jogi és etikai problémát vethetnek fel. Egy fejezet ez utóbbiakkal foglalkozik. Minden fejezet végén kérdések találhatók, amelyekkel az olvasók ellenőrizhetik, hogy megértették, feldolgozták-e a fejezet által közvetített ismereteket. Mivel e-könyvről van szó, bizonyos fogalmak nem kerülnek részletes ismertetésre, hanem néhol wikipédia-szerűen kapcsolva vannak a világhálón található részletesebb anyaghoz. A könyvet az egyetemi hallgatókon kívül mindazok figyelmébe is ajánljuk, akik igénylik, hogy orvos-genetikai és genomikai ismereteik naprakészek legyenek.

Kulcsszavak: Mitózis, meiózis, mutációk, polimorfizmusok, citogenetika, epigenetika, mendeli öröklődés, fejlődés-genetika, a nem genetikája, őssejtbiológia, onkogenetika, immunogenetika, humángenomika, komplex betegségek genomikája, genomikai módszerek, populációgenetika, evolúciógenetika, farmakogenomika, nutrigenetika, gén-környezet kölcsönhatás, rendszerbiológia, bioetika.



SZÉCHENYI TERV

Typotex Kiadó

2013

COPYRIGHT: © Falus András, László Valéria, Oberfrank Ferenc, Pap Erna, Dr. Szalai Csaba, Tóth Sára, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem

Creative Commons NonCommercial-NoDerivs 3.0 (CC BY-NC-ND 3.0)

A szerző nevének feltüntetése mellett nem kereskedelmi céllal szabadon másolható, terjeszthető, megjelentethető és előadható, de nem módosítható.

Szakmai lektor: Molnár Viktor; Csertex Kutatólaboratórium vezetője

ISBN 978 963 279 185 2

Készült a [Typotex Kiadó](#) gondozásában

Felelős vezető: Votisky Zsuzsa

Készült a TÁMOP-4.1.2/A/1-11/1-2011-0079 számú, „Konzorcium a biotechnológia és bioinformatika aktív tanulásaért” című projekt keretében.

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszachenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

Tartalomjegyzék

1. A genetikai információ átadása	9
1.1. A sejtciklus és szabályozása	9
1.1.1. G ₀ -G ₁ átmenet.....	10
1.1.2. G ₁ -S átmenet, S-fázis.....	12
1.1.3. G ₂ -M átmenet.....	12
1.1.4. M-fázis.....	13
1.1.4.1. A kromoszóma szerkezete	14
1.1.4.2. A sejtmaghártya eltűnése és újraképződése	16
1.1.4.3. A mitotikus orsó felépítése és szerepe a mitózisban	16
1.1.4.4. A metafázis-anafázis átmenet	19
1.1.5. A citokinézis legfontosabb folyamatai	20
1.1.6. Ellenőrzési pontok	21
1.2. A meiózis	22
1.2.1. A meiózis szakaszai	22
1.2.2. Oogenezis.....	26
1.2.3. Spermatogenezis	26
1.2.4. Meiózis szabályozása	28
1.3. A fejezethez tartozó kérdések.....	29
2. Mutációk és polimorfizmusok.....	30
2.1. A mutációk csoportosítása	30
2.2. Génmutációk.....	32
2.3. DNS-hibajavítás (repair)	37
2.4. Mutagenitási vizsgálatok.....	39
2.5. A fejezethez tartozó kérdések.....	40
3. Citogenetika. Kromoszómamutációk	41
3.1. Szerkezeti kromoszómamutációk = strukturális kromoszómaaberrációk	42
3.1.1. Deléciók.....	42
3.1.2. Duplikációk.....	43
3.1.3. Transzlokációk	43
3.1.3.1. Reciprok transzlokációk	43
3.1.4. Inverziók.....	45
3.1.5. Gyűrű (ring) kromoszóma	45
3.1.6. Izokromoszóma.....	46
3.1.7. Dicentrikus kromoszóma	48
3.1.8. Acentrikus fragment.....	49
3.2. Számbeli kromoszómamutációk = numerikus aberrációk	49
3.2.1. Euploid kromoszómamutációk	49
3.2.2. Aneuploid kromoszómaaberrációk.....	50
3.2.3. A leggyakoribb számbeli kromoszóma-rendellenességek	51

3.2.3.1. 21-es triszómia	52
3.2.3.2. 13-as triszómia	52
3.2.3.3. 18-as triszómia	52
3.2.4. Nemi kromoszómák számbeli kromoszóma-rendellenességei	53
3.2.4.1. Turner-szindróma	53
3.2.4.2. Klinefelter-szindróma	53
3.2.4.3. Triplo X-szindróma	53
3.2.4.4. Dupla Y-szindróma, „szuper férfi”, Jacobs-szindróma	53
3.3. Uniparentális diszómia (UPD)	54
3.4. Mixoploid mutációk.....	54
3.4.1. Mozaicizmus	54
3.4.2. Kimérizmus.....	55
3.5. A fejezethez tartozó kérdések.....	56
4. Epigenetika.....	57
4.1. Epigenetikus változások – molekuláris módosulások.....	57
4.1.1. DNS-metiláció	57
4.1.2. CpG mint mutációs forrópont	58
4.1.3. Hisztonmódosulások.....	58
4.2. Nem-kódoló RNS-ek.....	59
4.3. Epigenetikus jelenségek	59
4.3.1. X-kromoszóma-inaktiváció.....	59
4.3.2. Genomikus imprinting.....	60
4.3.2.1. Imprintinggel összefüggő betegségek	61
4.3.2.2. Az imprinting célja	62
4.4. Az epigenetikai hatások jelentősége.....	62
4.5 A fejezethez tartozó kérdések.....	64
5. Mendeli öröklődés: autoszomális öröklődés	65
5.1. Bevezetés.....	65
5.2. Genetikai alapfogalmak, értelmezésük.....	67
5.3. Fogalmak/jelenségek, amelyek befolyásolják/árnyalják a klasszikus monogénnek vélt öröklődést.....	68
5.4. Autoszomális domináns öröklődés	71
5.4.1. Az autoszomális domináns (AD) öröklődés általános jellemzése	71
5.4.2. Struktúrgén mutációja által okozott betegségek	72
5.4.2.1. Marfan-szindróma.....	72
5.4.2.2. Osteogenesis imperfecta.....	72
5.4.3. Receptorgén mutációja által okozott betegségek	73
5.4.3.1. Achondroplasia.....	73
5.4.3.2. Familiáris hiperkoleszterinémia.....	73
5.4.3.3. Policisztás vese	73
5.4.4. Jelenleg ismeretlen funkciójú fehérjét kódoló gén mutációja.....	73
5.4.4.1. Huntington Chorea.....	73
5.4.5. Protoonkogének mutációja	74
5.4.6. Farmakogenetikai betegségek.....	74
5.4.6.1. Porfiria	74
5.4.6.2. Malignus hypertermia.....	74
5.5. Autoszomális recesszív öröklődés	74
5.5.1. Az autoszomális recesszív (AR) öröklődés általános jellemzése.....	74
5.5.2. Enzimopátiák	75

5.5.2.1. Fenilketonúria.....	75
5.5.2.2. Klasszikus albinizmus.....	75
5.5.2.3. Congenitális adrenalis hyperplasia.....	76
5.5.2.4. Xeroderma pigmentosum.....	76
5.5.3. Cisztás fibrózis.....	76
5.5.4. Hemoglobinopátiák.....	77
5.5.4.1. Sarlósejtes anémia.....	77
5.5.4.2. Thalassemiák.....	77
5.6. Gének és tumorok.....	77
5.7. Gének és gyógyszerek.....	78
5.8. Konklúzió.....	79
5.9. Kérdések.....	79
6. A nem szerepe az öröklődésben.....	81
6.1. X-kromoszómához kötött öröklődés.....	81
6.1.1. X-hez kötött domináns (XD) öröklődés.....	81
6.1.2. X-hez kötött recesszív (XR) öröklődés.....	82
6.2. Y-kromoszómához kötött (holandrikus) öröklődés.....	84
6.3. Nem által befolyásolt öröklődés.....	84
6.4. Nemre korlátozódó öröklődés.....	84
6.5. Genomiális imprinting.....	85
6.6. Citoplazmatikus öröklődés.....	85
6.6.1. Anyai hatás.....	85
6.6.2. Mitokondriális öröklődés.....	85
6.7. Az X-kromoszóma inaktivációja.....	86
6.8. A fejezethez tartozó kérdések.....	87
7. Biológiai folyamatok genetikája.....	88
7.1. Fejlődésgenetika.....	88
7.1.1. Morfogének.....	89
7.1.2. Homeobox gének.....	89
7.2. A nem genetikája.....	89
7.2.1. A hímnem kialakulása emlősökben.....	90
7.2.2. A női nem kialakulása emlősökben.....	92
7.3. Össejtbiológia.....	93
7.4. Onkogenetika.....	94
7.4.1. Onkogének.....	94
7.4.2. Tumorszuppresszor gének.....	95
7.4.3. Anti-apoptotikus gének.....	95
7.4.4. Telomeráz.....	96
7.5. Immungenetika.....	96
7.6. A fejezethez tartozó kérdések.....	100
8. Bevezetés a genomikába.....	101
8.1. Genomika.....	101
8.2. Humán Genom Projekt.....	102
8.3. DNS-szekvenálás.....	103
8.4. Résztevők a humán genom projektben.....	105
8.5. A HGP néhány eredménye.....	105
8.6. A humán genom variációi.....	107
8.7. „Junk DNS” a humán genomban.....	110
8.8. Komparatív genomika.....	112

8.9. Irodalom	113
8.10. Fejezethez tartozó kérdések	114
9. A komplex betegségek genomikai megközelítése	116
9.1. Komplex betegségek általános jellemzői	116
9.2. Környezeti tényezők	117
9.3. Miért fontos kutatni a multifaktoriális betegségek genomikai hátterét?	117
9.4. Öröklődés bizonyítása.....	118
9.5. Az öröklődő hányad számítása	119
9.6. Multifaktoriális betegségek genomikai hátterének tisztázását nehezítő jellemzők	119
9.7. Genomikai módszerek fejlődése, nehézségek.....	121
9.8. Ritka variációk problémája	122
9.9. Epigenetikai problémák	123
9.10. A genom véletlenszerű viselkedése.....	123
9.11. Statisztikai problémák.....	123
9.12. Megoldáshoz közelítő utak.....	124
9.13. Miért gyakoribbak manapság a multifaktoriális betegségek?	125
9.13.1. Takarékosgén-hipotézis	126
9.13.2. Tisztasághipotézis	127
9.13.3. További elméletek	128
9.14. Irodalom.....	129
9.15. Fejezethez tartozó kérdések	129
10. Betegségek genomikai vizsgálati módszerei	131
10.1. Genetikai markerek	131
10.2. Betegségek genomikai hátterének vizsgálati módszerei	132
10.2.1. Genetikai variációk szerepének vizsgálata betegségekben.....	132
10.2.2. GWAS	134
10.2.3. GWAS-eredmények értékelése	135
10.2.4. Parciális genomszűrések	136
10.2.5. Pozicionális klónozás	136
10.2.6. Személyre szabott genomika.....	136
10.2.7. Újgenerációs szekvenálás (NGS).....	138
10.2.8. Génexpresszió-mérés.....	138
10.2.9. Egyéb mikroarray-alapú módszerek.....	139
10.3. Állatmodellek.....	140
10.3.1. Állatmodellek előnyei	140
10.3.2. Állatmodellek hátrányai.....	141
10.3.3. Kísérleti betegségmodellek.....	142
10.4. Irodalom.....	142
10.5. Fejezethez tartozó kérdések	143
11. Populáció- és evolúciógenetika	145
11.1. Populációgenetika.....	145
11.1.1. Mintagyűjtések típusai.....	145
11.1.2. Biológiai minta gyűjtése populációgenetikai vizsgálatokhoz.....	146
11.1.3. Hardy–Weinberg-eloszlás	147
11.1.4. Kapcsoltság és haplotípus	148
11.1.5. Founder populációk.....	151
11.1.6. Asszociációs vizsgálatok	152
11.1.7. Kockázatszámítás	153

11.2. Evolúciógenetika	154
11.2.1. A humán genomot formáló gén-környezet kölcsönhatások	154
11.2.2. Genetikai sodródás.....	155
11.2.3. Miért gyakori néhány súlyos betegséget okozó mutáció?	155
11.2.4. Példák a genomot formáló szelekciós hatásokra	157
11.3. Fejezethez tartozó kérdések	158
12. A genom és a környezet kölcsönhatása	160
12.1. Mutációk penetranciája.....	160
12.2. Nagy penetranciájú mutációk és a környezet kölcsönhatása.....	161
12.3. Példák kis penetranciájú mutációk és a környezet egymásra hatására.....	162
12.4. Dohányzás és a genom kölcsönhatása.....	162
12.4.1. Dohányzásra való hajlam genomikai háttere.....	163
12.4.2. Dohányzás és gének kölcsönhatása betegség hajlamokban.....	165
12.4.3. Dohányzás-gén kölcsönhatás multifaktoriális betegségekben	166
12.5. Gén-környezet kölcsönhatás vizsgálata a genomikai érásban.....	172
12.6. Nutrigenetika és nutrigenomika.....	176
12.7. A gén-környezet kölcsönhatás vizsgálat jövője	177
12.8. Irodalom.....	177
12.9. A fejezethez kapcsolódó kérdések.....	179
13. Farmakogenomika	181
13.1. A farmakogenomika céljai.....	181
13.1.1. Gyógyszerfejlesztés.....	181
13.1.2. Gyógyszermellékhatások.....	182
13.2. Gyógyszermellékhatások genomikai háttere	184
13.3. Farmakogenomikai kutatások nehézségei	184
13.4. Farmakokinetikát befolyásoló gének, génvariációk	186
13.5. Farmakodinamikát befolyásoló gének, génvariációk.....	187
13.6. Példák farmakogenetikai vizsgálatokra, eredményekre	188
13.6.1. Statinok farmakogenetikája.....	188
13.6.1.1. Clopidogrel	190
13.6.2. Az asztma farmakoterápiája.....	190
13.6.3. β -agonisták farmakogenetikája.....	191
13.7. A farmakogenomika jövője	193
13.8. Irodalom.....	194
13.9. A fejezethez kapcsolódó kérdések.....	196
14. Betegségek rendszerbiológiai megközelítése	198
14.1. Bevezetés	198
14.2. Kölcsönhatások ábrázolása	198
14.3. A humán interaktom	199
14.4. Betegségének a hálózatokban	200
14.5. Betegség hálózatok	202
14.6. Csomópontok és élek	203
14.7. Közös gén hipotézis	204
14.8. Közös metabolikus útvonal hipotézis.....	205
14.9. Közös miRNS-hipotézis	206
14.10. Fenotípus betegség hálózat.....	206
14.11. A rendszerbiológiai módszerek alkalmazása.....	206
14.12. Irodalom	209
14.13. A fejezethez tartozó kérdések.....	210

15. A genetikai kutatás bioetikai, kutatásetikai kérdései	212
15.1. Előzmények	212
15.2. A genetikai kutatás etikai kihívást hordozó területei, a „határok” kérdése	213
15.3. A biobankok.....	216
15.4. Néhány általános etikai vonatkozású kérdés	217
15.5. A genetikai kutatásokra specifikus bioetikai és kutatásetikai kérdések	218
15.6. A genetikai eredetű információk kereskedelmi hasznosításának etikai kérdései	218
15.7. A genetikai kutatás, a biobankok, adatok kezelésének etikai és jogi szabályozása	219
15.8. Konklúzió.....	220
15.9. Irodalom.....	220
15.10. Fejezethez tartozó kérdések.....	220

1. A genetikai információ átadása

Az élőlények felépítését és működését a bennük található genetikai információ a környezettel való kölcsönhatás során határozza meg. Ennek a DNS-ben tárolt információnak az átadása eltérő módon valósul meg egy szervezeten belül, illetve a generációról generációra történő átadás során. Az előbbi esetben az a cél, hogy az információátadás hiánytalanul és hibátlanul történjen, ugyanakkor a következő nemzedékre történő átadás során a genetikai információ mennyiségének változatlansága mellett a variabilitás fokozása a cél, legalábbis a magasabb rendű élőlények esetében. Először a szervezeten belüli, sejtről sejtre történő információátadással foglalkozunk.

1.1. A sejtciklus és szabályozása

A genetikai információ (DNS) sejtről sejtre egy adott szervezeten belül, a sejtciklus során adódik át. A sejtciklusban a sejtek megkettőződnek, majd kettéosztódnak. Különbséget kell azonban tennünk a sejtmagban és a citoplazmában történő események között. A sejtmag DNS-e nagyon pontosan és szabályozottan duplikálódik, majd kromoszóma formában kettéosztódik, aminek az lesz a következménye, hogy osztódással **két, genetikailag azonos sejt** keletkezik. Kevésbé szigorúan szabályozott a citoplazma megkettőződése, lényegében növekedése, majd kettéosztódása.

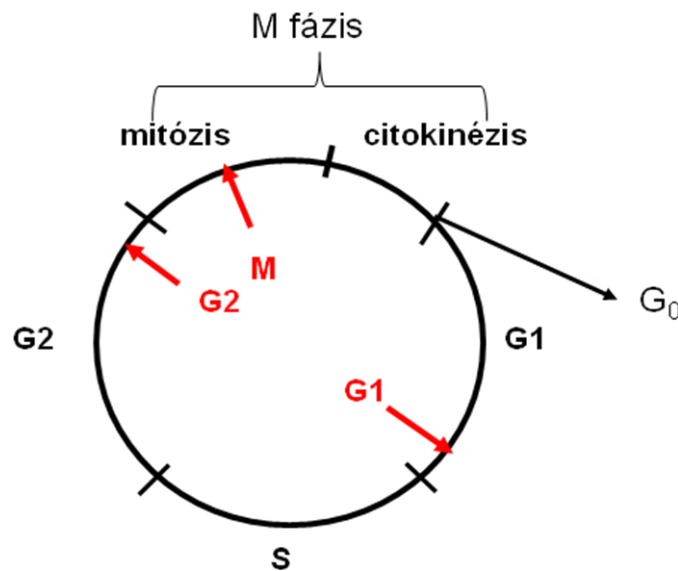
A sejt anyagainak megkettőződése az **interfázisban** történik, amelyben a **G₁** (preduplikációs, a DNS megkettőződését megelőző), az **S** (DNS szintézis) és a **G₂** (posztduplikációs) szakaszokat különítjük el. Az **M fázisban** először a kromoszómák osztódnak ketté, ez a **mitózis**, amit a citoplazma kétfelé osztódása, azaz a **citokinézis** követ. Sokszor ezt a két szakaszt együtt nevezik mitózisnak.

A soksejtű szervezetek sejtjei igen eltérő intenzitással osztódnak, a sejtek nagy része ún. **G₀** szakaszban van, ahol se **osztódás, sokszor még növekedés sincs**. Ahhoz hogy a sejtek újból belépjenek a G₁ szakaszba, ún. **növekedési faktorokra** és/vagy más sejtekhez vagy az extracelluláris mátrixhoz történő **letapadásra** van szükségük.

A sejtciklusban egy nagyon bonyolult irányító, vezérlőrendszer működik, amelynek alapvető komponensei a **ciklin dependens (függő) protein kinázok, a Cdk-k**. Nevüket az aktivitásukhoz szükséges **ciklinekről** kapták. Ez utóbbiak mennyisége a sejtciklus során periódikusan, ciklikusosan változik. A ciklin-dependens kinázok aktivitását a megfelelő ciklinszinten kívül még más tényezők is befolyásolják. Ezek közé tartoznak a **Cdk-aktiváló és -gátló kinázok**, amelyek a Cdk-okat foszforilálják. Az aktiváló kináz hatására foszforilálódott Cdk aktív, a gátló kináz által foszforilált viszont inaktív lesz. Ezeket a foszfátcsoportokat **foszfatázok** távolítják el, értelemszerűen az előbbi eltávolítása gátolja, az utóbbié pedig serkenti az enzim működését. Egy másik csoportja a fehérjéknek, a **ciklin dependens kináz gátlók**, nevükből adódóan gátolják az enzim működését. A Cdk-ok működése igen sokrétűen szabályozható még a fentieken kívül is. Mindegyik, már említett **fehérje expressziója szabályozható a transzkripció és a transláció szintjén**, és természetesen a **proteaszómában történő lebontás**, illetve az

azt megelőző **ubiquitinálás szintjén** is. Ez teszi olyan hihetetlenül bonyolulttá, de egyben rendkívül finoman szabályozhatóvá a sejtciklust. A ciklin dependens kinázok különböző **célfehérjék foszforilálásán** keresztül irányítják a sejtciklust. Az utóbbi években mutatták ki, hogy a ciklin dependens kinázokon kívül még más kinázok is (pl. Polo, Aurora stb.) szerepet játszanak a sejtciklus regulációjában.

A sejtciklus szakaszai nem cserélhetők fel, szigorú sorrendben követik egymást. Az, hogy tovább lehet-e lépni az egyik szakaszból a másikba, az ún. **ellenőrzési pontoknál** dől el. Az ellenőrzés célja, hogy valóban genetikailag azonos sejtek keletkezzenek az osztódás során (1.1. ábra).



1.1. ábra. A sejtciklus fázisai (G_1 , S, G_2 , M) és ellenőrzési pontjai (G_1 , G_2 , M). Az irányító rendszer csak abban az esetben engedi folytatni a sejtciklust, ha az ellenőrző pontokon semmilyen hiba nem állítja meg a folyamatot

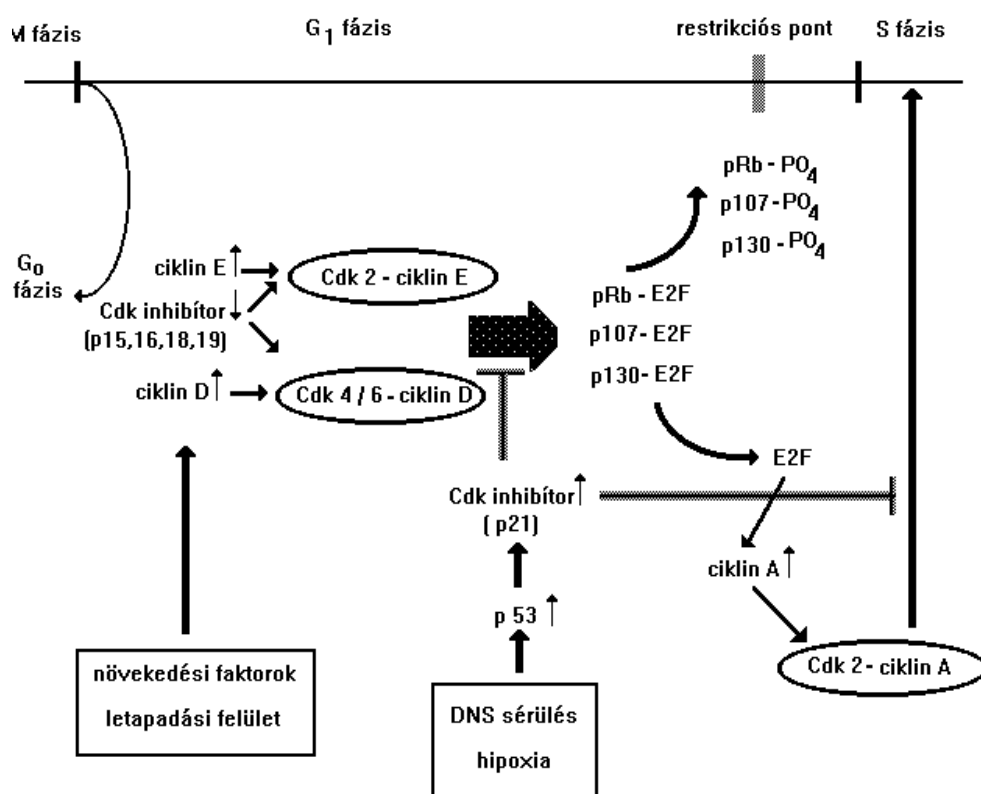
Az ellenőrzés **három fő ponton** történik. Az első a G_1 fázis végén van, ez a G_1 ellenőrzési pont (magasabb rendűekben **restrikciós pontnak** nevezik), ahol elsősorban a DNS épségét ellenőrzi a rendszer. A második ellenőrzési pont a G_2 fázis végén van, ez a **G_2 ellenőrzési pont**, ahol ismét a DNS sértetlenségét, valamint a megkettőződés hibátlanágát ellenőrzi a rendszer. Végül az **M ellenőrzési pont** az osztódás metafázisában van, ahol az a kérdés, hogy vajon pontosan rendeződtek-e a kromoszómák az egyenlítői síkban, azaz hogy pontos lesz-e a kromatidák szétválása. A sejtciklus csak akkor folytatódik, ha a DNS nem sérült, pontosan duplikálódott és a kromoszómák megfelelően helyezkedtek el az egyenlítői síkban.

És most röviden összefoglaljuk a soksejtűekre jellemző sejtciklus folyamatait és azok szabályozását.

1.1.1. G_0 – G_1 átmenet

Mivel a felnőtt soksejtű szervezetekben a legtöbb sejt G_0 szakaszban van, a sejtciklusba vissza kell térnie a sejtnak. Ez lényegében a G_1 -ben R, azaz **restrikciós ponton** való átjutást jelenti. A restrikciós pont előtt különböző környezeti hatások érik a sejteket. Amennyiben ekkor megfelelő extracelluláris mátrix komponens és/vagy növekedési faktor stimulus éri a sejtet, akkor az **addig hiányzó ciklin: a ciklin D átírása és transzlációja is megnő**, ugyanakkor néhány **Cdk-gátló** mennyisége viszont **lecsökken** úgy, hogy elsősorban a **proteaszómában való lebomlásuk fokozódik**. Ezek a Cdk-gátlók a

p16, p15, p18 és p19 és jellemzőjük, hogy specifikusak, kizárólag a Cdk4 és a Cdk6 működését gátolják, oly módon, hogy megakadályozzák a D ciklin kötődését, de a már kialakult a komplexnek az aktivitását is gátolják. Az aktív Cdk4/6-D ciklin komplex legfontosabb szubsztrátja a pRb (retinoblasztoma, a retina tumoros megbetegedését okozó gén terméke) és a **p107**, valamint a **p130** fehérjék. Foszforylálatlan állapotban ezek mindegyike megköti az **E2F**-eket, a folyamatban központi szerepet betöltő transzkripciós faktor család tagjait. A pRb és a másik két fehérje térszerkezete a foszforylálódás hatására úgy változik meg, hogy elengedik az átírást serkentő E2F proteineket. **Ez a foszforylálódás jelenti a sejtciklus restrikiós pontján való átlépést.** Az E2F család tagjai ezután számos, az S fázisba lépéshez szükséges, illetve arra jellemző gén transzkripcióját indukálják. Ilyenek pl. az E ciklin, az A ciklin, a timidin kináz, a DNS polimeráz stb. Az E ciklin a Cdk2-vel kapcsolódik és a Cdk4/6-D-ciklinhez hasonlóan az Rb proteint foszforylálja elsősorban (pozitív visszacsatolás). Az **A ciklin** a **Cdk2**-vel kapcsolódva viszont nélkülözhetetlen az **S fázis beindításához** (1.2. ábra).



1.2. ábra. Összefoglaló ábra a G₀ fázisból a sejtciklusba való visszatérés feltételeiről és a visszatérés gátlásáról

A külső környezeti hatások természetesen kedvezőtlenek is lehetnek, ilyen pl. a hipoxia (nagy mértékű sejtproliferáció esetén a sejtek vérellátása nem megfelelő), vagy a DNS sérülést okozó tényezők (itt van a már említett G₁ ellenőrzési pont, aminek a működésére még visszatérünk). Ezekben az esetekben, a sejtekben nagy mennyiségben mutatható ki aktív **p53** fehérje, ami szintén egy transzkripciós faktor, és fokozza egy másik, általános Cdk gátló fehérjének, a **p21-nek** az átíródását. A **p21 viszont gátolja mindegyik, G₁ fázisban jelen lévő Cdk komplex** (a Cdk4/6-D ciklin, a Cdk2-E ciklin és a Cdk2-A ciklin) **aktivitását is, tehát nem engedi a sejtet az S fázisba lépni.** Ennek az általános Cdk-gátló családnak van még két ismert tagja, a **p27** és a **p57**. Ezek a proteinek

megakadályozzák a hibás DNS megkettőződését, felfüggesztik a sejtciklust, lehetővé téve a hiba kijavítását. Röviden, meggátolják, hogy genetikailag különböző sejteket eredményezzen a sejt osztódása (1.2. ábra).

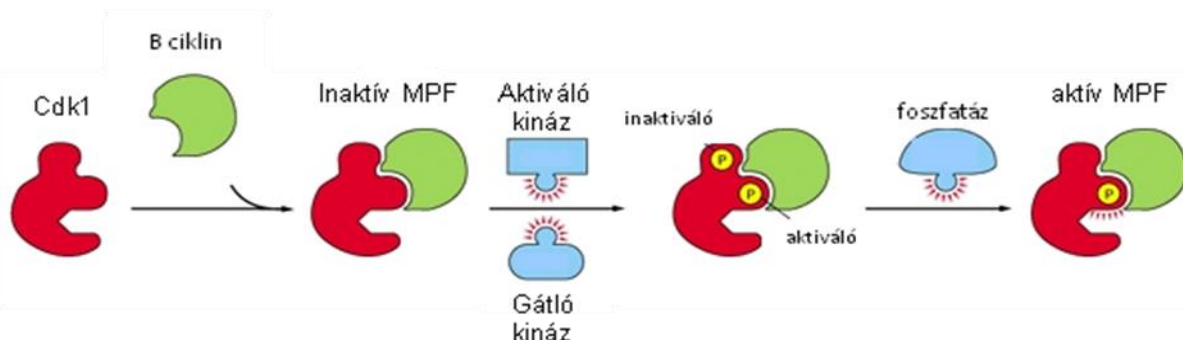
A fentiekben említésre került a két legismertebb tumorszuppresszor géntermék. Az egyik a p53, amelynek a hiánya vagy nem funkcióképes formája a tumorok felében kimutatható. A tumorok kialakulásának másik gyakori oka az **rb** gén recesszív mutációja. Lényegében az összes felsorolt **Cdk-gátlót kódoló gén a tumorszuppresszorok** közé tartozik, hiszen mindegyik gátolja a Cdk-k aktivitását, és így a sejt osztódását.

1.1.2. G₁-S átmenet, S-fázis

Az S fázis legfontosabb eseménye a sejt DNS-ének a megkettőzése, replikációja. Mivel az eukariótasejtekben igen nagy mennyiségű DNS van a prokariótákhoz képest, egy kromoszómán belül több helyen található **origó**, ahonnan egyszerre indul el mindkét irányba a replikáció. Ide kötődnek az **iniciációs fehérjék**, a DNS szétcsavarodik, majd a **replikációs komplex** többi tagja is bekapcsolódik. Ezek számos, csak részben ismert fehérjéből álló komplexek. Mint az egész sejtciklus alatt, ebben a lépésben is a ciklin dependens kinázok játsszák a fő szerepet. A Cdk2-E-ciklin komplex aktiválásához szükség van a jelen lévő Cdk-inhibitor, a p27 lebontására, amit egy **ubiquitin-ligáz, az SCF** (Skp-Cullin-F-box protein) végez. Végül az aktivált Cdk2-k (és egy másik proteinkináz, a Cdc7) **foszforilálják a replikációs komplex** még pontosan nem ismert tagjait. Ez a hatás egyúttal **meggátolja az újabb iniciációs komplexek kialakulását**, illetve kötődését. Ennek a lépésnek az a jelentősége, hogy biztosítja, hogy csak egyszer duplikálódjon a DNS.

A DNS-megkettőződés vagy **-replikáció** során a DNS mindkét szála mintaként, templátként szolgál, és a komplementaritásnak megfelelően épülnek be a nukleotidok a képződő láncba. Radioaktív izotóppal jelzett monomerekkel végzett vizsgálatokkal igazolták a szintézis **szemikonzervatív** voltát, tehát azt, hogy a szintézis után keletkezett két molekulában az egyik szál mindig a régi, a másik pedig az újonnan készült. A bázis-párosodás egyértelműsége miatt így **a keletkező két DNS szükségszerűen megegyezik egymással**.

1.1.3. G₂-M átmenet



1.3. ábra. Az aktív MPF kialakulása. A Cdk1-hez először a B ciklin kapcsolódik, majd a komplexet két, egy aktiváló és egy inaktiváló kináz foszforilálja. A még mindig inaktív MPF-ről egy foszfatáz lehasítja az inaktiváló foszfátcsoporthoz és így létrejön az aktív MPF – <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK28366/figure/A4636/?report=objectonly>; 2013. 02. 20.

A G_1 -S átmenetnél jobban ismert a G_2 -M átmenet szabályozása, az **MPF** kialakulása, aktiválódása és működése. Az MPF (maturation (vagy mitosis) promoting factor) egy **ciklinfüggő kináz**, a **Cdk1** és a **B ciklin** komplexe, amelynek az aktiválásához további poszttranszlációs modifikációkra (fehérjeszintézis utáni átalakítások) van szükség. Ezek a következők: az inaktív MPF két, egy **gátló** és egy **aktiváló kináz** szubsztrátja, amelyek közül az előbbi tirozinon, az utóbbi treoninon foszforilálja az MPF-et. Ezután a még mindig inaktív MPF-ről egy **foszfatáz** (a **CDC25** géncsaládba tartozó gén terméke) lehasítja a gátló kináz által felrakott foszfátcsoportot, és ezzel válik funkcióképesé, aktívvá az MPF (1.3. ábra).

Az MPF-nek számos szubsztrátja van, ezek közül a legelső a már említett **Cdc25 fehérje**, tehát az a foszfatáz, amelyik működése révén aktiválódik az MPF. Így ebben a folyamatban egy pozitív visszacsatolás típusú szabályozás során egyre több MPF aktiválódik. Emlősejtekben három foszfatáz közül, Cdc25A, B és C, ezen a ponton az utóbbi működik.

Ezután az MPF **stimulálja a sejt M fázisba való lépését** számos célfehérje foszforilációján keresztül. Először is foszforilálja a lamina fibrosa **A, B és C laminjait**, ennek következménye lesz a sejtmaghártya lebomlása.

Az **aktomiozin ATP-ázát** is foszforilálja, ami az enzim aktivitását gátolja, így megváltozik a mikrofilamentumok elrendeződése is, aminek a sejt jellegzetes morfológiai megváltozása, a lekerekedés lesz a következménye és meggátolja az idő előtti citokinézist.

A kromoszómák kondenzációját a **kondenzinek** foszforilálódása váltja ki. A hisztonok közül a H1 és a H3 is foszforilálódik.

Közvetett módon ugyan, de az **APC** is aktiválódik a G_2 -M-fázisátmenetben.

Az MPF szubsztrátjai a **MAP-ok** (mikrotubulusokhoz asszociált proteinek) is. Ezek megváltozása eredményezi a sejt mikrotubulus rendszerének az osztódó sejtre jellemző átalakulását, tehát a mitotikus orsó megjelenését.

A G_2 -M átmenet, az MPF aktivációja csak akkor lehetséges, ha az itt működő ellenőrzési rendszer a DNS-t és annak duplikációját hibátlannak találta.

1.1.4. M-fázis

Az M-fázis, csakúgy, mint az interfázis, egy összetett folyamat, egymást követő lépések, események sorozatából áll, de néhány jellegzetes, morfológiailag is elkülöníthető szakaszra szokták bontani. A **mitózis** alatt a sejt DNS-ének kromoszóma formájában való kettéosztódása, az azt követő **citokinézis**ben pedig a citoplazma feleződése történik.

A **mitózis szakaszai** és eseményei röviden a következők:

Profázis. A legfontosabb változás a sejtmagban történik, ugyanis a sejtmag kromatin-állományából fokozatosan kialakulnak a kromoszómák. Ez a DNS maximális spiralizálódását jelenti. Mivel az M-fázist megelőzően a DNS replikálódik, minden kromoszóma két kromatidából (testvér vagy sister kromatidákból) áll. A citoplazmában pedig a szintén megkettőződött centroszóma (sejtközpont) kettéválik, a sejt két ellenkező pólusára kezd vándorolni, és megkezdődik a mikrotubulusokból álló mitotikus orsó kialakulása.

Prometáfázis. Eltűnik a sejtmagvacska, a kromoszómák kialakulása tovább folyik. A sejtmaghártya vezikulumokra esik szét. A kromoszómák centromér régiójánál megjelenik a kinetokor, kromatidanként egy. Ehhez kapcsolódnak a mikrotubulusok közül a kinetokor mikrotubulusok. A másik két fajta mikrotubulus, az asztrális és poláris is kialakul.

Metafázis. A kinetokor mikrotubulusok közreműködésével a kromoszómák a sejt egyenlítői síkjába rendeződnek. A kinetokor régiók a sejt két pólusa felé néznek, a mikrotubulusok mindegyik kromoszómához, mindkét centroszóma irányából kapcsolódnak.

Anafázis. A kromoszómák kromatidái kettéválnak, a sejt két pólusa felé vándorolnak. Az anafázis elején (anafázis A), a kromatidák egymástól való eltávolításában a kinetokor mikrotubulusok, a végén (anafázis B) pedig a poláris mikrotubulusok játszanak szerepet. Ez a fázis a mitózis legrövidebb szakasza.

Telofázis. A kinetokor mikrotubulusok eltűnnek, a sejt két pólusára került kromatidák, ill. utódkromoszómák körül megjelenik a sejtmaghártya. A kromoszómák despiralizálódásával ismét kromatinállomány alakul ki. Kialakulnak a magvacskák. A poláris mikrotubulusok még jobban megnyújtják a sejtet.

A mitózis után nézzük a:

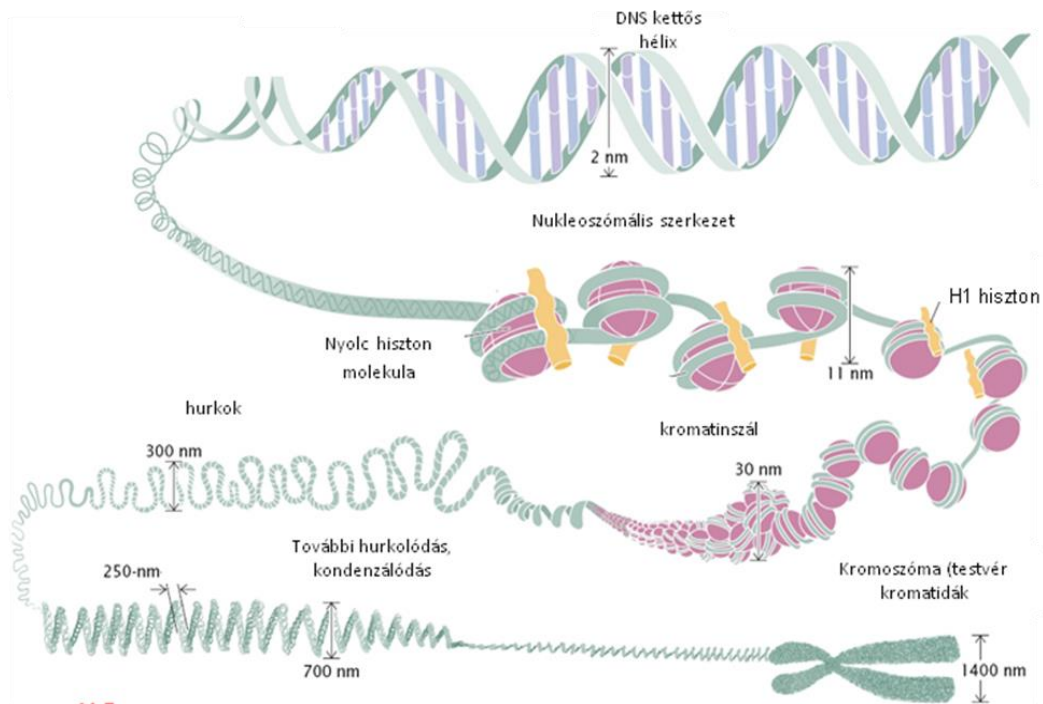
Citokinézist. A citoplazma befűződése az anafázis végén kezdődik, és a telofázisban válik nyilvánvalóvá. A sejt közepénél, a mitotikus orsó tengelyére merőlegesen egy befűződés keletkezik, ami egyre mélyül, és így egyre szűkül a kapcsolat a két sejtfél között. A poláris mikrotubulusok átfedő régiójának a maradványából az ún. **középtest** (midbody) jön létre. Végül a sejt citoplazmája teljesen kettévál, és a centroszómák irányításával az interfázisra jellemző mikrotubulus rendszer keletkezik.

Az előzőekben röviden ismertetett folyamatokat most részletesebben is tárgyaljuk.

1.1.4.1. A kromoszóma szerkezete

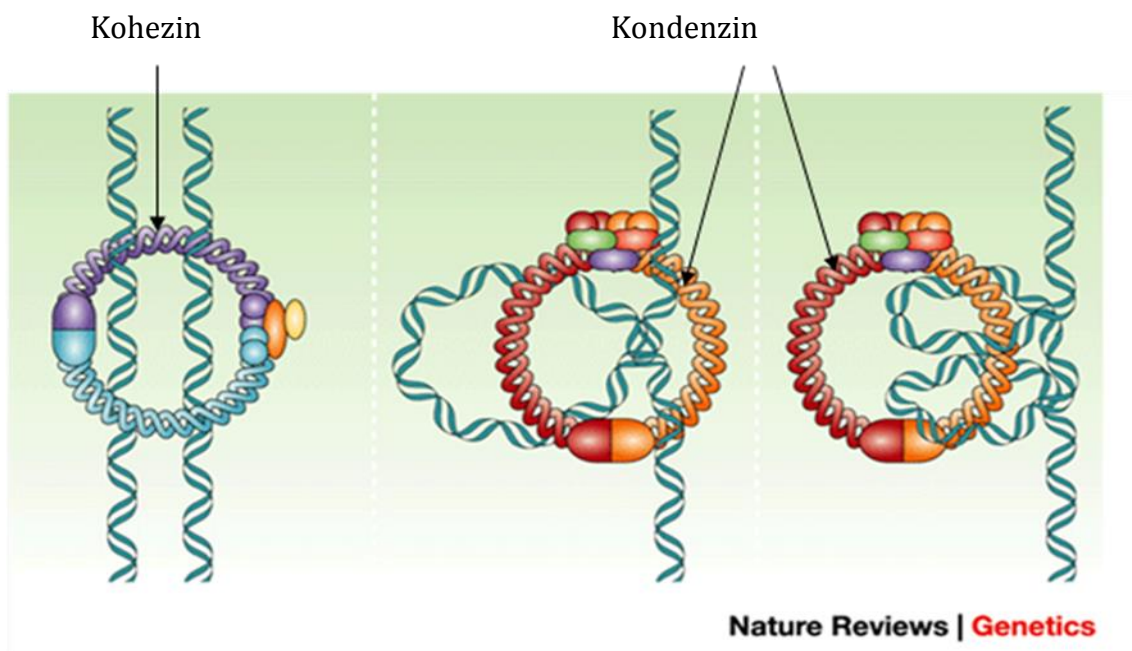
Ahhoz, hogy az eukarióták nagy mennyiségű, több cm hosszú, megkettőződött DNS-e pontosan, törés nélkül megfelelődjön, kromoszómákba (néhány μm hosszúságúak) kell rendeződnie. Eközben a DNS hossza eredeti hosszúságának tízezredére csökken. Azt, hogy ez pontosan hogyan is történik, még nem ismerjük. Az alábbiakban egy olyan modellt ismertetünk, amelynek bizonyos pontjai már bizonyítást nyertek (1.4. ábra).

A DNS hiszton oktamerből (2 - 2 $\text{H}_{2\text{A}}$, $\text{H}_{2\text{B}}$, H_3 és H_4) álló korongokra csavarodva nukleoszómat hoz létre, amelyeket a folyamatos DNS-molekula köt össze. Ez az ún. nukleoszómalis szerkezet, amelynek az átmérője 11 nm. A **H_1 hiszton** összehajtogatja a **nukleoszómat**, így egy 30 nm átmérőjű **kromatin** vagy másnéven **szolenoidszál** keletkezik. A H_1 hiszton a szolenoidszál kialakulásakor hat nukleoszómat kapcsol össze egy síkban. A szerveződés következő szintjét az jelenti, hogy a kromatinszál fehérjevázhhoz (kromoszómaváz) kapcsolódva **hurkokat** képez. Ezek a hurkok jelentik a replikáció és a transzkripció alapegységét, amelynek az átmérője már 300 nm. Végül ez a huroksor erőteljesen tovább spiralizálódva a **metafázisos kromoszómát** hozza létre, amelynek az átmérője 1400 nm (1.4. ábra). A kromoszómakondenzációban az MPF által foszforilált kondenzinek játszanak fontos szerepet. A kromoszóma szerkezetének kialakításában, illetve működésében két egymáshoz hasonló szerkezetű fehérjekomplex vesz részt, az előbb említett **kondenzinek** és a **kohezinek**. Mindkét komplex részben ATP-áz aktivitással bíró különböző, ún. SMC (structural maintenance of chromosomes) fehérjékből, illetve reguláló proteinekből áll. A legújabb elképzelések szerint a fehérjekomplexek gyűrűket alkotnak (1.5. ábra).



1.4. ábra. A DNS kettős hélix kromoszómává szerveződése –

<http://www.nature.com/scitable/topicpage/eukaryotic-genome-complexity-437>; 2013. 02. 20.



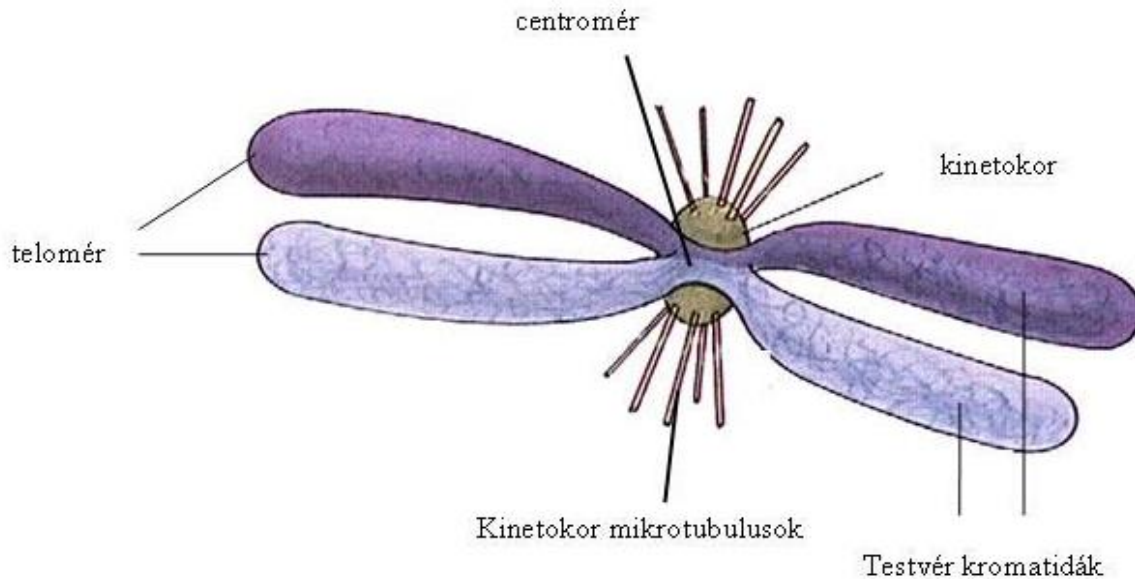
1.5. ábra. A kohezin és a kondenzin –

<http://www.nature.com/nrg/journal/v4/n7/box/nrg1110 BX3.html>; 2013.02.19.

A metafázisos kromoszóma jellegzetes részei a következők. Mivel a DNS az S fázisban megkettőződött, a kromoszóma két kromatidából áll, amelyek ekkor már csak az elsődleges befűződésnél, a **centromér** régiónál kapcsolódnak egymáshoz. A DNS-szintézis után a DNS-molekulákat az előzőekben említett **kohezin** gyűrűszerűen tartja össze. Ennek nagy része a kromoszómakondenzáció során már a profázisban leválik, a metafázis végére már csak a centromér területén marad meg. A centromér környéki

kohezin lehasítása után válnak szét az anafázisban a kromatidák. A centromérrégió elhelyezkedése alapján szokták a kromoszómákat osztályozni (lásd [3. fejezet, Citogenetika](#)). A centromér régió kijelöli a **kinetokor** helyét, amely a profázis és prometáfázis alatt kapcsolódik a centromérhez, és amelyhez a **kinetokor mikrotubulusok** (kb. 30-40) kapcsolódnak. Morfológiailag a kinetokor egy három rétegből álló fehérjelemez, ami többek között mind **dinein**, mind pedig **kinezin** típusú motorfehérjét tartalmaz. Ismeretes egy olyan autoimmun betegség, a szkleroderma, amelyben a betegek valamelyik kinetokorfehérje ellen termelnek antitesteket.

A centromér két karra osztja a kromoszómákat, amelyek végei a **telomérák**. Ezek a területek a kromoszómák integritásának megőrzésében fontosak (1.6. ábra).



1.6. ábra. Eukarióta kromoszóma –

<http://www.emc.maricopa.edu/faculty/farabee/biobk/biobookmito.html>; 2013. 02. 20.

Vannak olyan kromoszómák, az emberi genomban 5 pár, amelyeken másodlagos befűződés is van. Itt található nagy kópiaszámban a nagy (45S) rRNS génje, ezért ezt **NOR-nak, nukleoláris organizátor régió**nak nevezik.

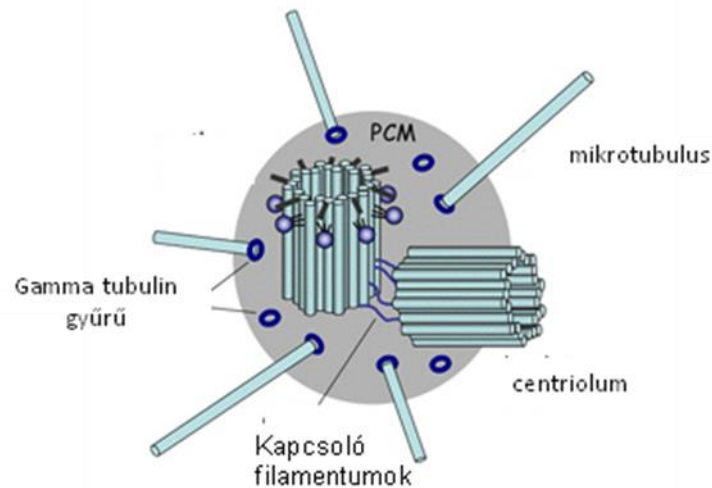
1.1.4.2. A sejtmaghártya eltűnése és újraképződése

Az **MPF** fő szubsztrátját jelentik a belső sejtmagmembránhoz kapcsolódó **lamina fibrosa laminjai**. A prometáfázisban, a foszforilálódás hatására, vezikulumokra esik szét a magmembrán. A **lamin B** a membránhoz kötötten, az **A** és a **C** pedig szolubilis formában található a citoplazmában. A sejtmagpórus is alkotóelemeire bomlik. Az osztódás végén, a telofázisban, **foszfatázok** hatására megtörténik a laminok defoszforilálódása. A lamina fibrosa újrarendeződése a kromoszómákon kezdődik, így körülöttük kialakul a sejtmaghártya. A kromoszómák közelednek egymáshoz, a magmembránrészletek összeolvadnak, és a pórusok is újrászerveződnek. Végül a kromoszómák dekonzenzációval újjáalakul a kromatinállomány.

1.1.4.3. A mitotikus orsó felépítése és szerepe a mitózisban

A mitotikus orsó részei a **centroszóma** és a **mikrotubulusok**. Az állati sejtekben a legfőbb **mikrotubulus-organizáló centrum** (MTOC) a centroszóma, ami interfázisban általában a sejtmag közelében foglal helyet. Központjában két egymásra merőleges, hengeres test (a **centriólumok**) helyezkedik el, amiket alapjuknál fehérjék kapcsolnak

össze. Körülöttük egy amorf, szerkezet nélküli terület, a pericentrioláris mátrix van, amelyben sok különböző fehérje található. A centriolumok 9x3, szélkerékszerűen elrendeződő mikrotubulusból állnak. A pericentrioláris anyagból nőnek ki csillagszerűen a mikrotubulusok, ezért nevezik ezt a régiót aszternek (1.7. ábra). A mikrotubulusok – vége a centriolumok felé, a + vége pedig kifelé áll. Minden eukariótasejtben van **mikrotubulus-organizáló centrum (MTOC)**, de ez nem feltétlenül jelent centriolumot. Kimutatták, hogy a mikrotubulusok organizálásához, a tubulinmonomerek polimerizációjához nem a centriolumra van szükség, hanem a tubulinnak egy formájára, a γ -tubulinra, amely állati sejtekben a centroszómamátrixban, mint γ -tubulin-gyűrű, található.



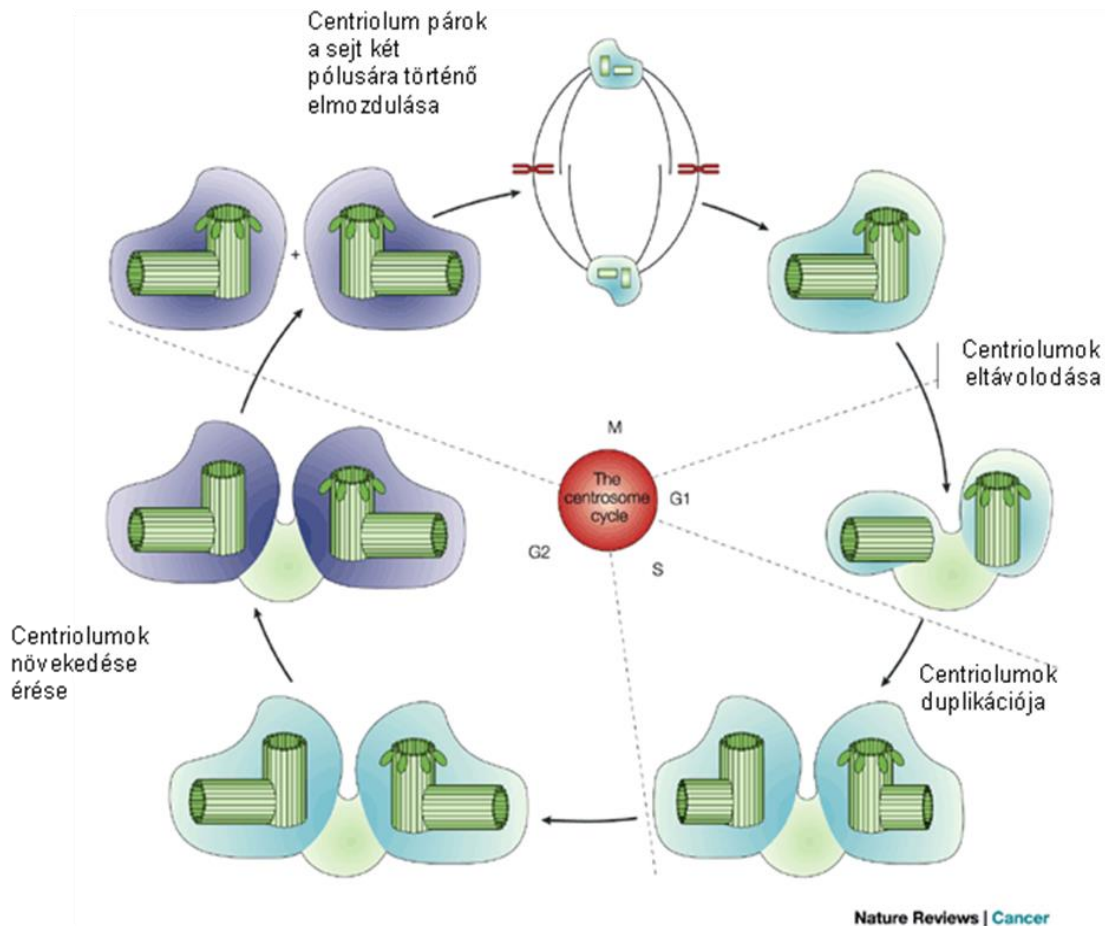
1.7. ábra. A centroszóma (sejtközpont) sematikus képe. Középen két egymásra merőleges centriolum, körülötte a pericentrioláris mátrix helyezkedik el. Ez utóbbi a mikrotubulusok nukleációs helye – <http://www.irbbarcelona.org/index.php/es/research/programmes/cell-and-developmental-biology/microtubule-organization>; 2013.02.19.

A DNS-tartalom mellett a **centroszóma megkettőződése és feleződése biztosítja** a sejtciklus során, **hogy genetikailag egyenértékű sejtek** keletkezzenek. Ha a centroszóma nem kettőződik meg, nincs mitotikus orsó, nem történik osztódás, és ez poliploidiat eredményez. Ugyanakkor, ha többször duplikálódik, akkor több pólus alakulhat ki a sejtben, és a kromoszómák egyenlőtlenül oszlanak meg az utódsejtek között (lásd az atípusos osztódások okait). A késői G₁ fázisban a centriolumok egy kissé eltávolodnak egymástól, majd az eredetiekre merőlegesen, az S-fázisban egy-egy új centriolum jön létre, tehát megkettőződnek. A két centriolumpár a G₂ végén, illetve a mitózis elején szétválak egymástól, végül a mikrotubuláris rendszer, illetve a motorfehérjék segítségével a sejt két pólusára vándorolnak, ahol a mitotikus orsó jellegzetes mikrotubulus-rendszerének a kialakulását organizálják (1.8. ábra).

Ehhez azonban az MPF közreműködésére is szükség van. Ugyanis az MPF szubsztrátjai közé tartoznak a **MAP**-ok, a mikrotubulus asszociált fehérjék, amelyek az osztódás elején szintén foszforilálódnak. Valószínűleg ennek köszönhetően rendeződik át a sejt mikrotubulus-rendszere, alakul ki a mitotikus orsó. Interfázisban kevés, hosszú és relatíve stabil szerkezetű mikrotubulus van. A mitotikus orsóra ezzel szemben a nagyszámú, rövid és rendkívül dinamikus mikrotubulus a jellemző.

Profázisban az egymástól eltávolodó centroszómák körül minden irányba véletlenszerűen, igen sok, hosszúságát dinamikusan változtató mikrotubulus keletkezik. A mikrotubulusok akkor stabilizálódnak, amikor + végükkel kapcsolatot teremtenek vala-

milyen képlettel. Az egymással szembe növekvő mikrotubulusok ugyanis kapcsolódhatnak egymással, így jönnek létre az egymást részben átfedő **poláris mikrotubulusok**. Az átfedő régióban valószínűleg + vég motorfehérjék találhatók, amelyek részben a stabilizálásban, később, az anafázis B-ben pedig a két pólus eltolásában játszanak szerepet.



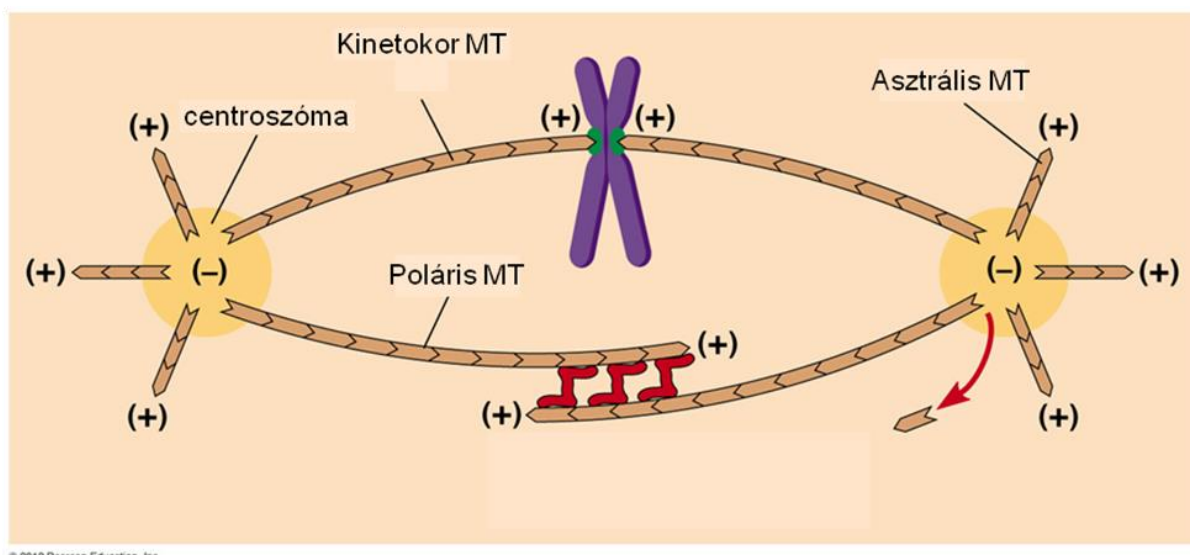
1.8. ábra. A centroszóma megkettőződése és feleződése –

http://www.nature.com/nrc/journal/v2/n11/box/nrc924_BX3.html; 2013. 02. 20.

A prometáfázisban, amikor a sejtmaghártya eltűnik, a mikrotubulusok nemcsak egymáshoz, hanem véletlenszerűen a kromoszómákhoz is kötődhetnek. Megfigyelték, hogy ilyenkor a kromoszóma az egyik kinetokorjával, mint egy csúszdán, végigcsúszik a mikrotubuluson, a dinein közreműködésével.

A centroszóma körül egy nagyon sajátos erő, a **poláris szél** érvényesül, amelynek a természete nem ismert. Mindenesetre a hatás lényege, hogy a sejt pólusáról minden nagyobb részecske kizáródik. Az egyik magyarázat erre a jelenségre az a konkrét mechanikai hatás lehet, ami a mikrotubulusok intenzív növekedéséből származik. Ahogy nőnek, szinte ellökik az odakerülő képleteket, pl. a kromoszómákat. Ugyanakkor, ismét csak véletlenszerűen, a növekvő mikrotubulusok + végükkel kapcsolódnak a kromoszómák pólus felőli kinetokorjához, miközben a másik pólus felé eső egyelőre szabadon van. Ehhez a kinetokorhoz majd a másik pólus felől növekedő mikrotubulusok kapcsolódhatnak. Ezeket a mikrotubulusokat nevezzük **kinetokor mikrotubulusoknak**.

A kinetokor mikrotubulusok segítségével a kromoszómák végül a metafázisban, a sejt egyenlítői síkjában fognak elrendeződni (1.9. ábra).



1.9. ábra. A mitotikus orsó felépítése. Részleteket lásd a szövegben –

http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-19/19_25.jpg; 2013. 02. 20.

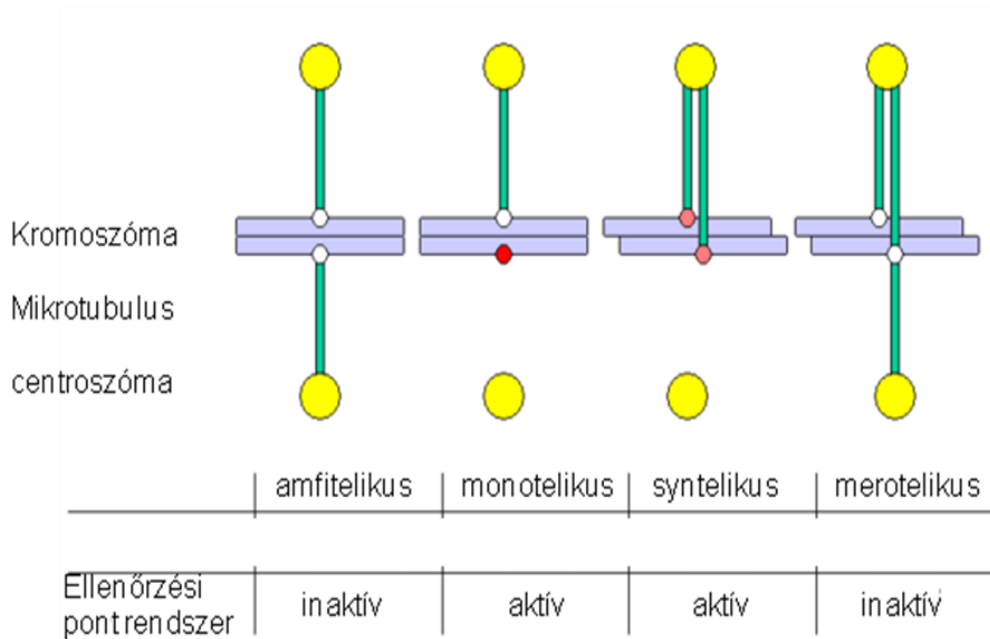
Ez az elhelyezkedés azonban soha nem stacioner, a kromoszómák a mikrotubulusok dinamikájának megfelelően oszcillálnak az egyenlítői síkban. Mivel a mikrotubulusok folyamatosan, ugyanolyan sebességgel nőnek a + végükön, mint amilyen sebességgel depolimerizálódnak a – végükön, hosszuk tehát nem változik.

1.1.4.4. A metafázis–anafázis átmenet

A mitotikus osztódás metafázisa végén a sejtekben az **anafázist elősegítő komplex (APC)** aktiválódik, proteinkinázok közreműködésével. Az APC lényegében egy ubiquitin ligáz, tehát egy olyan enzim, amely ubiquitint kapcsol a fehérjékhez, amivel a proteaszómákhoz irányítja őket. Az egyik szubsztrátja a **szekurin**, ami egy enzimet, a **szeparázt** gátló protein. Amikor a szeparáz felszabadul a gátlás alól, lehasítja a kromoszómákról a kromatidákat összetartó **kohezint**, és így a kinetokor mikrotubulusok el tudják őket húzni a sejt két pólusára. A másik szubsztrát a B ciklin, amelynek proteolízisével az MPF inaktiválódik. Ez teszi lehetővé az M-fázis befejezését: a mitotikus orsó eltűnését, a kromoszóma dekonkondenzálódását, a maghártya újraképződését és a **citokinézist**.

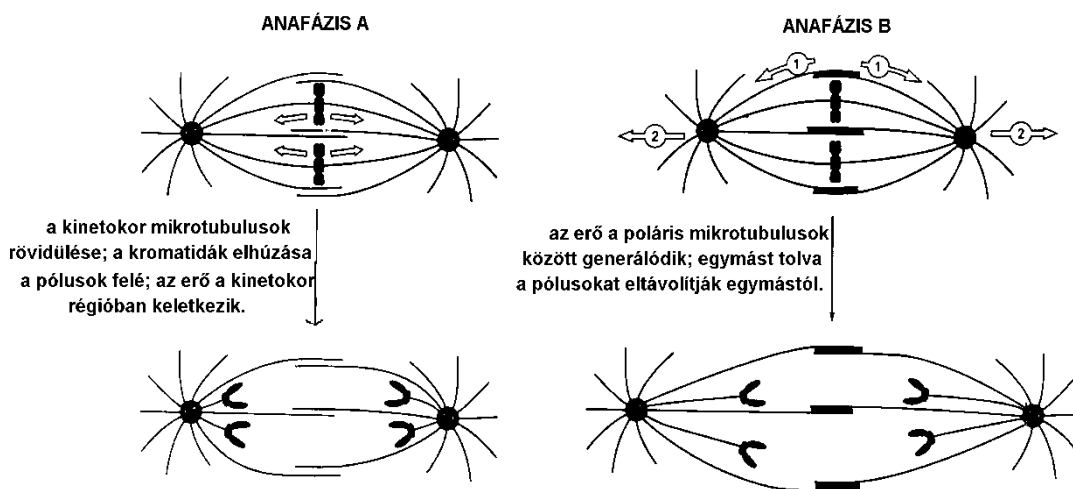
A metafázisban is működik egy ellenőrzési pont, ez az **M ellenőrzési pont**, aminek a működésére még visszatérünk. A jelentősége az, hogy az interfázisban megkettőződött DNS akkor feleződik el pontosan, ha a kromoszómák kromatidái közül az egyik az egyik, a másik pedig a másik pólusra vándorol.

A kinetokor mikrotubulusoknak a kinetokor régiókhöz való kapcsolódási lehetőségei az 1.10. ábrán láthatók. A kromatidák pontos feleződését az amfitelikus kapcsolódás biztosítja. Akkor, ha a mitotikus orsó nem megfelelő, tehát nem minden kromoszómához kapcsolódnak kinetokor mikrotubulusok mindkét pólus felől, szabad kinetokor régió van: nem aktiválódik az APC, megáll az osztódás addig, amíg a hiba ki nem javítódik. A kolhicin, ami a mikrotubulusok szétesését okozza, így állítja meg az osztódást a metafázisban. Ha a metafázisban hibátlanul rendeződtek el a kromoszómák, akkor az APC aktiválódik, és a sejt továbbléphet az anafázisba. Ennek a szabályozására is visszatérünk még.



1.10. ábra. A kinetokor mikrotubulusok kapcsolódása a kinetokor régiókhöz – http://en.wikipedia.org/wiki/File:MT_attachment_configuration-en.png; 2013. 07.03.

Az anafázis-A során a kinetokor mikrotubulusok mindkét végükön rövidülnek. A kinetokor egy – vég motorja, ami kivételesen nem dinein, hanem kinezin, összekapcsolja a kromoszóma mozgását a mikrotubulus depolimerizációjával. Így a kromoszómák kromatidái a sejt két pólusára kerülnek, de a két pólus további eltávolítása már az anafázis-B-ben történik (1.11. ábra).



1.11. ábra. A kromatidák szétválasztása (anafázis A) és a pólusok egymástól való eltávolítása (anafázis B) – <http://greatcourse.cnu.edu.cn/xbfzswx/wlkc/kcxx/11English.htm>; 2013. 02. 20.

1.1.5. A citokinézis legfontosabb folyamatai

A citoplazma kettéosztásában a citoskeleton más komponensei vesznek részt, mint a kromoszómák szétválasztásában, de a két citoskeletális rendszer nem független egymástól. A citoplazma kettéválásának helyét először is maga a mitotikus orsó jelöli ki.

Aszimmetrikus elhelyezkedésű mitotikus orsó eltérő méretű sejteket eredményez. A késői anafázisban (anafázis B), miután a kromatidák már a két pólusra vándoroltak, kialakul a **centrális orsó** (középzóna), ami a poláris mikrotubulusokon kívül nagyon sok különböző eredetű és funkciójú fehérjét tartalmaz. Pl. vannak közöttük kromoszóma eredetű fehérjék, motorproteinek (kinezinok) és kinázok is, pl. a Polo-kináz, ami az újabb adatok szerint fontos szerepet játszik a mitotikus orsó kialakításában. Az anafázisban a mitotikus orsó tengelyére merőlegesen, a plazmamembrán alatt egy **aktin** és **miozin II** filamentumokból álló, ún. **kontraktilis gyűrű** alakul ki. Nem ismert még pontosan, hogy a centrális orsó milyen módon szabályozza a kontraktilis gyűrű létrejöttét, de kinázok és monomer G-fehérjék szerepét valószínűsítik. A kétféle filamentum egymáson való elcsúszása végső soron a sejt fokozatos befűződéséhez vezet. Végül, a kontraktilis gyűrű alatt, a két sejtet már csak a **középtest** (midbody), a centrális orsó maradványa köti össze. Az új sejtek membránja vezikulumok beolvadásával jön létre. A vezikulumok transzportja valószínűleg a centrális orsó mikrotubulusainak mentén történik.

1.1.6. Ellenőrzési pontok

A fejezet bevezetésében már említettük az ellenőrzési pontokat, illetve azok jelentőségét. De vajon hogyan működnek a sejtciklus kritikus pontjain, a G₁ végén, a G₂ végén és a metafázisban? A rendszernek három fő komponense van, az **érzékelő**, ami észleli a DNS-ben bekövetkező hibát, és ezt, mint jelet továbbítja egy **közvetítő** molekulának (**transzducernernek**), ami végül a végrehajtó fehérjéket, az **effektorokat** működteti.

A G₁ és a G₂ ellenőrzési pontokban a DNS sérüléseit, pl. az egyszálú DNS-t, vagy a mindkét szálát érintő töréseket érzékeli bizonyos fehérjék. A közvetítő molekulák is protein kinázok (nem ciklin dependensek), amelyek a G₁ ellenőrzési pontban a p53-at foszforilálják, amivel az stabilizálódik és megállítja a sejtciklust, tehát itt a p53 a végrehajtó molekula. A G₂ ellenőrzési pontban viszont a foszfatáz, a Cdc25 foszforilálódik, ezáltal inaktiválódik, és nem hasítja le az inaktíváló foszfátcsoportot az MPF-ről, és a sejt nem tud az M fázisba lépni.

Az M ellenőrzési pontban az érzékelő fehérjék a kromoszómák szabad kinetokorjához kötődnek. Ugyanakkor ezek a fehérjék az APC működéséhez is szükséges fehérjét is megkötik, működését gátolják, tehát amennyiben a szabad kinetokorokhoz kapcsolódnak, az APC nem aktiválódik, tehát a sejt megáll a metafázisban.

Az ellenőrzési rendszerek működése természetesen a fent leírtaknál jóval bonyolultabb, részleteiben csak most kezdjük megismerni, mindenesetre ezek precíz működése biztosítja, hogy genetikailag azonos sejtek keletkezzenek az osztódás során.

A szabályozási és /vagy az ellenőrzési rendszer hibája esetén a normál osztódástól eltérő, ún. **atípusos osztódások** történhetnek. Ezek közül egyik-másik fajtól és sejtípustól függően nem feltétlenül kóros, de többségük a tumorsejtek jellemzője. Természetesen mindegyik atípusos osztódás genetikailag eltérő sejteket hoz létre.

Endomitózisban nem tűnik el a sejtmembrán, ezért a sejt DNS-mennyisége megnő. Természetesen a sejtmag és a citoplazma mérete is nő, ún. **óriássejtek** keletkeznek. A megkettőződött DNS kettéválhat a sejtmaghártján belül, ez a kromoszómaszám növekedésével jár (**poliploidia**), de az is lehet, hogy nem válnak el a kromatidák, ami óriáskromoszómák (**politén**, sok kromatidás) kialakulásához vezet.

A **citokinézis elmaradása** is óriássejteket eredményez, de ezekben a sejtekben természetesen több mag lesz.

Számos rendellenesség háttérében a mitotikus orsó hibája áll.

Amennyiben a centroszómák megkettőződése és/vagy szétválása nem szabályosan történik, bipoláris osztódás helyett **multipoláris osztódás**: tri-, tetra- stb. poláris osztódás következik be.

A **testvér kromatidák nem szétválása** (nondiszjunkció) kiszámítható kromoszómaszám-változáshoz (**aneuploidia**) vezet, az egyik utódsejtben eggyel több, a másikban pedig eggyel kevesebb lesz. Az oka a syntelikus vagy monotelikus kinetokor mikrotubulus kapcsolódás a kinetokorhoz (lásd 1.9. ábra).

A merotelikus kapcsolódás ugyanakkor **hídképződés**hez (anafázis híd) vezethet, az a kromatida, amelyik kinetokorjához mindkét pólus felől kötődnek mikrotubulusok, eleinte hidat képez a két kromoszómagarnitúra között, de a későbbiekben minden valószínűség szerint eltörik (**kromoszóma szerkezeti mutáció**) és a centromer nélküli fragment kilökődik a sejtmagból, és ún. **mikronukleuszt** képez. Ezt a jelenséget mutagenitási tesztben alkalmazzák olyan hatások, vegyületek kiszűrésére, amelyek fokozzák a kromoszómák törését.

1.2. A meiózis

A genetikai információnak generációról generációra történő átadásának két formája van. Az evolúció során először az ivartalan szaporodás alakult ki, amely elsősorban az alacsonyabb rendűekre jellemző. Meglehetősen egyszerű folyamat, egyetlen szülő kell hozzá, és mivel mitotikus osztódással kialakuló szomatikus sejtekből, sejtcsoportokból lesznek az utódok, ezért genetikailag azonosak lesznek a szülőeggyeddel.

Az **ivaros szaporodásnak**, amelyhez két szülőeggyed kell, az a lényege, hogy ennek a két szülőnek a genomja keveredik egymással, így az utódok különböznek mind a szüleiktől, mind pedig egymástól. Az ivaros szaporodásnak egyik fontos evolúciós előnye, hogy egy **adott faj egyedeinek genetikai változékonyságával** lehetővé válik az előre nem jósolható, váratlan környezeti tényezőkhöz való alkalmazkodás. Nagyon fontos tehát a fajok fennmaradása szempontjából. A folyamat fontosságát az is bizonyítja, hogy még azoknál az alacsonyabb rendű élőlényeknél is, ahol az ivartalan szaporodás a jellemző (pl. a baktériumoknál, az egysejtűeknél), előfordul az ún. **genetikai rekombináció**, amellyel idegen DNS, információ jut a sejtekbe, és így a genetikai változatosság biztosítható.

Ez a rekombináció az ivaros szaporodó élőlényeknél egy speciális sejtosztódás, a meiózis során történik, amikor kialakulnak az **ivarsejtek**, ill. a **gaméták**, a növényekben pedig a **spórák**.

Az ivaros szaporodó élőlényeknél lényegében a sejteknek két nemzedéke változtatja egymást: egy diploid sejtekből álló, amely meiózissal haploid sejteket hoz létre, és a haploid sejtekből álló, amely pl. alacsonyabb rendű növényeknél domináló lehet, de magasabb rendűeknél már erősen redukálódott, sőt állatokban egyetlen sejtre, az ivarsejtre korlátozódik.

A haploid gaméták egyesülésével (megtermékenyítés), a zigóta kialakulásával helyreáll a fajra jellemző diploid kromoszómaszám, és kezdetét veszi egy új egyed élete.

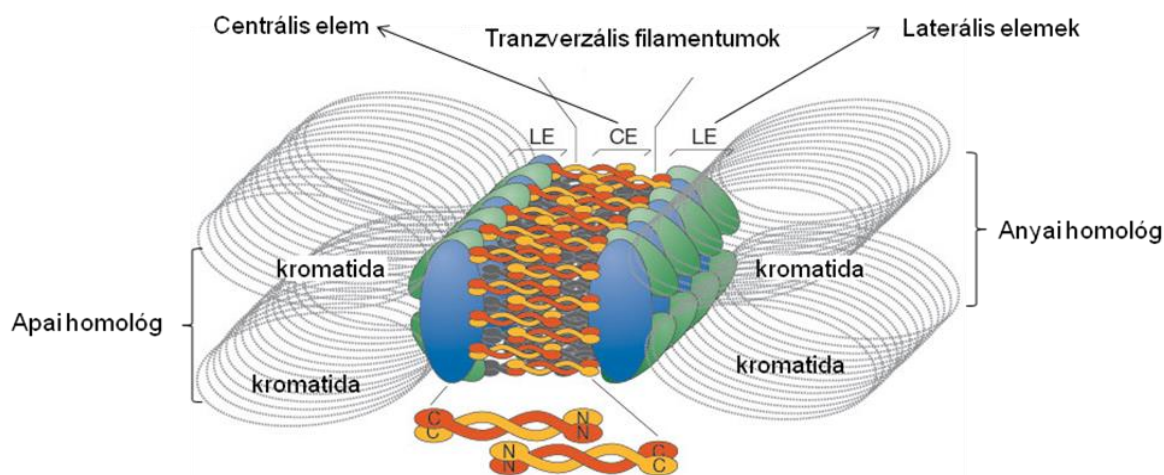
Hogyan alakulnak ki ezek a haploid sejtek? A folyamat lényege az előzőek alapján kettős: a meiózis során egyrészt feleződik a kromoszómaszám, másrészt pedig keveredik a genetikai információ.

1.2.1. A meiózis szakaszai

A meiózis két egymást követő sejtosztódásból áll.

– Az első osztódás **profázisa** során a mitózishoz hasonlóan, természetesen kialakulnak a kromoszómák, eltűnik a magból a magvacska és a végén a maghártya lebomlik. A profázisban történik a **homológ rekombináció**, amelynek során a **homológ** (azonos méretű és alakú apai, illetve anyai eredetű) **kromoszómák** párba állnak, és bizonyos területeik kicserélődnek egymással.

Ez a meiózis leghosszabb szakasza, amely 5 alszakaszra osztható: leptotén, zigotén, pachitén, diplotén és diakinézis. A vékony fonalakként látható kétkromatidás (az osztódást megelőző interfázis S szakaszában a DNS megkettőződik) kromoszómák a **leptotén** szakaszban, random módon, mindkét végükkel a maghártyához horgonyzódnak ki, majd a maghártya egy a centroszómához közel eső pontjánál csoportosulnak, mintegy virágcsokrot alkotva (bouquet konfiguráció). Ezáltal a homológ kromoszómák egymáshoz közel kerülnek, ami szükséges a következő szakaszhoz. A **zigotén** szakaszban kezdődik el a **homológ kromoszómák párba állása**, más néven **szinapszisa**. Az újabb vizsgálatok szerint még a párba állást megelőzően, még a leptotén szakasz elején, több száz helyen duplaszálú DNS-törés következik be, és csak ezt követi a szinapszisa. A párba állást egy ún. **szinaptonémás komplex** segíti, amelyet leginkább egy létrához lehet hasonlítani. Laterális és tranzverzális elemei különíthetők el. Az utóbbiak átfedő területeit centrális elemeknek nevezik (1.12. ábra).



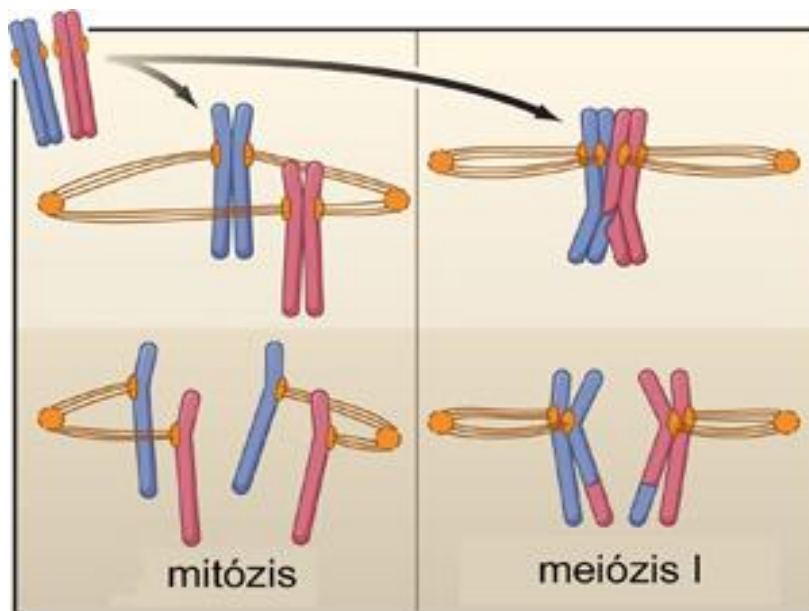
1.12. ábra. A szinaptonémás komplex szerkezete. Létraszerűen tartja össze a homológ kromoszómákat, a bivalenseket, a tetrádokat –

http://drugline.org/img/term/synaptonemal-complex-14373_1.jpg; 2013. 02. 20.

A DNS feltekeredése révén egyre jobban láthatóvá válnak a kromoszómák, miközben párba állásuk a **pachitén** szakaszban befejeződik. A bivalens (két kromoszómát tartalmazó) kromoszómák **tetrádokat** képeznek (2x2 kromatida), ami látszólag kromoszómaszám-csökkenést eredményez (pszeudoredukció). A dupla szálú DNS-törések többsége kijavítódik, de egy részük homológ rekombinációhoz, **crossing overhez (átkeresztződés)** vezet, azaz az egyes, egymásnak megfelelő kromatidaterületek kicserélődnek. Ez a folyamat valószínűleg a szinaptonémás komplexen ilyenkor megjelenő, ún. **rekombinációs csomók**, hatalmas 100 nm-es **multienzim komplexek** segítségével történik. A crossing over molekuláris mechanizmusának részleteire itt nem térünk ki. A lényege az, hogy a **szomszédos kromatidák között reciprok módon bizonyos szakaszok kicserélődnek**. A crossing over bármelyik két kromatida között létrejöhethet, a testvérkromatidák között csakúgy, mint az apai és anyai, nem testvér kromatidák között. A géneknek új kombinációja azonban csak akkor keletkezik, ha az apai és anyai eredetű

kromatidák rekombinálnak egymással. Egy pár kromoszómát tekintve 1–3 crossing overrel lehet számolni. Még az egymással csak igen kis területen homológ X- és Y-kromoszómák rövid karjai között is, az ún. PAR1 (pszeudoautoszomális régió) minden esetben történik átkereszteződés. A rekombináció fontosságát bizonyítja az is, hogy újabban ellenőrzési pont létére utaló eredményeket kaptak. Ennek az ellenőrzési pontnak a funkciója a crossing overek kialakulásának és lefolyásának az ellenőrzése.

A **diplotén** szakaszban a szinaptonémás komplex nagyrészt eltűnik, a homológok egy kissé eltávolodnak egymástól, a kromoszómák csak a crossing over területén maradnak összekapcsolódva, ezeket **kiazmák**nak nevezzük. Végül a **diakinézis**ben, a bivalensekben a homológokat a kiazmák, a testvérkromatidákat pedig a kohezin tartja össze, ami a következőkben csak a centromér régiónál marad meg. A profázis során kialakul a kromoszómák **kinetokor** régiója, és ellentétben a mitózissal, itt egy kromoszóma mindkét kromatidája egy irányba, az egyik pólus felé néz, ugyanakkor a két kromoszómáé viszont különböző pólusok felé (1.13. ábra)



1.13. ábra. A kinetokorok eltérő irányultsága mitózisban és meiózis I-ben – <http://www.cell.com/retrieve/pii/S0092867406011524>; 2013. 02. 20.

– Az első osztódás **metafázis**ában **kromoszómapárok rendeződnek** az egyenlítői síkban, mivel a homológokat összetartó kiazmák csak a fázis végén tűnnek majd el, és most még összetartják a kromoszómapárokat.

– Az **anafázis**ban pedig, lévén, hogy egy-egy homológ kromoszómának a kinetokorjai azonos pólus felé néznek, a hozzájuk kapcsolódó kinetokor mikrotubulusok nem a kromatidákat, hanem a **kromoszómákat húzzák el** a két pólus felé. Így a szinapszis nemcsak a crossing over-t teszi lehetővé, de a kromoszómaszám feleződését is. A **homológok szétválása**, tehát az, hogy egy adott pár tagjai közül melyik kerül az egyik, ill. a másik pólusra, **véletlenszerű** folyamat. Ez pl. ember esetében 2^{23} variációs lehetőséget jelent.

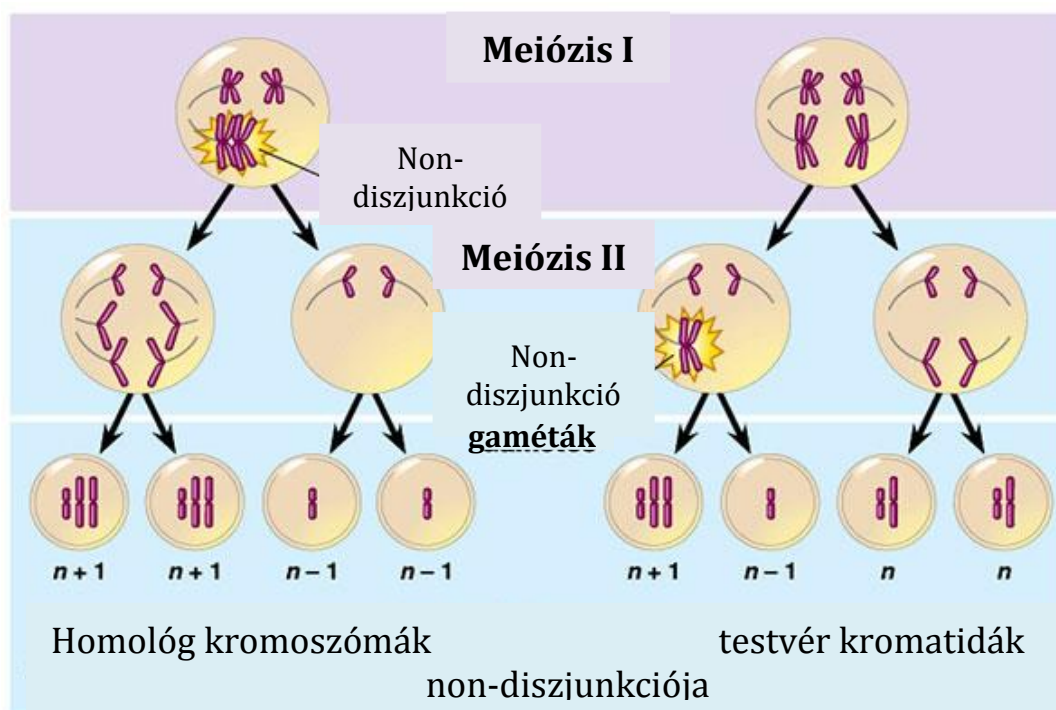
– A **telofázis**ban a sejtmaghártya újrászerveződik, kialakul a két sejtmag, majd a citoplazma is kettéosztódik. Mivel az **anafázisban a homológ kromoszómapárok tagjai** válnak szét, annak ellenére, hogy a két utódsejtbe kerülő kromoszómák két kromatidát tartalmaznak, ezek a sejtek már haploidok, ezért az első osztódást **redukciós osztódásnak** is szokták nevezni.

Az első osztódást többnyire **rövid interfázis** követi, amelyben azonban **nem történik DNS-replikáció**.

A meiózis **második osztódásában** is megkülönböztetünk **pro-, meta-, ana- és telo-fázist**, de ezek lényegében a mitózis fázisaira hasonlítanak. Így a metafázisban az egyes kromoszómák rendeződnek az egyenlítői síkban, majd az anafázisban a kromoszómák testvérkromatidái válnak szét egymástól.

A meiózis végére tehát, **kromoszómaszám tekintetében megegyező, négy haploid sejt** keletkezik, így amikor két gaméta egyesülésével létrejön a zigóta, helyreáll a fajra jellemző diploid kromoszómaszám. Ugyanakkor ezeknek a sejteknek a **genetikai információja nem azonos**, részben az első osztódás profázisában lezajló crossing over, részben pedig a homológ párok véletlenszerű szétválása miatt. Ez biztosítja a faj fennmaradása szempontjából annyira fontos, nagymértékű **variabilitást**.

A meiózis során előforduló leggyakoribb rendellenesség a **non-diszjunkció**, amely akár az első, akár a második osztódás során előfordulhat (1.14. ábra). Ez azt jelenti, hogy vagy a homológ kromoszómapárok tagjai (első osztódás esetében), vagy egy kromoszóma kromatidái (második osztódás esetében) az anafázisban nem válnak szét egymástól. Ha ilyen non-diszjunkció történik, ez **megváltoztatja a keletkező ivarsejtek kromoszómaszámát**. Amennyiben ilyen ivarsejt vagy sejtek vesznek részt a megtermékenyítésben, ún. **aneuploid genom mutációhoz vezet**.



1.14. ábra. Meiotikus non-diszjunkció –

http://drugline.org/img/term/meiotic-nondisjunction-9351_1.jpg; 2013. 02. 20.

Az **ivarsejtek keletkezése** gerincesekben egy bonyolult folyamat, amelynek **csak egy része a meiózis**. Az egyedfejlődés igen korai szakaszában az ún. ősvarsejtek a fejlődő gonádokba vándorolnak. Mitotikus osztódások, majd a meiózis, és végül a hímivarsejt esetében differenciálódás után válnak érett gamétákká.

1.2.2. Oogenezis

A legtöbb állat esetében a petesejt igen nagy a testi sejtekhez képest, ugyanis annyi **tartalék tápanyagot, sziket** (lipid, fehérje, szénhidrát) kell tartalmaznia, ami elegendő az embriónak addig, amíg önálló táplálkozásra lesz képes. A madaraknál pl. a tojásból való kikelésig kell a sziknek táplálni az embriót, ezért nekik polilecitális, sok sziket tartalmazó petesejtjük van, míg az emlősöké kis sziktartalmú, oligolecitális petesejt. Ezzel együtt az emlősök és természetesen az ember petesejtje is sokkal nagyobb méretű, mint a szomatikus sejtek.

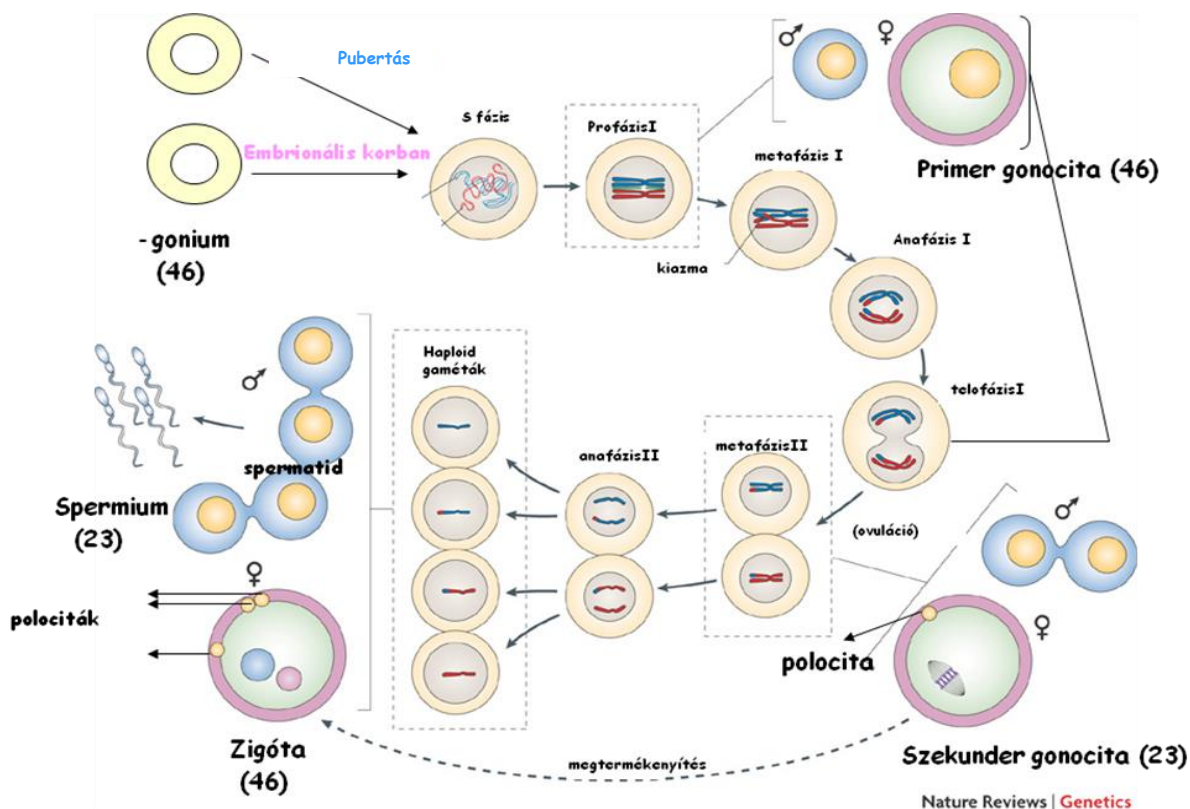
Az ősvarsejtek, az embrió fejlődő gonádjában **oogoniummá** (46 kromoszóma) alakulnak és mitózissal osztódnak. A meiózis első osztódásába lépve **primer oocitává** (46 kromoszóma) alakulnak, és a profázis diplotén szakaszában maradnak évekig, esetleg évtizedekig. Közben egy burok, a zona pellucida alakul ki körülöttük, megjelennek bennük az ún. **kortikális granulomok**, amelyek tartalma a spermium behatolása után ürül ki, és a felszínt megváltoztatva megakadályozza újabb spermiumok behatolását a sejtbe. A pubertáskortól kezdve, hormonális hatásra, **ciklusonként** egy-egy sejt folytatja a meiózist. A citokinézisben a **citoplazma aszimmetrikusan válik ketté**, a nagyobbik sejt a **másodlagos oocita** (23 kromoszóma), míg a kisebbik sejt a **polocita** (sarki sejt 23 kromoszóma) lesz. A citoplazma egyenlőtlen szétválását valószínűleg a mitotikus orsó aszimmetrikus elhelyezkedése biztosítja. Mindkét sejt újból osztódik, ez a meiózis második osztódása: a sarki sejtéből két sarki sejt (23 kromoszóma) lesz, a másodlagos oocita pedig, ismét egyenlőtlenül osztódva, létrehozza a nagy **petesejtet** (23 kromoszóma), és egy kis polocitát (23 kromoszóma). Emberben, de általában a gerincesekben, ez a második osztódás szintén felfüggesztődik itt, a metafázisban. Az **ovuláció** alkalmával a **sejt ebben a stádiumban** kerül ki a petefészekből, és csak a megtermékenyítés hatására fejeződik be a meiózis második osztódása (1.15. ábra).

1.2.3. Spermatoogenezis

Míg a legtöbb faj esetében a petesejt az adott élőlény legnagyobb, önálló mozgásra nem képes sejtje, addig a másik gaméta, a spermium a legkisebb, mozgásra is képes sejt.

A spermatoogenezis a pubertásban kezdődik, a herecsatornák külső falát alkotó **spermatogóniumok** egy része folyamatosan mitózissal osztódik. Egy másik csoportja a sejteknek ugyanakkor **primer spermatocitává** alakul, és belép a meiózis első osztódásába, amelynek a végén két haploid sejt, az ún. **másodlagos spermatocita** keletkezik. A második meiotikus osztódással jönnek létre a **spermatidák**.

Ezután egy differenciálódási folyamat kezdődik, amelynek eredményeként a kerek, mozgásképtelen sejtekből aktív mozgásra képes **spermiumok** lesznek. Ezt a differenciálódási lépést nevezik **spermiohisztogenezisnek**. A folyamat a Sertoli sejtekbe (dajka sejtek) beágyazódva történik. Innen a spermiumok a herecsatornák lumenébe kerülnek (1.15. ábra).



1.15. ábra. Oogenezis (rózsaszín) és spermatogenezis (kék) összehasonlítása.

Részleteket lásd a szövegben –

http://www.nature.com/nrg/journal/v11/n2/fig_tab/nrg2723_F1.html#figure-title; 2013. 02. 20.

A differenciálódott **spermium** jellegzetes felépítése (feji és farki rész) egyetlen célt szolgál, azt, hogy biztonságosan eljuttassa saját DNS-tartalmát a petesejthez.

A **fej** tartalmazza a **sejtmagot**, amelyben a **DNS** teljesen **heterokromatikus** állapotban van, hogy minél kisebb helyet foglaljon el. Ennek a szerkezetnek a kialakításában a hisztonok helyett még pozitívabb töltésű (erősebben bázikus) fehérjék, a **protaminok** vesznek részt.

Közvetlenül a sejtmag előtt, a feji részben, az ún. **akroszóma vezikulum** található, amely lényegében egy hatalmas szekréciós vezikulum. Az akroszóma vezikulum **hidrolitikus enzimeket** tartalmaz, ezek feladata a petesejt különböző burkainak a feloldása a megtermékenyítés során.

A spermium farki része a nyakból és az ostorból áll.

Az utóbbi a már ismert, $9 \times 2 + 2$ mikrotubulus rendszeren kívül, a periférián 9 ún. denz fibrillumot is tartalmaz, amelyekben főleg **keratin** található. A funkciójuk nem ismert.

A nyakon ezeken kívül még egy egymással fuzionált **mitokondriumokból álló hüvely** (mitokondriális hüvely) is van, ahol a spermium mozgásához szükséges ATP termelődik.

Az utóbbi időszak vizsgálatai kimutatták, hogy a spermatogenezis, illetve az oogenezis során az első osztódás profázisa tekintetében is számos különbség van, ezeket foglalja össze az 1.1. táblázat.

primer spermatocita	primer oocita
A szinapszis kezdődik a kromoszómák	
végein	belsejében
A szinaptonémás komplex	
tömörebb	kevésbé tömör
rövidebb	hosszabb
A kiazmák helye a kromoszómák	
végein	belsejében
A kiazmák száma	
kevesebb	több

1.1. táblázat. Különbségek a spermatogenezis és az oogenezis első osztódásának profázisában

1.2.4. Meiózis szabályozása

A meiotikus osztódás szabályozását eddig elsősorban a kételtűek és a halak oogenezise során vizsgálták. Magát az **MPF**-et is elsőként a kételtűek oogenezisének szabályozójaként ismerték meg, és csak a későbbiekben derült ki, hogy a mitózis regulálásában is ugyanaz a faktor, a **Cdk1**-ből és a **B-ciklin**-ből álló **MPF** játszik szerepet.

A meiózis szabályozásának elsősorban azokat a pontjait vizsgálják, amelyek különböznek az oogenezis és spermatogenezis során.

Az egyik ilyen pont a meiózisba való belépés, amely az oogenezis során az embrionális korban, míg a spermatogenezisben a pubertáskorban történik. A különbség hátterében a **retinsav** áll. A retinsav mindkét nemű embrióban termelődik a megfelelő sejtekben, azonban a retinsav metabolizmusában szerepet játszó **CYP26B1** aktivitása eltér. Fiú embriókban, aktivitásának köszönhetően, a retinsav lebomlik, míg lány embriókban kisebb mennyiségének, aktivitásának köszönhetően nem bomlik le, és szignálként fokozza a **STRAB** transzkripciós faktor expresszióját és hatását, az oogóniumok belépnek a meiózisba.

A meiózis elindul, de diploténben megáll, amelynek a hátterében a primer oocita megemelkedett cAMP-szintje áll. Ez ugyanis olyan protein kináz A regulált változásokat vált ki, amelyek az MPF-et inaktiválják. A folyamat felfüggesztésének feloldása a pubertáskortól ciklusosan egy-egy sejtben megtörténik, valószínűleg elsősorban az LH hatására bekövetkező cAMP-szint csökkenésének hatására indirekt módon aktiválódik az MPF és folytatódik az osztódás.

Ugyanakkor a második osztódás metafázisában (másodrendű oocita) ismét megáll az osztódás. Ebben egy még nem azonosított **citosztatikus faktor (CSF)** szerepét tételezik fel, amit a *c-mos* protoonkogén terméke, a **Mos fehérje (szerin-treonin kináz)**, és **MAPK** útvonalon gátolja az APC aktivitását, ezáltal megáll a folyamat. Az osztódás befejezésének feltétele a megtermékenyítés, amikor **megnő** a sejt **Ca²⁺ ion** szintje, ami **aktiválja az APC-t**. Az aktív APC ubiquitinálja a B ciklint és a szekurint, amelyek lebomlanak

a proteaszómákban. A szekurin hiányában a szeparáz leválasztja a kohezint a kromoszómák centromér régióinál, és a testvérkromatidák a sejt két pólusára tudnak vándorolni. A B ciklin lebomlása pedig inaktiválja az MPF-et és a sejt, amely lényegében már zigóta, befejezi az osztódást.

Ezután a **zigóta barázdálódni kezd**, sejtteni szempontból tekintve egy különleges sejtciklusba, az **embrionális sejtciklusba lép**. A dolog érdekessége, hogy ugyanaz az MPF ettől kezdve már egy másik folyamatot, a mitózist szabályozza.

1.3. A fejezethez tartozó kérdések

1. Definiálja a sejtciklust.
2. Milyen szakaszai vannak a soksejtűekre jellemző sejtciklusnak?
3. Mely sejtciklusszakaszokban vannak ellenőrzési pontok és mi a működésük lényege?
4. Sorolja fel a legfontosabb, sejtciklust szabályozó molekulákat.
5. Mi jellemzi a G_0 - G_1 átmenetet?
6. Jellemezze a G_1 -S átmenetet.
7. Hogyan szabályozódik az M fázisba való belépés?
8. Mik a kohezinek és kondenzinek?
9. Az M fázis szakaszai és történései.
10. A kromoszóma szerkezete.
11. Hogyan alakul ki a mitotikus orsó, és hogyan működik?
12. Mi az APC és hogyan működik?
13. Hogy megy végbe a citokinézis?
14. Sorolja fel és jellemezze az atípusos osztódásokat.
15. Hogyan működnek az ellenőrzési pontok?
16. Mi a meiózis lényege és jelentősége?
17. Hasonlítsa össze a mitózist és a meiózist.
18. Jellemezze a homológ kromoszómákat. Mi a homológ rekombináció és mi a jelentősége?
19. Milyen alszakaszait különböztetjük meg a meiózis I profázisának?
20. Mi történik a meiózis I profázisának egyes alszakaszaiban?
21. Hasonlítsa össze a meiózis I-et és II-t.
22. A meiotikus non-diszjunkció és következményei.
23. Helyezze el a meiózist az oogenezis folyamatában.
24. Helyezze el a meiózist a spermatogenezis folyamatában.
25. Mit tud a meiózis szabályozásáról?

2. Mutációk és polimorfizmusok

A klasszikus definíció szerint mutációnak az örökítőanyagban, a DNS-ben ugrásszerűen bekövetkező, öröklődő változást nevezzük. Ma a mutációk definíciója ennél komplexebb: **a mutáció nem más, mint a DNS-szekvenciában bekövetkezett olyan változás, melynek populációs gyakorisága kisebb, mint 1%. Ezzel szemben polimorfizmusnak az olyan változatot nevezzük, melynek populációs gyakorisága nagyobb, mint egy 1%.** Ez az elkülönítés mesterséges és kissé zavaró, hiszen mindkét esetben a DNS-szekvenciát érintő eltérésekről van szó, s hasonló mechanizmusok vezetnek kialakulásukhoz. Mivel a mutációk és polimorfizmusok helye, eredete, létrejöttének mechanizmusa, megnyilvánulásának szintje, következménye rendkívül sokféle lehet, ezért a csoportosításuknak is számos lehetősége adódik (ld. még [8. fejezet](#)). Mindkét esetben a nagyon kis szakaszt érintőtől (pontmutáció – SNP = single nucleotide polymorphism, egy nukleotidot érintő polimorfizmus) a nagyon hosszú szakaszt érintőig (szerkezeti kromoszómamutációk – kromoszóma-polimorfizmusok, pl. 1qh+) terjedhet a skála. Hasonlóképpen mindkét esetben vannak tünetet/ betegséget okozó és nem okozó eltérések. Jelen fejezetben a mutációkkal és ezen belül is inkább a kisebb léptékű génmutációkkal foglalkozunk, míg a nagyobb DNS-szakaszt érintő elváltozások a Citogenetika fejezetben ([3. fejezet](#)) kerülnek tárgyalásra. A polimorfizmusokat és ezek biológiai-genetikai szerepét, orvosi jelentőségét a genomot tárgyaló [8. fejezet](#) ismerteti.

2.1. A mutációk csoportosítása

A mutációk értékelése szempontjából döntő fontosságú, hogy hol, milyen sejttypusban következnek be. Eszerint lehetnek **szomatikus és csírvonal (germinális) mutációk**.

A **szomatikus mutáció** egy adott testi sejtben alakulhat ki, majd az egymást követő osztódások során e sejt utódaira átadódik, így egy azonos eredetű, azonos mutációt hordozó sejtcsoport, **klón** alakul ki. Attól függően, hogy az egyedfejlődésben korábban vagy később jön létre a mutáció, az érintett sejtek száma, a mutáns klón mérete eltérő lesz.

A szomatikus mutáció klasszikus példája az az eset, amikor az egyik szem kék, a másik barna. Ekkor a mutáció a két szemtelep elkülönülése után következett be. Máskor a kék szemben barna foltokat látunk, ilyenkor a mutáció még később, csak az egyik szivárványhártya bizonyos sejtjeiben jelent meg. A szomatikus mutációk természetes körülmények között – a növényi vegetatív szaporítást kivéve – nem adódnak át az utódoknak.

Ugyanakkor orvosi jelentőségük nem elhanyagolható, mivel a tumorképzésben is szerepet játszhatnak. **Knudson hipotézise** szerint (**two hit theory**) bizonyos daganatok kialakulásához a tumorszuppresszor géneket (lásd a [7. fejezetet, Biológiai folyamatok genetikája](#)) érintő, két egymást követő mutációs esemény szükséges. A tumorszuppresszor gének mutációi recesszívek, azaz két mutáns kópia kell a teljes funkcióvesztéshez, a tumor kialakulásához. Ebből az egyik általában már öröklötten jelen van, míg a másik

csak egy, vagy bizonyos szervekben alakul ki, így a korábbi heterozigóta állapot elvész, és a homozigóta mutáns tumor szupresszor gén miatt kialakul a daganat. A jelenséget a **heterozigótaság elvesztésének = loss of heterozygosity = LOH**-nak nevezik, s a mai molekuláris biológiai vizsgálómódszerekkel felderítve alkalmas lehet a rákmegelőző, prekancerózus állapot kimutatására.

A **csírvonal (germinális) mutációk** az ősvarsejtekben vagy a gametogenezis során az ivarsejtekben bekövetkező mutációk, melyek az utódokra átörökíthetők, s éppen ezért orvosi szempontból döntő fontosságúak.

Eredetük szerint lehetnek **spontán**, a hibás DNS-replikáció során létrejövő, és különböző környezeti hatások (sugárzás, kemikáliák stb.) **indukálta** mutációk.

A mutációs gyakoriság függ az evolúciós szinttől, a DNS-hibajavítás (repair) hiánya miatt prokariótákban jóval magasabb a mutációs ráta, mint az eukariótákban. Ennek megfelelően a prokarióta jellegű DNS-sel bíró mitokondriumokban is magas mutációs gyakoriságot figyelhetünk meg. Ennek értéke mintegy tízszerese!! a nukleáris DNS mutációs rátájának, ami génenként és generációnként kb. 10^{-5} .

A **spontán mutációk** leggyakrabban 1.) dezamináció, vagy 2.) depurináció eredményeként jönnek létre.

- 1.) A dezamináció nyomán citozinból uracil, adeninből pedig hipoxantin lesz.
- 2.) A depurinizáció során a DNS cukor-foszfát gerince épen marad, de a purinbázis pl. guanin leszakad, így foghíjas lesz a DNS, azaz egy bázisnyi lyuk lesz a láncon.

A spontán mutációk gyakoriságát a sejt-, illetve szövettípus is befolyásolja, a gyakran osztódó sejtek, szövetek több spontán mutációt hordoznak, hiszen minél többször következik be DNS-megkettőződés, annál nagyobb az esély a hibás bázisbeépülésre.

Az **indukált mutációk** legismertebb példája az **UV-sugárzás** indukálta mutáció (2.1. ábra). Az UV-sugárzás timin dimerizációt vált ki, ez eltorzítja a DNS-t, akadályozza a DNS-replikációt és a transzkripciót. Hasonlóképpen bizonyos **bázisanalógok**, mint a bróm-dezoxiuridin (BrdU) beépülése a DNS-replikáció során, majd az ezt követő nem korrekt hibajavítás, az eredeti szekvencia megváltozását eredményezi.

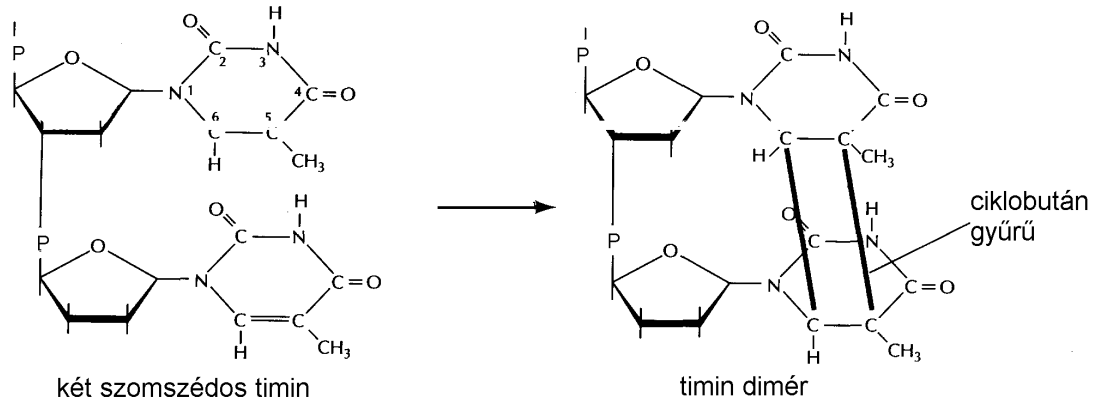
Az alkiláló vegyületek (EMS = etil-metán-szulfonát, MNU = metil-nitrozo-urea) hatására etil- vagy metilcsoportok kapcsolódnak a DNS bázisaihoz pl. a guaninhoz, melyből így O⁶-metilguanin keletkezik. Ez azért okoz mutációt, mert az O⁶-metilguanin citozin helyett timinnel kapcsolódik, azaz a metilált bázis létrejöttét követő DNS-megkettőződés során más bázis fog az újonnan szintetizált láncon beépülni, s így a mutáció rögzül.

Az **interkaláló vegyületek** (proflavin, acridine orange) képesek a DNS bázisai közé beépülni, vagy a DNS valamelyik szálán hurkot létrehozni, amely a későbbi replikációk és hibajavítási folyamatok nyomán a DNS megrövidüléséhez (deleciójához) vagy meghosszabbodásához (duplikációjához) vezethetnek.

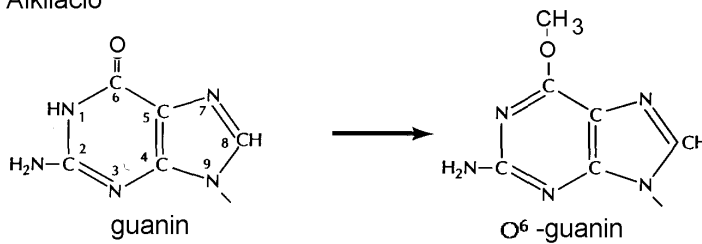
Bizonyos karcinogének (pl. a benzpirén) nagyobb molekulákat kapcsolnak a DNS-hez, ún. **adduktokat** hozva létre.

A mutációkat a szerint is csoportosíthatjuk, hogy az örökítőanyagban milyen mértékű változást okoznak. Eszerint beszélhetünk génmutációról – ezt pontmutációnak is nevezik –, kromoszómamutációról, mely több gént érintő elváltozás, illetve genommutációról, mely az örökítőanyag egészét érintheti.

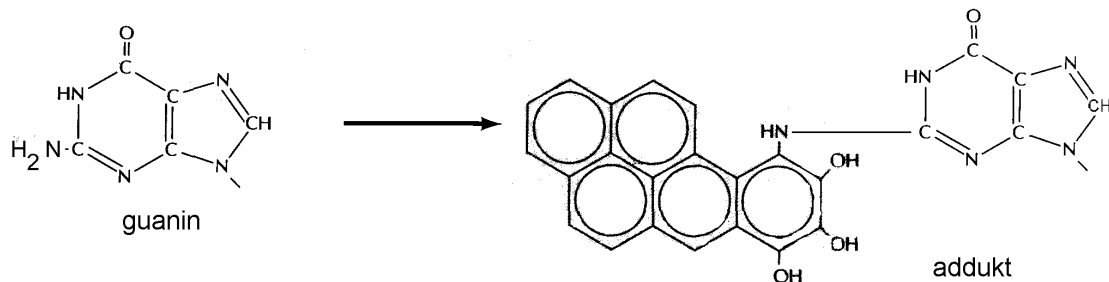
A/ UV expozíció



B/ Alkiláció



C/ Reakció karcinogénnel



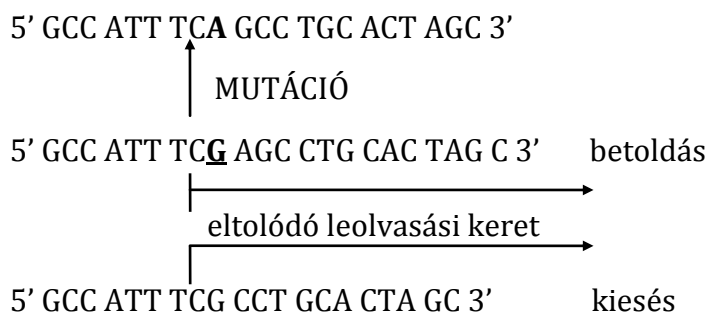
2.1. ábra. Példák indukált mutációkra

2.2. Génmutációk

A génmutációk érinthetik az adott gén egyetlen bázisát – ekkor beszélünk szűkebb értelemben vett pontmutációról – és érintheti a gén kisebb vagy nagyobb hányadát is.

Az egyetlen bázisra korlátozódó mutáció lehet bázisbetoldás = addíció; báziskiesés = deléció, illetve báziscsere = szubsztitúció. Az első két esetben, ha a betoldott, illetve kiesett bázisok száma nem egyenlő hárommal vagy annak egész számú többszörösével (6, 9, 12 stb.), akkor úgynevezett **frame-shift azaz kereteltolásos mutáció** jön létre. Ez azt jelenti, hogy a mutáció helyétől a transzkripció leolvasás irányában a kódolt információ megváltozik (lásd az alábbi példát).

Eredeti szekvencia:



Amennyiben 3 vagy 6, 9 stb. a beszúrt vagy kiesett bázisok száma, úgy *in frame* mutációról van szó, azaz csak az érintett szakasz információtartalma változik, a gén többi részéé nem.

A báziscsere esetén két további lehetőség adódik, a **tranzíció** és a **transzverzió**. Az előbbinél egy purinbázist egy másik purinbázis vagy egy pirimidint egy másik pirimidin vált fel, pl. A→G vagy C→T. Az utóbbi esetben egy purinbázis egy pirimidin bázisra, vagy fordítva, egy pirimidin egy purinra cserélődik.

A szubsztitúciós mutációk következményei megint többfélék lehetnek. Vannak misszenz, nonszenz és ún. csendes (silent) vagy szenz mutációk.

A **misszenz** mutáció nyomán a kodon megváltozik, s így egy másik aminosav épül be a fehérjébe; ilyen pl. a sarlósejtes vérszegénységet okozó mutáció, ahol a báziscsere eredményeképpen glutamin helyett valin épül be 6. aminosavként a hemoglobin β-globin láncába.

A **nonszenz** mutációval az eredeti kodon stop jelre változik, s így a fehérjelánc korai terminációja, s egy rövidebb fehérjemolekula lesz a végeredmény.

A **csendes (silent vagy szenz)** mutáció esetében a genetikai kód degeneráltságnak köszönhetően, bár a kodonban van változás, a fehérjébe ugyanaz az aminosav épül be, tehát a mutációnak nincs következménye. Ez elsősorban a kodon 3., illetve 2. bázisának cseréjekor alakulhat ki.

Mivel egy sejt élete során DNS-e többször is replikálódik, illetve többször is ki lehet téve indukáló ágensek hatásának, így több – akár különböző típusú – mutáció is érheti. Az ismételt mutációk némelyike a korábban már mutált részt is érintheti, visszaállítva az eredeti szekvenciát. Ekkor ún. **back vagy reverz** mutációról van szó, azaz a DNS visszamutál, s így a mutáció esetleges káros következményei is megszűnnek.

A mutáció következményének látszólagos eltüntetésére még egy lehetőség van. Prokariótákban megfigyelték, hogy bár a DNS mutált, mégsem épült be eltérő aminosav a fehérjeláncba. Kiderült, hogy ilyen esetben a tRNS is mutált, és az mRNS megváltozott kodonjához mégis az eredeti aminosavat szállította. Az ilyen tRNS-t **szupresszor tRNS**-nek nevezzük.

Ha a mutáció a gén egy hosszabb szakaszát, azaz tetszőleges számú bázist érinti, akkor géndelécióról, -addícióról vagy ha az adott szakasz megfordul, akkor géninverzióról van szó. Hosszabb kiesések nemcsak egy gént, hanem akár géncsaládokat (ahol az egy ősi génből evolválódott, hasonló, de nem azonos funkciójú gének közvetlenül egymás után helyezkednek el a DNS-en) is érinthetnek. Ilyen a globin géncsaládot érintő deléciók esete a különböző hemoglobinbetegségekben (hemoglobinopátiákban), pl. a talasszémiákban (a mutációs mechanizmust később a forrópontok tárgyalásakor részletezzük). Természetesen minél hosszabb szakaszt érint az elváltozás, annál

súlyosabbak a következmények is, azaz annál inkább hibás, megváltozott vagy funkcióképtelen lesz a fehérjetermék is.

A génmutációk, pontosabban **az addíciók egy különleges esete, amikor Alu szekvenciák vagy LINE elemek transzpozícióval vagy retrotranszpozícióval beépülnek egy gén kódolószakaszába.** Ekkor az ugráló elem (transzpozon vagy retropozon) betoldása megszakítja az eredeti exonszekvenciát, s így megváltozott információtartalmú RNS és fehérje kialakulásához vezet. A hemofília A néhány esetében egy Alu szekvencia betoldás a betegség oka.

Hasonlóképpen génmutációt eredményezhet egy adott génrekombináció eredményeként létrejövő megkettőződése is. ***Ez bekövetkezhet meiózisban, amikor a nem testvérkromatidák közötti egyenlőtlen crossing over vezet génduplikációhoz, vagy mitózisban, amikor a nagyon ritkán mitotikus rekombináció (crossing over) zajlik le a testvérkromatidák között.*** Ez utóbbi esetben a mutáció szomatikus, és pl. tumorképződéshez vezethet, olyan utódsejtek létrehozásával, amelyek egyikében a heterozigótaság elvész. (A másik utódsejtben a gén három kópiában fordul elő, az egyik homológon génduplikáció van, a másikon egy kópiában lesz jelen az adott lókuszon.)

Itt kell megemlíteni az ún. **mutációs forrópontokat (hot spots).** Az egyes DNS-szakaszok, gének nagyobb eséllyel mutálódnak ott, ahol ismétlődő = **repetitív szekvenciák** fordulnak elő. Ezek az ismétlődések megzavarhatják a replikációt, illetve a homológok meiotikus párba állását. A replikációs zavarnak fizikai okai vannak: a szétcsavarodott DNS ugyanazon szálán elhelyezkedő szimmetrikus vagy ismétlődő szekvenciák a komplementaritás alapján párba állhatnak, hurkokat képezhetnek, és ezzel zavart okozhatnak a replikációban és a repairben érintett enzimek működésében. Pl. a hemofília B-ben, a IX. faktort kódoló gén azon szakaszain, ahol nagy kiterjedésű, direkt CG-ismétlődés van, 10–100-szor több mutáció fordul elő. Az itteni nagyobb mutációs gyakoriság epigenetikus okokra is visszavezethető lehet. A metilált citozin könnyen dezaminálódik timinné, ezzel tulajdonképpen egy C→T tranzíció lesz az egyik szálon, a másikon ennek megfelelően pedig G→A.

A fentebb említett **egyenlőtlen crossing overrel** (lásd a [3. Citogenetika fejezet](#)ben is) magyarázható nagyobb szakaszok, olykor teljes gének ismétlődése. Jó példa erre az α -talassémia kialakulása. Normális körülmények között a 16-os kromoszóma mindkét homológján egymást követően, két-két α -globin gén található. A hibás crossing over eredményeként olyan ivarsejtek jöhetnek létre, amelyekben pl. vagy csak 1, vagy 3 α -globin gén található, a fertilizációt követően pedig olyan zigóták alakulhatnak ki, amelyekben eggyel kevesebb vagy eggyel több α -globin gén van. Az α -globin gének számától függ az érintett személy egészsége: 0 kópia – intrauterin letalitás, 1 kópia súlyos anémia, 2 kópia enyhe anémia, 3 kópia tünetmentes hordozó. Ma több mint 30 olyan betegséget ismerünk, amelynek oka az egyenlőtlen crossing over (ilyen pl. a szintévesztés is).

Nemcsak a direkt ismétlődő, hanem a **palindróm szekvenciák** (olyan szekvenciák, amelyek bázissorrendje 5'–3' irányban mindkét szálon azonos) is gyakori forrásai az általában addíciós és deléciós mutációknak.

A génmutációk egy különleges estét jelentik a nukleotid ismétlődési egységeket érintő, ún. **repeat mutációk.** A talán legismertebb, 3 nukleotidot érintő **trinukleotid repeat mutációk** mellett, más hosszúságú, akár 24 nukleotidot érintő, és ezzel fehérjében oktapeptid egységek felszaporodását eredményező (Creutzfeld–Jakob-betegség), mutációk is léteznek.

A trinukleotid mutációknak több csoportját is ismerjük.

1. A CAG triplet felszaporodásával járó, ún. **poliglutamin betegségeket** (a CAG a glutamin kódja). A jelenleg ismert CAG trinukleotid repeat mutációk súlyos idegrendszeri megbetegedést, ún. neurodegeneratív kórképet okoznak, bár az ismétlődő repeatek száma eltérő. A Huntington chorea és a Kennedy-betegség esetében a repeatek a gén fehérjekódoló szakaszát érintik.
2. A másik ismert nagyobb csoport a **polialanin betegségeké**, ahol GCN triplet (az N bármelyik nukleotid lehet), s ezzel a fehérjében alaninfelszaporodás áll a főként transzkripció faktorokat érintő mutációk, s ezzel általában fejlődési rendellenességgel jellemezhető szindrómák pl. szinpolidaktília vagy kéz-láb-genitália szindróma mögött.
3. Míg az előbb említett trinukleotid repeatek a gének kódolóterületén vannak, addig a miotóniás izomdisztrófia és a fragilis X-szindróma esetében az ismétlődések a gén le nem fordítódó szakaszán (UTR = untranslated region) vannak, s általában nagyobb a repeatek száma is.

NÉHÁNY PÉLDA TRINUKLEOTID-REPEAT BETEGSÉGEKRE:

Betegség	Előfordulás	Trinukleotid	Repeatek száma	
			Normál	Mutáns allél
Huntington	1: 10 000	(CAG) _n	11–34	42–100
Fragilis X	1: 2000	(CGG) _n	10–50	52–500
Miotóniás d.	1: 8000	(CTG) _n	5–35	50–200
Kennedy	1: 50 000	(CAG) _n	11–31	40–65

A repeatmutációk jellemzője, hogy csak bizonyos ismétlődési szám felett betegség-
okozók, tehát van egy ún. **premutációs állapot** is, és hogy az **ismétlődési szám
növekedés = expanzió** a generációváltás, valószínűleg a meiózis során következik be.

Az ismétlődési egységek (pl. a CAG) számának növekedése valószínűleg egy olyan, a
mutációs forrópontoknál már említett folyamat eredménye, amikor a replikáció során a
DNS egyik szála a sok ismétlődő szekvenciának köszönhetően kihurkolódik. Ha ez a
hurkolódás az újonnan keletkező szálat érinti, akkor a replikációs apparátus ezt úgy
érezkelemi, mintha még nem egészen másolta volna le az eredeti szálat, tehát újabb ismét-
lődési egységeket ad hozzá a szintetizálódó új szálnak.

Ezzel az új szál több ismétlődési egységet tartalmaz. A régi és az új szál eltérő hosszát
ezt követően a hibajavítási mechanizmus egyenlíti ki, oda is betoldva a megfelelő számú
új ismétlődési egységet. A fentiek fordítottja – tehát az ismétlődési egység szám csökke-
nése is előfordulhat. Ilyenkor a kihurkolódás a templátszálat érinti, azaz a létrejövő új
szál rövidebb lesz, mint az eredeti volt. Azonban ebben az esetben is a repair korrigálja a
hibát, vagyis a régi szálból kivágja a felesleges számú repeatet, s így végül is egy keve-
sebb ismétlődési egységet tartalmazó DNS-molekula lesz a végeredmény.

Mivel a DNS-replikáció mind mitózis, mind pedig meiózis előtt megtörténik, elvben
mindkét esetben bekövetkezhet az ismétlődési egység szám változása. Ezzel szemben a
GCN triplet repeatek esetében inkább az egyenlőtlen crossing overrel, azaz egy meio-
tikus eseménnyel magyarázzák a repeatszám-változást.

Mivel a repeatek száma generációról generációra változik, az a repeatmutáció nem
stabil, ezért ezeket újabban **dinamikus mutációknak** is nevezik. A prokarióták esetében

ennek a dinamizmusnak fontos szerepet tulajdonítanak a gazdaszervezet immunrendszerének baktériumölő hatásainak kivédésében; az eukariótákban a tumorképzésben játszhat esetleg szerepet.

A repeat mutációk betegségkötő szerepét könnyű belátni, hiszen a kódoló részbe betoldott ismétlődési egységek számának növekedésével, az expanzióval, az érintett gén szerkezete egyre jobban eltorzul, azaz az általa meghatározott fehérje is egyre inkább hibás, funkcióképtelen lesz.

Ezzel kapcsolatos egy, a humángenetikában már régóta ismert, ám sokáig nem magyarázható jelenség, az **anticipáció**. **Az anticipáció azt jelenti, hogy egy öröklődő betegség generációról generációra egyre fiatalabb korban, tehát egyre korábban és egyre súlyosabb formában jelenik meg.** Mivel az orvosi jelentőségű repeat expanziók főleg a meiózisban (vagy az azt megelőző S fázisban) következnek be, s általuk az adott gén egyre jobban károsodik, a fenti jelenség jól megmagyarázható.

Génmutációk esetében nemcsak a mutáció mértéke, azaz az érintett DNS-szakasz hossza fontos, hanem eukariótákban, így az emberben, a helye is. Nem mindegy, hogy a mutáció kódoló- vagy nem kódolószakaszban (UTR = untranslated region), exonban, intronban vagy éppen a kettő határán van-e. Ez utóbbi esetben ún. **splicing mutációról** van szó, hiszen az exon-intron határ szekvenciái fontos szerepet játszanak az intron kihurkolódásában, a lasszó konfiguráció létrejöttében, s ezzel spliceosoma működésében. A splicing mutáció nyomán vagy elvész egy exon, vagy az intron is lefordítódik, azaz mindenképpen hibás fehérje lesz a végeredmény.

Még egyetlen egy gén, különböző helyeken bekövetkezett, báziscserére vagy hibás splicingra visszavezethető mutációi is teljesen eltérő vagy eltérő súlyosságú tüneteket okozhatnak, mint ahogy ez a cisztás fibrózis nagyszámú mutációja esetében ismert.

A le nem fordítódó **UTR-mutációk** szerepe csak az utóbbi években vált érthetővé, hiszen első pillantásra azt hihetnénk, hogy egy olyan DNS-szakaszt érintő mutáció, amelyik nem kódol fehérjét, s így hibás fehérje sem termelődik, nem okoz tüneteket, betegséget. Ezzel szemben ma már tudjuk, hogy pl. az 5' UTR régió szükséges a mRNS riboszómához való kapcsolódásához, s a normális fehérjeszintézishez. Így az is érthetővé vált, hogy némely trinukleotid repeat mutációk, melyekben az expanzió az UTR-régiót érinti, miért betegségkötők. Emellett a citozintartalmú repeatek metilációja egy sor epigenetikus változást indukál (metilkötő fehérjék, nem-kódoló RNS-ek kapcsolódása, kromatin remodellezés), amely ugyancsak magyarázhatja az UTR-mutációk betegségkötő szerepét.

Bár a Humán Genom Projekt eredményeképpen az emberi DNS-szekvencia már majdnem teljesen ismert, **a szekvencia ismerete nem jelenti a gének ismeretét, s a gén ismerete sem jelenti automatikusan funkciójának ismeretét!**

Ez különösen azokban az esetekben jelent gondot, ahol a mutáció eredményeképpen egy új, más funkciójú fehérje termelődik, viszont sem az eredeti fehérje, sem a mutáció nem ismert. Ilyenkor ún. **funkciónyerés = gain of function** mutációról van szó. Ebben az esetben jóval nehezebb a felderítés. Ez jellemezte a Huntington chorea vizsgálatát is, ahol a végül azonosított huntingtin nevű fehérje pontos eredeti funkciója ma sem igazán ismert.

Egyszerűbb a helyzet akkor, ha mutáció nyomán egy korábban már ismert szerkezetű és funkciójú fehérje tűnik el, vagy változtatja meg működését. Ekkor ún. **funkcióvesztés = loss of function** mutációról van szó, mint pl. a fenilketonuria vagy a sarlósejtes anémia esetében. A funkcióvesztéses mutációk általában recesszív jellegű eredményeznek, vagyis csak homozigóta formában jelennek meg a fenotípusban. Ez azért lehet így, mert a legtöbb géntermék esetében nem számít a pontos mennyiség, fél

adaggal is működik a rendszer. Vannak azonban **dózisérzékeny gének**, ahol az 50%-ra csökkent mennyiségű termék nem elég. Ez az ún. **haploinsufficiencia** (haplo = egyszeres; insufficiens = elégtelen). Tehát már a heterozigóta állapot is kóros fenotípust hoz létre, ekkor a funkcióvesztéses mutáció domináns öröklődésmenettel párosul.

Az is előfordul, hogy a mutáció miatt nemcsak a géntermék eredeti funkciója vesz el, hanem a mutáns termék megakadályozza a normális termék működését, pl. nem tudnak dimerizálni. Ez az ún. **domináns-negatív hatás**, vagyis a mutáció domináns fenotípussal jár és heterozigóta formában is megnyilvánul.

2.3. DNS-hibajavítás (repair)

Ha a DNS-ben vagy magukban a génekben ilyen sokféle módon jöhetnek létre mutációk, akkor az sem meglepő, hogy az evolúció során számos mechanizmus alakult ki az örökítőanyag épségének biztosítására, azaz a mutációk kivédésére, a keletkezett hibák kijavítására. E mechanizmusok összefoglaló neve a **DNS-hibajavítás vagy repair**.

A hibajavítási mechanizmusokat a szerint csoportosítják, hogy

- 1.) a mutációt okozó kémiai reakciót fordítja-e meg, ez a **direkt repair** vagy
- 2.) a hibás bázis/oka/t vágja-e ki, s helyettesíti jóval, ez az ún. **excíziós** (kivágásos) **repair**.

1.) A **direkt repair** legjobb példája az UV-sugárzás indukálta timin dimerek eltávolítása. Az elsősorban prokariótákra és néhány eukariótára (pl. élesztő) jellemző folyamat a **fotoaktiváció**. Ennek során a látható fény energiájának felhasználásával a pirimidin bázisok között létrejött ciklobután gyűrű felhasad, s mivel a bázisok maradnak az eredeti helyükön, a korábbi szerkezet visszaáll.

Bár az UV-sugárzás az egyik leggyakoribb mutagén (gondoljunk csak az egyre növekvő ózonlyuk miatt a Föld felszínét egyre intenzívebben érő UV-sugárzásra), sajnálatos módon sok faj, közte az ember sem képes erre a fotoaktivációs repairre. Vajon ez magyarázható az ember késői – azaz a védő ózonpajzs, s így a földfelszínre elérő kisebb mennyiségű UV-sugárzás megjelenését követő – evolúciójával?

A másik direkt hibajavítási mechanizmus az alkilált bázisok eltávolítására szolgál. Az O⁶-metilguanin metiltranszferáz enzim eltávolítja a guanin metilcsoportját úgy, hogy azt a saját aktív centrumában lévő ciszteinhez kapcsolja. Az ilyen jellegű enzimek mind a pro-, mind pedig az eukariótákban megtalálhatók.

- 2.) Az **excíziós repair** a direkt hibajavításnál sokkal gyakoribb. Három típusa van:
- a) bázis kivágásos
 - b) nukleotid kivágásos
 - c) mismatch (hibás illesztéses) hibajavítás

a) A **bázis excíziós repair** során az egyetlen hibásan beépült bázis kivágódik, majd a rést a DNS-polimeráz a megfelelő, immár jó bázissal betölti, az ép komplementerszálat használva templátként.

b) A **nukleotid excíziós repair** során nemcsak a mutált rész, pl. a timin dimer vágódik ki, hanem az azt megelőző és követő néhány másik nukleotid is, azaz egy rövidebb oligonukleotid. Ezután a hiányt a DNS-polimeráz betölti a sértetlen komplementerszál alapján, és a DNS-ligáz összeköti a régi és a kijavított szakaszt. E folyamathoz emberben 7 különböző gén terméke szükséges, melyek bármelyikének hibája az UV-

sugárzás indukálta mutációk kijavíthatatlanságával jár. Ez jellemez néhány ritka örökletes betegséget, mint pl. a Cockayne-szindróma vagy a xeroderma pigmentosum. Ez utóbbi kórkép is jó példa a genetikai heterogenitásra, hiszen a különböző excíziós repair enzimek hibái ugyanolyan tüneteket eredményeznek.

c) A **mismatch repair** során a nem pontosan komplementer, azaz a kettős hélixbe nem pontosan illeszkedő bázis kerül felismerésre, majd eltávolításra. A DNS-replikáció során a nem jól beépített bázisok egy jó része még a szintézis során a DNS-polimeráz ún. proof-reading – korrektor, azaz betűhiba-felismerő – tulajdonságának (3'→5' exonukleáz-aktivitás) köszönhetően felismerésre és eltávolításra kerül. Azokat, amelyek ezen a szűrőn átcúsztak, javítja ki a mismatch repair több enzimből álló komplexe.

Míg a bakteriális mismatch hibajavítás viszonylag jól, addig az emberi kevésbé ismert. Annyit azonban tudunk, hogy az egyik gyakori örökletes vastagbélrák kapcsolatos a mismatch repairben részt vevő fehérjekomplex génjeinek néhány mutációjával. Vagyis **nemcsak az egy meghatározott fehérjét kódoló gén sérülése, hanem a bármilyen génhibát kijavító mechanizmus sérülése is betegséghez vezethet.**

Mind a direkt, mind pedig az excíziós repair a DNS-replikáció előtt történik, ezzel biztosítva, hogy lehetőleg csak hibátlan DNS-molekula kettőződjen meg. A sejtek azonban többszörös biztosítással működnek, így az előbbi két hibajavítás mechanizmus hibája esetén még két további, alternatív, **replikáció utáni (posztreplikációs) javító mechanizmus** állhat rendelkezésre. Az egyik a **rekombinációs repair**, a másik az ún. error-prone (hibagazdag) vagy **SOS repair**. A **rekombinációs hibajavítás** során a kijavítatlanul maradt mutáció, pl. timin dimer gátolja a DNS-szintézist, így a neki megfelelő helyen egy rés lesz az új szálon.

(A szintézis teljesen azért nem szakad meg, mert a DNS-polimeráz – mint az Okazaki fragmentumok esetében is – képes részletekben szintetizálni az új szálat.) A rés később az eredeti szállal rekombinálódva betöltődik, míg az eredeti szálon keletkezett részt a DNS-polimeráz és ligáz együttesen betöltik, lévén, hogy itt semmiféle a szintézist gátló hiba nem volt. Az egész mechanizmus lényege, hogy így lehetőség nyílik az eredeti hiba későbbi, a következő replikációt megelőző kijavítására.

A legnehezebben javítható mutációk az általában ionizáló sugárzás vagy oxidatív károsodás miatt létrejövő **kétszálú DNS-törések** (double stranded breaks), ugyanis ekkor – szemben az előző hibajavítási mechanizmusokkal – nem áll rendelkezésre egy templátként szolgáló szál, aminek alapján elvégezhető a korrekció. A kétszálú törések – lévén hogy szabad végeket generálnak – fokozzák a kromoszómák instabilitását, és ezzel szerkezeti kromoszóma-rendellenességek létrejöttéhez vezethetnek. Kijavításukra két mechanizmus szolgál:

- a) az ún. **non-homologous end joining (NHEJ)** = nem homológ végek egyesítése
- b) a **homológ rekombináció**

A **NHEJ** során egy speciális DNS-ligáz enzim egy kofaktor segítségével egyesíti a tört végeket. Ha a kétszálú törés területén a létrejött darabokon az egyik szál túlnyúlik, hosszabb, és mikrohómológ szakaszt is tartalmaz, a repair nagy valószínűséggel pontos. Ha a darabok végein a szálak egyforma hosszúak, nagyobb az esély nem összetartozó darabok egyesítésére, és ezáltal szerkezeti kromoszóma rendellenességre is.

A **homológ rekombináción** alapuló javítás vagy a homológ kromoszóma megfelelő szakaszát, vagy a sejtciklus G₂ fázisában a már létrejött testvér kromatidát használja fel templátként a hibajavításhoz egy, a crossing over során használthoz hasonló enzimerendszer révén.

Az **SOS hibajavítás vagy error-prone repair** csak prokariótákban ismert (bár feltételeznek hasonló mechanizmusokat eukariótákban is), s csak olyan extrém esetekben működik, amikor a sejt túlélése a tét. Ha igen erős sugárzás vagy más mutagén tényező a DNS jelentős részét károsítja, akkor nincs idő a korábban említett precíz, ámde időigényes javító mechanizmusokra, hanem ha meglehetősen pontatlanul is, de vissza kell állítani a DNS épségét, elkerülve ezzel az azonnali sejthalált. Könnyen belátható, hogy ilyen mechanizmusra a többsejtű eukariótákban nincs szükség, hiszen ott egyetlen sejt pusztulása nem jelenti az élőlény halálát; a többi sejt átveszi a kiesett sejt funkcióját.

Természetesen a genom intaktságának megóvására nemcsak a különböző hibajavító mechanizmusok állnak rendelkezésre, hanem olyan inaktivációs rendszerek is, melyek a mutagén hatású anyagokat közömbösítik, inaktiválni képesek. Ilyen az oxidatív és ezért mutagén szuperoxidokat elimináló peroxiszomális rendszer, amelyben a szuperoxid-dizmutáz a peroxidokat H_2O_2 -vé alakítja, majd azt a kataláz bontja, s így neutralizálja.

2.4. Mutagenitási vizsgálatok

A mutációk káros hatásainak elkerülésére azonban nem támaszkodhatunk kizárólag a sejtjeinkbe az evolúció során beépült hibajavító mechanizmusokra, hanem lehetőleg mindent meg kell tennünk az esetleges mutagén hatású anyagok előállításának és forgalomba hozatalának elkerülésére. Ezt a célt szolgálják a **mutagenitási vizsgálatok**. A nemzetközi előírások szerint minden leendő gyógyszer, vegyszer és kemikália átesik ún. **gyógyszerbiztonsági vizsgálatokon**, amelyek egyik csoportját a különböző **mutagéntesztek** alkotják. Fontos, hogy a lehető legszélesebb spektrumú – a prokariótáktól az eukariótáig, azon belül az emlősökig, illetve az emberig terjedő – in vivo, illetve in vitro vizsgálatokat végezzék el a mutagén = mutációt indukáló hatások kizárására.

Általában a baktériumokon végzett, pontmutációk kimutatására alkalmas direkt vizsgálatok az elsők, ilyen az **Ames-teszt**, ekkor a tesztelendő anyagot közvetlenül adják a megfelelő baktériumtörzsek tenyésztéséhez.

Előfordulhat azonban az is, hogy nem maga a tesztanyag, hanem annak valamelyik metabolitja mutagén, ilyenkor emlős máj-mikroszóma-frakciót vagyis a metabolizmus-hoz szükséges enzimeket is hozzáadják a kísérleti rendszerhez.

A mutagenitási vizsgálatok fegyvertárában nemcsak pontmutációk, hanem a repairt is érintő mutációk, valamint számbeli és szerkezeti kromozómamutációk kimutatására alkalmas eljárások is vannak.

Az egyik legszélesebb körben alkalmazott in vitro eljárás az ún. **sister chromatid exchange (SCE) technika**, amellyel a **testvérkromatidák kicserélődését** lehet kimutatni. Ugyan még ma sem ismert, miért van testvérkromatida kicserélődés az egészséges testi sejtekben – hiszen a testvérkromatidák genetikai anyaga 100%-ig azonos (a hibás replikáció hatása elenyésző) – de a DNS-károsító, mutagén anyagok fokozzák a kicserélődések gyakoriságát, a normális 4-5/sejt (mitózis) értékről ennek akár sokszorosára is.

E technika azonban orvosi, diagnosztikai jelentőséggel is bír; vannak fokozott kromozómatörékenységgel, -instabilitással járó, szerencsére ritka, öröklődő betegségek, mint pl. a **Bloom-szindróma**, ahol az SCE-vizsgálat eredménye, a ≈ 60 SCE/sejt érték a kórismézés alapjául szolgálhat.

A mutációk következményeinek értékeléskor főként a populáció-, illetve evolúciógenetikában használatos kategóriák: **a hasznos, a káros és a neutrális mutációk** csoportjai. Ekkor a mutációkat nem az egyed, hanem a **faj túlélése szempontjából** értékelik. Azonban nem szabad elfelejteni, hogy ekkor a **mutációt nem önmagában, hanem az adott környezettel kapcsolatban** vizsgálják. Erre a legjobb, immár klasszikus, példa

az angliai nyírfaaraszoló lepke fehér, illetve fekete pigmentációjú változatainak esete (ld. <http://biologiaevolucio.blogspot.hu/2012/01/nyirfaaraszolo-lepkek-evolucio-mukodes.html>).

Ez egyben arra is figyelmeztet, hogy nemcsak a genetikai anyag, hanem ettől függetlenül a környezet is változik, és ami az egyik környezetben hasznos vagy közömbös volt, az a másik környezetben káros lesz, vagy fordítva.

Ezzel kapcsolatban meg kell említeni azt is, hogy a vad/mutáns **génváltozat, allél** megkülönböztetés mindig egy adott környezetre, populációállapokra vonatkozik: **mindig az a mutáns jelenti a vad típust, amelyik a leggyakoribb.**

Hasznos webhelyek:

www.genomic.unimelb.edu.au/mdi/

www.hvgs.org/mutnomen/

<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/hahaha.php>

<http://decipher.sanger.ac.uk/>

www.ncbi.nlm.nih.gov

2.5. A fejezethez tartozó kérdések

1. Mi a különbség egy pontmutáció és egy SNP között?
2. Eredet szerint milyen mutációs típusokat ismer?
3. Ismertessen néhány kémiai és fizikai mutagént!
4. Miért vezethet egy kétszálú DNS-törés szerkezeti kromoszóma-rendellenességhez?
5. Mi a különbség a polialanin és poliglutamin betegségekhez vezető okok között?
6. Mi a mutációs forrópontok létének magyarázata?
7. Mi köze az anticipációnak a nukleotid repeat mutációkhoz?
8. Miért nincs SOS repair soksejtűekben?
9. Mikor történik meg a mutációs hibajavítás?
10. Ismertessen néhány, a mutagenitás vizsgálatára alkalmazott módszert!
11. Mi lehet a splicing mutációk következménye?

3. Citogenetika. Kromoszómamutációk

A genetikán belül a citogenetika a kromoszómák fajra/sejtre jellemző számával, a kromoszómák szerkezetével, jellemző szakaszaikkal, ezek funkcionális szerepével, illetve az előzőket érintő eltérésekkel, azaz a kromoszómamutációkkal is foglalkozó tudományterület. A kromoszómamutációk a kromoszómák szerkezetében vagy a kromoszómák számában bekövetkezett változást jelentik, relatíve ritkák, ebben térnek el a normálisan előforduló, gyakori, ártalmatlan kromoszóma-polimorfizmusoktól. Mivel mindkét típusú kromoszóma-rendellenesség esetében sok gént érintő elváltozásról van szó, s mivel a kromoszómák, illetve azok érintett részeinek mérete a fénymikroszkópos feloldóképesség határán belül van, így a nagyobb kromoszómamutációk már fénymikroszkóppal is vizsgálhatók, szemben a közvetlenül csak molekuláris biológiai módszerekkel azonosítható génmutációkkal. Ugyanakkor a korszerű hibridizációs (FISH vagy CGH) technikák alkalmazása a korábban fénymikroszkóppal nem felismerhető kicsiny szerkezeti elváltozások (pl. mikrodeléciók vagy CNV-k) azonosítását is lehetővé teszik.

A kromoszóma-rendellenességek kialakulása szempontjából két szempont tekinthető kulcsfontosságúnak: mikor és hol történik. Bár mind mitózisban, mind pedig meiózisban létrejöhetnek kromoszómamutációk, a meiózisban bekövetkező kromoszóma-rendellenességek hibás gaméták képződéséhez, s ezzel beteg utódok születéséhez vezethetnek. Így orvosi jelentőségük is nagyobb, mint a mitotikus kromoszómaaberrációké. A mitózisban bekövetkező kromoszóma-rendellenességek szempontjából az a fontos, hogy az egyedfejlődés során mikor és milyen sejttypusban alakult ki. A korai barázdálódási osztódások során történt mutációnak a szervezet egészét érintő súlyos következményei lehetnek, míg egy állandóan proliferáló sejttypusban (pl. epitel sejtek), felnőttkorban bekövetkezett aberrációnak elhanyagolható lehet a szerepe. Ugyanakkor a tumorsejtek kialakulásában és későbbi gyors proliferációjában kulcsszerepe lehet bizonyos kromoszómamutációknak.

A kromoszóma-rendellenességek létrejöttében két kromoszómarészletnek van kiemelt jelentősége: a centromérának és a telomérának.

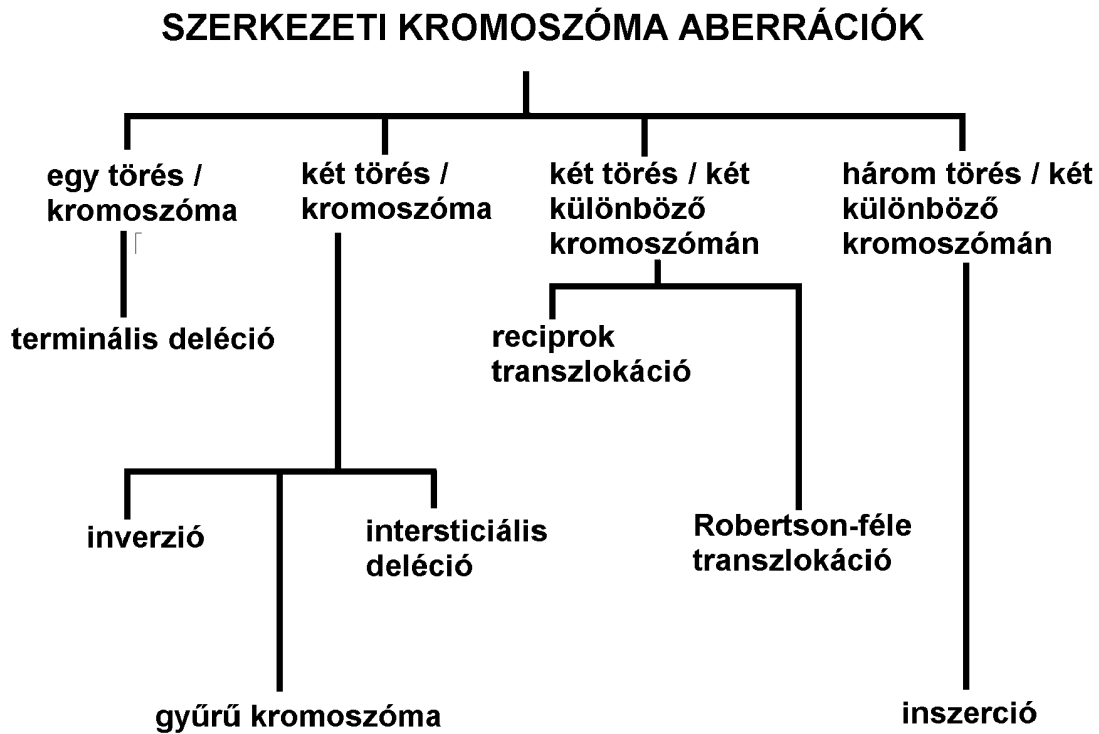
A **centroméra** a kromoszómák elsődleges befűződésének (konstrukció), a testvérkromatidák kapcsolódásának helye, melynek pozíciója az adott kromoszómára jellemző, szigorúan megszabott. Ide kapcsolódik a kinetochor és azon keresztül a kinetochor mikrotubulusok. Jelentősége a testvérkromatidák, illetve a kromoszómák anafázisos szegregációjában van, s így főként a számbeli kromoszómamutációk kialakulásában van szerepe. A centroméra nélküli kromoszómadarabok (acentrikus fragmentumok) nem jutnak el a sejt megfelelő pólusaira, hanem elvesznek az egymást követő osztódások során.

A centroméra környékén sok ismétlődő, G-C gazdag szekvencia van, maga a centroméra pedig a legkésőbbben replikálódó DNS-t tartalmazza.

A kromoszómák végei, a **telomérák** TTAGGG repetitív szekvenciában gazdag szakaszok, biztosítják a kromoszómák szerkezetének integritását és stabilitását, és szerepet játszanak a sejtöregedésben, a tumorképzésben, illetve a szerkezeti kromoszóma-rendellenességek létrejöttében, hiszen hiányában a kromoszómák szerkezete labilissá válik, és a teloméra nélküli darabok könnyen összetapadhatnak, utat nyitva sokféle rendellenességnek.

3.1. Szerkezeti kromoszómamutációk = strukturális kromoszómaaberrációk

A szerkezeti kromoszóma-rendellenességek kialakulásának előfeltétele a kromoszóma/ák törése, mely lehet spontán vagy indukált. A strukturális aberrációk csoportosítása pedig a törések számán és azok kromoszómán belüli helyén alapszik (3.1. ábra).



3.1. ábra. A szerkezeti kromoszómaaberrációk csoportosítása

3.1.1. Deléciók

Ha egy kromoszóma eltörik, és a letört darab elvész, delécióról beszélünk. Ekkor az érintett sejtől hiányozni fog a letört darab által hordozott genetikai információ, aminek következtében a sejt vagy nem normálisan működik, vagy elpusztul. Miután a deléciók következtében bizonyos funkciók kiesnek, bizonyos fehérjék, pl. enzimek nem termelődnek. A deléciók segítségével fel lehet térképezni a kiesett gén helyét – ez volt a géntérképezés egyik legkorábbi módja, a **deléciós térképezés**.

Ha a törés a kromoszóma végéhez közel van, **terminális deléció** jön létre. Ebben az esetben egyéb gének mellett a teloméra is elvész, s ez is hozzájárul a tünetek súlyosságához, a korai letalitáshoz. A legismertebb példa a terminális delécióra a **cri du chat vagy macskanyávogás-szindróma**: itt az 5-ös kromoszóma rövid karja deletál (5p-). A betegség az ilyen rendellenességet hordozó csecsemők jellegzetes, nyávogó sírásáról kapta a nevét.

Az **intersticiális deléció** során egy kromoszómán belül két törés van, s a köztes darab kiesik, majd elvész. Az ilyen elváltozások is általában igen súlyos testi és szellemi fogyatékossgal járnak, spontán vetéléshez, korai halálhoz vezethetnek az érintett kromoszómától függően. A legismertebb intersticiális deléció a 15-ös kromoszóma hosszú karját érinti: del15(q11-13). Ez a Prader-Willi-, illetve az Angelman-szindróma

(lásd 4. fejezet; epigenetika és genomiális imprinting). Az előbbiben apai delécióról, az utóbbiban anyai delécióról van szó.

Ugyancsak intersticiális, de kisméretű, ún. **mikrodeléciók** állnak a Williams- és a DiGeorge-szindróma (del7q11.23 és del22q11.2) hátterében is.

3.1.2. Duplikációk

A duplikáció során egy adott kromoszómarészlet megkettőződik. Ez vagy replikációs hiba vagy a meiózisban bekövetkező egyenlőtlen crossing over következménye. Mindkét esetben az érintett régióban előforduló repetitív szekvenciák magyarázhatják a replikációs apparátus „elcsúszását”, illetőleg a homológok nem pontos párba állását (skipping). A deléciókhoz hasonlóan a duplikációkat is felhasználták egy gén, illetve géncsoport kromoszómális helyének azonosítására, vagyis géntérképezésre.

3.1.3. Transzlokációk

A transzlokációk kialakulásához egynél több, általában 2 vagy 3 törés kell. A letört rész/ek áthelyeződnek egy másik kromoszómára. Aszerint, hogy a letört darab honnan származik, illetve hány darab cserél helyet, további alcsoportokat különítenek el a transzlokációkon belül.

3.1.3.1. Reciprok transzlokációk

A reciprok transzlokáció során legalább két törésponttal kell számolni, amelyek lehetnek két homológ kromoszómán vagy két teljesen eltérő, nem homológon is. A letört kromoszómadarabok kicserélődnek, majd az új helyre forrnak vissza.

Ennek eredményeként két megváltozott szerkezetű kromoszóma jön létre. Ez azonban az esetek legnagyobb részében nem okoz fenotípusos változást, azaz tüneteket vagy betegséget. Ilyenkor ún. **kiagyensúlyozott transzlokációról** van szó. A jelenség azzal magyarázható, hogy csak az érintett gének helyzete változik, maguk a gének nem. A töréspontok általában a nem kódoló szakaszokra esnek, ugyanis a kódoló régiók aránya az emberi genomban mindössze <2%.

Azokban az esetekben, amikor a töréspont génen belül van, az áthelyeződés nyomán maga a gén sérül, így terméke is hibás – eltérő funkciójú vagy aktivitású, mennyiségű, vagy esetleg funkcióképtelen – lesz, ami kóros jelek megjelenéséhez, pl. tumor-képződéshez vezethet.

Erre a legjobb példa a Philadelphia kromoszóma (Ph₁) képződéséhez vezető, a 9-es és a 22-es kromoszómák közötti reciprok transzlokáció, amelynek citogenetikai rövidítése t(9;22)(q34;q11).

Ez a transzlokáció a **krónikus mieloid** (CML), illetve az **akut limfoid leukémiában** (ALL) fordul elő. A 22-es kromoszómán a töréspont a *BCR* (breakpoint cluster region) génben van, míg a 9-es kromoszóma töréspontja az *ABL* (Abelson murine leukemia) protoonkogént érinti. Mivel az *ABL* gén egy tirozin-kináz enzimet kódol, a transzlokáció nyomán egy olyan *BCR/ABL* fúziós fehérje keletkezik, amelynek nemcsak a molekula-tömege nagyobb az eredeti enziménél, hanem nagyobb az aktivitása is. Ugyanis a transzlokáció révén elvesz az *ABL* saját, jól szabályozott promotere, ezért folyamatosan átíródik. Végül ez vezet a sejt ellenőrizetlen szaporodásához, azaz a tumor kialakulásához.

Egy másik, orvosi szempontból fontos példa a többnyire Epstein–Barr-vírus által okozott **Burkitt-limfóma**. Ebben a betegségben a 8-as kromoszómán kódolt *cMYC* protoonkogén transzlokálódik, vagy a 14-es, vagy a 2-es, vagy a 22-es kromoszómára

[t(8;14) vagy t(8;2), illetve t(8;22)], ahol vagy az immunglobulin nehézlánc (14-es kromoszóma) vagy az Ig könnyűlánc génjei (κ -lánc 2-es kromoszóma, illetve λ -lánc 22-es kromoszóma) található. Mivel az Ig láncokat kódoló gének folytonosan átíródnak, ezért az ide transzlokálódott *cMYC* is – amely egy heterodimer formában ható transzkripciósfaktort kódol – állandóan átíródva túltermelődik, és a sejtproliferáció fokozódásához, végeredményben tumorképződéshez vezet. A fenti két eset jól példázza a transzlokációk és a protoonkogének kapcsolatát, ahol vagy a normális fehérje túltermelődése (Burkitt-limfóma) vagy egy fúziós – bár normál funkciójú – fehérje szabályozástól független termelése (CML) felelős a daganat kialakulásáért.

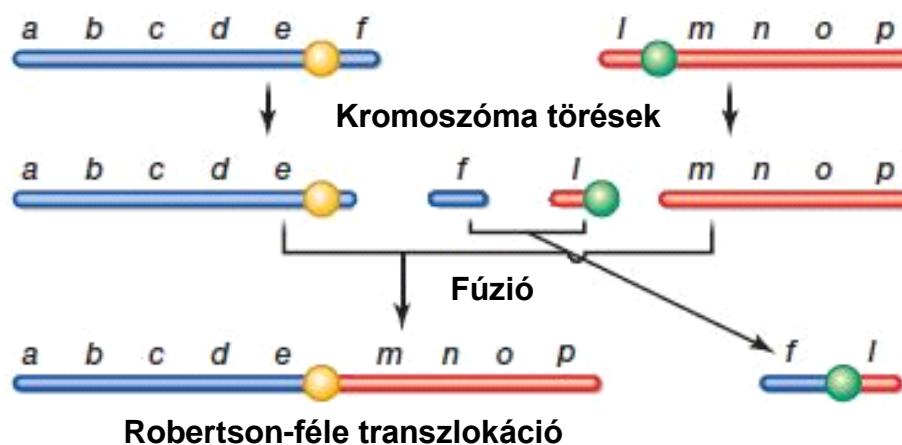
Ha 2 töréspont helyett 3 fordul elő, ún. **inzerációs transzlokáció**, röviden **inzeráció** jöhet létre. Ekkor az egyik kromoszómából kitört darab (2 törés) beépül, inzertálódik a másik kromoszómába (1 törés).

Mivel az emberi kromoszómaszerelvény 46 kromoszómából áll, s ezek bármelyikének bármelyik darabja helyet cserélhet, így nyilvánvaló, hogy a transzlokációs lehetőségek száma szinte korlátlan.

A transzlokációk egy speciális esete a **Robertson-féle transzlokáció vagy centrikus fúzió** (3.2. ábra). Ebben a szerkezeti kromoszóma-rendellenességben csak **akrocentrikus** kromoszómák vesznek részt, tehát emberben csak a 13-as, a 14-es, a 15-ös, a 21-es és a 22-es kromoszómák valamelyike lehet érintett. Nemcsak a részt vevő kromoszómák típusa, de a töréspontok helye is szigorúan megszabott: mindig a centroméra közelében vagy a centroméra területén van a törés.

Így vagy olyan rendellenes – fúzionált – kromoszómák jöhetnek létre, amelyek egyike kezdetben akár két centromérát is tartalmazhat (dicentrikus), végül azonban csak egy centroméra marad aktív; másik pedig centroméra nélküli, ami a későbbi osztódások alatt elvész, s ezzel a kromoszómaszám is csökken.

Ha a töréspont pontosan a centroméra területén van, két egycentromérás, bár átrendezett kromoszóma képződik. Az átrendeződés következtében az eredeti akrocentrikusokból két eltérő méretű, egy nagyobb és egy kisebb, szubmeta- vagy metacentrikus kromoszóma jön létre.



3.2. ábra. Robertson-féle transzlokáció vagy centrikus fúzió – <http://mhanswers-auth.mhhe.com/biology/genetics/mcgraw-hill-answers-changes-chromosome-structure-and-number>: figure 8.19. nyomán; 2013.07.03.

A kis szubmetacentrikus, amely mindkét karján NOR (nukleólusz organizátor) régiót tartalmaz, az egymást követő osztódások során elvesz. Mivel azonban akrocentrikus kromoszómák rövidkarján található NOR régióból összesen 10 darab van az emberi genomban, ezért kettő elvesztése nem jár semmilyen fenotípusos változással, vagyis a centrikus fúzió kiegyensúlyozott.

A centrikus fúzió eredményeként nemcsak egy rendellenes szerkezetű kromoszóma jön létre, hanem a **kromoszómaszám is** 46-ról 45-re **csökken**.

A jelenlegi citogenetikai bizonyítékok alapján két, egymást követő centrikus fúzióval magyarázható a Hominidák evolúciója során bekövetkezett kromoszómaszám-csökkenés. Míg az emberszabású majmok közül a gorilla, a csimpánz és az orángután 48 kromoszómával bír, addig az ember 46-tal. Ez azt jelenti, hogy a centrikus fúzióknak az emberszabásúak és az ember fejlődési vonalának szétválása után kellett bekövetkezni.

3.1.4. Inverziók

Az inverzió (megfordulás) olyan szerkezeti kromoszómaaberráció, melynek során ugyanaz a kromoszóma kétszer törik el, és a töréspontok közé eső darab 180°-kal megfordul. Két típusa van:

- 1.) pericentrikus
- 2.) paracentrikus inverzió

1.) A **pericentrikus inverzió**ban a két törés a kromoszóma két karján, vagyis a centroméra két oldalán van. A 9-es kromoszóma pericentrikus inverziója relatíve gyakori.

2.) A **paracentrikus inverzió**nál mindkét töréspont a kromoszómának ugyanazon karján található, így a megfordulás a centromérát nem érinti.

Mind a para-, mind pedig a pericentrikus inverzióra igaz, hogy a töréspontok általában a nem kódoló részben vannak, ezért az ilyen rendellenességet hordozók is normális fenotípusúak.

A jelenlegi ismereteink szerint az inverzióknak is szerepe lehetett az emberi kromoszómális evolúcióban, mivel néhány humán kromoszóma szerkezete levezethető az emberszabású és a keskenyorrú (*Catharrinae*) majmok kromoszómáiból. Sőt ilyen átrendeződések megléte vagy hiánya alapján (inv2) sorolták a szumátrai és borneói orángutánokat két külön alfajba, sőt ma már külön fajnak tekintik őket.

3.1.5. Gyűrű (ring) kromoszóma

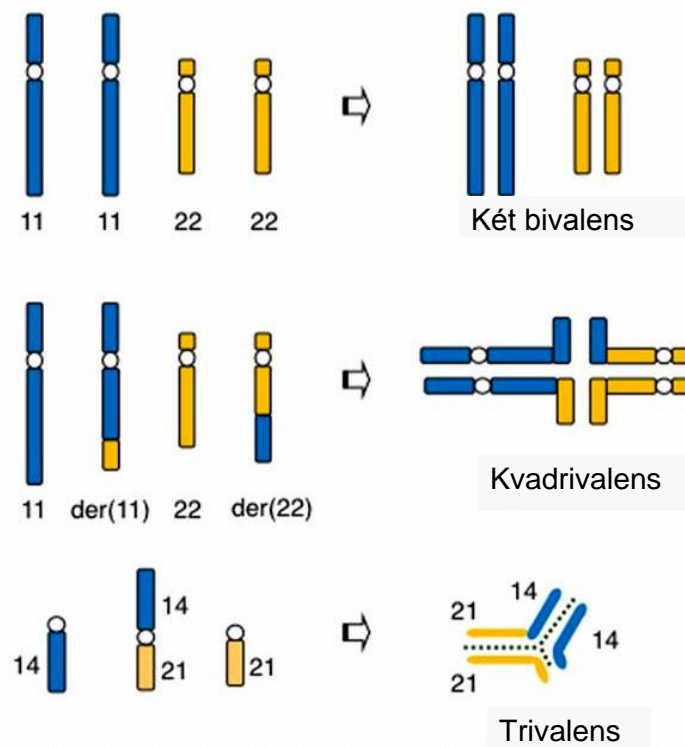
Ebben az esetben a kromoszóma mindkét karján – általában a telomérák közelében – van törés, majd a törésvégek összezárulnak és egy kromoszómagyűrű alakul ki. A letört darabok az egymást követő osztódások során elvesznek, így a génjeik által kódolt információ is. A hordozók az érintett kromoszóma milyenségétől és az elvesztett régió nagyságától függően többé vagy kevésbé súlyosan fogyatékosak. A szomatikus retardáció – a testfejlődés-beli visszamaradottság – azzal is magyarázható, hogy a gyűrűkromoszóma DNS-ének további replikációja zavart: sokszor ördöggyűrű, óriásgyűrű (duplikáció miatt), átrendezett (rekombináns) kromoszóma vagy éppen egy sejtben belüli két gyűrű kromoszóma, tehát kromoszómaszám-változás lesz a végeredmény.

3.1.6 Izokromoszóma

Az izokromoszóma olyan rendellenes szerkezetű kromoszóma, amely mindkét karján ugyanolyan géneket tartalmaz. Kialakulásakor a testvérkromatidák nem a kromoszóma hossz tengelyére párhuzamosan válnak szét, és kezdenek a sejt két pólusára vándorolni, hanem a hossz tengelyre merőleges a szétválásuk síkjára.

Így olyan utódkromoszómák, s végül olyan ezeket tartalmazó utódsejtek alakulnak ki, amelyek mindkét karjukon vagy csak a rövid karnak, vagy csak a hosszú karnak megfelelő információt hordozzák, a másik kar információja elvész. Mivel egy kromoszómakaron sok-sok gén található, ezért akár ezek többlete, akár ezek hiánya igen súlyos elváltozásokhoz vezet, gyakran letális. Kivételt képez az X- és az Y- kromoszóma, a legtöbb ismert izokromoszómás eset ilyen. Ennek oka, az Y-kromoszóma viszonylagos génszegénysége, illetve az X-kromoszóma inaktiváció kompenzáló hatása.

A duplikáció kivételével, a fenti szerkezeti rendellenességek általában a DNS megkettőződést megelőzően (G₁ fázisban) alakulnak ki, ezért a replikáció már a sérült DNS-t érinti, s azonos testvérkromatidák kialakulásához vezet. Ezek szétválása az osztódás végén azonos kromoszómaaberrációt hordozó utódsejtek létrejöttét eredményezi. Bár az ilyen típusú elváltozások mind mitózisban, mind pedig meiózisban kialakulhatnak, orvosi szempontból feltétlenül az utóbbi a fontosabb, hiszen a hibás gaméta révén hibás kromoszómamutációt hordozó utód születhet.



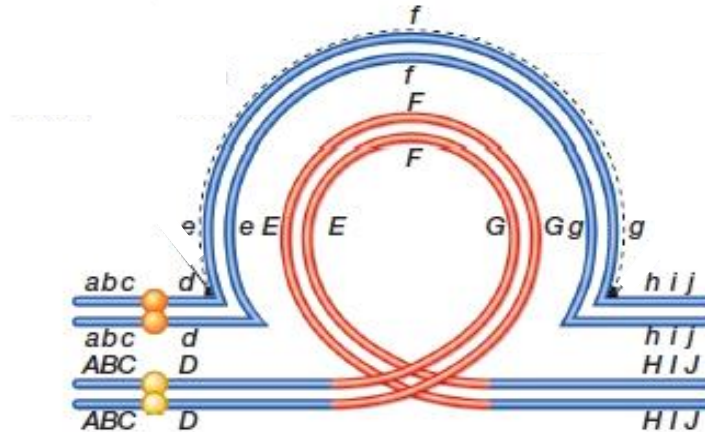
3.3. ábra. Néhány transzlokáció meiotikus következménye –

http://c431376.r76.cf2.rackcdn.com/26210/fgene-03-00112-HTML/image_m/fgene-03-00112-g001.jpg; figure 3.4. nyomán; 2013.07.03.

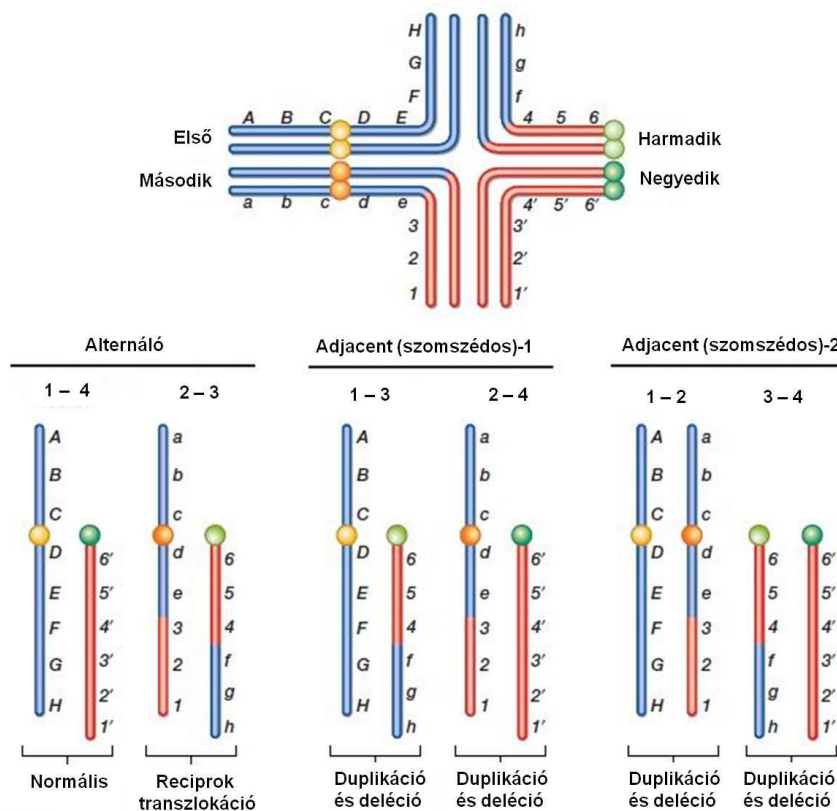
A szerkezeti aberrációk közül a transzlokációk és az inverziók nemcsak kiegyensúlyozott, tünetmentes formában léteznek. E rendellenességek hordozói esetében a **kiegyensúlyozatlan** kromoszómakészletű, súlyos fejlődési rendellenességeket mutató, szomatikusan és mentálisan visszamaradott utód kockázata igen nagy. A tünetek sok-

szor méhen belüli halálhoz, tehát spontán abortuszhoz, halvaszüléshez vezethetnek. Ennek magyarázata a szerkezetileg hibás kromoszómák és normális homológjuk első meiotikus osztódásbeli párba állásának nehézségeiben rejlik (3.3. ábra).

A reciprok transzlokációk esetén, a meiózisban, a szokásos bivalens helyett, *kvadrivalens*, a centrikus fúzióban *trivalens*, az inverziókban *hurok* alakul ki (3.4. ábra), mely megnehezíti, néha megakadályozza a normális szegregációt, különösen, ha figyelembe vesszük a homológok közötti rekombinációt, a crossing overt is, s nagy valószínűséggel rendellenes kromoszómákat hordozó kiegyensúlyozatlan ivarsejtképződéshez vezet.



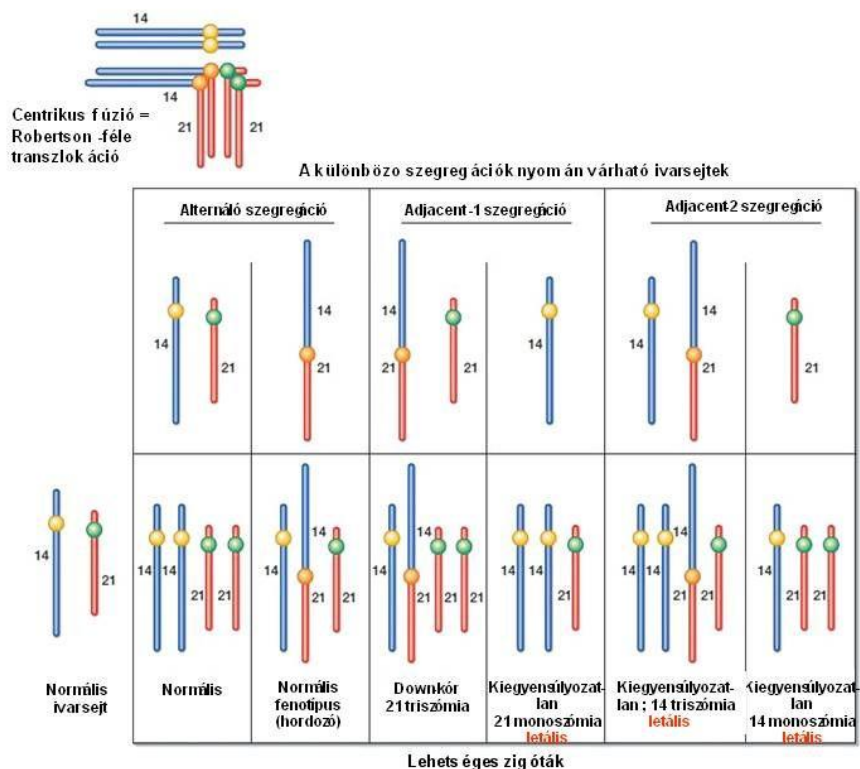
3.4. ábra. Egy inverzió (paracentrikus) meiotikus következménye – <http://mhanswers-auth.mhhe.com/sciences/life-science/genetics/mcgraw-hill-answers-changes-chromosome-structure-and-number>: figure 8.11. nyomán; 2013.07.03.



3.5. ábra. Egy reciprok transzlokáció néhány szegregációs típusa – <http://mhanswers-auth.mhhe.com/biology/genetics/mcgraw-hill-answers-changes-chromosome-structure-and-number>: figure 8.17. nyomán; 2013.07.03.

Egyetlen reciprok transzlokációból is több mint 10-féle, kiegyensúlyozatlan rendellenességet hordozó gaméta származhat (3.5. ábra). Ezek némelyike már nemcsak az érintett szegment többletével vagy hiányával bír – részleges (parciális) triszómia, illetve monoszómia – hanem már számbeli kromoszóma-rendellenességet is mutat, mivel ilyenkor már maga a szegregáció is hibás lesz, nem 2:2, hanem 3:1 vagy 4:0, azaz nem két-két kromoszóma kerül az utódsejtekbe, hanem az egyikbe 3 vagy 4, a másikba 1 vagy 0.

A szegregációs zavar a legsúlyosabb esetekben a gametogenezist is gátolhatja, s így **infertilitáshoz**, **sterilitáshoz** vezethet. Erre a legjobb példa a homológ akrocentrikus kromoszómák közötti centrikus fúzió. Például a $t(15;15)$ és a $t(14;14)$ Robertson-féle transzlokációból nem születhet életképes utód, a $t(21;21)$ fúzióból pedig vagy életképtelen vagy Down-kóros utód származhat (3.6. ábra).



3.6. ábra. Egy $t(14;21)$ centrikus fúzióból várható kiegyensúlyozatlan kromoszómakészletű ivarsejtek, illetve utódok – <http://mhanswers-auth.mhhe.com/biology/genetics/mcgraw-hill-answers-changes-chromosome-structure-and-number>: figure 8.29. nyomán; 2013.07.03.

3.1.7. Dicentrikus kromoszóma

Dicentrikus, azaz két centromérával bíró kromoszóma nemcsak mint már említettük – centrikus fúzió révén jöhet létre, hanem két nem homológ akrocentrikus kromoszóma rövid karjai között fellépő ún. nem-homológ rekombináció miatt is létrejöhet.

Mivel a dicentrikus kromoszómák az osztódások során nem tudnának a megfelelő pólusokra vándorolni, ezért egy ma még nem tisztázott mechanizmus révén a két centroméra közül az egyik inaktiválódik, s így egy, ugyan abnormális szerkezetű, de egy centromérával bíró kromoszóma marad fenn.

3.1.8. Acentrikus fragment

Ritkábban a kromoszómá(k)ról letört darab(ok) a sejtben, mint centroméra nélküli kis fragmentumok, a citoplazmában maradnak. Mivel a centroméra hiányában az ilyen darabok nem tudnak a megfelelő sejtpólusra vándorolni, vagy ún. **mikronukleusz** formálnak, vagy a sejtosztódások során elvesznek a sejtből, s végül csak az érintett, de így már deletált kromoszómák maradnak meg. Az acentrikus darabok leggyakrabban valamilyen indukáló, kromoszómatörést okozó mutagénhatásra, pl. sugárzás alakulnak ki, ezért felhasználhatók a mutagénhatások tesztelésére (mikronukleusz teszt).

3.2. Számbeli kromoszóma mutációk = numerikus aberrációk

A számbeli rendellenességek, amikor egy vagy több kromoszóma többlete vagy hiánya fordul elő, végeredményben az egész genom méretét módosítják, ezért ezeket **genom-mutációknak** is tekintik.

A numerikus kromoszóma aberrációk háromfélék lehetnek:

- 1.) euploid
- 2.) aneuploid
- 3.) mixoploid mutációk

3.2.1. Euploid kromoszóma mutációk

Euploidia esetén minden kromoszómafajtából ugyanannyi van jelen a sejtben, azaz haploid sejtben mindenből egy, diploidban mindenből kettő, triploidban 3 és így tovább.

A haploid – azaz az ivarsejtekre jellemző – kromoszómaszerelvény alapszáma n , ennek egész számú többszöröse, vagyis $2n$, $3n$ stb. található meg az euploid testi sejtekben. Poliploidiaról akkor van szó, ha az n valamilyen egész számú többszörösét találjuk, akár a gamétákban, akár a szomatikus sejtekben. Mutációról azonban csak akkor van szó, ha az adott egyedben vagy csak az adott sejtben a fajra jellemző értéktől (haploid vagy diploid) eltérő számú kromoszóma található. A kromoszómaszerelvény megsokszorozódása, a sejtciklus M fázisában, az osztódási apparátus hibájának, a mikrotubulusok rendellenes szerveződésének következtében alakul ki.

Növényekben a normális értéktől való eltérés az étellel összeegyeztethető, sőt gazdasági szempontból kifejezetten előnyös, hiszen a kromoszómák megsokszorozódása nemcsak a gének, hanem termékeik megsokszorozódását is jelenti. Ezzel pedig a fehérjetartalom, a termés hozam is nő, ilyen pl. a termesztett banán, a búza stb. A növényi sejtekben megtalálható poliploidia vagy az adott faj/sejttípus evolúciójának eredménye, vagy tudatos növénynemesítői munka eredménye. Poliploidia indukálására orsómérgek – Colcemid, Colchicin, Vincristin, Vinblastin – azaz az osztódási orsó mikrotubulusainak polimerizációját gátló alkaloidok is felhasználhatók, ebben az esetben autopoliploidia jön létre, hiszen ekkor minden kromoszóma ugyanabból a fajtól való. Ezzel szemben egy faj egyedeinek vagy rokon fajok keresztezésével létrehozott hibridek (pl. búza) allopoliploidok lesznek.

A növényektől eltérően a poliploidia állatokban, illetve az emberben már méhen belül halálhoz vezet, letális. Kivételt képeznek bizonyos sejtek/szövetek, pl. a csontvelői megakariociták, és a regenerálódó májsejtek egy része is poliploid. Ekkor az evolúció évmilliói alatt rögzült az az információ, amely megszabja, hogy milyen sejttípusokra lesz jellemző az egyedfejlődés alatti kromoszómaszám-sokszorozódás.

A spontán abortumok 10%-ában fordul elő triploidia. Érdekes módon ezek 90%-a apai eredetű, vagy diploid spermium általi megtermékenyítésből, vagy pedig kettős megtermékenyítésből származnak. Csak kisebb hányad ered diploid petesejt fertilizációjából.

3.2.2. Aneuploid kromoszómaaberrációk

Aneuploidia esetén csak bizonyos kromoszómák többlete, illetve hiánya fordul elő. Ha a normális két homológ helyett csak egy van, **monoszómiáról**, ha három, akkor **triszómiáról** beszélünk. Ha egy meghatározott kromoszómából egyetlen egy sincs az adott sejtben/szervezetben, **nulliszómiáról** van szó. Ez utóbbi emberben és állatokban letális, növényekben nem. Általánosságban elmondható, hogy az emberi/állati szervezet a kromoszóma többletet jobban tolerálja, mint a kromoszóma hiányt. Több testi és főleg nemi kromoszóma aneuploid mutáció – triszómia – fordul elő élveszületettekben, ugyanakkor csak egy – az X-kromoszómát érintő – monoszómia (Turner-szindróma) fordul elő élveszületettekben. Az aneuploid rendellenességek **mitotikus** vagy **meiotikus non-diszjunkció (szét-nem-válás)** következtében jönnek létre, vagyis a testvérkromatidák vagy a kromoszómák nem válnak szét – a kinetochor, a centroméra vagy mindkettő hibájának köszönhetően – az osztódás anafázisában. **Ritkábban** (uniparentális diszómial) **egyes kromatidák/kromoszómák az anafázis során lemaradnak** a többitől – **anafázis késés = anaphase lag** – s nem jutnak el a megfelelő pólusra, s ezért az utódsejtbe sem.

Ennek köszönhetően az egyik utódsejtben kromoszómatöbblet, a másikban hiány alakul ki. Természetesen orvosi szempontból a meiotikus non-diszjunkciók fontosabbak, mivel ezekből hibás gaméták, s végül beteg utódok származnak.

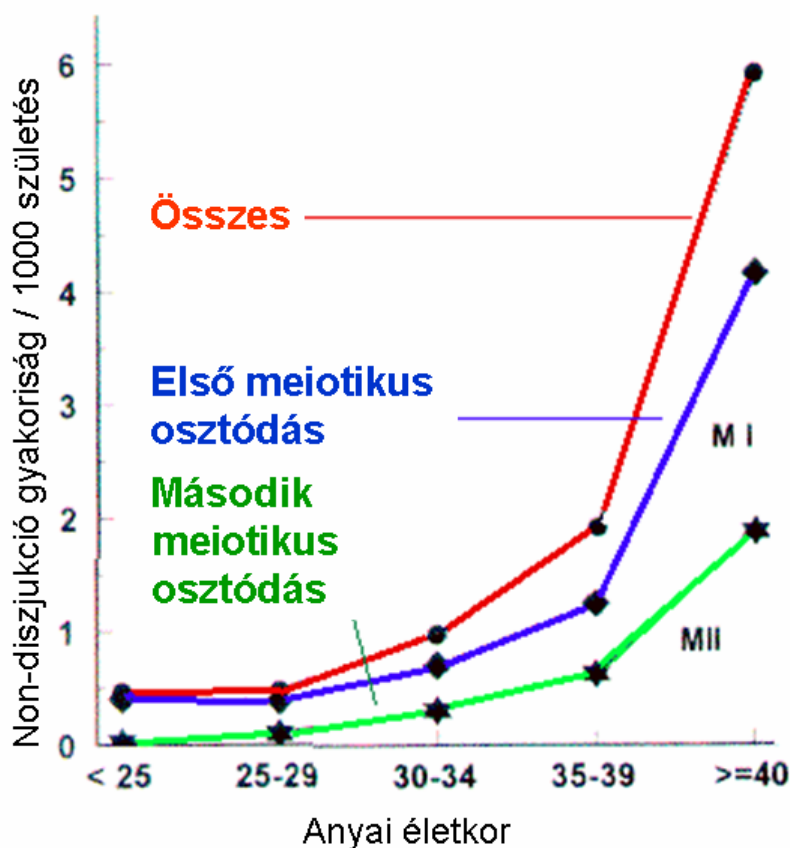
A **mitotikus non-diszjunkciók** esetén, döntő, hogy mikor és milyen sejtípus osztódásakor következtek be. A korai, tehát végül sok sejtet/szövetet érintő non-diszjunkció súlyosabb következményekkel jár (mozaicizmus).

A **meiotikus non-diszjunkciókat** a szerint csoportosítjuk, hogy az első vagy a második meiotikus osztódásban következtek-e be. Az első meiotikus non-diszjunkcióban a homológ kromoszómapárok némelyike nem válik szét, míg a második meiotikus non-diszjunkció során – hasonlóan a mitotikus non-diszjunkciókhoz, a testvérkromatidák szét nem válásáról van szó. Ennek megfelelően következményeikben is eltérnek.

Az **első meiotikus non-diszjunkció** nyomán mind a négy utódsejt, pl. a spermio-gezisben a négy spermium, **hibás** kromoszómakészletű – aneuploid – lesz. Kettőben kromoszómatöbblet ($n+1$), kettőben -hiány ($n-1$) alakul ki.

Ezzel szemben a **második meiotikus non-diszjunkció** következtében csak az utódsejtek fele érintett. Egy-egyben lesz hiány, illetve többlet.

A megtermékenyítés során az ilyen hibás ivarsejteknek normális gamétával való egyesülése nyomán alakul ki a triszómiás, illetve monoszómiás zigóta. A triszómiás esetekben a három homológ eredetében különbség van, attól függően, hogy melyik meiotikus osztódásban volt a mutáció. Az első meiotikus osztódásból származó triszómiákban mindhárom homológ eltérő eredetű (pl. egy az anyai nagyanyától, egy az anyai nagyapától, a harmadik pedig az apától öröklött). Ugyanakkor a második meiotikus non-diszjunkciós triszómiákban két homológ azonos (pl. anyai nagyanyai vagy nagyapai eredetű) lesz, míg a harmadik a másik szülőtől, az apától ered. Az emberi aneuploid kromoszómamutációk 70%-a az első, 30%-a a második meiotikus non-diszjunkcióból származik.



3.7. ábra. A non-diszjúkciók gyakoriságának változása az anyai életkor függvényében – <http://9e.devbio.com/article.php?id=189>; figure 2. nyomán; 2013. 07. 03.

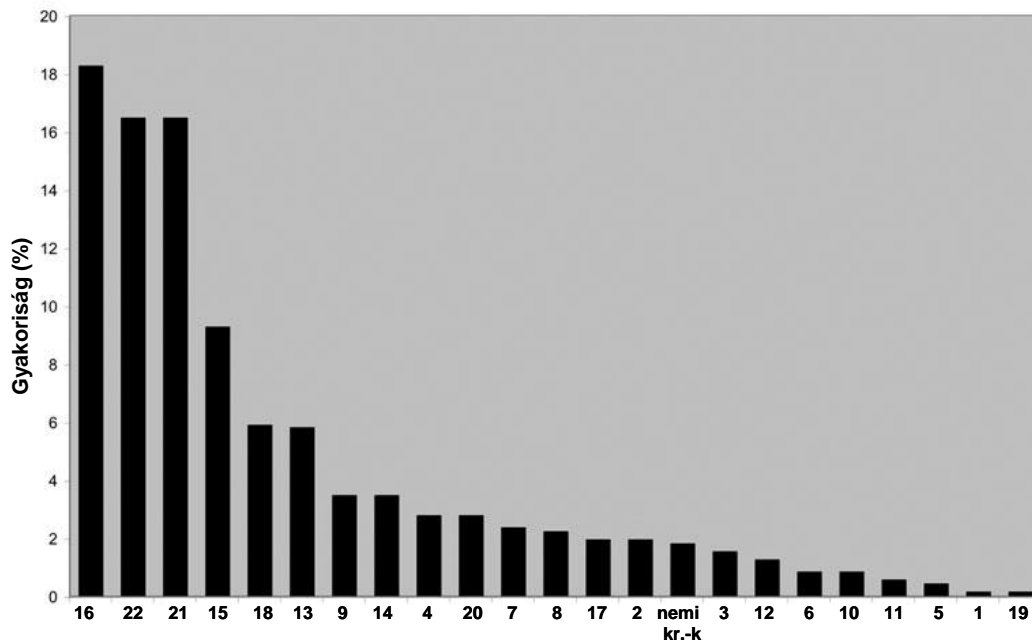
Tehát a legtöbb meiotikus non-diszjúkció az első meiotikus osztódás során alakul ki és anyai eredetű, s az anyai non-diszjúkciók – ezzel az aneuploid, pl. Down-kóros utódok – gyakorisága az anyai életkor előrehaladtával nő (3.7. ábra). Ennek oka a női gametogenezis sajátosságaiban rejlik: valószínűleg a szinaptonémás komplex öregedése az, ami a homológok együttes szegregálódásának esélyét csökkentve vezet az abnormális kromoszómaszámú ivarsejt létrejöttéhez.

Éppen ezért bizonyos anyai életkor felett (35–40) a prenatális vizsgálatok ajánlottak, illetve kötelezőek, annak eldöntésére, hogy a magzat számbeli kromoszómaaberrációt hordoz-e vagy sem.

3.2.3. A leggyakoribb számbeli kromoszóma-rendellenességek

Bár a legnagyobb emberi kromoszóma, az 1-es kivételével, az összes kromoszóma triszómiáját megtalálták spontán abortumokban, élveszületettek között mindössze három autoszómális és néhány szexkromoszómát érintő triszómia fordul elő (3.8. ábra). Ez két dologra is utal: egyrészt a triszómiák sorsa igen erősen függ az érintett kromoszóma génjeinek számától, valamint milyenségétől, funkciójától; másrészt igen erős méhen belüli szelekció működik, tehát a legsérültebb magzatok már a méhen belül elhalnak. A fentieket támasztja alá az is, hogy a spontán abortumokban leggyakoribb 16-os triszómia, mely egy relatíve kicsi kromoszómát érint, élveszületettekben soha nem fordul elő!

A monoszómiák, az X-kromoszóma monoszómiája kivételével, az élettel összeegyeztethetetlenek.



3.8. ábra. Numerikus kromoszómaaberrációk –

https://www.landesbioscience.com/curie/images/chapters/Levy_1.jpg: 2013. 07. 04.

3.2.3.1. 21-es triszómia

A 21-es triszómia **Down-kórt** eredményez. Bár Down-kór nemcsak a 21-es kromoszóma non-diszjunkciójával keletkezhet – kisebb %-ban előfordul centrikus fúziós vagy transzlokációs eredetű is – ez a leggyakoribb típus. Annak ellenére, hogy a 21-es triszómiás magzatok egy jelentős hányada in utero elpusztul, az átlagos populációs Down-kór-gyakoriság 1:650, de ez az érték drámaian változik az anyai életkorral; 45 éves korban ez már nagyobb, mint 1:100 is lehet!

Bár ma az élveszületett 21-es triszómiások életkilátásai megközelítik az egészségesekét, azonban a leukémia és néhány más betegség gyakorisága magasabb körökben, mint az átlagpopulációban. Az elmúlt évtizedekben jelentősen változott a Down-kór társadalmi megítélése, míg korábban inkább a kiközösítés volt jellemző, s képezhetetlennek tartották őket, addig ma már egyre nagyobb erőfeszítéseket tesznek társadalmi beilleszkedésük megkönnyítése érdekében (pl. speciális óvodák, sok országban az egészséges gyermekekkel közös iskolai osztályok, sportrendezvények stb.).

3.2.3.2. 13-as triszómia

A 13-as triszómia a **Patau-szindróma**. Hasonlóan a Down-kórhoz, ez is leggyakrabban anyai non-diszjunkcióból származik. **65%** az első meiotikus osztódásban bekövetkezett non-diszjunkció eredménye. Születési gyakorisága 1:12 500 – 1:21 700. Az ilyen újszülöttek < 5%-a éli túl az első életévét.

3.2.3.3. 18-as triszómia

A 18-as triszómia az **Edwards-szindróma**. Elsősorban anyai non-diszjunkcióra vezethető vissza. Az esetek **95%-a!** az első meiotikus osztódásban bekövetkező kromoszóma szét-nem-válás következménye. Az élveszületettek közötti gyakoriság 1:6000 – 1:10 000, a fogamzáskori gyakoriság ennél jóval nagyobb lehet, mivel a magzatok kb. 95%-a méhen belül elhal. Az Edwards-kóros újszülöttek 30%-a egy hónapon, >95%-a egy éven belül meghal.

3.2.4. Nemi kromoszómák számbeli kromoszóma-rendellenességei

3.2.4.1. Turner-szindróma

A Turner-szindrómára a **45,X0 kariotípus** jellemző. Ez az **egyetlen életképes monoszómia**. Ennek magyarázata abban rejlik, hogy míg az autoszómák mindkét homológjának aktivitása szükséges a normális fenotípus kialakításához – tehát monoszómiájuk letális –, addig nőkben csak az egyik X-kromoszóma aktív (lásd az X-inaktivációs dózis kompenzáció), vagyis egy **funkcionális monoszómia** és Barr-test-negativitás áll fenn. Azonban a normális női nemi jellegek kialakításához mindkét X-kromoszómára is szükség van, mint erre a Turner-szindróma tünetei utalnak.

Bár gyakorisága újszülött lánycsecsemők között 1:5000, fogamzáskor a gyakoriság ennél jóval nagyobb, de 99% spontán abortál. Ez jó összhangban van a monoszómiák életképességéről vallott nézetekkel. Eredete 80%-ban apai meiotikus non-diszjunkcióra visszavezethető, vagyis az ilyen betegeknek csak egy, anyai X-kromoszómájuk van.

Míg a szexuális fejlődés zavara érthető, addig a szindrómára jellemző alacsony testmagasság magyarázata ma sem teljes. Feltételezik, hogy a riboszóma kis alegység egyik fehérjét kódoló gén (*RPS4X*) is szerepet játszhat ebben. Ugyanis ennek a génnek van Y-kromoszómális megfelelője (*RPS4Y*) is, vagyis normális nőkben és férfiakban egyaránt kétszeres dózisban termelődik ez a riboszómális fehérje. Turner-szindrómásokban tehát ebből az elégségesnél kevesebb van, s ha riboszómából kevesebb lesz, ez messzemenően befolyásolhatja az egyéb fehérjék termelődését is, és így közvetve a testmagasság kialakulását is.

Bár a Turner-szindrómát leggyakrabban normális intelligencia jellemzi, a verbális képességek, és a társadalmi beilleszkedés terén különbség van az apai, illetve az anyai X-kromoszómát örökölt betegek között. Az anyai X-et hordozók a felmérések szerint gyengébb képességűek, mint az apai X-et örökölt páciensek. A jelenség részben a kétféle X-kromoszóma eltérő metiláltságával, a genomális imprintinggel magyarázható.

3.2.4.2. Klinefelter-szindróma

A Klinefelter-kór jellemzője a **férfi fenotípus 47,XXY kariotípussal**. Gyakorisága 1:1000. Közel azonos valószínűséggel származik anyai (56%) és apai (44%) non-diszjunkcióból. Az anyai non-diszjunkciók 36%-a az első meiotikus osztódásban következik be. Mivel 2 X-kromoszómájuk is van, így Barr-test-pozitívak. Ugyancsak a 2 X-kromoszóma jelenlétének, pontosabban bizonyos X-kromoszómális gén-termékek nagyobb dózisának tulajdonítható sterilitásuk is.

3.2.4.3. Triplo X-szindróma

Nőies fenotípus és 47,XXX kariotípus jellemzi. 89%-ban anyai, 8%-ban apai eredetűek, a fennmaradó 3% a megtermékenyítés utáni mitotikus non-diszjunkció eredménye. Újszülöttkori gyakorisága 1:1000. Jellemző a dupla Barr-test.

3.2.4.4. Dupla Y-szindróma, „szuper férfi”, Jacobs-szindróma

Normális, az átlagosnál kissé magasabb férfiak, 47,XYY kariotípussal. Születési gyakoriság 1:1000. Kizárólag apai második meiotikus non-diszjunkcióból származnak. Szemben az összes eddig említett meiotikus non-diszjunkcióval, **kialakulását nem befolyásolja az életkor**, hiszen az apai gametogenezis a pubertástól folyamatos, nincsenek előregedett hímvarsejtek.

Jellemzője még a fokozottabb agresszivitás, a rosszul tűrt frusztráció, talán emiatt is találtak nagyobb számban ilyen kromoszóma-rendellenességet börtönökben fogva tartottak között. Az agresszivitás és az esetleges bűnözői hajlam kérdése azonban akkor lenne csak 100%-ban eldönthető, ha a teljes férfinépeség kariotípusáról és agresszi-

vitásáról lenne összehasonlító vizsgálati adat. Ma már számos más, az agresszivitással kapcsolatba hozható gént, pontosabban génmutációt ismerünk, így az Y-kromoszóma szerepe megkérdőjeleződött.

A meiotikus osztódás jellemzőinek ismeretében feltehetnénk, hogy a két normális fertilitással járó aneuploidia, a 47,XXX és a 47,XYY esetében az utódok között nagyobb gyakorisággal fordul elő hasonló rendellenesség. Például a dupla Y-szindrómában az alábbi kariotípusú utódok várhatók: 2 XXY, 2 XY, 1 XX és 1 XYY. Ezzel szemben csak normális utódok születéséről számoltak be eddig a közlemények, melynek pontos magyarázata még várat magára.

3.3. Uniparentális diszómia (UPD)

Ezt a molekuláris biológiai módszerekkel igen, citogenetikai módszerekkel nem vagy alig azonosítható rendellenességet az elmúlt évtizedben ismerték fel. Az UPD azt jelenti, hogy az érintett személynek a kromoszómaszáma normális, ugyanakkor egy adott kromoszómájának mindkét homológja – a normálistól eltérően – ugyanattól a szülőtől, vagy csak az apától vagy csak az anyától, származik (3.8. ábra). Ennek kialakulásához két egymást követő, önmagában is numerikus aberrációhoz vezető esemény áll a háttérben: **egy meiotikus non-diszjunkció és egy**, a korai barázdálódási osztódások során bekövetkező, **anafáziskésés** (anaphase lag). Tehát valójában először egy triszómiás zigóta jön létre, s csak ezt követően vesz el a 3. homológ. Attól függően, hogy első, vagy második meiotikus non-diszjunkció zajlott-e le, beszélhetünk **uniparentális heterodiszómiáról** vagy **uniparentális izodiszómiáról**. Az előbbinél egy szülőből két eltérő homológot (egy-egy nagyanyait, illetve nagyapait) örökölt az utód, vagyis a non-diszjunkció az első meiózisban következett be. Az utóbbiban az egyik szülő két azonos homológot (vagy csak nagyanyait vagy csak nagyapait) örökített át, ekkor a második meiotikus osztódásban volt non-diszjunkció.

Az UPD esetén a homológok eredetétől függően, a genomiális imprinting miatt, eltérő tünetek észlelhetők. A **Prader-Willi- és Angelman-szindrómák** egy részében nem deléción, hanem az UPD áll az eltérő tünetek háttérben.

3.4. Mixoploid mutációk

A mixoploid avagy kevert ploiditással járó mutációk esetében általában két (néha több), eltérő kromoszómaszámú sejtvonal található egy szervezeten belül. Két formája létezik: a **mozaicizmus** és a **kimérizmus**.

3.4.1. Mozaicizmus

A genetikában **mozaiknak nevezük az olyan élőlényt, melynek szervezetében két eltérő kromoszómaszámú, de azonos eredetű sejtvonal** található. Ezek vagy **aneuploid** vagy **poliploid mozaikok**.

Az előbbiben a barázdálódás során lezajlott mitotikus non-diszjunkció eredményeként, vagy anafáziskésés miatt két olyan, eltérő kromoszómaszámú sejtvonal alakul ki, ahol az **egyik normális, a másik aneuploid, általában triszómiás**. Például kétsejtes embrióút feltételezve, ha az egyik sejt normálisan osztódik, a másik pedig nem, akkor végül 2 normális, 1 triszómiás és 1 monoszómiás sejt lesz. Mivel a monoszómiás sejtek nem életképesek, végül 2:1 lesz a normális és a triszómiás sejtek aránya.

A **poliploid mozaikosság** esetében egy normális és egy poliploid, általában triploid/tetraploid sejt vonal van jelen. Ekkor azonban a mitotikus orsó hibája vezet a rendellenesség létrejöttéhez. Ismét csak kétsejtes embriót feltételezve: ha az egyik normálisan osztódik, a másik nem, akkor végeredményben 3 sejt lesz 4 helyett, s ebből 2 normális, egy pedig tetraploid.

Attól függően, hogy mikor, a barázdálódás során, vagy az organogenezisben vagy még később, következik be a rendellenesség, lesznek a tünetek súlyosabbak vagy enyhébbek. Azaz a normális és hibás sejtek aránya a döntő. A nemi kromoszómákat érintő mozaikosság relatíve gyakori.

A **gonadális mozaicizmus** esetén csak a csíravonal sejtjei rendellenes kromoszómaszámúak, ezért a numerikus aberrációt hordozó utódok kockázata igen nagy. Sajnos az ilyen rendellenességek felderítésére rutinszerűen jelenleg sincs mód, csak a már megszületett beteg utód/ok alapján következtethetünk erre.

Tágabb értelemben **mozaikosságnak tekinthetők a szomatikus génmutációk** is, amikor egy adott gén eltérő mutánsai találhatóak az eltérő szövetekben vagy ugyanannak a szervnek a sejtjeiben (pl. eltérő színű szemek).

3.4.2. Kimérizmus

A görög mitológia oroszlánfejű, madárkarmú, kígyófarkú szörnye után kimérának nevezük azt az élőlényt, amely két eltérő eredetű – más-más zigótából származó – sejt vonalat tartalmaz. A kiméra kétpetéjű ikrek összeolvadásából, a petesejt és a sarki sejt (polocita) kettős megtermékenyítéséből vagy leggyakrabban kétpetéjű ikrek közötti méhen belül, transzplacentálisan zajló hemopoetikus őssejt-kicserélődésből (vércsoport-kimérizmus) származik.

Újabbán kimérának nevezik azokat a transzgenikus állatokat/növényeket is, melyek vagy különböző eredetű sejteket tartalmaznak, pl. néhány sejtes embriók fúziójából erednek, vagy idegen gének bevitelével, pl. megtermékenyített petesejtbe való mikroinjektálásával hozták őket létre.

Az utóbbi években több közlemény foglalkozott a **mikrokimérizmus** jelenségével. Már kb. 20 éve ismert, hogy az anyai szervezetben, vérkeringésben fiúmagzattal való terhesség után – akár a szülést követően, akár terhességmegszakítás után – Y-kromoszómát hordozó, azaz Y-test pozitív sejtek is kimutathatók. Mostanra azonban kiderült, hogy ezek az anyai szervezettől idegen sejtek sok évvel (évtizeddel!) később is kimutathatók, tehát nemcsak túléltek, hanem valószínűleg szaporodtak is. Ez azt jelenti, hogy a magzattól őssejtek kerültek át az anya szervezetébe, ahol a véráram útján eljutva bizonyos szövetekbe, megtapadhattak, és sejtklónokat formáltak. Ezért az a hipotézis is felmerült, hogy némely autoimmunnak vélt betegség valójában nem is autoimmun, hanem az anya, azaz a női szervezet számára 50%-ban idegen (immunológiailag összeférhetetlen) sejtek elleni immunreakcióról van szó. Ez egyben arra is magyarázattal szolgálna, hogy miért gyakoribbak az autoimmun betegségek nőkben.

Ugyanakkor az ellenkező irányú (anyából magzatba) transzplacentális sejt vándorlás sem kizárt, s szerepe lehet az utód alloantigének elleni toleranciájában, bár ennek mechanizmusa és következményei kevésbé ismertek.

Hasznos webhelyek:

www.nlm.nih.gov/medlineplus/geneticsbirthdefects.html

www.mayoclinic.com/health-information

www.rarechromo.org/html/ChromosomesAndDisorders.asp#ANAL

www.livingwithtrisomy13.org
www.trisomy18support.org
www.t21online.com
www.williams.org
www.turnersyndrome.org
www.klinefeltersyndrome.org
www.pwsausa.org

3.5. A fejezethez tartozó kérdések

1. Mi a magyarázata az első meiotikus non-diszjunkciók nagyobb gyakoriságának?
2. Mi az aneuploidia és a poliploidia oka?
3. Melyek a kromoszómák legfontosabb régiói?
4. Mivel magyarázható a monoszómiák kis előfordulási gyakorisága?
5. Mi a mikrokimérizmus, és mi a biológiai jelentősége?
6. Milyen kórképekben ismert az UPD kóroki szerepe?
7. Milyen következménye van az eltérő pozíciójú kromoszomális töréspontoknak?
8. Milyen technikák használhatók a kromoszómaaberrációk kimutatására?
9. Mi a kimérizmus és a mozaicizmus?
10. Mi a centrikus fúziók lehetséges következményei?

4. Epigenetika

Az elmúlt néhány évben a genetika egyik legdinamikusabban fejlődő területévé vált az epigenetika. Ebben a tárgykörben – a PubMed adatbázisa szerint – csak az elmúlt évben 10 000-nél is több tudományos közlemény jelent meg.

Maga az epigenetika kifejezés Conrad Waddington nevéhez kapcsolható, aki az 50-es évek elején az egyedfejlődés folyamatainak tanulmányozása során egy ún. **epigenetic landscape**-ről (epigenetikai tájkép) beszélt, amikor megpróbálta megmagyarázni az egyetlen sejtből, a zigótából kialakuló sejtek rendkívüli sokféleségét. Azaz, bár genetikailag ugyanolyanok, mégis morfológiailag, funkcionálisan eltérőek annak köszönhetően, hogy a táj milyen pontjára (hegyére, völgyébe vagy lejtőjére) jutottak, vagyis hogy hogyan hatott a génszabályozás az egyedfejlődésre. **Ma epigenetikai jelenségeknek azokat a mitotikusan és/vagy meiotikusan is átörökíthető folyamatokat nevezzük, amelyek anélkül változtatják meg az egyes gének működését, azaz általában expressziójuk mértékét, hogy magát a DNS-szekvenciát érintenék, azaz nem mutációnak köszönhető a génműködés változásai.**

Az ilyen jelenségek és a folyamatokban részt vevő, ismertté vált enzimek, és szabályozófehérjék köre egyre bővül, s ma már az élet szinte minden jelenségével kapcsolatban beszámoltak epigenetikai változásokról. Az epigenetikai folyamatok megismerésével párhuzamosan sok korábban megmagyarázhatatlan megfigyelés, jelenség vált értelmezhetővé.

4.1. Epigenetikus változások – molekuláris módosulások

Az epigenetika eszköztárában a kromatint felépítő molekulák – DNS és hisztonok – módosulásainak alapvető szerepe van. A módosult, tehát epigenetikus jelet kapott DNS, és a hozzákapcsolódó, különbözőképpen módosult hisztonok, a módosulásoktól függően más és más, nem-hiszton fehérjéket is vonzanak, s ezzel alapvetően befolyásolják, **remodellezik a kromatin állapotát.** A kromatinnak két fő funkcionális állapota van: a heterokromatin, amely egy zárt, gátolt, nem átíródó állapotot jelent és az eukromatin, amely egy laza, nyitottabb, a transzkripcióban érintett komponensek számára hozzáférhető szerkezet. Az epigenetikus módosulások egy további, finomabb szabályozás lehetőségét teremtik meg.

4.1.1. DNS-metiláció

A DNS epigenetikus módosulása a citozin metilációját jelenti, amikor is 5-metil-citozin (5MeC) jön létre. Ebben az esetben a metilálódó citozinok majdnem kizárólag az ún. **CpG-dinukleotidok**ban találhatóak. A CpG-dinukleotidok a DNS valamelyik szálán kovalensen összekapcsolt citozin- és guaninbázisokból állnak. A metilált citozin ugyanúgy

guaninnal párosodik, mint a metilálatlan, tehát a DNS által kódolt információ változatlan marad. Ugyanakkor az 5MeC metilcsoportja a DNS nagy árka felé néz, ezért hozzáférhető a különböző DNS-kötő fehérjék számára. CpG-dinukleotidokat elsősorban a gének promoter régiójában találhatunk, de géntől függően a gén „belsejében”, az exonokban, illetve az intronokban is megtalálhatóak lehetnek. Nem minden CpG metilált, az adott sejttől, illetve annak metabolikus állapotától is függ, hogy ezek a CpG-dinukleotidok mennyire metiláltak, vagyis hogy milyen a **metilációs mintázat**. **A promoter CpG-inek metiláltsága egy alapvető génexpressziós szabályozást biztosít: itt a metiláció általában (de vannak kivételek) a génexpresszió gátlásához vezet.** Mivel az epigenetikus jelek sejtosztódásról sejtosztódásra továbbadnak, de generációról generációra már általában nem, ez azt jelenti, hogy a DNS-metilációt végző enzimrendszer ennek megfelelően specializálódott. Két fő metilációs enzimet ismerünk: a **fenntartó DNS-metiltranszferázt (DNMT1)** és a **de novo DNS-metiltranszferázt (DNMT3)**. A **DNMT1** a DNS-replikáció során, a régi szálnak megfelelően, a komplementer új DNS-szál CpG-iben megtalálható citozinokra teszi fel a metilcsoportot, ezáltal fenntartja az eredeti metilációs mintázatot. A **DNMT3** a korábban még nem metilált citozinokat képes metilálni. Ennek pedig a gametogenezis során van jelentősége, amikor az eredeti örökölt szülői mintázat letörlődik, majd egy új, az élőlény nemének megfelelő metilációs mintázat épül fel. A metilációs mintázat eltávolításában a **DNS-demetilázok** vesznek részt.

4.1.2. CpG mint mutációs forrópont

A citozin spontán dezaminációval uracillá alakul. Ez a labilitás a metilált citozinra is érvényes, de ebben az esetben nem uracil, hanem timin lesz az eredmény. Vagyis **CpG-dinukleotidból TpG-dinukleotid lesz, s ez már a DNS-szekvencia megváltozását, azaz mutációját jelenti.** Mutációs adatbázisok elemzése kimutatta, hogy számos betegség esetében a CpG-dinukleotidok a mutációs forrópontok.

A citozin kémiai labilitására, azaz mutabilitására utal az a tény is, hogy bár a metiláció általánosan jellemző a DNS-re, a metilált citozinok gyakorisága sokkal kisebb a várt értéknél. Emberben a citozinok mindössze 3%-a metilált. Úgy tűnik, hogy egy hosszabb evolúciós időintervallumot tekintve a CpG-gyakoriság lassan, de fokozatosan csökken az állandó CpG→TpG átalakulásnak köszönhetően. Annak ellenére, hogy a gerincesek genomjának CpG gyakorisága kicsi, vannak olyan rövid, nem-metilált DNS-szakaszok, amelyeknek CpG-gyakorisága megfelel a várt értéknek. Ezek az ún. **CpG-szigetek**, amelyek CG gazdagok és gyakran a gének 5' végén található több száz nukleotidnyi szakaszokon fordulnak elő. Az emberi genomban szétszórva, kb. 27–30 ezer CpG-sziget található. Ezekre a területekre a CpG→TpG átalakulás nem jellemző. A CpG-állandóság vagy annak köszönhető, hogy itt nem jöhet létre metiláció, vagy pedig annak, hogy ezek a szigetek funkcionálisan olyan fontosak, hogy a természetes szelekció megakadályozta elvesztésüket. **Az emberi gének kb. 50%-ának promoterében CpG-sziget van, melyek általában metilálatlanok. Abnormális metilációjuk kóros, s a génműködés szabályozásának megváltoztatásával, pl. daganatok kialakulásához vezethetnek** (lásd a [7. Biológiai folyamatok genetikája](#) fejezetben).

4.1.3. Hisztonmódosulások

A DNS-metiláció mellett a hisztonmódosulások szerepe is alapvető az epigenetikus folyamatokban. A hisztonok evolúciósan erősen konzervatív, DNS-hez kapcsolódni képes, bázikus – lizinben és argininben gazdag – fehérjék. A H2A, H2B, H3 és H4 hiszto-

nok 2-2 kópiában a nukleoszomális oktamer felépítésében vesznek részt, míg a H1 hisztonok a nukleoszómákat összekötő, ún. linker DNS-hez kötődnek. A nukleoszomális hisztonok N-terminális farka kinyúlik a nukleoszómából, s ez az a terület, ahol a hisztonmódosulások bekövetkeznek. A hisztonmódosulások fő célpontjai elsősorban a H3 és H4 hisztonfarkak megfelelő pozíciójú **lizin** aminosavai, amelyek metilálódhatnak, acetilálódhatnak, foszforilálódhatnak és ubiquitinilálódhatnak stb. Ezek a módosítások egy **hisztonmintázatot** alkotnak, amely a sejt típusától, annak fejlődési állapotától és fiziológias működésétől, a kérdéses géntől, illetve génszakasztól függenek. **Ez a mintázat az ún. hisztonkód, alapvetően kihat az érintett terület expressziójára.** Mind a metilált DNS, mind pedig a módosult hiszton számos, metilált DNS-t vagy hisztonot kötő fehérjét és nem-kódoló RNS-t vonz, s az így kialakult sokelemű komplex tagjai egymással kölcsönhatásban határozzák meg az adott fejlődési stádiumra, sejtre, génre jellemző epigenetikus mintázatot. E komplex bármelyik elemének hibája okozhat hibás epigenetikus jelet és így hibás működést, kórképet. Erre kitűnő példa a **Rett-szindróma, ahol egy MECP2 (metilált citozint kötő fehérjét meghatározó) gén mutációja áll a háttérben.**

4.2. Nem-kódoló RNS-ek

A humán genom program sikerét követően nyilvánvaló vált, hogy az emberi genom csak <2% fehérjekódoló, így joggal merült fel a kérdés: mi a funkciója a többinek?

Ma már a genom egy jelentős részéről tudjuk, hogy szabályozó szerepű, kicsi vagy hosszabb láncú RNS-eket határoz meg (ld. még [8. fejezet](#)). Ezek az RNS-ek RNS-RNS, RNS-DNS, RNS-fehérje kölcsönhatások révén módosíthatják más gének expresszióját anélkül, hogy az adott gén szekvenciáját módosítanák. **Az ilyen RNS-ek hathatnak a transzkripcióra, gátolva azt, ilyen pl. a XIST RNS (lásd később), de hathatnak poszt-transzkripcionálisan is (pl. mikroRNS-ek), amikor a mRNS translációját gátolják.** A nem-kódoló RNS származhat ugyanarról a kromoszómáról, ahol a szabályozott gén is van (**cisz-hatás**), és származhat egy másik kromoszómáról is (**transz-hatás**).

4.3. Epigenetikus jelenségek

A legfontosabb epigenetikai események: **a genomikus imprinting, az X-kromoszóma inaktivációja.** Ezeken túlmenően a **karcinogenezis, az öregedés, bizonyos pszichiátriai kórképek, sőt magatartászavarok is kapcsolatba hozhatók epigenetikus folyamatokkal.** Egyes megfigyelések arra utalnak, hogy ezek a DNS-szekvenciát nem, de annak működését befolyásoló változások nemcsak szomatikusan, tehát mitózisról mitózisra adódhatnak tovább, hanem a meiózis révén, a gametogenezis során, az ivarsejtekre is áttevődnek, s így a megtermékenyítést követően az utódokra is jellemzőek lehetnek, tehát vannak az ún. **transzgenerációs epigenezisre** utaló jelek is.

4.3.1. X-kromoszóma-inaktiváció

Az emlősök diploid organizmusok, ennek következtében egy bizonyos tulajdonságért felelős autoszomális génlókusz mindkét allélja működik, vagyis a **bialléles génexpresszió** a jellemző. Ha az autoszómák valamelyike kromoszómamutáció következtében kiesik, tehát így egy-egy lókuszon csak egy allél marad, ez általában letális vagy súlyos tüneteket eredményez. Ezzel szemben a nemi kromoszómák csak nőkben alkotnak homológ párokat (XX), míg a férfiakban az Y-kromoszóma nem funkcionális homológja

az X-kromoszómának. Míg az Y-kromoszóma kevés, főként a hím nemi determinációért (*SRY*) és a gametogenezisért (pl. *AZF*) felelős gént tartalmaz, addig az X-kromoszóma nagyszámú testi tulajdonságot meghatározó génnel is bír. Amennyiben az egyetlen X-kromoszómán kódolt gének férfiakban elégségesek a normális egyedfejlődéshez, a normális élettani folyamatokhoz, úgy egy darab X-kromoszóma elég kell, hogy legyen a női szervezet számára is. Ez azt jelenti, hogy **evolúciósan szükségessé vált a két nem eltérő X-kromoszómális géndózisait kiegyenlíteni, azaz a dózisbeli eltéréseket kompenzálni.** Ezt a **dóziskompensációt** szokás **lyonizáció**nak is nevezni a jelenség leírója, Mary Lyon után. **Emlősökben, így az emberben is, ez a dóziskompensáció a női szervezetben az X-kromoszóma inaktivációja révén valósul meg.** Azonban hangsúlyozni kell, hogy más, ugyancsak heteromorf szexkromoszómával bíró élőlényekben a dóziskompensáció más mechanizmusokkal történik. Az emlős embrionális fejlődés kezdetén a blasztociszta stádiumban történik az X-kromoszóma inaktivációja. A dóziskompensáció első lépéseként egy ma még részleteiben nem teljesen ismert mechanizmussal, **kromoszómaszámlálás** történik. Ez azt jelenti, hogy a sejt információt szerez a benne található X-kromoszómák mennyiségéről. Amennyiben 2 vagy annál több X-kromoszóma van a sejtben, csak egy marad aktív, a másik (vagy a többi) inaktiválódik. Ez **az inaktiválódás véletlenszerű (random)**, vagyis akár az anyai, akár az apai eredetű X inaktiválódhat. Azonban, ha egyszer a kiválasztott X inaktiválódott, akkor ez az állapot az adott sejt valamennyi utódsejtjében élethossziglan fennmarad. A random X-inaktivációnak köszönhetően egy női szervezetben lesznek olyan sejtek, amelyekben az anyai, és lesznek olyanok, amelyekben az apai eredetű X-kromoszóma lesz inaktív. Vagyis emiatt a női szervezet ún. **funkcionális mozaicizmust** mutat. Az inaktív X-kromoszóma intakt, génjeinek zöme nem íródik át, kivéve a pseudoautoszómális részeket az X-kromoszóma mindkét karjának teloméra közeli területén (PAR1 és PAR2 régiók), illetve azt a **néhány gént**, amely **megmenekül az X-inaktivációtól**. Ezek az inaktív X-kromoszómán is aktívak maradnak. Annak kiderítése, hogy miért ezek a gének menekülnek meg és hogyan, intenzív kutatások tárgya ma is. Bár az inaktiváció a testi sejtekben utódsejtről utódsejtre továbbadódik, ez nem jelenti azt, hogy az ivarsejtekben is ez lenne a helyzet. A petesejtképzés során az inaktiválódott X-kromoszóma újra aktiválódik, és függetlenül attól, hogy végül melyik X-kromoszóma kerül az érett ivarsejtbe, az aktív lesz. Az X-inaktivációban az ún. **XIC = X inactivation center** játszik döntő szerepet. Itt, a Xq13 régióban található a **XIST gén**, amely csak az inaktív X-kromoszómáról íródik át. A termék egy **nagy, nem-kódoló RNS**, ami egy még nem teljesen ismert mechanizmussal, mintegy bevonja a leendő inaktív X-et. A **XIST** expresszióját számos más epigenetikus esemény követi: DNS-metiláció, hisztonmetiláció, megváltozik a hisztonösszetétel, mert megjelenik a macroH2A hisztonvariáns, fokozódik a kromoszómakondenzáció, és végül az inaktív X-kromoszómára jellemző lesz a késői DNS-replikáció is, azaz az inaktív X-kromoszóma DNS-e az összes kromoszóma DNS-éhez képest később kezd replikálódni. **A fokozott kromoszómakondenzáció heterokromatinizáció-hoz vezet, végül az érintett terület transzkripcióhoz hozzáférhetősége gátlódik, tehát az adott kromoszóma inaktív lesz.**

4.3.2. Genomikus imprinting

A klasszikus genetikai kísérletek alapján úgy tűnt, hogy még heterozigótaság esetén sem számít, melyik allél melyik szülőtől származik. Mivel mindkét allél expresszál, így az eredet nem fontos. Azonban bizonyos állatkísérletek, illetve ritka emberi betegségek arra utaltak, hogy ez legalábbis nem minden génre igaz. Egérembrío-manipulációs kísér-

letek során azt tapasztalták, hogy ha egy egérpetesejtbe ugyanannak az egérnek egy másik petesejtjéből származó sejtmagot juttattak be, akkor az ily módon létrehozott diploid sejt, egy ***gynogenota*** ugyan elkezdte az embrionális fejlődést, de hamarosan elpusztult, ugyanis a fetális membránok nem alakultak ki. Amikor a kísérleteket megismételték oly módon, hogy egy enukleált petesejtbe két spermiumból származó sejtmagot juttattak, akkor, bár szintén nem volt normális az embrionális fejlődés, az előbbtől eltérő jelenséget tapasztaltak. Az ilyen ***androgenotában*** embrió nem, csak túlburjázó fetális membránok alakultak ki. Vagyis az egérkísérletek nyomán arra a következtetésre jutottak, hogy az anyai és az apai genom fél funkcionálisan nem egyenértékű. Erre utaltak olyan ritka emberi betegségek is, mint a ***komplett mola hydatidosa***. Ebben az esetben csak apai eredetű kromoszómákat találtak az üszöktérhességéből származó egyébként diploid mintában. Vagyis egy üres petesejtet valószínűleg vagy egy diploid, vagy két spermium termékenyített meg, amire az is utal, hogy további vizsgálatokkal minden lókusztúra homozigótának bizonyultak. Ennek fordítottját tapasztalták a ***teratocarcinómák*** elemzésekor, amikor a kóros szövetben csak anyai eredetű kromoszómákat találtak. Ezeknek a kezdeti megfigyeléseknek alapján úgy vélték, minden kromoszómánk hordoz valamilyen jelet, ami a szülői eredetre utal. Ez a jel valamikor a gametogenezis során rögzül, azaz valahogy bevéődik az örökítőanyagba. **A genom szülői eredetre utaló megjelölését genomikus imprintingnek nevezték el.**

Az imprinting mechanizmusának tisztázására további kísérletek történtek. Amikor az egérkísérleteket oly módon ismételték meg, hogy csak egy kromoszómapár vagy egy kromoszóma distalis vagy proximalis része volt tisztán apai vagy anyai eredetű, akkor kiderült, hogy nem a teljes genom, hanem csakbizonyos kromoszómaszakaszok, bizonyos gének hordoznak szülői eredetre utaló jelet. Ilyen jelenség az ***uniparentális diszómia (UPD)*** is (lásd a [3. Citogenetika](#) fejezetben), amikor ritka kromoszóma szegregációs anomáliák nyomán olyan, a kromoszómaszámot tekintve normális diploid szervezetek jönnek létre, ahol bizonyos kromoszómák/kromoszóma részek mindkét példány ugyanattól a szülőtől származik, s amik/akik az érintett kromoszómáktól függően súlyos tüneteket, kórképeket mutatnak. Mivel a DNS bázissorrendje szempontjából közömbös, melyik szülőtől származik, a jelölődés epigenetikus. **Ha egy apa egy olyan imprintált gént ad tovább gyermekének, amit ő az édesanyjától örökölt, akkor az adott gén az apában anyai imprintinget hordoz, de az ő gyerekébe már apai imprintinggel kerül át.** Ez azt jelenti, hogy az ***imprinting reverzibilis***. Vagyis az X-inaktivációhoz hasonlóan, a szomatikus sejtekben az imprintinget eredményező epigenetikus jel, illetve mintázat változatlan formában öröklődik tovább, de **a csírasejtekben az eredeti örökölt mintázat letörlődik**, és az egyed nemének megfelelő új, női vagy férfi epigenetikus mintázat, imprinting épül fel. Eddigi ismereteink szerint emberben mintegy 100 imprintált gént ismerünk, amelyek általában az egyedfejlődésben – különösen a beágyazódás körüli időszakban –, a növekedésben, illetve a viselkedésben játszanak szerepet. Ezek a gének nem teljesen szétszórtan helyezkednek el a genomban, hanem csoportokat, ún. ***differenciáltan imprintált régiókat (clustereket)*** alkotnak. Egérben a 7. kromoszóma, emberben a 11. és 15. kromoszóma különösen gazdag imprintált régiókban.

4.3.2.1. Imprintinggel összefüggő betegségek

Az imprintinggel kapcsolatos betegségek kutatása még mindig gyerekcipőben jár, hiszen sok, nagyon finoman szabályozott mechanizmus vezethet ezek kialakulásához. A legismertebb, imprintingre visszavezethető betegség a ***Prader-Willi-*** és az ***Angelman-szindróma***, ahol a 15q11-q13 régió érintett. Míg a Prader-Willi vagy a fenti régió apai deléciójának vagy anyai UPD-jének köszönhető, addig az Angelman-szindróma oka lehet az anyai deléció, az apai UPD, illetve az ebben a régióban elhelyezkedő ***UBE3A*** (ubiquitin

ligáz) mutációja is. Sőt, mindkét esetben előfordulhat a magáért az **imprintingért felelős centrum (IC)** mutációja is. A **Prader-Willi-szindrómát** obezitás, a kis kezek és lábak, a külső nemi szervek fejletlensége, enyhe értelmi fogyatékoság jellemzik. Az **Angelman-szindrómában** egészen eltérő tüneteket figyelhetünk meg. Ekkor fejlődési visszamaradottság, kényszeres mozgás, nevetés, gyenge beszédképesség vagy beszédképtelenség a jellemzők.

További ismert, ritka, imprintinggel kapcsolt betegségek:

- a. a Beckwith-Wiedemann-szindróma, ahol a 11p15.5 régióban két, differenciáltan imprintált régió (cluster) is megtalálható a *H19*, az *IGF2* és a *KCNQ10T* génekkel. Az előbbire kisgyermekkorú vesetumorral járó kórképek (Wilms-tumor, Beckwith-Wiedemann-szindróma) hívták fel a figyelmet. A tumor kialakulásakor a vese-szövetben a heterozigótaság elvesztése történik (LOH; lásd a mutációkat tárgyaló [2. fejezet](#)ben), de ekkor szinte mindig (több mint 90%-ban) az anyai allél vesz el.
- b. a Silver-Russell-szindróma (7p11.2 vagy 11p15.5);
- c. a pseudo-hipoparatiroidizmus (20q13.2)
- d. a tranziens neonatális diabetes mellitus (6q24).

4.3.2.2. Az imprinting célja

Számos elmélet született az imprinting evolúciós eredetének magyarázatául. Az egyik legismertebb az ún. **szülői érdekellentét teória**. Eszerint az apák akkor tudják génjeiket a legjobban elterjeszteni, ha sok utódjuk van. Ha a sok szülés következtében az anyai szervezet kimerül, vagy az anya meghal, az apa egy másik partnerrel további utódokat produkálhat, és még jobban elterjesztheti génjeit. Ezzel szemben az anyák érdeke erőforrásaik kímélése, vagyis azzal, hogy nem egyetlen utódba fektetik az összes erőforrást, további reprodukciós ciklusokat is túlélhetnek, és így végül is sikeresen adják tovább saját génjeiket. Azaz az apai gének serkentik – még az anya kárára is – a magzati növekedést, míg az anyaiak korlátozzák a magzat által hozzáférhető erőforrásokat. Ez az elképzelés jól illeszkedik a mola hydatidosa és az ovariális teratomák esetében megfigyeltekkel, illetve azzal a ténnyel, hogy az *IGF2* (inzulinszerű növekedési faktor 2 = insulin-like growth factor 2) és receptorának (*IGFR*) génje is imprintált. E két gén imprintingje speciális: az apai *IGF2* gén gyengén, míg az *IGFR* gén erősen metilált, az anyában ez pont fordítva van. Ennek jelentősége abban áll, hogy ily módon a két szülőből származó hatások kiegyenlítődnek: hiába van több növekedési faktor, ha kevés a receptor. Mivel a Prader-Willi- és az Angelman-szindróma nem erősíti meg a fenti teóriát, ezért valószínűleg még más, nem ismert oka is lehet az imprintingnek. Az egyik ilyen újabb teória a felegyenesedett testtartásnak és a terhesség alatti súlyponteltolódásnak tulajdonít szerepet. Eszerint az anyai imprinting korlátozza a magzati növekedést, és ezáltal a súlypont elmozdulását, így stabilabbá téve a felegyenesedett testtartást és a járást, ami életmentő lehetett a korai emberelődök számára.

4.4. Az epigenetikai hatások jelentősége

A DNS-metiláció és az azt követő a hisztonkódot és a kromatin szerkezetét érintő változások alapvetőek a génszabályozásban. Feltételezhetjük, hogy ezek a mechanizmusok döntőek a sejt és szöveti identitás megteremtésében és fenntartásában. Erre jó példával szolgált a daganatsejtek vizsgálata, ahol megfigyelték a tumorszuppresszor gének hipermetiláltságát, és az ennek köszönhető expresszió gátlását vagy az onkogének hipome-

tilaltságát és a következményes aktivitásnövekedést. Mindkét változás kiemelt szerepet játszhat az onkogenezisben. A karcinogenezis mellett az asszisztált reprodukciós eljárások is rávilágítottak az epigenetikai változások szerepére. Dolly, az első klónozott emlős megszületése óta összegyűlt adatok arra utalnak, hogy a klónozott emlősök sok esetben nem normálisak, pl. nagyobbak a normálisan fogantaknál, és körükben sokkal magasabb az újszülöttkori halálozás is. Mivel a sejtmagtranszferrel végzett klónozáshoz felhasznált, felnőtt szervezetből származó sejtmag örökítő anyaga korábban már egy sor epigenetikus változáson átesett, ahhoz, hogy az enukleált petesejtbe beültetve normálisan funkcionáljon, ezeket a változásokat meg kellene fordítani. Azonban ebben az **epigenetikai reprogramozásban** a petesejt citoplazmája is érintett, és úgy tűnik, hogy ezek között a mesterséges körülmények között ez nem működik tökéletesen: a reprogramozás általában nem teljes és nem tökéletes.

A epigenetikai reprogramozás fontosságára utal az emberi IVF-eljárások révén fogant utódokban megfigyelt nagyobb Beckwith–Wiedemann-szindróma gyakoriság is. Bár az 1:5000 gyakoriság nem nagy, mégis magasabb ez az érték a természetesen fogant utódokban megfigyelt gyakoriságnál. Valószínűleg az IVF-technikák mesterséges körülményei nem kedveznek az epigenetikai reprogramozásnak. Ugyanakkor az epigenetikai változások alapvető szerepet játszanak a környezethez való alkalmazkodásban.

A környezet epigenetikus jelentőségére további fontos bizonyítékot szolgáltatott az **ikervizsgálatok. Az egyetétjű ikrek epigenetikus (pl. metilációs mintázatuk és hisztonmódosulásaik szerinti) hasonlósága igen nagy, de ez az életkor előrehaladtával csökken, utalva az eltérő környezet, életmód és étrend által kiváltott egyre fokozódó epigenetikus eltérésekre.**

Egy ellentmondásos elmélet az epidemiológiai vizsgálatokon alapuló **transzgenerációs epigenézis**. Svéd vizsgálatok kapcsolatot találtak az apák, illetve az apai nagyszülők gyermekkori tápanyag-ellátottsága és a proband élettartama, illetve a diabétesznek vagy kardiovaszkuláris megbetegedéseknek köszönhető mortalitásuk között. (Újabb állatkísérletek is összefüggést mutattak ki a szülői zsírdús diéta és az utódok elhízása, valamint diabétesze között). Mások az apa gyermekkori dohányzásának kezdete, és az utódok 9 éves korában mért nagyobb testtömegindexe (BMI) között fennálló kapcsolatot írták le. Ezeket a megfigyeléseket nagyon nehéz jelenleg megmagyarázni, különösen anyai ágon, ahol a metabolikus szignálok placentán keresztüli átvitelével is számolni kell. Ugyanakkor az apai ágon történő – vagyis a spermium közvetítette – epigenetikai átvitel könnyebben értelmezhető.

A transzgenerációs epigenetikus folyamatok szempontjából különöse érdekes és elgondolkodtató az olyan környezeti hatások – mint az étrend, illetve a környezet-szennyező anyagok (pl. növényvédő szerek) szerepe és az ezek következtében létrejött módosulások utódokra történő átadása. Mivel a folátok kulcsfontosságú szerepet töltenek be a DNS-metilációhoz szükséges metildonorok képzésében, ezért érthető, hogy az étrend foláttartalma epigenetikus szempontból is fontos. Egy utóbb híressé vált egérkísérlettel sikerült ezt igazolni. A vad típusú egerek szőrzetének alapszíne az ún. **aguti** (egy sajátos barnásszürke szín), emellett létezik egy sárga bundaszínt okozó ***A^{vy}*** (***viable yellow***) mutáció. **Ez az allél metastabil, mivel csak nem metilált állapotban vezet sárga szőrzetszínhez, metilált állapotban változatlanul aguti színű bunda alakul ki.** Ráadásul heterozigóta állapotban ($A^{vy}A$) a nem-metilált mutáns allél a domináns, míg metilált formája a vad típushoz viszonyítva recesszív. Az A^{vy} nem-metilált allél a metilált mA^{vy} alléllal szemben is domináns, tehát a homozigóta A^{vy} állatban a szőrzet színe az allélok metiláltságának függvénye. A bizonyító erejű kísérletben homozigóta vad (AA) anyákat kereszteztek heterozigóta ($A^{vy}A$) apákkal. A vemhesség alatt az anyák egyik

csoportját metildonorban gazdag étrenden, a másikat normál étrenden tartották. Az első csoportban a heterozigóta utódok zöme vagy aguti színű lett, vagy kisebb és kevesebb sárga folt jelent meg rajtuk (utalva a nem-metilált mutáns allél korlátozott kifejeződésére). A normál étrend pont fordított hatással járt, több volt a teljesen sárga vagy nagy sárga foltos a heterozigóta utódok között. Ebben az esetben a hatás az F₂ generációban is megfigyelhető volt, de később már nem. Ennek a metastabil mutációnak további következményei is vannak: a sárga bundájú állatok általában kövérek és közöttük nagyobb gyakorisággal fordulnak elő tumorok is, vagyis ez is **alátámasztja az epigenézis és az onkogenezis kapcsolatát**.

Egy másik kísérletsorozatban vemhes anyákat **vinclozolinnal**, egy anti-androgén hatású növényvédő szerrel kezeltek. Ekkor még az F₄ generációban is észleltek metilációs eltéréseket (25 különböző DNS-szekvenciát vizsgálva). Ekkor mindkét nembeli utódokat érintett az anyai kezelés hatása, de ennek további következményei csak apai úton (patrilineárisan) adódtak tovább. Ez arra utalhat, hogy a transzgenerációs epigenetikus hatások nem- és szervspecifikusan is hathatnak, s ezek következményei megjelenhetnek később, felnőttkorban is. Így okozó lehetnek bizonyos késői megjelenésű felnőttkori betegségeknek.

A fenti és sok más hasonló kísérlet, valamint humán adatok alapján ma az epigenetikus hatások anyai átvitelének két módját ismerik el. **Az egyik a direkt transzgenerációs epigenézis, ahol (mint az apákban) a csíravonal sejtjeit éri az epigenetikus változások (epimutációk), míg a másik az egyedfejlődés (intrauterin, illetve az anyai utódgondozó viselkedés általi perinatális) epigenetikus reprogramozása.**

Bár az epigenetikai változások természete és transzgenerációs átvitelük még nem minden részletében ismert és megértett, azonban biztosan elmondható, hogy fontos szerepet játszanak a génműködés finom szabályozásában, a normális és kóros fejlődési folyamatokban.

Hasznos webhelyek:

www.geneimprint.com

<http://atlasgeneticsoncology.org/Deep/GenomImprintID20032.html>

<http://teach.genetics.utah.edu/content/epigenetics/>

<http://epigenie.com/>

4.5 A fejezethez tartozó kérdések

1. Mi a dóziskompenzáció célja?
2. Mi lehet az imprinting evolúciós magyarázata?
3. Mit nevezünk differenciáltan metilált cluster-nek?
4. Milyen molekuláris módosulások állnak az epigenetikus változások hátterében?
5. Miért lehetnek a CpG-dinukleotidok mutációs forrópontok?
6. Milyen szerepet játszanak a nem-kódoló RNS-ek az X-inaktivációban?
7. Milyen mechanizmusok okozhatják az Angelman-szindróma kialakulását?
8. Mi a hisztonkód?
9. Mik a CpG-szigetek és mi az epigenetikus jelentőségük?
10. Mit nevezünk kromatin remodellezésnek?

5. Mendeli öröklődés: autoszomális öröklődés

5.1. Bevezetés

A mendeli öröklődés a klasszikus genetika alapja, s bár mára jelentősen bővültek ismereteink e tárgykörben, mindmáig egyfajta viszonyítási pontként szolgál a humán betegségek / jellegek öröklődésének vizsgálatához.

A mendeli öröklődéshez tartozónak leegyszerűsítve azok az öröklődési típusok sorolhatók, amelyek megfelelnek két fontos kritériumnak. Egyfelől alkalmazhatóak rájuk [Mendel törvényei](#), másfelől a környezet nincs az öröklődésre hatással. Ily módon a klasszikus felosztás a következő: autoszomális domináns és recesszív, kodomináns, X-hez kötött domináns és recesszív, ill. Y-hoz kötött öröklődés.

A fenti két kritérium merev érvényessége és értelmezhetősége az elmúlt évtizedek során azonban igencsak megkérdőjeleződött. Számos olyan jelenség figyelhető meg monogénes betegségek megjelenésekor, amelyek nem értelmezhetőek a szigorú besorolás szerint: vagy a dominancia elve akadozik egy-egy generációban, vagy a betegség súlyossági foka eltérő, ill. a környezet befolyása sem teljesen mellékes ugyanazon gén mutációjának eltérő manifesztálódásakor. Mára már egyértelművé vált, hogy az egy gén – egy lókusztípus csak részben meghatározója a betegség klinikai tüneteinek, s számos másodlagos genetikai faktor kombinációja, valamint a környezet együttesen alakítja a kór manifesztálódását, lefolyását. E jelenségek közé tartozik többek között a penetrancia, az expresszivitás, az ún. oligogénes befolyás, ill. egyéb gén-gén kölcsönhatás, az epigenetikus tényezők közül nőkben az X-inaktiváció, de a számos egyéb feltárt és még felfedezésre váró epigenetikai hatás is.

Az emberi jellegek genetikáját nehezebb tanulmányozni, mivel nincs mód a visszakeresztesésre, a generációk közt eltelt idő (generációs idő) sokkal hosszabb, mint a klasszikus modellek esetében (pl. baktériumok, élesztőgomba, drosophila, egér, patkány) és végül a családok mérete is lényegesen kisebb, mint a modellállatoknál.

Máig 6000-nél több monogénes jelleget / betegséget ismerünk. Fontos hangsúlyozni, hogy mindezen monogénes betegségek hátterében nem pontosan ugyanannyi – tehát kb. 6000 – gén áll, hanem kevesebb. Ennek egyik oka az, hogy egyes gének mutációi a környezeti és egyéb genetikai tényezők (ld. lejjebb: modifikátor gének) hatására különböző betegségekhez vezethetnek, és hasonló tapasztalhatunk akkor is, ha ugyanabban a génben a mutációk a kódolt fehérje egy másik funkcionális doménjét érintik. Másrészt egyes betegségeknek mikrodélációk, kromoszómaduplikációk okozzák a tüneteket, mivel azonban a mendeli szabályok szerint öröklődnek, a humángenetikában a monogénes betegségek közé sorolják őket. Ráadásul becslések szerint a mendeli betegségek kb. 10%-át nem a gének kódoló régióiban előforduló mutációk okozzák. Ezek is mutatják, hogy az öröklődés meghatározása nem a génre, hanem a tulajdonságra épül. A mendeli öröklődés szerinti humán betegségek előfordulási gyakorisága a populációkban

jóval alacsonyabb a komplex poligénes (multifaktoriális) betegségekenél. (5.1. táblázat) Gyakorló orvosoknál is előfordulhat, hogy akár egész pályájuk során nem találkoznak monogénes kórképben szenvedő beteggel. Ezek tárgyalása mégis nélkülözhetetlen az orvos számára, hiszen az ember mint „genetikum”, ezek ismeretében „képezhető le”. Számos genetikai folyamat, gének közti kapcsolatok, sőt maga a teljes genetika viszonylag egyszerűbben tanulmányozható és vizsgálható monogénes rendszerekben. Ezek ismerete segíthet a poligénes, multifaktoriális betegségek kialakulásának, lefolyásának, gyógyíthatóságának megértésében is. A poligénes, komplex betegségeknek sokszor még a génjei sem ismertek, ill. számos gén játszik szerepet kialakulásukkor, ezáltal nem állítható fel az összefüggések (leegyszerűsített) íve sem: gén – mRNS – fehérje – kórkép. A monogénes betegségek esetében azonban ez az ív, ha kiegészítve is, de többnyire felvázolható.

Monogénes		
Huntington chorea	AD	1:10 000
Osteogenesis imperfecta	AD	1:10 000
Familiáris hiperkoleszterinémia	AD	1:500
Policisztás vese	AD	1: 800
Cisztás fibrózis	AR	1:3600
Fenilketonúria	AR	1:12 000
Albinizmus	AR	1:1000–10 000
Duchenne-Izomdisztrófia	XR	1: 4500 (fiúkban)
Mitokondriális		
Leber-féle optikus neuropátia		1:50 000
Kromoszómális		
Prader-Willi szindróma	Deléció	1:30 000
Down-szindróma	Triszómia	1:500 (ált. nem öröklődik)
Multifaktoriális (Komplex)		
Skizofrénia		1: 100
Diabetes mellitus II.*		7: 100
Diabetes mellitus I.		4: 1000
Mániás depresszió		1: 10
Emlőkarcinóma*		1: 10 (nőkben)
Allergia		2: 10
Asztma		1: 10
Magas vérnyomás*		3: 10
Obezitás*		1: 10

* Felnőtt-, illetve időskorban lényegesen gyakoribb

5.1. táblázat. Néhány betegség gyakorisága

Jelen fejezet nem hivatott valamennyi monogénes kórkép felsorolására, elemzésére. Ehhez egyéb tankönyvek és a később oktatásra kerülő „Klinikai genetika” tantárgy mellett rendelkezésre áll egy hatalmas online irodalmi forrás, az OMIM (online mendelian inheritance in man). <http://omim.org/>. Szeretnénk azonban szemléletet formálni: az általános törvényszerűségeken kívül néhány új aspektusra irányítani a figyelmet, ezáltal bemutatni az öröklődés komplexitását, és rávilágítani, hogy a természetben – jelen esetben az öröklődésben – nincsenek abszolútumok, a géneknek más génekkel és a környezettel való összjátéka végtelen variációs lehetőséget kínál az egyes emberekben. Ezek ismeretével is közelebb juthatunk a vágyott és talán a nem is oly távoli jövőben megvalósítható, egyénre szabott orvosláshoz. S egyúttal szinte észrevétlenül átlépünk a genetika világából a genomika világába.

5.2. Genetikai alapfogalmak, értelmezésük

Gén: a DNS azon szakasza, amely egy vagy több funkcionális terméket kódol. Ezek a funkcionális termékek lehetnek az mRNS közvetítésével fehérjék, de lehetnek más RNS-ek is, mint tRNS, rRNS, snRNS, miRNS, siRNS stb.

Allél: ugyanazon gén vagy lókuszt alternatív formája. Egy diploid sejtben az autoszomális homológ kromoszómákon, ugyanazon a lókuszon két allél van egyszerre jelen. Ezek egymáshoz való viszonya alapján nevezzük recesszívnek vagy dominánsnak az adott gén által kódolt jelleg öröklődését.

Multiplex allélizmus: sok jelleg, ill. betegség esetében az adott génnek egynél több (variáns) allélja van (pl. ABO vércsoport esetén három egészséges forma, cisztás fibrózis esetében több száz mutáció ismert).

Komplex heterozigóták: azok a személyek, akiknél a „betegséggen” mindkét allélje mutált, de más-más mutációt hordoznak az érintett allélok (pl. *CFTR* gén mutációi cisztás fibrózisban). Jóllehet a betegség manifesztálódik, tehát a „betegségallél” érvényre jutása szempontjából homozigótaságról beszélhetünk, az eltérő mutációk miatt az allélok DNS-szekvenciái nem egyformák, tehát ilyen értelemben heterozigóták.

Genetikai heterogenitás: sok olyan kondíció / betegség létezik, amely háttérben különböző genetikai okok húzódnak meg.

- **lókuszt heterogenitás:** több eltérő gén mutációja teljesen hasonló fenotípust hozhat létre (pl. retinitis pigmentosa, siketség).

A retinitis pigmentosa esetében eddig kb. 100 gén ismert, melyek mutációi külön-külön ugyanazt a kórképet eredményezik: a csap- és pálcikasejtek pusztulása miatt fellépő látásvesztést, ill. vaktságot.

A siketség esetében több mint 50 gén ismert, melyek mutációi külön-külön ugyanazt a kórképet okozzák.

- **allél heterogenitás:** ugyanannak a génnek különböző mutáns alléljai hasonló vagy eltérő kórképeket hozhatnak létre (pl. *FGFR3* mutációi. Ld. később).

Dominancia / recesszivitás: A dominancia / recesszivitás fenotípusra vonatkozik, nem génekre. Egy jelleg domináns, ha a heterozigótákban is látható, amennyiben nem látható, akkor recesszívnek mondjuk. Valójában ezek a kifejezések az ugyanazon gén két allélja közötti kapcsolatot mutatják. Amennyiben az egyik allél expressziója elnyomja a másik allél expresszióját (fenotípusos megjelenését), dominanciáról beszélünk.

Mitől domináns vagy recesszív egy jelleg?

A missense mutációk, ill. regulációs fehérjék mutációi gyakran funkciónyerést („gain of function”) okoznak, amikor is egy új, veszélyes fehérje kódolódhat. Ezek általában domináns fenotípust eredményeznek, mert megjelenik az új hatás, a fehérje akkor is működik, ha inaktívnak kellene maradnia. Ezzel szemben a nonsense vagy frameshift mutációk funkcióvesztést („loss of function”) okoznak, a fehérje nem képes ellátni az addigi feladatát. Attól függően, hogy a szervezet mennyire érzékeny az adott funkció elvesztésére, a fenotípus lehet domináns vagy recesszív. Amennyiben 50%-os génaktivitás is elégséges az egészséges életfunkciókhoz, az öröklődés általában recesszív. Amennyiben nem, haploinsufficienciáról beszélünk, az öröklődés domináns lesz.

Kodominancia: heterozigótákban fenotípusosan mindkét allél manifesztálódik. (Klasszikus példa az AB vércsoport.) Betegséget okozó mutáció esetén heterozigótákban a tünetek észlelhetőek, de gyengébbek, mint homozigótákban (pl. *LDLR* mutáció familiáris hiperkoleszterinémiában).

5.3. Fogalmak/jelenségek, amelyek befolyásolják/árnyalják a klasszikus monogénesnek vélt öröklődést

Az alábbi jelenségek legtöbbször, de nem mindegyike megváltoztathatja az „egy gén – egy jelleg” tiszta relációját, a családfa-analízisben azonban szinte valamennyi nehezítő körülményt jelent a genetikus vagy az orvos számára.

Expresszivitás: minőségi fogalom, egy adott jelleg „átütő ereje”. Az autoszomális domináns öröklődésű betegségeknel gyakori, hogy ugyanazon mutáció okozta betegségben szenvedőkben eltérő súlyosságú a kór manifesztálódása. Ilyenkor változó expresszivitásról beszélünk.

Penetrancia: egy jelleg / betegség penetranciája annak a százalékos valószínűségét mutatja, hogy egy mintában (populációban vagy családban) a domináns mutált allél hordozóiban megjelenik-e az adott jelleg / betegség. Autoszomális domináns öröklődésnél a heterozigótáknak elvben mind mutatniuk kellene a jelleget / betegséget, ez azonban nem minden esetben valósul meg. Előfordul, hogy az Aa egyedekben egyáltalán nem manifesztálódik a jelleg, de az utódokban – amennyiben a domináns „A” allélt öröklik – manifesztálódik. Egy családon belül kiszámítható a fenotípus penetranciája (megjelenésének százalékos aránya a hordozókban).

$P \% = 100 \times \frac{\text{érintett személyek száma}}{\text{obligát hordozók száma}}$

Obligát hordozónak az a személy tekinthető, akinek legalább egyik szülője érintett és az utódja is érintett lehet, ill. aki maga is beteg. Ha pl. 4 obligát hordozóból (heterozigótából) csak 3 személyben manifesztálódik a betegség egy családon belül, 75%-os a penetranciája a betegségnek, vagyis inkomplett penetranciával állunk szemben.

Az inkomplett penetrancia, csakúgy mint a változó expresszivitás, nem értelmezhető a mendeli törvények szerint. Ez a két jelenség árnyalja leginkább a klasszikus mendeli öröklődés szabályszerűségeit, törvényszerűségeit, jelentősen megnehezítve a genetikus vagy az orvos számára a családfa-analízist. A magyarázatot abban kell feltételeznünk, hogy nem csupán egyetlen gén expressziója történik ilyenkor, hanem más gének termékei, hatásai is közrejátszanak a „fő gén” expressziójában (lásd alább: modifikátor gének). Ezenkívül, ill. emellett az epigenetikus regulációs mechanizmusok (ld. előző fejezet) egész arzenálja befolyásolhatja egy gén manifesztálódását akár transzkripciós, akár translációs szinten. Ebben jelentős szerepe van a perinatális imprintingnek. Ezeket a finom szabályozó mechanizmusokat nem pusztán belső, sejten belüli faktorok irányítják, hanem a környezet is számos „eltérítő” hatást gyakorolhat rájuk. Vagyis a két szempont, ami a klasszikus mendeli öröklődés alapköve – az abszolút monogénes hatás, ill. a környezeti hatások kizárása – ezen esetekben semmissé válik. Itt tetten érhetjük azokat az okokat, amelyek miatt ma már egyre inkább azt állíthatjuk, hogy a monogénes öröklődés, mint olyan, átcsúszik az oligogénes felé, ráadásul a környezet befolyása sem zárható ki az öröklődés megvalósulásakor.

Anticipáció: a betegség generációról generációra egyre korábbi életkorban és/vagy egyre súlyosabb formában manifesztálódik. Az anticipáció tekinthető volna a változó expresszivitás egy speciális esetének is, de amennyiben a környezeti tényezők vagy más gének módosító szerepével magyarázható az eltérő expresszivitás, az anticipáció esetében ez nem állja meg a helyét. Ma már biztosan tudjuk, hogy a generációról generációra korábbi életkorban megjelenő betegséget a trinukleotid repeat mutációk expansziója okozza. Ugyanakkor, amennyiben a mutált allélt hordozó egyed előbb hal meg, mint hogy a betegség manifesztálódott volna, a vizsgált család szempontjából ez inkomplett

penetranciának tekinthető. A családfa-analízist természetesen az anticipáció is bonyolítja.

Komplex heterozigótaság: a recesszíven öröklődő betegségeknel ugyanazon génnek sokszor különböző mutációt hordozó alléljait öröklí a szülőktől az utód, miáltal az „aa” genotípus, helyesebben az „a₁a₂” genotípussal írható le. Ebből azonban az is következhet, hogy a két allél nem egyformán súlyosan érintett, vagyis a betegségben szenvedő egyedek között a betegség súlyossága tekintetében eltérés jelentkezhethet. Hovatovább a két allél hatása ki is olthatja egymást, ezáltal nem manifesztálódik a betegség. A családfa-analízis ez esetben is problémássá válik.

Pleiotrópia: egy öröklődő betegség a szervezetnek egynél több szervét érinti s lát-szólag egymástól eltérő szervi manifesztációt, tünetegyüttest hoz létre. Ennek magyarázata, hogy ugyanaz a gén több szervben is expresszálódhat, és esetleg teljesen más funkciókat tölthet be (ld. [11. fejezet](#), EDAR gén példája). Egy gén által kódolt fehérje akár további anyagcsere-folyamatok intermedier molekulája is lehet, vagy ugyanaz a regulációs fehérje több folyamatot is szabályozhat, ill. egy struktúrafehérje számos szövetben is előfordulhat. Ha az expresszált fehérje (vagy az expresszált enzim által szintetizált molekula) hormon, szintén sokrétű hatás léphet fel.

Heterogénia: a pleiotrópia ellentétének tűnik, amennyiben több egymástól eltérő és egymástól független gén ugyanazt a fenotípust eredményezi. Recesszíven öröklődő betegségeknel ilyenkor két beteg szülőnek is születhet fenotípusosan egészséges gyermeke.

Fenokópia: egy öröklődő betegség a hibás allél(ek) jelenléte ellenére környezeti hatások következtében nem, vagy kevésbé manifesztálódik. Ez történhet pl. gyógyszerek hatására, vagy pl. a fenilketonúria esetében megfelelő diéta alkalmazásakor. Ilyenkor a környezet tulajdonképpen nem hagyja érvényre jutni a hibás gén hatását, kompenzálhatja azt. Ennek az ellenkezője is előfordulhat, amennyiben kizárólag környezeti tényezők is kiválthatnak egy egyébként genetikai hátterű betegséget egészséges allélok ellenére, pl. súlyos sérülések vagy fertőzések következtében. (Pl. rubeolafertőzés okozta siketség.) Kóros fenokópiáról beszélünk, ha normális genotípus ellenére kóros fenotípus alakul ki, ill. normális fenokópiáról beszélünk, ha a kóros genotípus ellenére normális fenotípus mutatkozik.

Új mutáció: egy adott génre nézve teljesen egészséges egyedek születnek több generáción keresztül egy adott populációban, ám egyszer csak egyik utódban megjelenik a betegség. Ennek hátterében az áll, hogy valamelyik szülőben az adott gén egyik alléljában spontán új mutáció állandósul. Ezzel magyarázható az a jelenség, hogy bizonyos betegségek nem tűnnek el a populációkból, ezek mutációi az egyedek valamelyikében mindig „újratermelődnek”. Pl. a Rett-szindróma 95%-ban, az achondroplasia 80%-ban új mutáció miatt alakul ki.

Életkor befolyása: egy eredetileg egészséges génekkel rendelkező szülőpárnak egészséges gyermekek születése után is, valamelyik szülő életkorának jelentősebb előrehaladtával, születhet valamilyen autoszomális dominánsan öröklődő betegségben szenvedő gyermeke. Ez mint új mutáció lép fel, érdekes módon a monogénes betegségeknel nem az anya, hanem az apa életkorával (általában 50 év felett) mutat erősebb összefüggést. Ennek oka, hogy férfiakban a gametogenezis késő öregkorig is fennmaradhat, a spermogoniumok nagyszámú osztódása miatt a regulációs mechanizmusokban is zavarok támadhatnak, miáltal az S fázisban a replikációnál keletkező spontán mutációk állandósulhatnak.

Letális/szubletális gének: 100%-ban, ill. annál kisebb %-ban okoz halandóságot a genetikai elváltozás.

A domináns letális allél halált okozhat még azelőtt, hogy utódokat hozna létre az érintett beteg (pl. Hutchinson–Guilford-progeria <http://ghr.nlm.nih.gov/condition/hutchinson-gilford-progeria-syndrome>). Ezáltal kiszűrődhetne a gén a populációból, az újonnan megjelenő mutációk azonban újratermelik a letális gént. A Huntington Chorea esetében épp ellentétes a helyzet: a halálos kimenetelű betegség későn manifesztálódik, vagyis van ideje az érintett betegnek utódokat létrehozni és átörökíteni a mutált allélt.

Modifikátorgének: azok a gének, amelyek befolyásolják egy másik gén manifesztálódását. Ilyenkor két vagy több, különböző lókuszon lévő gének közötti interakció történik. Amennyiben egy eredetileg monogénesnek vélt betegség enyhébb vagy súlyosabb tüneteket mutat, a háttérben sok esetben az adott mutált gén expresszióját befolyásoló más gének állnak. Ezen, ún. modifikátorgének száma általában egy vagy kettő. Valójában létezésükre és befolyásukra akkor irányult figyelem, amikor a konkrét betegséggel mellett más, olyan mutált gént is találtak, amelynek a működése a betegséggel manifesztációjára bizonyíthatóan hatással volt. Ezzel értelmezhető, hogy ugyanaz a betegség eltérő lefolyású lehet az egyes egyedekben. (lásd expresszió, penetrancia feljebb). Az **episztázist** sokáig külön jelenségnek tekintették, mára azonban világossá vált, hogy nem másról van szó, mint a már ismert és eddig ismeretlen modifikátorgének és egyéb gének kapcsolatáról. Jelenleg kevés modifikátorgént ismerünk még, de feltételezhető, hogy a gének expresszióját, ill. egy betegség manifesztálódását nem pusztán egyetlen gén irányítja, hanem sok esetben ezek a bizonyos modifikátorgének is közreműködnek (ld. [14. fejezet, Rendszerbiológia](#)). Tovább árnyalja és bonyolítja a képet, hogy a modifikátorgének is követnek valamilyen öröklődésmenetet, tehát azok mutációi is kérdésesen jutnak érvényre, ugyanakkor a nem mutált, egészséges modifikátorgének egyéni polimorfizmusaik szerint is eltérően befolyásolhatják a betegekben a kór súlyosságát. Azon betegségek öröklődését, amelyeknél megtalálták már a modifikátorgént, tehát bizonyíthatóan nem egyetlen gén játszik szerepet a betegség kialakulásában, **oligogénes öröklődésűnek** nevezik. Ilyen pl. a cisztás fibrózis, vagy a policisztás vese. Mindkét betegséget eddig klasszikusan a monogénes öröklődésűek közé soroltuk. Azonban a teljes genom, vagy az exom szekvenálás olcsóbbá válásával ([10. fejezet](#)), a rendszerbiológiai szemléletnek megfelelően ([14. fejezet](#)) gyakorlatilag minden monogénes betegségről ki lehet mutatni, hogy az adott betegben a tünetekhez a „fő gén” mutációja mellett számos más gén mutációi, hatásai is hozzájárulnak.

Heterozigóta előny (ld. még [11. fejezet](#)): az autoszomális recesszíven öröklődő betegségek esetében bizonyos környezeti tényezőknek köszönhetően a heterozigótáknak reprodukciós előnye van/volt a homozigóta egészségesekkel szemben. Ez az adott betegség gyakoriságát az egyes populációkban jelentősen megváltoztatja. Bármilyen környezeti hatás befolyását vizsgáljuk is a heterozigóta előny kialakulásakor, valószínűsíthető, hogy modifikátorgén-interakciók is szerepet játszanak.

A nem befolyásoló hatása: néhány betegség megjelenése vagy súlyossága eltérő a férfi és női nemben. (Részletesen lásd a [6. fejezet](#)ben.) A nem által befolyásolt jellegek esetében egyes autoszomális gének az egyik nemben jobban expresszálódnak (pl. kopaszság), ill. a congenitalis adrenalis hyperplasia (CAH) esetében eltérő fenotípus alakul ki a két nemben. Az ún. nemre korlátozódó betegségek esetében az öröklődés autoszomális, de specifikus hormonok szükségesek az expressziójukhoz, normálisan csak az egyik nemben jelennek meg (pl. pubertas praecox.) A fenti esetben a nemi hormonok mennyisége, ill. hatása a fő irányító tényező.

A környezet befolyásoló hatása (ld. részletesen a [12. fejezet](#)ben): egyes monogénes betegségek a mutált genotípus ellenére csak akkor manifesztálódnak, ha meghatározott indukáló hatások érik a szervezetet. A kiváltó ok sokszor gyógyszer vagy élelmiszer.

Régebben ökogenetikusként nevezték ezeket a betegségeket (porfiria, malignus hipertermia, glükóz-6-foszfát-dehidrogenáz deficiencia). (ld 5.4.4.) Természetesen az indukáló hatás hátterében szintén vagy modifikátorgének megváltozott működése vagy epigenetikus jelenségek állnak.

A 5.2. táblázat segítséget nyújthat abban, hogy az egyes fenti fogalmak, jelenségek mely autoszomális típusbetegségekkel hozhatók összefüggésbe.

	Multiplex allélizmus	Allél-heterogenitás	Lókuszheterogenitás	Változó expresszivitás	Inkomplett penetrancia	Pleiotrópia	Apai életkorfüggés	Anticipáció	Heterozigóta előny	Fenokópia
Achondroplasia		X					X			
Marfan sz.	X			X		X	X			
Osteogenesis imperfecta	?			X	X	X				
Familiáris hiperkoleszterinémia	X					X				
Polydactylya			X	X	X					
Huntington Chorea								X		
Siketség			X							
Cisztás fibrózis	X			X		X			X	
Fenilketonúria										X
Albinizmus (albinójelleg)			X			X				
CAH	X					X			X	X
Xeroderma pigmentosum	X					X				
Sarlósejtes anémia						X			X	

5.2. táblázat. Az AD és AR öröklődést kísérő jelenségek/jellegzetességek előfordulásának összefoglalása néhány betegség vonatkozásában. A „fenokópia” oszlopban azok a betegségek vannak feltüntetve, melyeknél a negatív (mutált) génhatás diétával vagy gyógyszerrel úgy küszöbölhető ki, hogy a kezelés – környezeti hatás - részben/egészben egészséges fenotípust teremthet

5.4. Autoszomális domináns öröklődés

5.4.1. Az autoszomális domináns (AD) öröklődés általános jellemzése

A 6000-nél több, máig megismert monogénes jelleg / betegség közül kb. 4500 AD öröklődésűt tartanak számon. Mint már a bevezetésben említettük, mindezen monogénes betegségek hátterében 6000-nél kevesebb gén áll: némelykor a mikrodélációk, kromoszómaduplikációk okozta betegségek a mendeli szabályok szerint öröklődnek és a humán genetikában a monogénes betegségek közé sorolják őket, jóllehet nem külön génekre vezethető vissza a kór. Az AD betegségek előfordulásának összgyakorisága az élveszületésekre vonatkoztatva átlagban 1/ 1000, ill. 1/ 10 000 közé esik. Ettől természetesen vannak eltérések, a familiáris hiperkoleszterinémianál pl. a gyakoriság 1/ 500, az achondroplasia-nál 1/20 000.

A betegséget okozó gének a testi kromoszómán (autoszómán) találhatóak. A súlyosság és a gyakoriság egyforma mindkét nemben. A jelleg már az Aa heterozigóta genotípusnál is, vagyis egyetlen mutált allél esetén is manifesztálódik.

Vannak esetek, amikor a heterozigóta és homozigóta genotípusú egyedek között nincs különbség a betegség súlyosságát tekintve. Az előzőre példa a Huntington-kór, amelynél, mint negatív domináns mutáció, már a huntingtin gén egyik mutált allélja által kódolt hibás fehérje is előidézi a súlyos, halálhoz vezető betegséget. (Ne tévesszük tehát össze: a kór életkor szerinti megjelenését és gyorsabb-lassabb lefolyását nem a homozigóta vagy heterozigóta genotípus dönti el, hanem a mutált allélban előforduló trinukleotid repeatek száma. (Ld. [5.3.2.: anticipáció.](#)) A homozigóta állapot ugyanakkor számos betegségnél lényegesen súlyosabb kimenetelt eredményez, mint a heterozigóta állapot. (Példaként az osteogenesis imperfectát, a Marfan-szindrómát, a Waardenburg-szindrómát vagy a familiáris hiperkoleszterinémiát említjük.)

A homozigótaság meglehetősen ritka az AD betegségeknél, ennek létrejöttéhez mindkét szülő érintettsége szükséges. (Az új mutációk szinte soha nem csapnak le egyszerre a gén mindkét alléljára.) Gyakran a betegség olyan súlyos tünetekkel jár, ami eleve akadály a gyermekvállalásnak. Másik lehetséges magyarázat, hogy a betegség a domináns volta miatt nem marad rejtve, tehát családtervezésnél a szülők számításba vehetők, hogy beteg utódaik születhetnek, s vagy egyáltalán nem kockáztatnak, vagy genetikai tanácsadóhoz fordulnak, miáltal egyre több betegség szűrhető ki prenatálisan. Ugyanakkor a populációkból az [5.3. alfejezet](#)ben tárgyalt új mutációk fellépésével a „betegséggén” nem számúzhető.

A heterozigótaérintettség oka lehet haploinsufficiencia, domináns negatív hatás, ill. funkciónyeréses vagy funkcióvesztéses mutáció.

Az AD öröklődésű kórképeket főleg struktúrfehérjék, regulatorikus fehérjék és receptorok génjeinek, ill. protoonkogéneknek a mutációi okozzák. Megjegyzendő azonban, hogy ez csupán mesterséges besorolás, amely alól vannak kivételek. Az [5.2. alfejezet](#)ben tárgyalt, a klasszikus mendeli öröklődéstől „eltérítő” jelenségek közül a változó expresszivitás, az inkomplett penetrancia, az új mutáció fellépése, ill. apai életkorfüggés tipikusan erre az öröklődésmentre jellemzőek. Alább néhány példabetegség ezek fényében kerül tárgyalásra.

5.4.2. Struktúrgén mutációja által okozott betegségek

5.4.2.1. Marfan-szindróma

A fibrillin gén mutációja okozza. A betegség a pleiotrópia iskolapéldája, hiszen a fibrillin az elasztikus és nem elasztikus kötőszövetekben egyaránt előforduló egyik legjelentősebb extracelluláris fehérje. Számos szerv lehet érintett: bőr, tüdő, vese, vázrendszer, érrendszer, kornea stb. Egyénenként változhat, kinek mely szerve mutat súlyosabb tüneteket, vagyis az expresszivitás is változó. A kórképet okozó mutáció kialakulásánál szoros összefüggés mutatható ki az apai életkorról.

5.4.2.2. Osteogenesis imperfecta

A kollagén génjeinek eltérő mutációi eltérő súlyosságú tüneteket eredményeznek. A kollagén géncsalád 45 gént foglal magába, szétszórva több kromoszómán, ezek eltérő tulajdonságú fehérjemolekulákat kódolnak. Tekintve, hogy a kollagén az extracelluláris mátrixban a legnagyobb arányban előforduló fehérje, nem meglepő, hogy ezen gének mutációi szintén pleiotróp hatásúak. Az expresszivitás itt is eltérő, s a homozigótákban a csontok törékenysége oly fokú lehet, hogy gyakorlatilag a beteg megszületésekor már letális hatású. Ugyanakkor előfordul, hogy vagy csak süketség alakul ki a hallócsontoc-

kák érintettsége következtében, vagy siketség nem, ellenben törékeny csontok és / vagy kék színű sclera igen.

Az osteogenesis imperfecta öröklődése mutathat inkomplett penetranciát is. Valójában nem tudjuk pontosan, mi határozza meg, hogy mely AD betegség nem penetrálódik egy-egy érintett heterozigótában, itt is modifikátorgének közreműködése feltételezhető, ahogyan erre már fentebb többször utaltunk.

5.4.3. Receptorgén mutációja által okozott betegségek

5.4.3.1. Achondroplasia

Aránytalan törpeség, chondrodistrofiás törpeség. A betegséget az *FGFR3* (fibroblast growth factor receptor) hármastípusának a mutációja eredményezi. A gén mutációihoz valójában három öröklődő betegség is köthető – az achondroplasia, a hypochondroplasia és a tanatophoroplasia – aszerint, hogy a gén mely részén történt a mutáció. Itt tehát allélheterogenitással állunk szemben.

A mutáció funkciónyeréses, a receptor ligand nélkül is aktív marad. A mutáció általában újonnan lép fel, az apai életkor előrehaladtával szoros korrelációt mutat.

5.4.3.2. Familiáris hiperkoleszterinémia

Egy viszonylag gyakori betegség – 1:500. A tünetek súlyossága jelentősen függ a homo- vagy heterozigóta állapottól. Az LDL receptor génjében száznál több mutációt mutattak ki, vagyis ez esetben is multiplex allélizmussal találkozhatunk. A betegségre a lókuszheterogenitás is jellemző, hiszen több olyan gén ismert, melynek mutációi szintén öröklődő magas koleszterinszintet okoznak. Ilyen pl. az LDLR egyik ligandjának, az APOB-nek a mutációja, vagy az LDLR lebontásában szerepet játszó *PCSK9* gén mutációi. Ezek szintén domináns öröklődést mutatnak, de a betegségnek ismert recesszív öröklődésű formája is (ld. http://en.wikipedia.org/wiki/Familial_hypercholesterolemia).

5.4.3.3. Policisztás vese

Gyakorisága 1:800, az egyik leggyakrabban előforduló AD betegség. A betegség hátterében két policisztin fehérjéből felépülő receptor-ioncsatorna komplex áll, amely regulálja a G-fehérje szignalizációt és egy sejtmembrán felszíni Ca⁺⁺ csatornát. A policisztin1 fehérjét a *PKD1* gén, a policisztin2 fehérjét a *PKD2* gén kódolja. A mutációk 80% fölötti arányban az első gént érintik. A betegség a korai vagy késői felnőttkorban manifesztálódik, jelentős a családon belüli variabilitás a betegség megjelenése és súlyossága tekintetében. Ezek mind környezeti, mind genetikai tényezőktől függenek, amennyiben fertőzések siettethetik a kifejlődését, ill. a mutáció helye is számít a génben. Modifikátorgének is jelentősen befolyásolják a betegség kialakulását, tehát a modifikátorhatás mértéke még az adott egyénben lévő genetikai variációktól is függ. A nitrogén-monoxid szintáz (eNOS) egyes polimorfizmusai kifejezetten a betegség súlyosbodását, korábbi életkorban történő megjelenését indukálják.

5.4.4. Jelenleg ismeretlen funkciójú fehérjét kódoló gén mutációja

5.4.4.1. Huntington Chorea

A huntingtin gén trinukleotid repeat expanziós mutációja okozza. Az egészséges allél által kódolt huntingtin fehérje szerepe jelenleg még nem ismert, ám hibás funkciót nyer a fehérje a génben lévő CAG repeatszám emelkedésével, ami magában a fehérjében a glutamin aminosav sokszorozódásához vezet. A számnövekedés legtöbbször az apai csírvonalban következik be. (Ld. még [5.3.](#) és [5.4.1. alfejezeteket](#)).

5.4.5. Protoonkogének mutációja

Ld. [5.6. alfejezet](#).

5.4.6. Farmakogenetikai betegségek

Egyes monogénes betegségek a mutált genotípus ellenére csak akkor manifesztálódnak, ha meghatározott környezeti indukáló hatások érik a szervezetet. Egy régebbi beosztás szerint a farmakogenetikai betegségeket az ún. ökogenetikus betegségek közé sorolták. Valójában a farmakogenetikai elnevezés sem pontos, hiszen több esetben a kiváltó környezeti faktorok nem pusztán gyógyszerek lehetnek (ld. [12. fejezet](#)).

5.4.6.1. Porfiria

Az érintett gének a hem- és porfirinszintézis egyes lépéseinek enzimjeit kódolják. Aszerint, hogy a soklépéses reakciósorban melyik enzim génje mutálódott, más és más porfiriákat különböztetnek meg. Az öröklődés általában autoszomális domináns, de előfordulhat autoszomális recesszív is. Jóllehet az érintett egyéneknél a mutált allél(ok) jelen vannak, ezek pusztán jelenléte nem elegendő a fenotípusos manifesztációhoz, bizonyos kiváltó környezeti tényezők hívják csak életre a tüneteket. A kiváltó környezeti tényezők sokfélék lehetnek, gyógyszerek, alkohol, szteroidok (pl. fogamzásgátlók), stressz, kalóriamegvonás, fény stb. Jelen fejezet a porfiriák bonyolult belgyógyászati besorolását és azok biokémiai hátterét nem hivatott tárgyalni. Ehelyütt genetikai megközelítéssel arra a tényre hívnánk fel a figyelmet, hogy a gének önmagukban nem „mindenhatók”, s jóllehet pontosan ismert a monogénes háttér, a klasszikus mendeli sémától igencsak eltérő ennek a betegségnek az öröklődése.

5.4.6.2. Malignus hypertermia

A betegség váratlanul, műtéti altatás közben léphet fel. A betegséget legalább 6 különböző gén mutációja okozhatja, a legáltalánosabban elterjedtek a *CACNA1S* és a *RYR1* (rianodinreceptor) gén mutációi. A *CACNA1S* gén fehérjeterméke a rianodinreceptor működését szabályozza. Mivel pedig a rianodinreceptor a Ca^{++} ion csatornák működését szabályozza, akár a *CACNA1*, akár a *RYR1* gének mutációja a szarkoplazmás retikulumból nagy mennyiségű Ca^{++} ion kiáramláshoz vezet az ioncsatornák gyorsabb kinyílása és lassabb zárulása következtében. A megnövekedett Ca^{++} ion koncentrációja fokozott izomösszehúzódást és fokozott hőtermelést eredményez, ami végül csillapíthatatlan lázat és akár halált is okozhat. Ez valóban farmakogenetikai betegség, mivel ennek mai tudásunk szerint csak gyógyszerek (barbiturátok, ill. izomrelaxánsok) lehetnek az előidézői. Az orvos feladata, hogy rákérdezzen, nem fordult-e elő hasonló probléma az operációra váró beteg családjában.

5.5. Autoszomális recesszív öröklődés

5.5.1. Az autoszomális recesszív (AR) öröklődés általános jellemzése

A betegség/jelleg a homozigóta egyedekben manifesztálódik (aa). A betegségek súlyossága és gyakorisága egyforma mindkét nemből. Evolúciós szempontból az alapító hatás és a heterozigóta előny okozhatta bizonyos betegségek jelentősebb elterjedését egyes populációkban (ld. [11. fejezet](#)). Jellemző a komplex heterozigótaság. A családfa típus horizontális, de gyakori a sporadikus előfordulás is. Az AR öröklődésnél a rokonházasságok következtében megnőhet az érintett egyedek száma, lényegesen nagyobb lehet a beteg-

ség előfordulási gyakorisága, mint az adott családon kívüli populációban. A vérrokonság az addig „rejtett géneket” is láthatóvá teszi, hiszen a hordozó heterozigóták nagyobb számban fordulnak elő egy ilyen családban.

Az AR öröklődésű kórképeket főleg enzimfehérjék, a hemoglobin génjeinek, ill. a tumorszuppresszor géneknek a mutációi okozzák. Ide tartozik még a cisztás fibrózis, amely semelyik csoportba nem illeszthető. Itt is megjegyzendő azonban, hogy hasonlóan, mint az AD besorolásnál, ez is csupán mesterséges felosztás, amely alól vannak kivételek. Az AR betegségek előfordulásának összgyakorisága az élve születésekre vonatkoztatva Európában átlagosan 2,5:10 000, bár ettől az értéktől jelentős eltérések lehetnek mindkét irányban. A cisztás fibrózis előfordulási gyakorisága pl. 1:1600, a fenilketonúriáé 1:10 000, a mukopoliszacharidózisé 1:50 000.

5.5.2. Enzimopátiák

A mutált allélok már heterozigótákban is csökkent enzimaktivitást eredményeznek. Ez az aktivitás heterozigótákban eshet pontosan a homozigóta betegek és a homozigóta egészségesek aktivitásértékei közé, sőt, a hibás anyagcsere-termék jelentősen emelkedhet is a szervezetben, ennek ellenére általában mégsem mutatkozik jele a betegségnek.

A pleiotrópia jelenségét ezen betegségeknél is könnyű értelmezni, hiszen az enzimek sokszor kaszkádreakciók valamely lépését katalizálják. Ha az enzim a kaszkád elejéről vagy valamely elágazási pontról hiányzik, nagyobb a valószínűsége, hogy több anyagcsere-átalakulás is kárt szenved.

5.5.2.1. Fenilketonúria

A **fenilketonúriát** (PKU) a fenilalanin-hidroxiláz hiánya idézi elő, tirozin helyett toxikus hatású fenil-piroszólósav keletkezik. A deficiencia a tirozin átalakulási kaszkádját is befolyásolja. A táplálékkal kerül ugyan a szervezetbe tirozin, ez azonban alatta marad a szervezet normális tirozinigényének, ezért kevesebb DOPA és melanin szintetizálódik. Míg a PKU fenilalanin-mentes vagy fenilalanin-szegény diétával kezelhető, ill. a manifestáció kiküszöbölhető, a világos bőr, kék szem, világos haj, mint fenotípus, megmarad az érintettekben. Újabban kiderült, hogy a fenilalanin-hidroxiláz többszázféle mutációjának érvényre jutását modifikátorgének is befolyásolják.

5.5.2.2. Klasszikus albinizmus

Az ún. **klasszikus albinizmus** kialakulásának oka a tirozinkináz gén mutációja, minek következtében a melaninszintézis elmarad. Ez az enzim is a fent említett enzimkaszkád egyik szereplője, így a pleiotróp hatás az albinókban is érvényesül. Fontos azonban megjegyezni, hogy számos más gén mutációja igen hasonló albinó jellegű eredményező fenotípust alakít ki. Ezek hátterében hibás melanintranszport áll, a transzportban részt vevő fehérjék génjeinek meghibásodása végső soron ugyanazt a problémát idézik elő, a melaninszintézis hiányát. Már számos gén mutációját azonosították, s a betegséget is más-más névvel illetik (lókus heterogénia) (Ld. 5.3. táblázat.).

Mutáció a génben	Érintett fehérje	Funkciókiesés/ sérülés	Eredmény
Tirozináz gén 11q14-3	Tirozináz	DOPA ill. DOPA-oxidáz szintézis melaninszintézis (klasszikus és okulokután alb.)	KLA SSZIKUS ALBINIZMUS
P gén 15q12	Melanoszóma membránjának transzmembránfehérjeje	ismeretlen	
Tyrp1 gén 9p23	Tyrosinase-related protein 1	Iontranszporter vagy chaperone vagy melanoszóma fehérjekomplex stabilizátor	
LYST gén 1q42-43	ismeretlen fehérje	Az anyagok transzlokációjában van valamilyen feltételezett szerepe, Golgiból a célállomáshoz	ALBINÓ FENOTÍPUSSAL JÁRÓ SZINDRÓMÁK
HPS gén 10q23.1-23.3	Komplex fehérjék	Molekula „trafficking” (Hermansky-Pudlak szindr.)	
Rab27a gén 15q21	GTP-kötő fehérje Rab27a	Melanoszóma transzport a mikrotubulusokon (Grisoelli szindr.)	
MYO5a gén 15q21	Miozin5a	Melanociták nyúl ványaiból nem jut ki a melanoszóma (Grisoelli szindr.)	

5.3. táblázat

A klasszikus albinizmus és az albinó fenotípussal járó szindrómák elnevezése, genetikai háttere és a mutáció következtében kiesett sejtbiológiai funkció.

5.5.2.3. Congenitális adrenalis hyperplasia

A **congenitalis adrenalis hyperplasiában** (CAH) érvényesülő pleiotróp hatások szintén az egyes szteroidok keletkezésének enzimaszkád jellegével magyarázhatók, a 21-hidroxiláz enzim génjének (*CYP21A2*) mutációja enzimhiányt okoz.

<http://pediatrics.aappublications.org/content/106/6/1511.full>

A CAH a yapi eszkimók körében 1:300 arányú gyakoriságot mutat, míg más populációkban kb. 1:10–15 000. Ez a *Hemophilus influenzae* B elleni védelemmel magyarázható heterozigótákban, vagyis heterozigótaelőny áll a magas allélgyakoriság hátterében.

5.5.2.4. Xeroderma pigmentosum

Xeroderma pigmentosum esetén a nucleotide excision repair (NER) DNS-javító enzimek génjének valamelyike károsul, azaz itt lókus heterogéniáról beszélhetünk (Ld. [5.2. alfejezet](#)).

<http://ghr.nlm.nih.gov/condition/xeroderma-pigmentosum>

5.5.3. Cisztás fibrózis

A betegség génje, a CFTR gén nem sorolható semelyik „klasszikus” AR öröklődést mutató géncsaládba sem, hiszen a betegséget nem enzim vagy hemoglobin mutációja, hanem egy kloridion csatorna regulációs fehérjemutációja okozza. Az európai populációkban a leggyakrabban előforduló AR betegség. A középkorban a heterozigótákban a kolera ellen érvényesülő előny idézte elő a populációban a mutált allél feldúsulását (ld. [11. fejezet](#)).

A pleiotrópia a cisztás fibrózisnál logikusan tehát nem anyagcsere-szkád-hibával értelmezhető, hanem azzal, hogy a sűrű nyáktermelés több szervben is szűkíti/eltömi a vezetékeket, ill. állandó gyulladást idézhetnek elő az ott megtelepedett kórokozók, a has-

nyálmirigy, az ondóvezeték, a tüdők mind súlyos állapotba kerülhetnek. A betegség ma még nem gyógyítható, de a súlyossága jelentősen eltérhet az egyes betegek között, ami a modifikátorgének hatására utal, ill. arra, hogy egyes mutációk fehérjefunkciót károsító hatása különbözhet egymástól. A több mint 800 eddig talált mutáció közül a deltaF508 a leggyakoribb, ez a gén 10. exonjának 508. kódonjának a deléciója. Amint azt az [5.3. alfejezet](#)ben említettük, a sokféle mutáció következtében a betegség genotípusára jellemző a komplex heterozigótaság.

5.5.4. Hemoglobinopátiák

5.5.4.1. Sarlósejtes anémia

A **sarlósejtes anémiát** okozó mutáció az egyik legközismertebb. A bétaglobin lánc 6. aminosavcsereje glutaminról valinra, egy transzverziós szubsztitúcióra vezethető vissza, az ilyen hemoglobin az ún. hemoglobin S. Ez az oka a sarló alakú sejt létrejöttének s az abból következő számtalan pleiotróp hatásnak. A maláriával szembeni heterozigóta-előny kialakulása is erre vezethető vissza ([11. fejezet](#)).

5.5.4.2. Thalassemiák

A **thalassemiákat** többféle mutáció okozhatja, a hemoglobin alfa és béta láncában is keletkezhetnek frameshift, deléciós és splicing mutációk. Ez magyarázza, hogy a thalassemiák földrajzi elterjedtségükben és a súlyosság mértékében is jelentősen eltérhetnek egymástól. A malária ellen szintén védettséget élveznek a heterozigóták.

5.6. Gének és tumorok

Az onkogenetika témakör a [7. fejezet](#)ben kerül részletesebb tárgyalásra. Fontos azonban megemlíteni a monogénes öröklődés témakörében is, amennyiben a tumorok kialakulását előidéző gének közül sok ismert már, s a gén és a hibás fehérjetermék egy-egy arányú megfeleltetése lehetséges. Ennek ellenére a tumorokat a multifaktoriálisan öröklődő betegségek csoportjába soroljuk, amennyiben a betegség kialakulását a környezeti tényezők is drámaian befolyásolják, ill. több mutált gén géntermékének együttes megjelenése vagy kiesése – vagyis több mutált gén – idézi elő magát a betegséget. Ez az ún. „multiple hit theory” röviden azzal magyarázható, hogy a sejt életében még sokáig más fehérjék is képesek átvenni, helyettesíteni a kiesett funkció(ka)t.

Gyakorlatilag valamennyi sejt hordoz több-kevesebb genetikai hibát. Egy-egy ilyen hiba azonban még nem alakítja át a sejtet rögtön tumorsejtté. Az eredeti sejtben kialakult genetikai hiba – mutáció – állandósul, az utódsejtekbe átörökíttetik. Ahhoz, hogy a mutációt hordozó sejt valóban tumorsejtté alakuljon, a mutációk számának el kell érnie egy kritikus mennyiséget („multiple hit theory”). A dominánsan öröklődő mutációk az ún. protoonkogéneket érintik, s a megváltozott gént nevezzük onkogénnek. A tumorszuppresszor gének öröklődése recesszív. A változás valójában az adott gén által kódolt fehérje aktivitásában tükröződik. A mutált gének termékei olyan szignalizációs útvonalak szereplői, melyek a sejt növekedését, osztódását és differenciációját szabályozzák.

Amennyiben a mutáció a csíravonalban keletkezik, a hibás allél az utódokra is átörökíthető. Számos tumor esetében ismertek a betegség kialakulását hajlamosító gének. Fontos megemlíteni, hogy jóllehet a tumorszuppresszorgének homozigóta recesszív formában fejtik ki negatív hatásukat, az öröklődésmenetük mégis dominánsnak mondható a manifesztációjuk alapján, a családfákban gyakran minden generációban megjele-

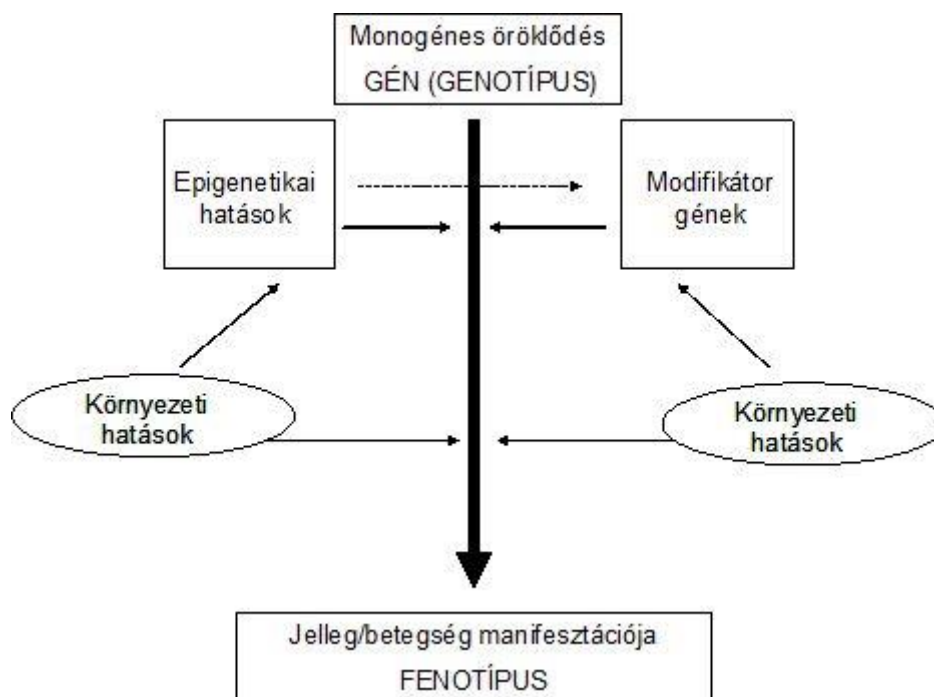
nik a betegség. (Mint már fentebb említettük, a vertikális családfa a domináns öröklődésre jellemző.) Kiragadott példaként említhető az *RB1*, a *BRCA1-2*, az *APC* gének stb. Amennyiben a hordozó egyedben a mutáns allél olyan sejtekben található, amelyek az élet valamely szakaszában intenzíven proliferálnak, egy második, új mutáció könnyen keletkezhet az eredetileg még egészséges allélon („two hit theory”). Ezt a heterozigótaság elvesztésének ([loss of heterozygosity](#) = LOH) nevezik. Tehát jöllehet, két allél érintettsége vezet a hibás funkcióhoz, a második mutáció kialakulásának nagy valószínűsége miatt elég egyetlen szülő is ahhoz, hogy az utódba átörökített mutáns allél nagyobb kockázatot jelentsen a prediszpozíció által a betegség megjelenéséhez. Újra fontos hangsúlyozni azonban, hogy a sejtekben több, recesszíven mutált homozigóta allélpár, ill. dominánsan mutált heterozigóta allélpár szükséges ahhoz, hogy a malignus tumor valóban ki is fejlődjön. <http://themedicalbiochemistrypage.org/oncogene.php>

5.7. Gének és gyógyszerek

Az orvosi gyakorlathoz elengedhetetlen annak a ténynek az állandó szem előtt tartása, hogy az egyes emberek eltérően reagálhatnak ugyanazon gyógyszerekre. Ez az egyének közti polimorfizmusokra vezethető vissza, a téma bővebb elemzésére a Farmakogenomika fejezetben ([12. fejezet](#)) kerül sor.

Ehelyütt is megemlíjtük azonban, hogy léteznek mutációk, amelyek monogénes, autoszomális domináns vagy recesszív módon, ill. X-hez kötötten öröklődnek, s felelősek a bizonyos gyógyszerekre adott adverz reakciókért. Ezek a betegségek általában nagyon ritkák (ld. <http://ebooks.thieme.com/pdfreader/color-atlas-genetics41792> 273. o.) és nem keverendők össze az [5.4.6. alfejezet](#)ben ismertetett farmakogenetikai betegségekkel. Nem keverendők továbbá össze azzal sem, hogy az egyes emberek eltérően reagálnak akár a leghétköznapibb gyógyszerekre is, melyek háttérben szintén a genomban meglévő polimorfizmusok állnak.

5.8. Konklúzió



5.1. ábra. A monogénes öröklődést befolyásoló tényezők és azok egymás közti kapcsolata

A klasszikus monogénes öröklődésnek és a mendeli törvényeknek a megszokott alkalmazása és érvényessége az utóbbi egy-két évtizedben új értelmezést nyert. Mára már bizonyosnak tekinthető, hogy környezeti tényezők, epigenetikus hatások és ún. modifikátorgének termékei egyaránt befolyásolják a jellegért/betegségért felelős allélpár (gén) fenotípusos manifesztációját. Ezáltal az eddig viszonylag egyszerűnek tűnő monogénes öröklődés témakörében is jóval komplexebb, bonyolultabb rendszer rajzolódik ki, ahogy azt régebben inkább csak a poligénes, multifaktoriális öröklődésre tartották érvényesnek (ld. [Rendszerbiológia, 14. fejezet](#)). A genetikának mint tudományterületnek genomikává terebélyesedésével ez a kép a közeljövőben valószínűsíthetően csak tovább finomodik majd. (Ld. 5.1. ábra.)

5.9. Kérdések

1. Hogyan szól Mendel I., II. és III. törvénye?
2. Mit jelentenek az alábbi fogalmak? – gén, allél, multiplex allélizmus, komplex heterozigóták, lókuszheterogenitás, allélheterogenitás, dominancia, recesszivitás, kodominancia.
3. Mely jelenségek miatt nem alkalmazhatóak egyértelműen minden monogénes betegségre a Mendel-törvények?
4. Mit jelentenek az alábbi fogalmak? Társítson példabetegségeket mindegyikhez! – pleiotrópia, expresszivitás, penetrancia, anticipáció, fenokópia, komplex heterozigotáság, heterogénia, szubletális/letális gén, új mutáció, modifikátorgének
5. Mit jelent, hogy az életkor, ill. a nem befolyásolja egy jelleg manifesztációját? Milyen példabetegséget tud ezekhez a befolyásoló tényezőkhöz társítani?
6. Hogyan osztályozhatók a monogénes öröklődési típusok?

7. Az oligogénes öröklődés hogyan változtatja meg a monogénes öröklődésről alkotott eddigi képet? Mondjon példákat!
8. Milyen gének mutációira vezethetők vissza általában az AD és AR betegségek? Mondjon példabetegséget mindegyikre!
9. Beeszel-e, és ha igen, milyen mértékben befolyásolja a környezet a monogénes öröklődésű jellegek/betegségek manifesztációját?
10. Értelmezze a farmakogenetikai betegségek és a tumorok öröklődését, ill. a betegség manifesztációját a környezeti hatások tükrében!

Ajánlott irodalom

<http://ebooks.thieme.com>

<http://omim.org/>

6. A nem szerepe az öröklődésben

Nemünk egyrészt közvetlenül a nemi kromoszómák, azaz az azok által kódolt gének révén, másrészt indirekten a gametogenezis és megtermékenyítés sajátosságai révén is hatással van az öröklődésre, a tulajdonságok megjelenésére.

6.1. X-kromoszómához kötött öröklődés

Mindkét X-hez kötött öröklődésmenet értelmezését nehezíti, hogy emberben **női a homogamétás nem, a férfi a heterogamétás**. Mivel **nőkben** 2 X-kromoszóma van, ők lehetnek **homo- vagy heterozigóták** az X-hez kötött jellegre/betegségekre nézve. Azokat a nőket, akik a családfa adatai és/vagy genotipizálás alapján bizonyítottan heterozigóták, **obligát heterozigótáknak** (konduktoroknak), a családfa alapján csak valószínűsített heterozigótákat (pl. még nincs érintett utódjuk, de beteg fiútestvérük van) **fakultatív heterozigótáknak** nevezzük.

Ezzel szemben a **férfiaknak** csak egy X-ük van, ezért ők **hemizigóták**, s vagy betegek/jelleghordozók, ha mutációt hordozó X-kromoszómájuk van, vagy egészségesek, ha normális (nem mutáns) X-kromoszómával rendelkeznek. **X-hez kötött öröklődésmentű kórképek esetében az érintett férfiak 1/3-a új mutáció hordozója!** Hiszen a hemizigóta férfiakban mindig megnyilvánuló jelleg/betegség miatt ők reprodukciós hátrányban vannak, s a gén kiszelektálódik a populációból. Nőkben az X-kromoszóma inaktivációja még tovább bonyolítja a képet, ugyanis az inaktiválódott X milyenségétől függően heterozigótákban a fenotípus meglehetősen változatos – enyhe vagy súlyos is – lehet.

6.1.1. X-hez kötött domináns (XD) öröklődés

Ebben az esetben a családfa az autoszomális dominánshoz hasonló lefutású, azonban a két nem érintettsége nem egyforma.

Az ilyen öröklődésmenet főbb jellemzői:

- 1./ vertikális családfa
- 2./ kétszer annyi nő érintett, mint férfi; 2:1 nő férfi arány
- 3./ egy érintett nő utódainak 50%-a – tekintet nélkül nemükre – beteg
- 4./ **egy érintett férfi minden leánya beteg, minden fia egészséges** (az apa leányainak mindig az X-kromoszómáját adja, fiainak mindig az Y-t!)
- 5./ az érintett nők tünetei sokszor enyhébbek és változékonyabbak, mint a beteg férfiaké.

Míg a homozigóta domináns X^{AX^A} nők tüneteit csak az X-inaktiváció enyhíti, addig a heterozigóta X^{AX^a} nőket a normális X^a -allél által meghatározott termék (fehérje) is.

Az **X-kromoszóma PAR1** régiójában található gének által meghatározott jelek közül az **X_g-vércsoport antigén** és az **amelogenesis imperfecta** = hiányos fogzománc-képzés öröklődésmenete ilyen. Ez utóbbiban a fogak zománcrétege hiányzik, és az ilyen fogak könnyebben szuvasodhatnak.

A legismertebb X-hez kötött domináns kórkép, az X-kromoszóma hosszú karján kódolt, a **hipofoszfátémia** (régébbi nevén D-vitamin-rezisztens angolkór), amelyet a gyermekkori növekedési visszamaradottság, angolkór és alacsony szérumszulfátszint jellemez. Nagy dóziszú D-vitaminnal és foszfátbevitellel kezelhető betegség!

Ugyancsak ilyen öröklődésmenetű a **fragilis X-szindróma**, amely egy trinukleotid (CGG) repeat mutáció okozta betegség. Ez a leggyakoribb, férfi mentális retardációt okozó betegség. Míg a normális repeatszám <30, az érintettekben ez a szám 200 és 2000 közötti. Kb. 50 és 200 repeat között az ún. **premutációs vagy más néven szürke zóna** húzódik. A beteg férfiakat felnőttként hosszú arc, elálló fülek, nagy állkapocs és nagyméretű herék jellemzik. A mentális retardáció mellett viselkedési problémák és hangulatváltások is a tünetek részét képezik. A **FMR1 gén** által kódolt fehérje valószínűleg más, idegrendszer működésében szerepet játszó gének mRNS-ének megkötésével idézi elő a tüneteket.

Az X-hez kötött domináns családfa értékelését megnehezíti az ún. **X-hez kötött hím letalitás**. Mivel nincs normál allél, ezért a hemizigóta, hímnemű embriók már a méhen belül elhalnak. Ilyenkor a családban rendszerint nincs annyi utód, hogy észre lehessen venni az ilyen öröklődésmenetre jellemző, 2:1 nő férfi ivararányt. Hemizigótaletalitással jár, pl. az **incontinentia pigmenti**, amely kisgyermekkorban a bőr felhólyagosodásával, a pigmentálódás zavarával, részleges szőrzetvesztéssel járó kórkép, amely tehát csak nőkben manifesztálódik. De ilyen az epigenetikus érintettségű **Rett-szindróma** is, amely tulajdonképpen egy idegi fejlődési rendellenesség. Itt a metil-citozint kötő MECP2 fehérjét kódoló gén mutációja következtében alakulnak ki lányokban a jellemző, progresszív tünetek: a beszéd és a szerzett motoros funkciók elvesztése, kényszeres kéztördelés, ataxia és rohamok.

6.1.2. X-hez kötött recesszív (XR) öröklődés

Máig **400-nál több** ilyen öröklődésmenetű jelleget azonosítottak. Ez jóval nagyobb szám, mint ami az emberi gének becsült számából 1 kromoszómára eső érték lenne, és azzal magyarázható, hogy a sajátos, a hím heterogaméciából adódó öröklődésmenet miatt az ilyen jelek felderítése és azonosítása könnyebb. Az ilyen jelek/betegségek között van viszonylag ártalmatlan, enyhe tüneteket mutató, mint például a **vörös-zöld színtévesztés**, súlyos tüneteket eredményező, mint a **hemofília**, és halálos kimenetelű, mint a **Duchenne-féle izomsorvadás**.

Az X-hez kötött recesszív öröklődés jellemzői:

- 1./ cikk-cakk öröklődésmenet: a betegség anyáról fiúra, a fiúról annak lányára adódik át
- 2./ a betegek szinte kizárólag férfiak (sokkal több érintett férfi van, mint nő)
- 3./ beteg nő beteg apától és obligát heterozigóta anyától születhet
- 4./ beteg férfi rendszerint egészséges szülőktől származik, ahol az anya obligát hordozó
- 5./ nincs férfiról férfira való átörökítés

Ugyan a **hemofília** egy legalább 4000 éve ismert betegség – hiszen már a Talmudban említik, hogy olyan családokban, ahol az anyai ági rokonok valamelyikének fiúgyermeke

a körülmetélés következtében elvérzett, nem szabad körülmetélni az újszülött fiúcsecsemőket – az első pontos mutációt mégis csak 1986-ban írták le. Az X-hez kötött recesszív hemofiliának két formája van: a **hemofília A, amely a VIII., és a hemofília B, amely a IX. véralvadási faktor** hibájára vezethető vissza.

A hemofília A esetek 40%-ában a VIII. faktor génjének speciális mutációja fordul elő. A gén 22-es intronja két kis, ismeretlen funkciójú gént, az *F8A*-t és *F8B*-t tartalmazza, melyek közül az A-nak kb. 400 kb távolságra további kópiái is vannak. E kópiák között a **meiózis során intrakromoszómális crossing over történhet, a kromoszóma megfelelő darabjának inverzióját okozva, s így a VIII. faktor génje két távoli darabra esik szét.**

Ez a véralvadási faktor hiányának s a hemofiliának oka. A hemofiliát okozó mutáció leggyakrabban az **apai csíravonalban**, a méiózis során történik. Az apai gametogenezis-re jellemző nagyszámú osztódás, s az ezzel járó nagyobb spontán mutációs ráta az oka, hogy idősebb apák utódaiban, többek között, e mutáció bekövetkeztének is nagyobb valószínűsége.

Az egyik legismertebb és legtöbbet vizsgált **citoszkeletális betegség a Duchenne-féle izomdisztrófia**. Ez az X-hez kötött recesszív öröklésmentű betegség, melyet a XIX. század második felében írtak le, a 2–3. életévben felállási nehézségekkel (**Gower-féle tünet**) kezdődik, és fokozódó izomgyengeséggel jár.

Az érintett fiúgyermek 10 éves kor körül tolószékbe kényszerülnek, majd 20 éves kor körül meghalnak. Mivel a betegség viszonylag gyakori (1:3500 a gyakorisága), és mind a mai napig gyógyíthatatlan, érthető, hogy intenzíven vizsgálták.

Így derült fény arra, hogy a betegség oka a **disztrofin** nevű citoszkeletális fehérjét érintő génmutáció. A disztrofin, az izomsejtekre jellemző fehérje, melynek C-terminális vége egy hat komponensből álló glikoprotein komplex révén a szarkolemmához, N-terminális vége a citoszkeletális aktinhoz kapcsolódik. **A disztrofin a jelenleg ismert legnagyobb gén terméke, a gén 2400 kilobázis hosszú, s ennek átírása több mint 16 órán át tart!** A disztrofin funkciója az izomsejt membránjának stabilizálása. A génmutáció gyakran egy frame-shift-et okozó deléció, s így vagy nem képződik disztrofin, vagy egy teljesen megváltozott szerkezetű, funkcióképtelen fehérje jön létre. Amennyiben a disztrofin génben csak egy in-frame mutáció következik be, azaz csak egy kisebb rész deletál, akkor az enyhébb tünetű, ún. **Becker-féle izomdisztrófia** alakul ki. **Vagyis a Duchenne- illetve a Becker-féle izomdisztrófiák ugyanannak a génnek az eltérő, mutáns alléljei, azaz itt is allél heterogénia áll fenn. Mivel a disztrofin gén esetében számos más mutáció (pl. pontmutációk, duplikációk) is előfordul, ezért a multiplex allelizmus is fennáll.**

Mivel a beteg férfiak általában nem érik meg a szaporodóképes kort, nem tudják hibás génjüket utódaiknak átadni, ezért a **szubletális mutáns génnek** fokozatosan el kellene tűnnie a populációkból. Azonban a betegség gyakorisága meglehetősen állandó; ez csak úgy lehetséges, hogy az új mutációk rátája magas, azaz a hibás gén újratermelődik. **A megfigyelések szerint a disztrofint érintő deléciós új mutációk általában az anyai csíravonalban következnek be, az egyéb típusok pedig inkább az apai csíravonalban**, de ennek oka még nem ismert.

Az X-kromoszóma-inaktiváció az X-hez kötött recesszív öröklődés esetében is bonyolítja a pedigreanalízist. A heterozigóta nők fenotípusa attól függően változik, milyen az egészséges X^A -t és a mutáns X^a -t hordozó sejtek aránya. **Ha a géntermék egy szolubilis fehérje, mint a hemofiliák esetében a véralvadási faktorok, akkor a hatás „kiátlagolódik”.** **Vagyis az ilyen nők tünetmentesek, de biokémiailag a normálistól eltérők lesznek. Viszont, ahol a termék helyhez, azaz egy bizonyos sejt-**

típushoz kötött, ott a tünetek mozaikos formában jelennek meg. Ilyen a **hipohidrotikus ektodermális diszplázia**, ahol a mutáció verejtékmirigy-hiányt és a fogazat hiányát vagy rendellenes kialakulását okozza.

6.2. Y-kromoszómához kötött (holandrikus) öröklődés

Jelenleg csak a hím nem kialakulásával, illetve a gametogenezissel kapcsolatos gének: az **SRY** és az **AZY** Y-hoz kötött öröklődését bizonyították. **Nem ismerünk Y-hoz kötött, és nem a férfiinfertilitással kapcsolatos, öröklődő betegséget!**

Az egyetlen férfiról férfira átadódó testi jelleg, a szőrös fül nem Y-hoz kötött, de génje és annak lókusza még nem ismert.

Az Y-hoz kötött öröklődés jellemzői:

- 1./ csak férfiak érintettek
- 2./ az érintett férfiak apja is érintett
- 3./ az érintett férfiaknak minden fia is érintett.

6.3. Nem által befolyásolt öröklődés

Néhány jelleg esetében előfordul, hogy a két nemből eltérően expresszálódik. Ez lehet az X-hez kötött öröklődés kapcsán már említett hímlétalitás miatt, de lehet amiatt is, hogy a belső környezet, azaz más gének hatása miatt másként, vagy egyáltalán nem tud kifejeződni az adott tulajdonság, vagyis az érintett személy nemétől függ a tulajdonság/betegség manifesztálódása.

A legismertebb ilyen jelleg a **kopaszság**, amely férfiakban autoszomális domináns öröklődésű, tehát homo- és heterozigóta állapotban is expresszálódó tulajdonság. Ezzel szemben **nőkben viszont recesszív öröklődést mutat, tehát csak homozigóta formában és magas szérumtesztoszteron-szint mellett alakul ki.** Szintén főleg férfiakban alakul ki a hasonló genetikai meghatározottságú **pubertas praecox** egyik típusa. Ez utóbbi esetében a **luteinizáló hormon (LH) receptora mutált**, így ligand hiányában is kiváltja a fokozódó tesztoszteronszintézist, s ezzel a korai pubertásra jellemző szomatikus változásokat.

6.4. Nemre korlátozódó öröklődés

Abban az esetben, ha **szigorúan csak az egyik nemből expresszál a gén, nemre korlátozódó öröklődésről beszélünk.** Ennek klasszikus példája a **tejtermelés**, hiszen emlőmirigyek mindkét nemből vannak, mégis csak a női nemre jellemző a tejelválasztás. A szarvasmarha-tenyésztők által régóta ismert tény, hogy a tehének tejhozama a bikától, vagyis az apaállattól is függ! Sőt, nemcsak a szecernált tej mennyiségének, de összetételének (pl. lipidtartalom) kialakításában is szerepet játszanak az apai gének. A **pre-eclampsia**, amely évente több mint 50 000 nő életét követeli, kialakulását apai gének is befolyásolhatják. Ebben az esetben a fejlődő embrió apai eredetű genomfele úgy befolyásolhatja a placenta kialakulását, hogy az a terhesség vége fele hirtelen vérnyomás-emelkedést okoz az anyában.

6.5. Genomiális imprinting

A gének szülői eredettől függő expressziója a genomiális imprinting, amely az ezt eredményező folyamat sajátosságai (DNS-metiláció, hisztonmódosulások, kromatinremodellezés) miatt a [4. Epigenetika](#) fejezetben kerülnek tárgyalásra.

6.6. Citoplazmatikus öröklődés

6.6.1. Anyai hatás

A nem szerepe más, különleges öröklődési formák esetében is bizonyított. Ilyen például a citoplazmatikus öröklődés, amikor a petesejtben tárolt molekulák (mRNS-ek, nem-kódoló RNS-ek, illetve fehérjék) a megtermékenyítést követően befolyásolják az utód egyedfejlődését, génjeik expressziójának befolyásolásával. **Így az utód génjeinek kifejeződése anélkül lehet eltérő, hogy a genomban mutáció következett volna be, tehát ez a fajta öröklődés is epigenetikus változások következménye.** Erre *Drosophila*-ban és más alacsonyabb rendűekben számos bizonyíték van. Ilyen például a jobb-, illetve balmenetes csigaház kialakulása. Ekkor a petesejt érése során a táplálósejtekből átjutó faktorok a zigótára hatnak a későbbiekben, vagyis a korai egyedfejlődés során, a barázdálódási osztódásokban, a mitotikus orsó tengelyének orientációját megváltoztatva eredményezik a váz ellentétes irányú csavarodását. Hasonlóképpen, a spermiumok apai RNS-ei által előidézett, azaz az utód genomjában nem kódolt tulajdonság megjelenésére is van transzgénikus egér modellben példa. Azonban a citoplazmatikus öröklődés emberben betöltött szerepe még igazolásra vár.

6.6.2. Mitokondriális öröklődés

A nem szerepe vitathatatlan a mitokondriumok öröklődésében, hiszen itt a petesejt citoplazmájában található sejtorganellek kizárólagos anyai átörökítéséről van szó. A megtermékenyítés során a spermium nyaki része – középdarabja – nem jut be a petesejtbe, ezért a zigóta, és később a belőle kifejlődő organizmus is, csak anyai eredetű mitokondriumokat tartalmaz. Ez azt jelenti, hogy **az anya minden utódjának – fiának és lányának egyaránt – átörökíti mitokondriumait, de a következő generációnak már csak leányai adják tovább, fiai nem.**

Mivel az ilyen anyai öröklődés nem követi a Mendel-szabályokat, ezért ez az ún. nem-mendeli öröklődés egyik típusának is tekinthető.

Számos betegség a mitokondriális DNS mutációi következtében alakul ki. Jelenleg 59 mitokondriális kórképet ismerünk, de szerencsére ezek mindegyike ritka. Mivel a mitokondrium fő funkciója az oxidatív foszforilláció, ezért a mitokondriális betegségek a legnagyobb energiaigényű szerveket érintik (izomzat, idegrendszer). Az egyik legismertebb mitokondriális betegség a pontmutáció következtében kialakuló **Leber-féle optikus neuropátia**, melyet általában a tizenéves vagy fiatal felnőttkorban jelentkező centrális látásvesztés jellemez.

Itt kell megjegyeznünk, hogy **vannak a nukleáris DNS mutációjának következtében kialakuló mitokondriális betegségek is, hiszen a mitokondrium fehérjéinek döntő hányada a sejtmagban kódolt!** Ezek a mendeli öröklésmentek valamelyikét mutatják, mint például a 10-es kromoszóma hosszúkarjára lokalizált, autoszomális domináns öröklődésű progresszív externális ophtalmoplegia (külsőszemizom-bénulás).

Az ismert mitokondriális betegségek esetében kétféle mutációtípus fordul elő: pont-mutációk és deléciók. A tünetek súlyossága a mutáció típusától, a mutáns mitokondriumok számától és természetesen a szövettípustól függ. A mitokondriális mutációk nagy része nem a csíravonalban történik, hanem szomatikusan, ráadásul az egymást követő sejtosztódások során még egy szöveten belül is, sejtről sejtre változhat a mutáns mitokondriumok mennyisége. Ezért a sejtek citoplazmája is eltérő lesz. Amikor a sejtek citoplazmája azonos normális vagy azonos mutáns mitokondriumokkal bír, **homoplazmiáról**, amikor eltérő – normális és mutáns vagy kétféle mutáns mitokondriumú –, akkor **heteroplazmiáról** beszélünk. Érthető, hogy ezáltal a tünetek is változó súlyosságúak lesznek. **A heteroplazmiás anyák utódaiban eltérő súlyosságú tünetek jelenhetnek meg attól függően, hogy a petesejtbe mennyi mutáns mitokondrium került.**

A mitokondriális DNS vizsgálatát, a homo-, illetve heteroplazmia meglétét használták fel a közelmúltban, az 1918-ban kivégzett cári család maradványainak azonosításánál. Mivel a mitokondriumok anyai ágon öröklődnek, ezért a cári család még ma élő anyai ági rokonait és ezek leszármazottait vizsgálták, s hasonlították össze mitokondriális DNS-mintáikat a maradványokból kinyert és elemzett mintákkal. Nemcsak a maradványok azonosítása sikerült, de azt is kimutatták, hogy II. Miklós cár heteroplazmiás volt.

Szintén a mitokondriális DNS vizsgálata segíthet eldönteni egy régi, az emberi evolúciót érintő vitát: vajon a mai ember (*Homo sapiens*) elődei és a neandervölgyi ember populációi kereszteződtek-e (lásd [8. fejezet](#))? De a populációgenetikában is sokszor alkalmazzák a mitokondriális mutációk összehasonlító vizsgálatát, pl. egyes népek, népcsoportok eredetének, leszármazási viszonyainak felderítésére. Kiderült, hogy az amerikai indiánoknak egy deléciós mutáns mitokondriumuk van, tehát akiben ilyen deléciót ki tudnak mutatni, annak legalább 1 indián ősanynya kellett, hogy legyen.

Hasonlóképpen **a mitokondriális DNS vizsgálatával kimutatták, hogy a magyarok és a finnek genetikailag nem, csak nyelvükben rokonok!**

6.7. Az X-kromoszóma inaktivációja

A testi sejtekben majdnem minden autoszomális génnek mind az apai, mind pedig az anyai kópiája expresszálódik. Tehát ezek termékei kétszeres dózisban vannak jelen. Kivételt csak az ún. imprintált gének képeznek (ld. [4. fejezet](#)). Ugyanakkor az X nemi kromoszóma által kódolt gének expressziójára hatással van, hogy férfiban vagy nőben fordul-e elő az X-kromoszóma, illetve az a tény, hogy az X- és Y-kromoszómák génjeinek nincs homológjuk a PAR génjeit kivéve. Így az X-kromoszomális gének nőkben kétszer akkora dózisban íródnának át, mint férfiban. Ezt a **dóziskompenzációnak** nevezett jelenség akadályozza meg. A 4. fejezetben leírt X-kromoszóma-inaktiváció miatt a nőkben **funkcionális mozaicizmus** jön létre. Erre a legismertebb példát a kalikó (vagy a teknőctarka) macskák szolgáltatják. Csak a nőstény macskák tarkák – fekete és vörös foltosak. A foltok mérete és megoszlása attól függ, hogy hol, mennyi sejt tartalmazza a fekete színt, illetve a vörös színt kódoló X-et inaktív formában. Míg a szomatikus sejtekre a random X-inaktiváció jellemző, addig **az extraembrionális képletekben (placenta) egy imprintált, azaz az X-kromoszóma eredetétől (apai vagy anyai) függő X-inaktiváció fordul elő. A placentában mindig az apai X inaktív.**

Az inaktív X-kromoszóma interfázisban kimutatható. A magmembránhoz tapadva egy **Barr-test**nek nevezett, erősen festődő ún. **ivari kromatinrögöt** eredményez a hámsejtek magjában. A neutrofil granulociták karéjozott sejtmagjának **dobverő** alakú függeléke az inaktív X, a Barr-test egy sajátos megjelenési formája. A Barr-test kimutatása

gyors, fénymikroszkópos vizsgálata egyszerű, ezért korábban, pl. sportversenyeken gyors nemmeghatározási = szexálási módszerként alkalmazták.

Kezdetben úgy vélték, hogy az érintett X-kromoszóma teljes egésze inaktív, de ma már tudjuk, hogy **a PAR-régiók sohasem inaktiválódnak!** Sőt, a PAR génjein kívül is találtak olyan, X-kromoszómás géneket, amelyek nem inaktiválódnak, ezek egy része funkcionális, tehát átíródó homológgal bír az Y-kromoszómán, míg más részük csak nem funkcionáló pszeudogénnel bír az Y-on (ilyen a szteroid-szulfatáz *STS* génje vagy a Kallman-szindrómáért felelős anosmin gén).

Más fajokban, ahol ugyancsak előfordul a heteromorf szexkromoszóma, a dózis-kompenzációnak más mechanizmusai léteznek. *Drosophilában* a hím X-kromoszómája kétszer olyan aktív, mint a nőstényé. Ekkor 1:1 arány helyett 2:2 alakul ki. Az is lehetséges, hogy nőstényekben mindkét X csak fele olyan aktív, mint a hím egy X-e, tehát $1/2+1/2 : 1 = 1:1$ a végső arány.

Az X-kromoszóma inaktiválódásának egy érdekes lehetőségét jelenti **az ún. X-kancsal (skewed) X-inaktiváció**. Ez azt jelenti, hogy bizonyos szövetekben mindig csak az egyik – mondjuk mindig csak az apai – X-kromoszóma inaktiválódik. Ennek messzeható következményei lehetnek. Pl. egyes autoimmun betegségek kialakulását (pl. SLE), s nőkben észlelt nagyobb gyakoriságát azzal is próbálják magyarázni, hogy a csecsemőmirigyben az ott megérő T-limfociták csak az egyik féle aktív X-kromoszóma által kódolt antigént tolerálják, a másikat nem. Így mindazon sejteket/szöveteket, ahol a másik X-kromoszóma aktív, idegennek tekintik, s ellenük immunválaszt generálnak, ami a betegség tüneteinek megjelenéséhez vezet. Természetesen ez nem lehet kizárólagos oka az autoimmun betegségeknek, hiszen így pl. nem magyarázható a betegség eltérő életkorokban való jelentkezése.

Hasznos webhelyek:

www.hemophilia.org

www.mda.org

Strachan and Read (2004) Human Molecular Genetics (2nd edition, Garland)

www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=books

6.8. A fejezethez tartozó kérdések

1. Mi a nem kódoló RNS-ek szerepe a citoplazmatikus öröklődésben?
2. Milyen a dóziskompenzációs mechanizmusokat ismer?
3. Mi lehet a kancsal X-inaktiváció szerepe az autoimmun betegségek kialakulásában?
4. A családfa alapján hogyan különíthető el az X-hez kötött domináns öröklődés a autoszomális dominánstól?
5. Mi a homo- és heteroplazmia?
6. Milyen következményei lehetnek az anyai heteroplazmiának?
7. Mit tud a preeclampsia genetikájáról?
8. Mi jellemzi a pubertas praecox öröklődését?
9. Milyen gének menekülhetnek meg az X-inaktivációtól?
10. Miben térnek el egy hordozó nő tünetei, ha az X-hez kötött gén szolubilis illetve sejthez kötött terméket kódol?

7. Biológiai folyamatok genetikája

Ebben a fejezetben 3 biológiai folyamat genetikájába adunk rövid betekintést:

- a. Fejlődésgenetika
- b. Onkogenetika
- c. Immungenetika

7.1. Fejlődésgenetika

A biológia és a genetika számára sokáig megmagyarázhatatlan maradt az a tény, hogy egyetlen megtermékenyített petesejtből hogyan származhat a szervezetre jellemző annyiféle sejt. Egy felnőtt szervezetben több mint 200-féle sejttípus található, amelyek genetikai anyaga, DNS-e azonos, ugyanakkor funkcionálisan jelentősen eltérnek. Csak az epigenetikai személet (ld. [4. fejezet](#)) tette/teszi lehetővé az egyedfejlődés során bekövetkező változások pontosabb értelmezését.

Az egyedfejlődés során a fejlődési potenciák fokozatosan beszűkülnek és így a **totipotens zigótától**, a **blasztociszta pluripotens embriócsomóján** át, eljutunk a **csíralemezek multipotens sejtjeiig**, és végül a **specifikus unipotens sejtekig**, amelyek már csak saját magukhoz hasonló sejtek létrehozására képesek. A sejt-sors-meghatározás végeredményben egy naiv, sok mindenre képes sejttel indul, amely genetikailag elköteleződik egy meghatározott irányú differenciálódásra, s ezt követően először reverzibilis, majd irreverzibilis változások eredményeként eljut a végdifferenciálódott állapotba, amikor a sejt már mindazokat jellegeket mutatja, amelyek az eredeti genetikai programból megvalósultak.

Azonban már korán nyilvánvalóvá vált, hogy az **egyedfejlődés tulajdonképpen nem más, mint sejt-sors- (cell fate) meghatározás**. Ennek során a differenciálódó sejtek egyaránt információt kell kapni **leszármazásáról (lineage)** és **pozíciójáról, azaz saját identitásáról**. Míg az előbbiben elsősorban **intrinsic**, belső (pl. az osztódás szimmetrikus vagy aszimmetrikus volta), addig az utóbbiban külső, **extrinsic tényezők – sejt-sejt és sejt-mátrix kölcsönhatások vagy szolubilis morfogének** – játszanak szerepet.

Az osztódás aszimmetriájára pl. a neurogenézisben (neuroblast → neuron + glia) vagy a férfi, illetve női gametogenezisben is találunk példát. Az előbbiben a spermatogonium A és -B, az utóbbiban a polocita és a petesejt létrejötte egyaránt aszimmetrikus osztódás eredménye. **Az aszimmetria nem feltétlenül jelent morfológiai eltérést, sokszor csak funkcionális különbségek vannak az így létrejött sejtekben** (és aztán az ebből eredő többi sejtben is). Bár az aszimmetria oka nem teljesen tisztázott minden esetben, feltételezik, hogy bizonyos gének termékei nem egyenletesen oszlanak meg a kiindulási sejtben, s ez vezet az osztódási orsó tengelyének befolyásolásán keresztül az aszimmetriához. A másik lehetséges aszimmetriaok a magorsót alkotó mikrotubulus típusok (kinetokor, asztrális, poláris) eltérő stabilitásán, és az általuk generált húzóerők eltérésein alapul.

7.1.1. Morfogének

A sejtes differenciálódásban szerepet játszó szolubilis molekulák, a morfogének, amelyek hatása a koncentrációgradiensüktől függ. Ilyen morfogén pl. az **aktivin**, amely koncentrációjától függően képes a különböző sejtípusok meghatározására (pl. ~0,1 ng/ml koncentrációban mesenchima, míg 1,0 ng/ml koncentrációban harántcsíktolt izom differenciálódást váltott ki in vitro).

Egy másik **morfogén a sonic hedgehog**, amelynek a velőcső differenciálódásában vagy a szemtelepek elkülönülésében van szerepe. A velőcsőben a ventrális, centrális sejtek által termelt sonic hedgehog fokozatosan diffundálva már elenyésző koncentrációban jut el dorzális sejtekhez, így ezekből érző neuronok jönnek létre, míg **a nagy(obb) koncentráció hatására a ventrális és a laterális sejtek mozgató neuronokká differenciálódnak**.

7.1.2. Homeobox gének

Az egyedfejlődés kezdetén először anyai meghatározottságú gének termékei hatnak (lásd [6. fejezet, A nem szerepe az öröklődésben](#)), majd az embrió saját génei közül a szegmentációért felelős gének expresszálódnak, s ezt követik a pozicionális identitásért, a tengelyek (cranio-caudális, illetve végtagokban a proximo-distális) meghatározásáért felelős **HOX (homeobox) gének**. A homeobox gének egy nagy géncsaládot alkotnak, amely evolúciósan rendkívül konzervatív, a család tagjainak térbeli expressziós sorrendje a Drosophilától az emlősökig megegyezik. A géncsalád minden tagja transzkripciós faktort kódol. **Mivel egy transzkripciós faktor kaszkádon keresztül szabályozzák az egyedfejlődés lépéseit, a fejlődés mesterregulátorainak tekinthetők**. A család minden tagja rendelkezik egy 60 kodonból álló szekvenciával, a **homeobox-szal**, amely ezen transzkripciós faktorok DNS-hez kötődésért felelős fehérjemotívumát, a **homeodomént** határozza meg. Emberben 4 HOX géncsalád van: a HOXA, HOXB, HOXC és HOXD, melyekbe változó számú gén tartozik.

A **Hox gének és a morfogének kapcsolatára** a csirkeembrió-végtag differenciálódásával összefüggő kísérletek világítottak rá. A végtagbimbó ún. **polarizáló aktivitású zónája (Zone of polarizing activity = ZPA)** sonic hedgehog morfogént expresszál, és ennek koncentrációgradiense hatására a HoxD család tagjai meghatározott sorrendben expresszálva hozzák létre az ujjakat. A morfogén – HOX gén kapcsolatra utal az is, hogy emberben mindkét helyen, azaz az SHH génben és a HOXD család valamelyik tagjában bekövetkező mutáció is ugyanazt a rendellenességet, a **holoprosencephaliát** idézi elő.

Természetesen a normális differenciálódáshoz nemcsak ezek a korai kulcsgének szükségesek, hanem számos specifikus növekedési faktor által aktivált transzkripciós faktor kaszkádrendszer, valamint a sejtek proliferációjának és apoptózisának megfelelő szabályozása is elengedhetetlen, azonban ezek részletes tárgyalása messze meghaladná jelen fejezet korlátait.

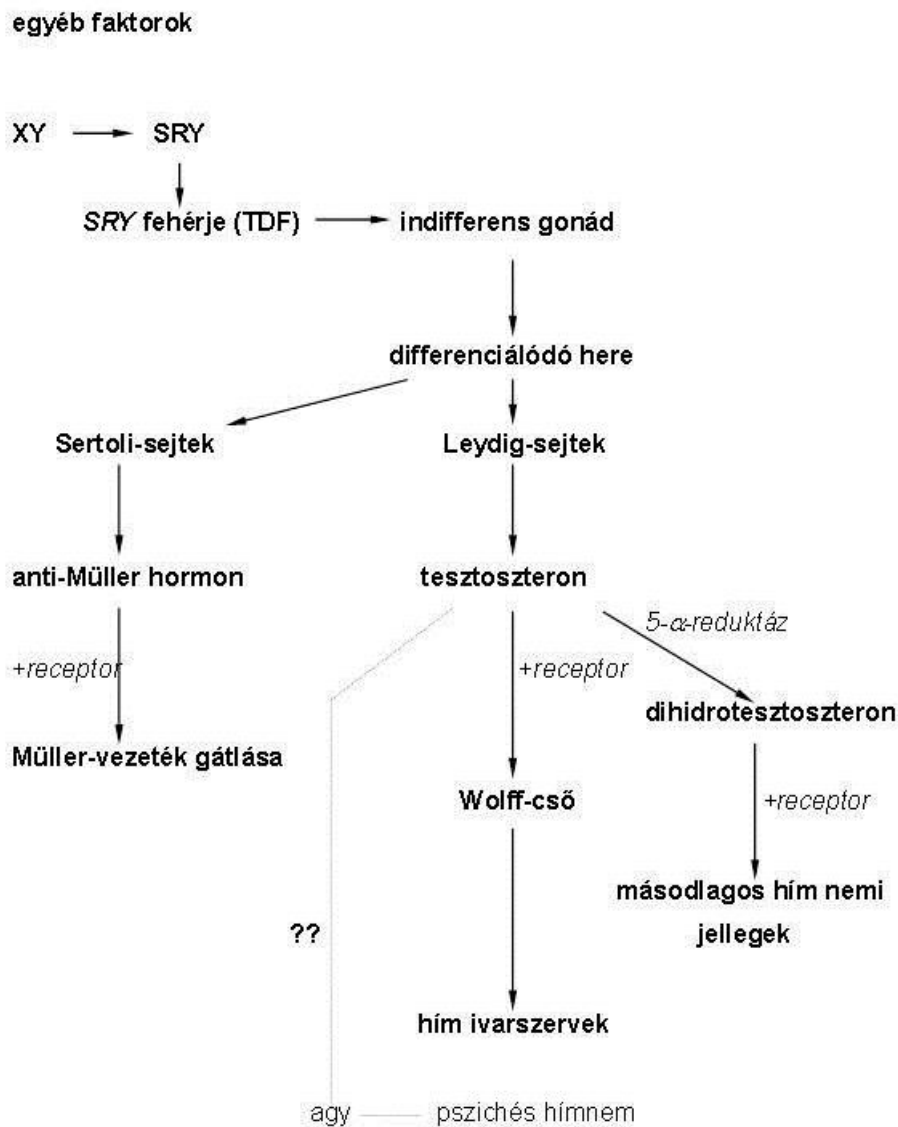
7.2. A nem genetikája

A fejlődés-genetika egy ága foglalkozik a nemi determináció, illetve a nemi differenciálódás kérdéseivel, azaz mindazokkal a genetikai folyamatokkal, amelyek révén a férfi és a női nemre jellemző fenotípus kialakul.

7.2.1. A hímnem kialakulása emlősökben

Sokéves kutatómunka kellett ahhoz, hogy azonosítsák azt a gént, molekuláris „főkapcsolót”, amely elindítja a szexuális differenciálódási folyamatot. Ez az Y-kromoszóma rövid karjára, a pseudoautoszomális (PAR1) régió közelébe lokalizált **SRY gén**. **Ha az Y-kromoszóma jelen van, s azon normális SRY található, akkor a hím szexuális differenciálódás mindenképpen bekövetkezik.**

Az SRY e szerepét olyan **transzgenikus egér**kísérlettel bizonyították, amikor a nőnemű, XX-kromoszómás blasztociszta stádiumú embrió embriócsomójába mikroinjektálták az egér *Sry*-jának megfelelő DNS-szakaszt. Az ilyen embriókat kihordó anyákba visszaültetve, hím ivarszervvel, külső nemi jellegekkel és szexuális magatartásformákkal rendelkező egerek születtek. Tehát az *Sry* elégséges volt a nem megváltoztatásához, vagyis valóban ez a hím nemi differenciálódásért felelős gén. Azonban ezek az egerek nem voltak fertilisek, ami az emberi Klinefelter-szindrómához hasonlóan, a két X-kromoszóma jelenlétének tulajdonítható.



7.1. ábra. A hímnem kialakulása emlősökben

Az **SRY egy olyan fehérjét – ezt korábban TDF-nek, testis determináló faktornak nevezték – kódol**, amely a korábbi elképzelésekkel ellentétben, **nem** egy szokványos **transzkripció faktor**, hanem egy olyan fehérje, ami a DNS-hez kötődve azt meghajlítja, ezáltal téve a klasszikus transzkripció faktorok számára hozzáférhetővé a közelében lévő DNS-szakaszokat, géneket.

Az **SRY által beindított differenciálódási kaszkád** következő láncszeme a fejlődő here **Sertoli-sejtjeinek anti-Müller hormon (AMH) vagy MIS (Mullerian inhibiting substance)** termelése. Ezáltal a női nem felé való differenciálódás, vagyis a Müller-vezeték fejlődése gátlódik. Ezután nem sokkal megindul a **Leydig-sejtek tesztoszteron-termelése**, s ezzel kialakulhatnak a gonádok és a külső nemi szervek is.

Az SRY szerepére a korábban említett kísérleteken túl emberi, a nem kialakulásának zavarai járó betegségek is utaltak. Ilyen a **szexreverzió, amikor vagy XX nemi kromoszómák mellett férfi fenotípus, vagy XY-genotípus mellett női fenotípus alakul ki**. Ezek úgy jöhetnek létre, hogy az apai meiózis során a kötelező crossing over helye nem a PAR1-ben van, hanem attól proximálisan, a centroméra felé. Így az SRY gén átkerül az X-kromoszómára, s ezzel egy rekombináns, hibás X és egy mikrodeletált Y jön létre.

Olyan szexrevertánsok is vannak, ahol azért alakul ki női fenotípus, mert az **SRY mutált**. Ilyenkor sok esetben a fehérje HMG (high mobility group) része, vagyis a DNS kötődőménje hibás, s a DNS-kötés elmaradásával a differenciálódási kaszkád sem indul el.

Bár az SRY önmagában elégséges a férfi nemi determinációhoz, azaz a differenciálódás elindításához, azonban **számos más, autoszómális** (pl. a 17-es kromoszómán lokalizált **SOX9** [SRY HMG box related genes] transzkripció faktor kódoló gén) és **X-kromoszómára lokalizált gén is szükséges az SRY bekapcsolásához, illetve a nemi differenciálódás teljes folyamatához**.

A normális nemi differenciálódáshoz nemcsak az induktorok megfelelő minősége és mennyisége szükséges, hanem az **adekvát receptoroké** is. Ezek mutációja esetén is zavart szenved a nemi fejlődés.

Az **androgén inszenzitivitási szindróma (AIS), korábbi nevén tesztikuláris feminizáció** (X-hez kötött, recesszív módon öröklődő betegség) hívta fel a figyelmet egy X-kromoszómán lokalizált génre, melynek szerepe van a hím nemi differenciálódásban. Ugyanis ebben a kórképben XY-genotípus és normális szérumsztesztoszteron-szint mellett női külső nemi jelleg alakul ki, holott a hasüregben herék találhatóak! Mivel sem a petefészkek, sem az uterus nem fejlődik ki, az ilyen betegek sterilek. A tünetekből arra lehetett következtetni, hogy a hiba a differenciálódási kaszkád tesztoszteron utáni lépéseiben keresendő (vagy a receptor, vagy annak jelátvittele, esetleg a célgénnek lehetnek hibásak). Végül a **tesztoszteronreceptor mutáció(i)t** azonosították a szindróma okaként.

A hipofízis eredetű nemi hormonoknak a nemi differenciálódásban betöltött szerepét bizonyítják a **Kallman-szindrómás** betegek tünetei. E kórképben XY nemi kromoszómák mellett a herefunkciók hiánya és a teljes szaglászéptelenség (anosmia) a legjellemzőbb tünet. A betegség oka az X-kromoszóma PAR1 régiójától proximálisan elhelyezkedő gén deléciója. A gén egy olyan **sejtadhéziós fehérjét kódol, amelynek az idegsejtek vándorlásában van szerepe**. Ezek az ősidegsejtek az egyedfejlődés során részben a szaglőidegbe, részben a hipotalamuszba vándorolnak. Ez utóbbi helyen a gonadotrop hormon releasing hormont (GHRH) termelik, s így közvetve – a hipofízis gonadotrop hormontermelésén keresztül – a gonádok differenciálódására hatnak. Ezzel érthetővé válnak a szokatlan tünetek: a herefunkciók és a szaglás hiánya. A **KAL1** génnek van Y-kromoszómás homológja is, az azonban egy inaktív **pszeudogén**.

7.2.2. A női nem kialakulása emlősökben

A női nem kialakulásáról az *SRY* gén felfedezésének idején, 1990-ben még azt gondolták, hogy az egy passzív folyamat, vagyis hogy Y-kromoszóma, azaz *SRY* hiányában mindenképpen női nem jön létre. Erre a számítógépes nyelvezet nyomán azt mondták, hogy ez a „default pathway”. Utóbb a ritka, nőről férfira történő szexreverziót mutató családok vizsgálatából kiderült, van **női szex-determináló gén** is, ez az ***R-spondin1 (RSP01)***. Ugyanis, ha ez mutál, 46,XX kariotípus mellett férfi fenotípus jelenik meg. Szemben az *SRY*-nal, ez egy ***szolubilis ligand***ot határoz meg, amely a WNT4 faktorról egy membránreceptorért (frizzled) vetélkedve indítja be a β -catenin jelátviteli utat, s vezet el a célgének aktivációjához, s ezzel a női nemi determinációhoz, majd differenciálódáshoz. Természetesen, mint a férfiakban, itt is számos egyéb transzkripció és növekedési faktor kell a végdifferenciált állapot eléréséhez, és ezek közül talán még kevesebbet ismerünk, mint a férfi nemi determináció és differenciálódás esetében. Annyi azonban bizonyos, hogy a két rendszer komponensei egymást kölcsönösen gátolják.

Jelenlegi ismereteink szerint a bipotenciális gonádban a férfi és a női útvonalat meghatározó tényezők még egyensúlyban vannak, s csak később, az *SRY*, illetve az *RSP01* expressziójával billen a mérleg nyelve az egyik vagy másik irányba.

A női szexuális differenciálódásban is fontos szerepet játszó szteroidmetabolizmus hibája okozza az autoszomális recesszív öröklődésű ***kongenitális adrenális hiperpláziát, vagyis az adrenogenitális szindrómát***. Ekkor a XX-genotípusú lánycsecsemők nem egyértelmű külső nemi szervekkel születnek, jellemző a clitoris megnagyobbodása. Egyéb tünetei a mellékvesekéreg megnagyobbodása, kortizonhiány, sóvesztés. A betegség a ***21- α -hidroxiláz enzim mutációjának*** köszönhető. A mutáció miatt a progeszteron nem tud dezoxikortizonná alakulni, hanem ***17-OH-progeszteronná*** alakul. Ez utóbbinak androgén-szerű hatása van, s ez felelős a férfiasá váló külső nemi szervekért. Bár a betegség gyakorisága 1:8000–25 000 az európai populációban, a yupik eszkimók között igen gyakori 1:500. Ennek oka valószínűleg az, hogy a ***heterozigótáknak szelekciós előnye*** van a *Haemophilus influenzae* B törzse által okozott bakteriális fertőzéssel szemben, mely a normális AA genotípusú eszkimókban nemcsak egyszerű náthát, hanem agyhártyagyulladást is okozhat.

Összefoglalásul: a nemi differenciálódás zavarait elsősorban az alábbi örökletes elváltozások okozhatják:

- az *SRY*, ritkábban az *RSP01* mutációi, illetve az ezt érintő szerkezeti rendellenességek
- a szteroid (androgén/ösztrógen) bioszintézis zavarai
- az androgénreceptor mutációi
- az *AMH* gén hibái
- X0/XY mozaicizmus
- a mezoderma, illetve a húgy/ivartelep (gononephrotom) differenciálódásában szerepet játszó gének (pl. *SF1*, *WT-1*) mutációi.

A nemi kromoszómákat érintő számbeli aberrációk azért is okozhatnak zavart a nemi fejlődésben, mert felboríthatják a folyamat szabályozóelemeinek egyensúlyát, Míg a fenti rendellenességek mindegyike vagy már a ***kromoszomális nemet*** befolyásolta vagy a nemi szervek, illetve a nemre jellemző fenotípus – a ***gonadális és genitális nem*** – kialakulásának zavarát eredményezték.

Ugyanakkor ismeretesek olyan kórképek is, amikor mind a gonadális, mind pedig a genitális nem normális, de az ivarsejtképzésben mégis zavar áll fenn. Ezért sok esetben

valamilyen autoszomális mutáció felelős, pl. a gonadotróp hormonok vagy a szexuál szteroidok bioszintézise hibás, de ma már ismerünk olyan, Y-kromoszómához kötött öröklődő nemzőképtelenséget, amelyet az Y-kromoszóma hosszú karjára lokalizált gének okoznak (pl. **AZF** = azoospermiáért felelős gén).

7.3. Össejtbiológia

A fejlődésbiológiai ismeretek gyarapodása tette lehetővé az 1980-as évek elején az egér embrionális őssejtjeinek tenyésztését, majd ezt követően a transzgenikus egerek létrehozását is. Azóta e két terület egymásra hatva fejlődik, az őssejtekről való ismereteink gyarapodása nagyban hozzájárult a fejlődéssel és a differenciálódással kapcsolatos genetikai tudás bővüléséhez, aminek nyomán 1996-ban sikerült az első emberi embrionális őssejtvonal-alapítás is, innen pedig az út elvezetett az **indukált pluripotens őssejtek (iPS=induced pluripotent stem sejtek)** létrehozásához. A blasztociszta embriócsomójából származó pluripotens embrionális őssejtekben rejlő lehetőségeket már korán felismerték, és a tenyésztési körülmények megfelelő megválasztásával az egy adott sejttípus irányába történő differenciáltatásával – pl. inzulintermelő β -sejteké vagy dopaminerg neuronokká – a terápiás alkalmazásuk is elérhető közelségbe került. Azonban az emberi embrionális őssejtek felhasználása mindig **súlyos etikai problémát** jelentett. Honnan származzanak a felhasznált embriók? Szabad-e pusztán kísérleti célból emberi embriót létrehozni? Az in vitro megtermékenyítésből származó, beültetésre nem került, ún. számfeletti embrióknak mi legyen a sorsuk? Ezekre a kérdésekre a különböző országokban különböző válaszok születtek, melyeket az adott országok törvénykezése kodifikált. (Hazánkban új emberi őssejtvonalat nem lehet létrehozni, csak a korábban, külföldön létrehozott néhány vonallal lehet megfelelő engedélyek birtokában dolgozni.)

Éppen ezért fogadta a nemzetközi tudományos közösség nagy elismeréssel Shinya Yamanaka – 2012-ben végül Nobel-díjjal jutalmazott – úttörő eredményeit. Az általa kidolgozott módszer segítségével sikerült **felnőtt, differenciálódott (unipotens) sejteket visszaküldeni az embriócsomó vagy az epiblaszt pluripotens sejtszövetek megfelelő állapotba**. Az így létrehozott sejttípust nevezzük **indukált pluripotens őssejtnek**. **A visszaprogramozáshoz a fejlődés-genetikából már ismert szerepű, ún. pluripotencia faktorok kombinációit használták** úgy, hogy az ezeket kódoló géneket tartalmazó plazmidokkal transzfektálták a célsejteket. Mivel ezek között (*LIF*, *SOX2*, *KLF4*, *cMYC*) onkogén is szerepelt (*cMYC*), az így létrehozott sejtek terápiás célú alkalmazása nem lett volna biztonságos, ezért ma reprogramozásra számos más módszert, pl. onkogénmentes kombinációt vagy csak a pluripotenciáért felelős fehérjék keverékét, alkalmaznak. Bár az így létrehozott sejtek, az embrionális őssejtekhez hasonlóan, irányítottan differenciálthatók, s bár terápiás alkalmazásuk esetén immunológiai összeférhetlenséggel sem kellene számolni, hiszen a sejtdonor és a recipiens ugyanaz a személy lenne, **sajnos a differenciálódás és természetesen a reprogramozás során zajló epigenetikus változásokat még mindig nem ismerjük minden részletükben. Legfőképpen az epigenetikus mintázat felépülését és tökéletes letörlődését nem sikerült minden részletében megismerni, és irányítottan befolyásolni sem tudjuk még.**

Mindezekkel együtt az iPS sejtek mind fejlődés-genetikai, mind terápiás célú kutatása óriási jelentőséggel bír, hiszen ezáltal számos betegség gyógyítása válna lehetővé és a donorhiányból adódó nehézségeket is leküzdhetnénk általuk.

7.4. Onkogenetika

Bár a karcinogenezis folyamatairól és kialakulásuk okairól számos más tantárgy keretében is hallanak, ebben a fejezetben a daganatképződés főbb genetikai történéseit foglaljuk össze, hiszen sejtszinten a tumorok genetikai betegségnek tekinthetők.

A daganatos betegségek 3-ból 1 embert érintenek világszerte, vagyis egy embernek ~ 33%-os esélye van a daganat kialakulásra. Már ez a nagy gyakoriság is arra utal, hogy **a tumorok létrejötte általában nem monogénes eredetű**. Kivételt képeznek az olyan ritka monogénes tumorok, mint pl. a *retinoblastoma* vagy a *Li-Fraumeni-szindróma*. **Kialakulásuk hátterében számos genetikai eredetű hajlamosító tényező (mutációk) és környezeti hatások állnak.**

A rákot olyan betegségcsoportként írhatjuk le, amelyet mutáns sejtek korlátlan proliferációja és a szervezetben való szétterjedése jellemez.

A karcinogenezist az alábbi lépések fémjelzik:

- A növekedési szignáloktól való függetlenség
- A korlátlan proliferációs képesség
- A növekedést gátló útvonalak hiánya
- Az apoptózis elkerülése
- Angiogenezis
- Metasztatizáló képesség.

A mutációk mind spontán, mind pedig valamilyen környezeti tényező által indukáltnak jöhetnek létre a [2. fejezet](#)ben (Mutációk és polimorfizmusok) tárgyalt mechanizmusok révén. **A legtöbb mutagén anyag egyben karcinogén is.**

A karcinogenezisben három nagy géncsaládot érintő mutációk játszanak kulcsszerepet. Ezek az **onkogének, a tumorszuppresszor gének és az ún. mutátor-gének**. A mutátorgének a DNS-hibajavításban vesznek részt (lásd [2. fejezet](#)), tehát ezek hibás működése révén rögzülhetnek a genomban a tumorképződéshez vezető mutációk.

7.4.1. Onkogének

Az onkogének tulajdonképpen megváltozott funkciójú, normális gének (protoonkogének), amelyek alapvetően a sejtciklus-szabályozásban játszanak szerepet. Az ilyen gének közé tartoznak a növekedési faktorokat (pl. EGF), ezek receptorait (pl. EGFR), a szignáltranszdukciójukban érintett komponenseket (pl. Ras, Raf,) és transzkripciósfaktorokat kódoló gének. Ezek mutációi vezethetnek el a növekedési faktoroktól független, korlátlan szaporodáshoz – pl. ez a mutáns receptor tirozin kinázok konstitutív aktivációjának eredménye is. **Az onkogének aktiválódását nemcsak a fenti szereplők pontmutációi, hanem génamplifikáció, illetve kromoszóma-transzlokációk** (pl. a krónikus mieloid leukémia esetében leírt a Ph₁ kromoszóma létrejöttéhez vezető t(9;22) transzlokáció (ld. [3. fejezet](#)), amely egy fokozott tirozin-kináz aktivitású fúziós fehérjét eredményez) **is okozhatják.**

A klasszikus genetikai változások mellett epigenetikai eltérések – epimutációk – is onkogén aktiválódást válthatnak ki. Ismeretes hogy az életkor előrehaladtával fokozódó genom hipometiláció gyakran érint onkogéneket. Ezzel nemcsak az onkogének nagyobb aktivitását tudjuk magyarázni, hanem azt az ismert jelenséget, hogy bizonyos daganatok gyakorisága az életkorral növekszik. Az onkogének és az

epigenetika kapcsolatára egy sajátos példát az imprintált *IGF2* (inzulinszerű növekedési faktor 2) ad. Normális vastagbélhámsejtekben csak az anyai allél expresszál, de vastagbél-tumorokban az *imprinting elvész (LOI = loss of imprinting)*, az apai allél is kifejeződik, s kialakul a tumor.

7.4.2. Tumorszuppresszor gének

A növekedésgátlás elmaradása a tumorszuppresszor gének mutációjának köszönhető. A normális tumorszuppresszorok a protoonkogénekkal együtt a sejtciklust szabályozzák, illetve örökdnék a genom épsége felett. Amennyiben a genomban sérülést észlelnek, a sejtciklus leállítására és a hibajavításra „utasítják” a sejtet. E két alfunkció szerint szokás „kapuőrökről” (*gate keepers*) és „gondnokról” (*care takers*) beszélni. Az előbbibe tartoznak a klasszikus tumorszuppresszorok pl. a ***RB* és a *TP53* gének**, az utóbbiba – a más felosztás szerint ***mutátornak nevezett – DNS-hibajavító gének*** (pl. a mismatch repair ***MLH1* és *MSH2* génjei**).

Míg a protoonkogének egyetlen mutáns alléja elégséges az onkogenezishez, tehát itt domináns mutációkkal kell számolni, addig a tumorszuppresszorok esetében mindkét allél mutációja kell a növekedést gátló funkció elvesztéséhez. Itt tehát recesszív a mutáns. A care taker vagy mutátorgének esetében ***a haploinsufficiencia jelensége*** is szerepet játszhat az onkogenezisben, ugyanis az egyik allél mutációja esetén a megmaradó normális allél már csak csökkent funkcióra képes, és sokszor már ez is elégséges a nagyobb számú kijavíthatatlan mutáció miatt a daganatképződéshez.

Knudson a tumorszuppresszorok (a *RB*) vizsgálata során állította fel az ***ún. két-találat hipotézisét (two hit theory)***. Eszerint bizonyos daganatok kialakulásához a tumorszuppresszor géneket érintő, két egymást követő mutációs esemény szükséges. Ebből az egyik általában már öröklötten jelen van (pl. ***familiáris retinoblasztóma***), míg a másik csak bizonyos szervekben alakul ki, így a korábbi heterozigóta állapot elvész, és a homozigóta mutáns tumorszuppresszor gén miatt kialakul a daganat. A ***sporadikus esetekben*** mindkét mutáció ugyanabban a személyben következik be. A jelenséget a ***heterozigótaság elvesztésének = loss of heterozygosity = LOH***-nak nevezik, s a mai molekuláris biológiai vizsgálómódszerekkel felderítve, alkalmas lehet a rákmegelőző, prekancerózus állapot kimutatására.

Az onkogénekhez hasonlóan a tumorszuppresszor géneknél is szerepet játszik az epigenetika, az epimutációk. Míg a normális tumorszuppresszorok *promoterek CpG dinukleotidjai* nem metiláltak, ezzel biztosítva gén expresszióját, addig a daganatokban ezek sokszor *hipermetiláltak*, így a gén transzkripciója gátlódik, s elvész a *túlzott sejtproliferáció kivédésének lehetősége*. Egy másik epigenetikus kapcsolat a tumorszuppresszor fehérjék és a ***HDAC (hiszton deacetyláz)*** komplex kialakulása. A normális szuppresszor fehérjék kapcsolatba lépnek a HDAC-zal, ezáltal elindítják a kromatin remodelleződést, a heterokromatinizációt, amely az érintett terület géneinek működését korlátozza, ezáltal gátolva a sejtproliferációt. A mutáns szuppresszorok erre nem képesek, az eukromatikus szerkezet megmarad és a proliferáció folytatódhat.

7.4.3. Anti-apoptotikus gének

A ***TP53*** tumorszuppresszor génnek, mint a genom őrzőjének, nemcsak a DNS-károsodást követő sejtciklus leállításában és a DNS-hibajavítás stimulálásában van szerepe, hanem nagyfokú, javíthatatlan károsodás esetében az apoptózis kiváltásában is. Vagyis ennek mutációja miatt nemcsak a sejtciklus folyhat változatlanul tovább, hanem a súlyosan károsodott, mutáns sejtek is túlélnek, tehát a ***TP53*** mutáció két oldalról is hozzájárul

a tumorképződéshez. Ezzel is magyarázható az e gén mutációjával járó **Li-Fraumeni-szindrómában, a sok különböző szervet egyidejűleg érintő sokféle tumor.**

A belső, apoptotikus útvonal hibás működése, pl. **a p53 és/vagy a mitokondriális Bcl-2** érintettsége miatt nemcsak az apoptózis elmaradásának, hanem a tumorsejtek kemoterápiával szembeni rezisztenciájának is oka lehet.

7.4.4. Telomeráz

Ismert, hogy az eukarióta-DNS, a replikáció sajátosságai miatt, a szomatikus sejtekben osztódásról osztódásra rövidül. Ez a kromoszómák telomérikus és szubtelomérikus repetitív szakaszain jelentkezik, s kb. 50–70 osztódást követően a sejt elnyugvásához, az osztódás leállításához, öregedéséhez vezet. A csíravonal sejtjeiben **a telomeráz enzim, amely egy reverz transzkriptáz részből és egy telomérikus, DNS-komplementer RNS-szakaszból áll, képes a teloméra hosszát visszaállítani.** Ez a genom generációról generációra változatlan hosszban történő átadása szempontjából alapvető fontosságú. Ugyanakkor **a tumorsejtek is rendelkeznek teloméra-helyreállító képességgel. Ez vagy a telomeráz enzim indukciójával, vagy egy rekombináción alapuló, alternatív telomérahosszabbítással lehetséges.**

Ha egy sejt, különböző mutációk miatt, elkerüli az extrém rövid telomérák miatti sejtpusztulást, genomja instabillá válik, ami a korábban már említett mutációkon (amplifikáció, transzlokációk) át a sejt onkogén transzformációjához vezet. Ezt csak tovább erősítheti a mutált gének által indukált telomeráz (pl. c-MYC képes a telomeráz promotéréhez kötődve azt aktiválni!).

7.5. Immungenetika

Az immunológia tantárgy keretében számos, az immunrendszer működése szempontjából alapvető genetikai folyamatról is szó esett. Ezek közül talán a legkülönlegesebb az a folyamat, amely az immunglobulinok (B-sejt receptorok) és a T-sejt receptorok óriási diverzitásához vezet. **Minden ember kb. 10^{11} -féle ellenanyagot képes előállítani, holott az emberi haploid genom mérete „csak” 3×10^9 bázispár.**

Ennek az ellenmondásnak a feloldását a **szomatikus génátrendeződés és szomatikus mutációk** teszik lehetővé.

Az emberi genomban csak 3 immunglobulin (Ig)/B-sejt receptor (BCR) lókuszt (*IGH*, *IGK* és *IGL*) van, amelyek a nehéz- és a kétféle könnyűláncot (κ és λ) határozzák meg, valamint 4 T-sejt receptor (TCR) lókuszt (*TRA*, *TRB*, *TRG* és *TRD*) található, amelyek a 4 (α, β, γ és δ) TCR lánc szintézisét teszik lehetővé.

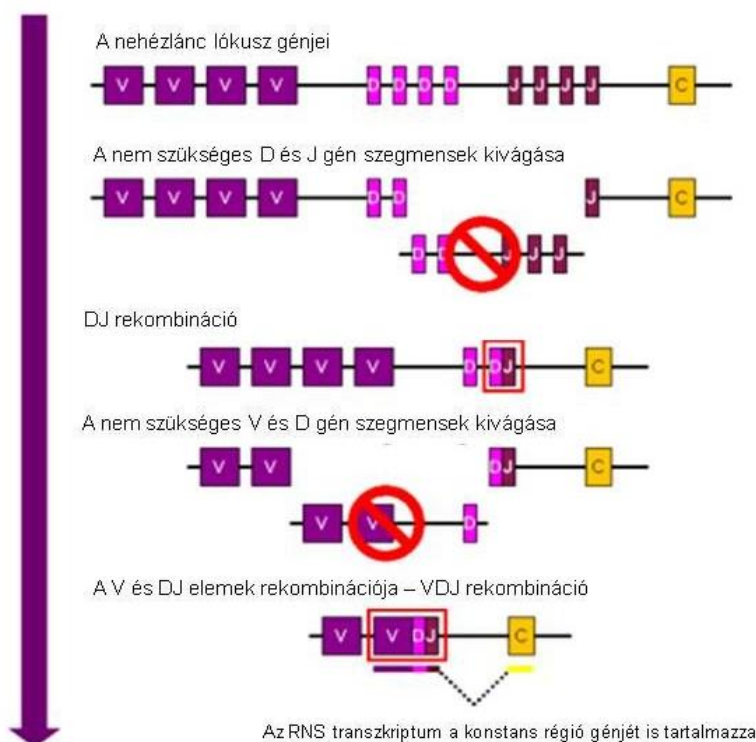
Az óriási diverzitás ellenére minden egyes B- és T-sejt **monospecifikus**, azaz csak egyféle Ig-t vagy TCR heterodimert képes előállítani, amelyek csak egyetlen antigénre specifikusak. A különböző B- és T-sejtek más-más antigénre specifikus, más-más Ig-t és TCR heterodimert expresszálnak, így az e sejtek milliárdjaiból álló populáció együttese teszi az immunrendszert gyakorlatilag bármilyen antigén felismerésére képessé. A diverzitás a megfelelő gének sajátos jelrendeződésének és expressziójának köszönhető.

Emlékeztetőül tekintsük pl. az Ig-okat. Minden Ig 4 láncból áll, 2 nehéz- (H) és 2 könnyű-(L)láncból. Minden lánc pedig egy variábilis (V) és egy konstans (C) régiót tartalmaz. Az emberi genomban nincsenek komplett gének a nehéz és a könnyű Ig lánc meghatározására, hanem minden egyes H és L lánc számos egymástól szeparált gén által meghatározott. A nehézlánc variábilis régiója 3 doménből: a V(variable), a D (diversity) és J (joining) áll. A könnyűlánc esetében a D szegmens hiányzik. **A H lókuszon közel 200 V,**

kb. 30 D és 9 J gén (ebből 3 pszeudogén) található. Ezek a gének a nem-immunszervekben inaktívak, és csak a T- és B-sejtek érésekor válnak aktívvá. Az elsődleges immunszervekben ezekből a génekből egy-egy (egy V, egy D és egy J) **random kombinálódik**, és kerül egymás mellé úgy, hogy egy olyan új fúziós exont hoznak létre, ami a H lánc variábilis régióját határozza meg.

A folyamatot szomatikus génátrendeződésnek vagy **szomatikus rekombinációnak** nevezik, amely **DNS splicing** révén valósul meg (7.2. ábra). A V-D-J rekombinációban **a rekombinációt aktiváló gén 1 és 2 által kódolt a RAG1 és -2 enzimek** vesznek részt.

Az immunglobulinok nehézláncában a D-J és V-DJ kapcsolódás, a könnyűláncok közül a **λ -láncában** a V-JC, a **κ -láncában** pedig V-J átrendeződés valósul így meg. Mind a nehéz (VDJ-C), mind pedig a könnyű láncok (VJ-C) további átrendeződései **mRNS splicing** eredményeként jönnek létre.



7.2. ábra. Szomatikus génátrendeződés az immunglobulinok nehézláncának kialakulásakor – http://en.wikipedia.org/wiki/File:VDJ_recombination.png; 2013. 07.03.

Ugyancsak RNS splicing zajlik a membránkötött IgM C doménjéről a szolubilis IgM C doménjére történő váltás során is.

A T-sejt receptorok szomatikus génátrendeződése az immunglobulinokéhoz hasonló sorrendben zajlik.

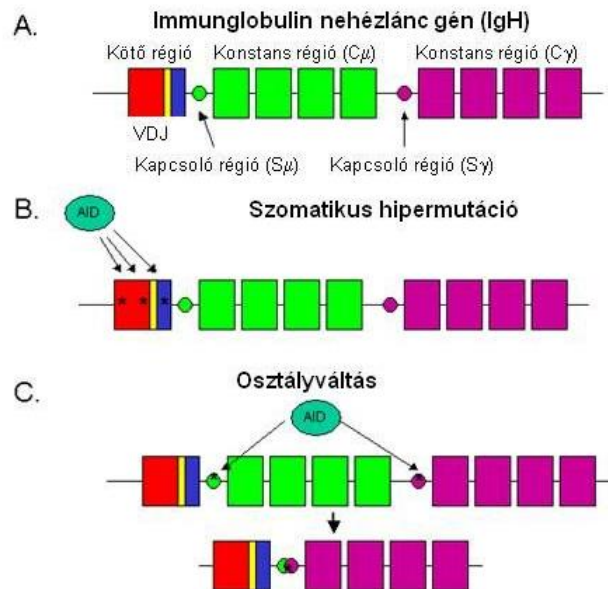
A diverzitást tovább fokozza az a tény, hogy a rekombináció néhány bázist 5' → 3' irányban is csúszhat, illetve, hogy a RAG rekombinázők kétszálú DNS-törést válthatnak ki, amelynek hibajavítása pontatlan, ezáltal az antitestek specifitása még inkább eltérhet.

Másrésről, **van egy szomatikus hipermutációs mechanizmus, amellyel a véletlenszerű báziscserés mutációk következnek be a B sejtek V régiójában.**

Ez a mechanizmus nem működik más sejtekben, és más géneket nem érint, csak egy kb. 1,5 kilobázisnyi régiót. Ez csak a B sejt aktivációjakor fordul elő: miután az egy

antigén hatására osztódni kezd, a létrejövő **szomatikus hipermutáció módosítja az antigénkötő régiót**. Az antigént legjobban kötő sejtek élnek túl és a többi B sejtnek többször osztódnak. Ezt a folyamatot nevezik **affinitásérésnek**.

Ezt az **aktiváció indukált citidin dezamináz (AID)** váltja ki, amely uracillá dezaminálja a citidint. Ez a különböző mechanizmusok révén, nem pontosan javított bázis mismatch több különböző mutációt is eredményezhet.



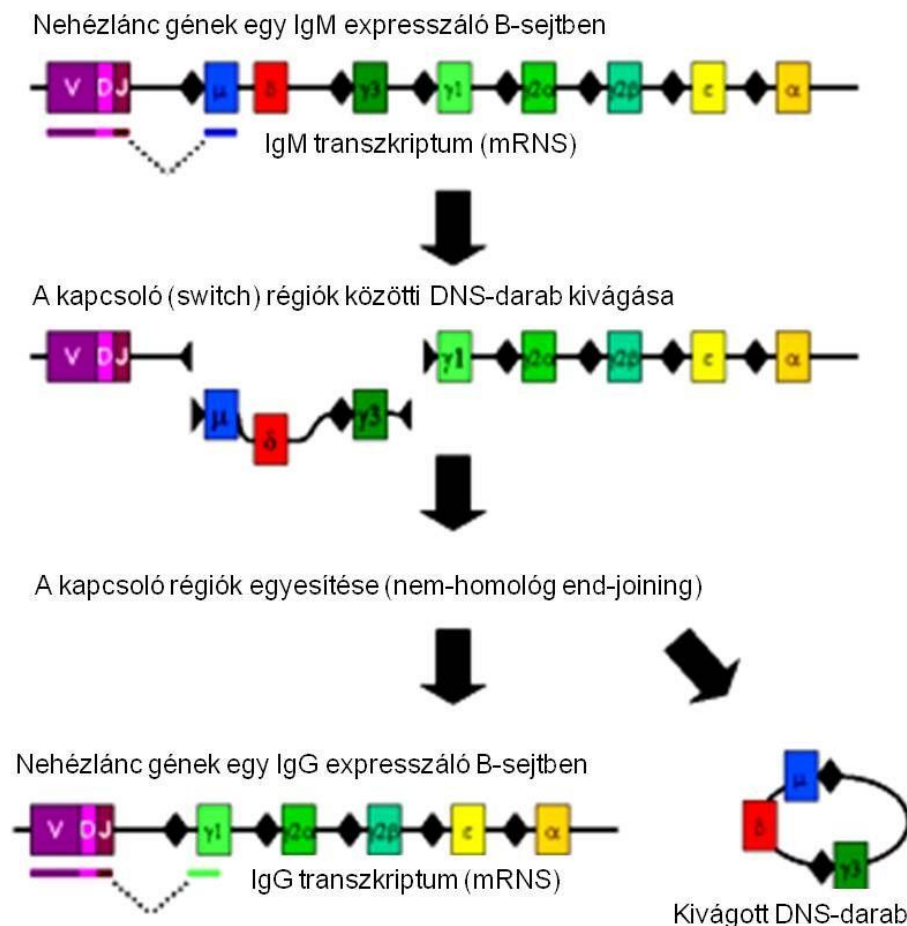
7.3. ábra. Szomatikus hipermutáció és nehézlánc osztályváltás – <http://pandasthumb.org/archives/2006/07/3-recent-report.html>; 2013. 07.03.

A szomatikus génátrendeződés harmadik esete az **immunglobulinok osztályváltása**. A nehéz láncok C régiójuk alapján 5 osztályba sorolhatók. Minden H gén tartalmazza mind az 5 Ig osztály C régióit, olyan kromoszomális elrendezésben, hogy az IgM C régiója van a V régióhoz legközelebb. Számos különböző C régiója van az IgG és az IgA osztályoknak, amelyek alapján ezek további alosztályokba sorolhatók. Az IgM az első fajta ellenanyag, amelyet minden egyes B sejt termel. Azonban egy idő után a B sejt átvált egy másik osztályba tartozó ellenanyagra. Ez egy harmadik DNS splicing, amelyben a DNS a VDJ és a konstans régió között kivágódik, ezzel egy új Ig osztályt hozva létre. **Mivel a variábilis régió ekkor változatlan marad, az antigén specifitása sem változik. Az adott antigénnel szembeni affinitása változatlan marad, csak más effektor molekulákkal lép kölcsönhatásba.**

Ezek a diverzifikációs mechanizmusok gyakran eredményeznek nem működő Ig géneket: ezek vagy stop kodonokat tartalmaznak vagy a leolvasási keret csúszik el.

A fejlődő B sejtek egy ún. **allél exklúziós mechanizmust** használnak, amelyben minden B sejt csak 1 aktív L láncot és 1 aktív H láncot termel. A sejt az L gének minden egyes példányát és a H gének minden egyes példányát kipróbálja.

Ha egy aktív lánc jön létre, nincs szükség további DNS-splicingra. Ha azonban egy nem működő Ig jön létre, a sejt ezután kipróbálja a következő L vagy H gént. Ez a folyamat addig folytatódik, amíg az aktív H és L lánc el nem készül, vagy amíg az összes gént ki nem próbálták (viszont ebben az esetben a sejt elpusztul).



7.4. ábra. Immunglobulinok osztályváltása: IgM → IgG –
http://en.wikipedia.org/wiki/File:Class_switch_recombination.png; 2013. 07.03.

A fenti mechanizmusok mellett bizonyos **epigenetikus mechanizmusok**nak is szerepe van a diverzifikációban például azért, hogy hisztonmódosulások és az ezeket követő kromatin remodellezés egy ún. **rekombinációs centrumot** hoz létre, s így az adott Ig vagy TCR régiót hozzáférhetővé teszi a RAG rekombinázok számára.

Az epigenetika immunológiai szerepére utal egy korábban nem ismertetett monogén betegség, az **ICF-szindróma** is. Ez az Immundeficienciával (agammaglobulinémia), az 1-es, 9-es, 16-os kromoszómák Centromérikus instabilitásával és **Faciális** (arc) diszomorfiával járó betegség a **DNMT3B**, egy de novo DNS-metiltranszferázt kódoló, autoszomális gén (20-as kromoszóma) mutációja eredményeként jön létre. Ekkor, bár a mutáció egy gént érint, a tünetek mégis számos más gén hibás metilációjának, pontosabban a térben és időben megfelelően zajló metiláció elmaradásának köszönhetően alakulnak ki.

Hasznos webhelyek:

www.imgt.org
www.p53.iarc.fr6index.html
www.methylgene.com
www.cancer.org
www.isscr.org

7.6. A fejezethez tartozó kérdések

1. Milyen onkogén aktivációs mechanizmusokat ismer?
2. Mi az LOI?
3. Mi a care taker és gate keeper gének feladata?
4. Mit tud az iPS sejtekről?
5. Mi a sonic hedgehog és min alapszik hatása?
6. Mi a HOX gének szerepe?
7. Mi az SRY és az RSPO1 szerepe?
8. Mondjon példát a karcinogenezissel kapcsolatos epigenetikus változásokra!
9. Ismertesse Knudson-hipotézisét!
10. Miért nem tekinthető a szomatikus rekombináció epigenetikus mechanizmusnak?

8. Bevezetés a genomikába

8.1. Genomika

Bár a genomika tudománya már több évtizedes múltra tekint vissza, tulajdonképpen csak az elmúlt két évtizedben vált még az élő természettudományokkal foglalkozók között is igazán ismertté. Annak ellenére azonban, hogy jelenleg is a leggyorsabban fejlődő tudományágak közé tartozik, a hétköznapi emberek túlnyomó többsége, sőt például a régebben végzett orvosok, gyógyszerészek számára is gyakorlatilag ismeretlen fogalmat takar. Éppen ezért a bevezetőben néhány fogalmat definiálunk.

Először is: Mi az a genom? A **genom**: Egy szervezet öröklődő információinak összessége, mely DNS vagy egyes vírusokban RNS formájában tárolódik. A genom magába foglalja mind a fehérjéket kódoló géneket, mind a nem-kódoló DNS/RNS szekvenciákat. Emberben a genom egy diploid sejt teljes haploid DNS-tartalma, plusz a mitokondriális DNS. Mivel a férfiak és a nők genomja különbözik abban, hogy a férfiaknak kétféle nemi kromoszómájuk van (X és Y), a genom meghatározásánál ezt is figyelembe kell venni. A következő fontos kérdés, hogy **mivel foglalkozik a genomika**? Igazából erre többféle definíciót is lehet adni, ezek közül talán a legegyszerűbb: A genom működésének, szerkezetének, kölcsönhatásainak vizsgálata és az ezekhez tartozó módszerek. A DNS vizsgálatán túl azonban ide tartoznak az RNS-ek vizsgálatai (transzkriptomika), a fehérjék vizsgálatai (proteomika), és a bioinformatika is. Mivel angolul a genomika és a hozzákapcsolódó tudományok jó része „omics”-ra végződik, ezekre összefoglaló néven „**omics**”-ként, magyarul „**omika**”-ként is szoktak utalni, és önálló szóvá, sőt tudományággá alakult (<http://en.wikipedia.org/wiki/Omics>; <http://www.omicsworld.com/>).

Egyes meghatározásokban a genomikát a molekuláris rendszerbiológia szinonimájának is definiálják, amelyben a genomszintű szerveződések alapján ismerjük meg a világot. Valójában a genomika inkább a rendszerbiológia részének tekinthető. A genomika vizsgálatának tárgya alapján különböző alcsoportokra osztható. Lehet például: struktúrális genomika; komparatív genomika; funkcionális genomika; humán genomika; farmakogenomika; orvosi genomika stb. Ebben a könyvben főleg az utolsó hárommal foglalkozunk.

Van még egy fontos kérdés, ami sokak számára problémát jelent. Mi a **különbség a genetika és a genomika között**? Igazából nem húzható éles határvonal a két tudományág közé, mindenesetre általánosságban elmondható, hogy ha egy gént vagy genetikai variációt vizsgálunk, akkor genetikáról szoktunk beszélni, ha több gént vagy az egész genomot mint rendszert vizsgáljuk akkor genomikáról beszélünk. Ebből következik, hogy a genomika, mivel a rendszerbiológia témakörbe tartozik, általában jóval összetettebb módszereket igényel. Azonban, még a tudományos szóhasználatban is, a két szó használata erős átfedést mutat.

8.2. Humán Genom Projekt

A genomika tudomány ugrásszerű fejlődését a Humán Genom Projektnek (HGP) köszönhetjük. A következőkben, a teljesség igénye nélkül, röviden ismertetem a HGP történetét, célkitűzéseit és néhány eredményét [1].

Érdekes módon a HGP az amerikai Energiaügyi Minisztérium (Department of Energy, DOE) kezdeményezésére indult el. Ennek a minisztériumnak az elődjei voltak ugyanis az atombomba kifejlesztésének irányítói. Miután Japánban az amerikaiak ledobták a két atombombát, az amerikai kongresszus azzal bízta meg a DOE elődjét, hogy tanulmányozza a genomot, hiszen a nukleáris sugárzás hosszú távú károsító hatásának az oka a genom sérülése. Mivel a genomot úgy lehet legjobban tanulmányozni, ha megismerjük annak felépítését, 1986-ban a DOE és az NIH (National Institute of Health) elhatározta a HGP elindítását. A szervezőmunka 4 évig tartott, és **1990. október 1-jén hivatalosan is elindult a HGP.**

A projektre 15 évet és **3 milliárd dollárt** szántak. A projekt **fő céljai** a következők voltak: Azonosítani a kb. 100 000 gént a humán genomban; Meghatározni a humán genomot felépítő 3 milliárd bázist; Nyilvános adatbázisokban tárolni az információkat, és szoftvereket fejleszteni az elemzéshez; Bevonni a magánszektor; Etikai, törvényi és társadalmi problémákat tisztázni; Modellszervezetek megszekvenálása (pl. egér, csimpánz, háziállatok; növények, mikroorganizmusok, patogének stb.). Ez utóbbival választ kaphatunk olyan kérdésekre, mint pl.: Miért ember az ember (csimpánz vs. ember)? Melyek az élethez nélkülözhetetlen gének (konzervált gének, amelyek minden élőlényben megtalálhatók)? Patogének, háziállatok, növények megszekvenálása.

A HGP nem ment teljesen zökkenőmentesen. 1998-ban, a projekt tervezett idejének a felénél, még csak az emberi genom 5%-a volt ismert, és reménytelennek látszott a projekt sikeres teljesítése. **Craig Venter**, a projekt egyik vezető alakja egy új módszer bevezetését javasolta. Ez az ún. „*shotgun sequencing*” lényege az volt, hogy a genomot rövid darabokra felszabdalták, ezeket a darabokat megszekvenálták, majd az átfedő szekvenciák segítségével összeillesztették őket. A módszer bizonyítottan működött kisebb (bakteriális) genomoknál, azonban a HGP vezetői úgy gondolták, hogy a nagyságrendekkel nagyobb emberi genomnál ez a módszer nem fog működni. Venter ezért kilépett a HGP-ből és saját céget (**Celera**) alapított, és magántőke bevonásával be akarta bizonyítani, hogy jól működik a módszere. Ez a kiválás katalizátorként hatott az eseményekre. A gyorsuláshoz persze az is hozzájárult, hogy a 8 év alatt rengeteg olyan fejlesztés történt, amelyek hatása ekkorra érett meg. A szekvenálást a Sanger által kifejlesztett didedoximódszerrel végezték, amelynek egyik hátránya az volt, hogy a DNS-t felépítő négy nukleotid sorrendjét 4 külön zajló reakció segítségével állapították meg, melyek termékeit egymás mellett, 4 külön csíkban kellett elektroforézis segítségével futtatni. Ezzel kapcsolatban kifejlesztették, hogy ha 4-féle fluoreszcens festékkel jelölik meg a 4 terméket, azok egyszerre, egyetlen kapilláris elfo segítségével is futtathatók. Ráadásul pl. az Applied Biosystem olyan szekvenálóautomatát is kifejlesztett, amely egyszerre 96 kapillárisal tudott dolgozni és mindössze napi 15 perc beavatkozást igényelt. De kifejlesztették például a bakteriális mesterséges kromoszóma-vektort, amelyekbe a korábbiaknál lényegesen nagyobb (100-200 kilobázis) genomdarabot lehetett klónozni. Az egyéb jelentős fejlesztések mellett kiemelkedik a számítástechnika fejlődése. A humán genomot felépítő több mint 3 milliárd „betű” tárolása, kezelése, annotálása a 90-es évek elején még mégdrága szuperkomputereket igényelt, manapság már bármelyik személyi számítógép is könnyedén megbirkózik a feladattal. Ezzel kapcsolatban rengeteg új bioinformatikai módszer került kifejlesztésre és számos nyilvános, felhasználóbarát, online adatbázis

alakítottak ki. Mindezek hatására 1999-től 15 hónap alatt 10%-ról 94%-ra nőtt a megismert humán szekvencia aránya. A szekvenálásokat nagy, gyárszerű épületekben végezték. A szekvenálás sebességére jellemző, hogy 1999-ben a HGP havonta 7 millió mintát dolgozott fel, és másodpercenként 1000 nukleotidot szekvenált meg. A Celera teljesítménye még lenyűgözőbb. A mindössze 65 fős személyzetből álló szervezet 1999. szeptember 8-a és 2000. június 17-e között 14,9 milliárd bázist szekvenált meg, ami a teljes humán genom közel 5-szörös lefedését tette lehetővé. A Celera és a HGP végül egymással megegyezve, egyszerre, 2001 februárjában, ugyanazon a héten közzétették eredményeiket a világ két vezető tudományos lapjában, a Nature-ben és a Science-ben [2, 3]. A közzétett eredmények még csak a humán genom ún. „draft” szekvenciáját tartalmazták, azaz számos lyuk (gap) volt még benne, illetve sok szekvenálási hibát tartalmazott. Ebben egy szekvencia 4-5-szörös lefedéssel volt megszekvenálva. **A HGP hivatalosan 2003 áprilisában** zárult, amikor elkészült a magas minőségű, jóval kevesebb lyukat tartalmazó, 8-9-szeres lefedettségű humán genom szekvenciája [4].

8.3. DNS-szekvenálás

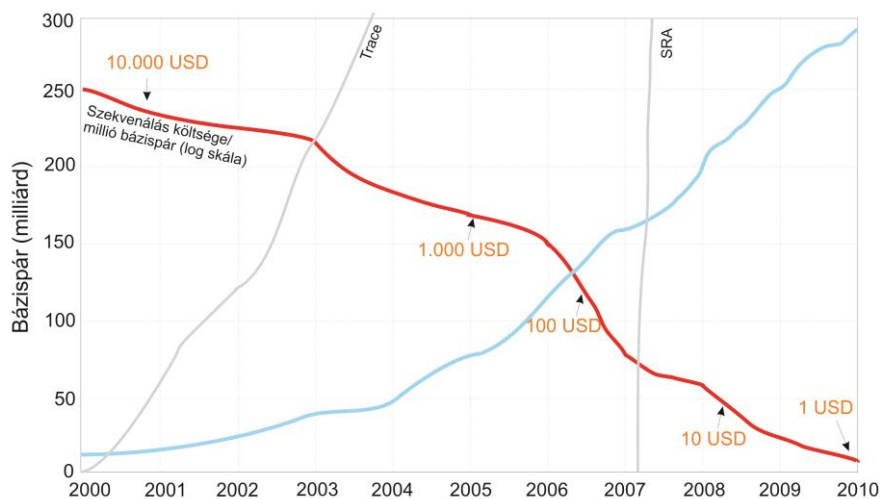
A DNS-szekvenálás fejlődése a HGP befejezése óta is töretlen. A humán genom szekvenciáját a HGP-ben Sanger módszerével a didedoxi-szekvenálással határozták meg. A HGP összköltsége 3 milliárd \$ volt, Craig Venter genomjának megszekvenálása összesen 70 millió \$-ba került. 2001-ben egy humán genom megszekvenálása minimum egy évbe tellett. Nyilvánvaló, hogy ekkora költség és ennyi idő nem alkalmas arra, hogy a genom-szekvenálás a mindennapi rutinná váljon, de még arra sem, hogy sok ember genomját megismerjük, összehasonlítsuk. Az is lassan világossá vált, hogy ennek a módszernek a továbbfejlesztésével nem lehet jelentősen csökkenteni a költségeket, illetve az időt. Azonban a szakértők számára nyilvánvaló volt, hogy ha olcsóvá és gyorsá lehetne tenni a szekvenálást, az óriási előrelépést jelentene például a gyógyszerkutatásban vagy a személyre szabott gyógyászatban, de a felhasználási lehetőségek száma szintén végtelen. Hogy a fejlesztéseket elősegítsék, létrehozták az **Archon X-díjat** a genomikáért (8.1. ábra) [5]. Ezt a díjat, 10 millió \$-ral együtt, az a cég kapja, amelyik képes 100 emberi genomot, maximum 10 nap alatt, maximum 1 hibával 100 ezer bázisonként, és nem többért, mint 10 ezer \$/genom költségért megszekvenálni. Ez a felhívás 2006-ban sokak számára még kicsit utópisztikus vágyalomnak tűnt, azonban hamarosan kiderült, hogy a célt valószínűleg hamarabb fogják elérni, mint ahogy azt sejtették. Abban mindenki egyetértett, hogy nem is a kitűzött 10 millió \$ az igazi tét, hiszen, ha egy cég jelentős piaci előnyhöz jut ezen a piacon, az ennél nagyságrendekkel nagyobb hasznot fog elérni. Mindenesetre számos cég, illetve szervezet egymással párhuzamosan olyan radikálisan új fejlesztésekbe, újításokba fogott, hogy rövidesen többen is a cél közelébe kerültek. A didedoxi-szekvenálás helyett olyan módszereket fejlesztettek ki, mint pl. a szekvenálás ligálással (solid technológia, Applied Biosystem), a piroszekvenálás (454 technológia, Roche) vagy a szekvenálás reverzibilis terminátorral (Solexa technológia, Illumina). A módszerek annyira sikeresek voltak, hogy a szekvenálást 2007-ben megválasztották az év módszerének [6]. Az új módszerek közül először 2007-ben, a 454 technológiával, James Watson genomját szekvenálták meg 2 hónap alatt, 1 millió \$-ért, ami még ugyan messze volt a kitűzött céltől, de máris óriási előrelépést jelentett a korábbiakhoz képest. Sőt az összes cég folyamatos fejlesztésben van, és egyre lejjebb szorítják mind az időt, mind a költségeket. Például az Applied Biosystem 2008-ban 6 ezer \$-ért szekvenált meg egy genomot. 2011-ben az Illumina HiSeq 2000 rendszerével 30x-os lefedettséggel két emberi genom megszekvenálása 8 nap alatt történik, 6 ezer \$ dollár/genom költséggel. A

Complete Genomics nevű cég egy cikkében 40x-es lefedettséggel már 1500 \$-ról írt. De a verseny tovább folyik, új technikákkal vagy a régiek tökéletesítésével szinte havonta jelennek meg újabb hírek a szekvenálás árának csökkenéséről és sebességének növekedéséről (8.2. ábra).

A szekvenálás fejlődését kihasználva olyan projektek indultak, mint pl. az 1000 genom projekt, amely különböző etnikumú populációkhoz tartozó, összesen 2500 ember megszekvenálását tervezi. A projekt 2008-ban indult, és első eredményeit már 2010 októberében közzétették [7, 8]. De ilyen projektek például a **Genome 10k projekt**, amely 10 ezer gerinces faj megszekvenálását tervezi (<http://genome10k.soe.ucsc.edu/>), vagy a 2011 márciusában indult **i5k projekt**, amely 5000 rovar megszekvenálását tűzte ki célul (<http://www.arthropodgenomes.org/wiki/i5K>).



8.1. ábra. A genomikai X-díj emblémája (5; 2013. február 13.)



8.2. ábra. DNS-szekvenálás árának (piros vonal) és az adatbázisokban tárolt befejezett DNS-szekvenciák mennyiségének (kék vonal) változása 2000 és 2010 között, logaritmikus skálán. 2000 környékén egy millió bázispár megszekvenálása 10 ezer \$-ba került, amely 2010-re már 1 \$-ra csökkent. A befejezett DNS-szekvencia mennyisége 2000-ben 8 milliárd bázispárral indult, és kb. minden 18. hónapban megduplázódott a mennyisége. 2010-re 270 milliárd bázispárra nőtt. Ez azonban eltölpül a nyers adatok mennyisége mellett, amelyet a Trace archive and Sequence Read Archive (SRA)-ban tárolnak. Az itt tárolt mennyiség 25 trillió bázispár volt 2010-ben, amit, ha ebben a koordináta-rendszerben akarnánk ábrázolni, 12 méterre lógna ki a könyvből, ami kétszerese egy átlag zsiráf magasságának. Az ábra a [Nature 2009:464:671](http://www.nature.com/doi/10.1038/464671a) cikk ábrája alapján készült

8.4. Résztvevők a humán genom projektben

Először is érdekes kérdés, hogy kiket szekvenáltak meg először? A Celera a Science-ben megjelent cikkében ezt írta: 21 kevert etnikumú önkéntes donort választottak ki (kor, nem önmeghatározott etnikum). Mindenkitől vettek 130–130 ml vért, a férfiaktól 5 adag spermát 6 hét alatt. Végül a minták minőségét és az etnikumok diverzitását figyelembe véve 2 férfit és 3 nőt választottak ki: 1 afrikait, 1 kínait, 1 spanyol–mexikóit és 2 kaukázusit [3]. A hivatalos HGP 2 centrumban gyűjtötte a donorokat, hasonló elvek alapján.

Érdekesség azonban, hogy később kiderült, hogy a szépen hangzó szempontokkal szemben a Celera végül Craig Venter genomját szekvenálta meg.

A HGP-ben összesen 18 ország vett részt, de közülük messze kiemelkedett az USA. A nemzetközi genom projektet a **HUGO** (Human Genome Organization) koordinálta. A HGP-ről és eredményeiről részletesen olvashatunk a HGP hivatalos honlapján (http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/home.shtml), illetve számos más, az interneten fellelhető forrásból pl.

http://en.wikipedia.org/wiki/Human_Genome_Project.

8.5. A HGP néhány eredménye

Az emberi genom szekvenálása számos érdekes, sokszor váratlan eredményt hozott, amelyeket a tudományos világ azóta is folyamatosan frissít, illetve bővít. Talán a legmeglepőbb eredmény az volt, hogy a várt, 100 ezres nagyságrendű génszám helyett **alig több mint 20 ezer gént tartalmaz** a humán genom. Az 8.1. táblázatban látható néhány statisztikai adat a humán genomról.

<i>Legutolsó frissítés</i>	<i>2012. július</i>
Genom nagysága (bázispár)	3 300 551 249
Ismert fehérjét kódoló gén (darab)	20 476
Pszudogén (darab)	13 322
Nem-kódoló gén (darab)	22 170
Gén exon (darab)	700 947
Rövid variánsok, pl. SNP (darab)	54 418 495
Szerkezeti variáns	9 235 137

8.1. táblázat. Néhány statisztikai adat a humán genomról. Forrás: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Info/StatsTable

Néhány érdekesebb eredmény az alábbiakban láthatók, kiegészítve/kijavítva újabb eredményekkel, pl. az 1000 genom projektből:

- Legnagyobb gén: **DMD**, mely a Dystrophint kódolja: 2,2 Mb (2 221 182 bp)
- Leghosszabb kódolószekvencia: titin: 104 076bp, < 34 500 aminosav)
- Leghosszabb exon: titin: 17 106 bp

- Legtöbb exon titin gén: 351 db
- 20%-a a genomnak (605 Mb) génsivatag = >500 kb. gén nélkül
- Géngazdag kromoszómák: 17 19 22
- **Leggazdagabb: 19-es:** 59,1 Mb = 1484 gén (Ensembl): 25,01 gén/Mb
- Génszegény kromoszómák: 4,13,18,X,Y
- **Y a leggénszegényebb** összesen 72 gén; ~1,2 gén/Mb
- Az intronoknak a 98,12% GT-bázisok vannak az 5' végén és AG 3' végén; 0,76% GC-AG
- A rekombináció magasabb a nőkben, mint a férfiakban, de a mutációk száma magasabb a férfimeiózisban, azaz az emberekben található öröklődő mutációk többsége a férfiakban keletkezik.
- Minden újszülött 60 új mutációt kap szüleitől.
- Minden ember átlagosan 250-300 funkcióvesztése mutációval rendelkezik az ismert (annotált) génekben, melyek közül 50–100 olyan gén, amely valamilyen öröklődő betegségben szerepet játszik. Ez többek között jelzi, hogy miért veszélyes, ha egymással rokonságban élő párnak gyermeke születik. Ilyenkor nagy az esély arra, hogy a szülőpárban heterozigóta formában jelen lévő, recesszív betegség a gyermekekben megjelenjen. Illetve, a funkcióvesztéses mutációnál, mivel egyes létfontosságú fehérjék kisebb mennyiségben vannak jelen, megnövelhet bizonyos betegségekre való hajlamot vagy legalábbis befolyásolja a hordozók fenotípusát. Érdekes megjegyezni azonban, hogy ennek ellentétes hatása is lehet, amit majd a gén-környezet kölcsönhatás részben tárgyalunk, azaz bizonyos környezeti tényezőkkel szemben (pl. fertőzés) növelheti az ellenálló képességet.
- A humán genom 46%-a ismétlődő szekvenciákból áll. Ezek közül sok a transzpozon, azaz ugráló gén, amelyek viszont kb. 40 millió év óta inaktívak. A **leggyakoribb ismétlődő szekvenciát Alu-nak hívják**, mely a teljes genomunk 10,6%-át foglalja el.
- Több száz génünk származik baktériumokból, horizontális géntranszferből.
- A pericentromerikus és a subtelomerikus régiókban nagy szakaszok ismétlődnek.
- Jelenleg 156 imprintált gént (**Genetikai imprinting**: az apai és az anyai gének kifejeződése különböző) ismerünk, azaz ezek közül vagy csak az anyai (56%), vagy csak az apai (44%) aktív. Ha valami oknál fogva ebben a rendszerben hiba következik be, tehát pl. ha mindkét gén aktív, súlyos betegségekhez vezet (pl. Beckwith–Wiedemann és Angelman-szindrómák).
Ld.: <http://www.geneimprint.com/site/genes-by-species>.
- **CpG-szigetek** olyan szekvenciák ahol a CG dinukleotid arány magasabb a vártnál. Ezekből 27 000–29 000 db található az ismétlődésmentes részekben; sokszor egybeesnek a gének 5' végével (40%). A **citozinon metilálódhatnak**, amivel befolyásolhatják a gének expresszióját, szerepet játszanak a gén inaktivációjában és az imprintingben. Általában a promóter régió metilációja a transzkripció aktivitás csökkenését, a kódoló régió metilációja a növelését okozza. A metilációs mintázat erősen **sejtspecifikus**. Az összevetken a metiláció 25%-a nem CG-n történik, hanem CA-n (szemben a normál sejtekkel, ahol ez az arány csak 1%).
- A génextpresszió szabályozásában fontos szerepet játszanak a nukleinsavak és a hisztonok metilációja és egyéb módosításai. Ennek tanulmányozására indították el a **Human Epigenome Projectet** [8, 9]. Ebből egy új tudományág nőtt ki, az **epigenomika**, amely a genom, illetve a genom mellett található fehérjék olyan mó-

dosulataival foglalkozik (pl. metiláció, acetiláció, hisztonmódosulások), amelyek nem érintik közvetlenül a DNS-szekvenciát, a bázissorrendet, de működésében fontos szerepet játszanak, sőt tovább is örökíthetőek. A metilációs mintázat hibái is vezethetnek betegségekhez. Ide tartoznak az imprintált géneknél említett szindrómák (az imprintáltság is a metiláció révén szabályozott), vagy pl. egyes tumorok, fragilis X-vagy a Rett-szindróma (részletesebben ld. [4. fejezet](#)).

- A génexpresszió szabályozásában a promóter régiók mellett, amelyek a transzkripció starthely közelében helyezkednek el, távoli régiók is részt vesznek. A genomban átlagosan 3,9 távoli régió kölcsönhatást detektáltak transzkripció starthelyenként.
- Az AT-gazdag régiók génszegények.
- Detektáltak 298 db paralógot, egy exonos gént (processed paralog), ebből 97 igazoltan működik. **Paralóg** = génduplikáció eredménye, működnek, intronos vagy intron nélküli változat, funkciója lehet ugyanaz vagy hasonló, de más is, mint az eredeti génnek (vs. ortológ). Mivel a szelekciós nyomás a duplikálódott génen kisebb vagy hiányozhat, szabadon mutálódhat, így nyerve új funkciókat.
- Eddig (2012. október) 13 322 **pszeudogént** találtak. Ezek, szemben a paralogokkal, **inaktív gének**: lehetnek nem expresszálandó másolatok: processed (intron nélküli), unprocessed duplicated (intronos) változata az eredeti génnek; de átíródhatnak RNS-sé is. Korábban semmilyen szerepet nem tulajdonítottak nekik, azonban újabb kutatások alapján, az átíródó pszeudogének befolyásolhatják a velük rokon gének működését, pl. úgy, hogy kompetícióba kerülhetnek a génexpresszió-szabályozásban fontos szerepet betöltő miRNS-ekkel vagy expressziójukkal csökkenthetik a funkcionális gén stabilitását. Becslések alapján a pszeudogének 9%-a íródik át.

A humán és más élőlényének genomjáról számos weboldalon gyűjthetünk információkat, pl.: <http://genome.ucsc.edu/>; <http://www.ensembl.org/>; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.

A genetikai variációkkal, témánkban betöltött jelentős szerepük miatt, a következő alfejezetben foglalkozom.

A humán genom feltérképezése a HGP hivatalos lezárása után sem fejeződött be. Megalakult a **Genome Reference Consortium**, amelynek fő feladata, hogy a genomban még megtalálható hiányokat („gap”-ek) feltérképezze, illetve az esetleges hibákat korrigálja. A gap-ek a genom nehezen megszekvenálható, főleg ismétlődéseket tartalmazó régiókban találhatóak. Becslések szerint a HGP befejezésekor 350 ilyen gap volt, a szerkezeti variációk egy része ezekben a gap-ekben található. Ez a régió nem kicsi, a teljes genom kb. 5%-ának felel meg. A feladat nehézségére jellemző, hogy 6 évvel később, 2009-ben még csak 50 ilyen gap-et sikerült megszekvenálni.

8.6. A humán genom variációi

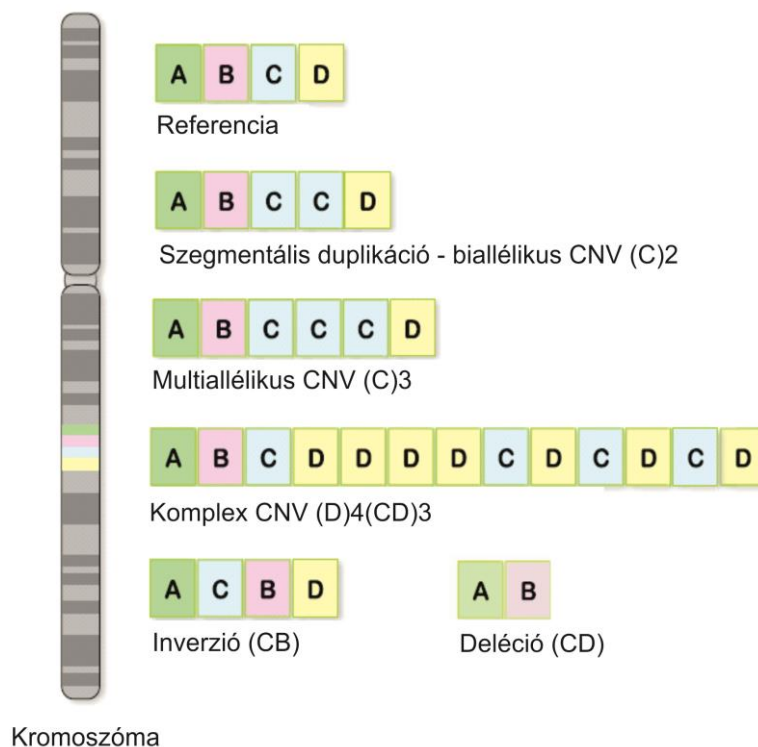
Az emberi genom megismerését célzó Human Genome Project (HGP) része volt a humán genom variációinak a vizsgálata is, ami témánk szempontjából olyan nagy jelentőségű, hogy lényegét külön ismertetem [\[2, 3\]](#).

A genom leggyakoribb variációja az egy nukleotidot érintő polimorfizmus, angol rövidítéssel SNP (single nucleotide polymorphism). Általában SNP-ről beszélünk akkor, ha a variáció populációs gyakorisága meghaladja az 1%-ot. Az ennél kisebb gyakoriságban előforduló variációt általában mutációnak szoktuk nevezni, bár ez utóbbi kifejezést főleg

akkor használjuk, ha a variációnak fenotípusosan is megjelenő, funkciót módosító hatása is van. Azonban az elmúlt időben, az SNP-k meghatározása óriásit változott (ld. módszerek), és SNP-nek neveznek általában mindenféle, egy nukleotidot érintő variációt, azzal hogy hozzáteszik, hogy mekkora a ritka allél gyakorisága, azaz a **MAF**-ja (**minor allele frequency**). Ennek a pontos definícióját még nem adták meg, de általában gyakorinak mondják, ha a MAF > 5%, alacsonynak, ha a MAF 0,5–5% között van, és ritkának ha < 0,5%, néhány publikációban ez utóbbi 0,3%.

Relatíve a legtöbb SNP az intronokban található, utánuk következnek az intragenikus régiók, és végül legritkább az SNP az exonokban. Általában, átlagosan minden 1000 nukleotid polimorf, viszont az összes SNP-nek csak kb. 0,1%-a változtat meg aminosavkódot, és ennek is csak kb. 40%-a non-konzervatív. A többi SNP első ránézésre semleges, azonban a legújabb vizsgálatok rámutatnak arra, hogy fenotípusos megjelenés szempontjából (ide tartozik pl. a betegségekre való hajlam, környezeti tényezőkre, gyógyszerekre való reagálás is) nem meghatározó, hogy az illető SNP változtat-e meg aminosavkódot vagy nem. Sőt az utóbbi időkben felfedezett betegségekhez kapcsolható SNP-k túlnyomó többsége nem változtat meg aminosavkódot [4].

Már a HGP során is találtak nagyobb szekvenciavariációkat a genomban, azonban ezek jelentőségét populációs szinten, az SNP-vel összehasonlítva, elhanyagolhatónak mondták. Azonban 2006 végén, ahogy egyre javultak a genom vizsgálati módszerei, rájöttek, hogy a genomban rengeteg kisebb-nagyobb méretű kópiaszám-variáció fordul elő [10]. Azaz vannak olyan, 1000-tól akár több megabázis nagyságú nukleotid szekvenciák, amelyek, ha a genomokat összehasonlítjuk, különböző kópiaszámban fordulnak elő. Ezekből ugyan nincs olyan sok, mint az SNP-kből, azonban mivel nagyobb genomterületeket érintenek, összességében két ember között nagyobb variációért felelnek, mint az SNP-k. Ezt a típusú variációt elnevezték **copy number variation**-nak, azaz **CNV**-nek [10]. Legtöbbször a genom szerkezeti variánsait általában a CNV-khez szokták sorolni. A 8.3. ábra mutatja be a lehetséges szerkezeti variánsokat.



8.3. ábra. A genomban előforduló szerkezeti variánsok

Becslések szerint a teljes genom 12%-át érintik ezek a variációk, és eddig 2900 gént (a gének 13%-a) találtak, amely érintett. Ez azt jelenti, hogy egyes emberek különbözők lehetnek abban, hogy egy génből hány kópia található meg bennük. Az esetek többségében ez semmilyen látható tünetet nem okoz, de már számos betegségben igazolták a CNV-k szerepét. Ilyen pl. a skizofrénia, a HIV/AIDS hajlam, a Crohn-betegség, vesebetegségek, Alzheimer-kór vagy az obezitás. Az SNP mintájára, ahol a polimorfizmus szó arra utal, hogy a variáció gyakorisága nagyobb, mint 1%, bevezették a **copy number polymorphism (CNP)** kifejezést is a gyakori CNV-kre.

A betegségek mellett pl. a transzplantációban is szerepet játszhatnak a CNV-k. Például, vannak populációs szinten is gyakori, egész géneket érintő deléciók. Ilyenkor, ha a beültetést kapó szervezetből hiányzik egy gén, és így az abból expresszálandó fehérje, akkor, ha a donorszervben megtalálható ez a fehérje, az akceptor szervezet immunválaszt adhat a beültetett szerv ellen – az MHC-egyezés ellenére, pl. csontvelői őssejt átültetésénél „graft versus host betegség” léphet fel [11].

A CNV-kkel kapcsolatban még egy érdekes felfedezést tettek. Általánosan elfogadott, hogy az egypetéjű ikrek genetikailag teljesen egyformák. Ezt a dogmát változtathatja meg az a felfedezés, hogy különbséget találtak a CNV-k tekintetében egypetéjű ikrek között [12]. Ez utóbbi azt is mutatja, hogy szomatikusan is keletkezhetnek, pl. a magzati fejlődés során.

A CNV-k kimutatása szempontjából fontos, hogy a CNV-k egy részénél található olyan SNP, amely kapcsoltan öröklődik, azaz ezeknek a CNV-knek a kimutatásához elégséges a sokkal egyszerűbben (ld. módszerek fejezet) kimutatható SNP-eket detektálni.

A CNV-eket is figyelembe véve egy ember két genomja (itt a két szülőtől kapott kromoszómakészlete) **átlagosan 0,5%-ban különbözik egymástól**, azaz a CNV-k körülbelül 4x akkora különbségért felelnek, mint az SNP-k. Ezt az elsőnek megszekvenált ember, Craig Venter genomjából állapították meg ([13] 8.2. táblázat). Azonban a különbség történelmileg régen elvált embercsoportok között akár a 3%-ot is elérheti. Érdekesség, hogy ezek a különbségek egy része véletlenszerű mutációk révén alakult ki (és ún. **random drift**, azaz véletlen sodródás során halmozódhat fel lokálisan), másik részük kialakulásában viszont a **természetes szelekció** játszott szerepet. Ide tartoznak pl. a bőrszín, vagy az immunválaszt befolyásoló (baktériumok, vírusok által formált) genetikai variációk, melyek egy részét már sikerült beazonosítani (ld. gén-környezet fejezet).

	SNP-k száma	
J. Craig Venter genomja	3 213 401	
James Watson genomja	3 322 093	
Ázsiai genom	3 074 097	
Yoruban (afrikai) genom	4 139 196	
	Szerkezeti variánsok Venter genomjában	
	Darab	Hossz (bp)
CNV	62	8 855–1 925 949
Inzerció/deléció	851 575	1–82 711
Blokkszubsztitúció	53 823	2–206
Inverzió	90	7–670 345

8.2. táblázat. Genetikai variációk aránya különböző megszekvenált humán genomokban [13]

A modern ember-genom fejlődéséről alkotott elképzelésünk jelentős változásokon ment keresztül az elmúlt években. 2010 májusában Scante Pääbo és munkatársai először

a neandervölgyi ember, majd egy nemrégiben felfedezett emberpopuláció a **denisovai (magyaros írással gyenyiszovai) ember** genomját szekvenálta meg [14, 15]. Itt kell megjegyezni, hogy jelenleg még nem eldöntött kérdés, hogy ezek az embertől külön fajként definiálhatók-e, vagy ugyanazon faj egy alfajának? Korábban az elmélet az volt, hogy a modern emberek egy csoportja kb. 50 000 évvel ezelőtt elhagyta Afrikát, és benépesítette a Földet. Azonban ezekben a vizsgálatokban azt találták, hogy a modern ember a Közel-Keleten részben keveredett a **neandervölgyi emberrel**, illetve bizonyos embercsoportok a denisovai emberrel. Ennek következtében bizonyos ma élő embercsoportok 1–4%-ban a neandervölgyi, a pápua új-guineai és egyes szigeteken élők, ausztrál őslakosok, óceániaiak stb. pedig a denisovai ember genomjának 4–6%-át hordozzák. Pl. a melanézok, mindkét populációtól hordoznak genomnyomokat, genomjuk kb. 8%-ában. Ezek nyilván hozzájárulnak két ember genomja közötti különbségekhez [16, 17].

Érdekességként itt lehet megjegyezni, hogy egyes kutatások alapján ez a hozzákeveredés, vagy angolul admixture, pozitív hatással volt a ma élő ember immunrendszerére. Becslések szerint a ma élő ember HLA-alléljainak kb. 50%-a az archaikus emberektől származik, növelve ezzel a patogének felismerésében fontos szerepet betöltő HLA variációinak számát, így populációs szinten a faj stabilitását (ld. 11. és 12. fejezetek).

A HGP után a HapMap projektek és az **1000 genom projekt** járultak hozzá jelentős mértékben az emberi genom variációinak feltérképezéséhez. Például a hét populációt vizsgáló 1000 genom projekt első eredményeit bemutató „pilot” cikkében 15 millió SNP-t, 1 millió rövid inzerciót vagy deléciót és 20 ezer szerkezeti variánst közöltek. Ezek többsége új variáció volt. Becslések szerint azonosították az ezekben a populációkban található összes variáció 95%-át [8].

A variációk és a gének száma szempontjából kiemelkedik az emberi genom 6p21.3 régiójában található MHC (vagy HLA) régió. Ezen a 7,6 Mb szakaszon kódolódnak az immunválaszban, transzplantációban, véradásnál létfontosságú szerepet betöltő MHC-vagy HLA-gének. Ennek a genomterületnek az ún. class III régiójában található a legnagyobb génsűrűség (58 expresszálló gén), illetve az egész régióra jellemző a nagyfokú diverzitás. Egy vizsgálatban ennek egy 4 Mb-nyi régiójában 37 ezer SNP-t és 7 ezer szerkezeti variánst találtak, ami kb. egy nagyságrenddel nagyobb variációsűrűség, mint a genom többi részén.

8.7. „Junk DNS” a humán genomban

Az alacsony génszám még a szakembereket is meglepte, sőt szinte sokként érte. Erre jellemző, hogy még 2000-ben a Cold Spring Harbor Laboratory Genome Meetingen a terület specialistái fogadtak a humán genom génszámára. A számok 26 ezer és több mint 150 ezer között terjedtek, így végül a legalacsonyabb számot tippelő nyerte a fogadást, pedig még ő is kb. 20%-kal magasabb számot tippelt a valóságosnál. Az eredmény azért is meglepte a szakembereket, mert például az alig 1 mm nagyságú, szabad szemmel gyakorlatilag láthatatlan, igen egyszerű felépítésű *Caenorhabditis elegans* nevű fonálféreg, amely az egyik legnépszerűbb modellállat genetikai vizsgálatokban, nagyságrendileg hasonló számú gént tartalmaz. Ebből az alacsony génszámból következik, hogy a humán genom fehérjét kódoló részének aránya mindössze **1,2%-a a teljes genomnak**. Mivel korábban úgy gondolták, hogy a genom fő feladata az, hogy fehérjét kódoljon, a fehérjét nem kódoló részt a genom hulladékának, angolul „junk”-nak nevezték [18]. A szakemberek azonban nyilvánvalóan érezték, hogy az emberi genom egyszerűen nem állhat 98,8%-ban szemétből, felesleges szekvenciából! Hogy tisztázzák ezt az ellentmondást, 2003-ban elindították az Encyclopedia of DNA elements (**ENCODE**) projektet:

<http://genome.ucsc.edu/ENCODE/>, <http://www.genome.gov/10005107>, amely az első fázisban azt tűzte ki maga elé, hogy a genom 1%-ban felderíti az összes funkcionális egységet [19]. Ez a projekt 2007-ben lezárult, de 2008-ban 80 millió \$-os költségvetéssel további 4 évre meghosszabbították.

2012 szeptemberében különböző jelentős újságokban 30 cikk jelent meg az eredményekről (<http://www.nature.com/encode/#/threads>). Eszerint a genomnak kb. 80%-ához tudtak valamilyen funkciót csatolni, és 75%-a át is íródik valamelyik sejtben. Röviden a következő funkcionális elemeket, tulajdonságokat lehetett megkülönböztetni:

- Fehérjekódoló régiók
- RNS-kódoló (fehérjére nem íródik át) régiók
- Transzkripció faktor kötőhelyek (kb. 70 000)
- Enhancer régiók, távoli szabályozórégiók (kb. 400 000)
- Távoli hatású kromatin-interakciók
- DNS-metiláció
- Hisztonmódosítás

A sok fontos eredményt itt mind nem lehet ismertetni, csak néhány érdekesebbet említ meg. Több vizsgálatban is **DN-áz hiperérzékeny helyeket** vizsgáltak (angolul: Deoxyribonuclease I (DNase I) hypersensitive site (**DHS**)). Ezekhez azért tud hozzáférni a DNS-t emésztő enzim, mert a DNS-kötő fehérjék a nukleoszómákat elmozdítják. Néhány erős kötődésű transzkripció faktor kötődése „helyet csinál” a gyengébb kötődésű (alacsony affinitású) transzkripció faktoroknak, ami lehetővé teszi a transzkripciót. Az eredmények alapján a **transzkripció faktorok kötődése gátolja a DNS-metilációt, és nem fordítva**, ami nagy jelentőségű az **epigenetikai** eredmények magyarázata szempontjából.

Az egyik vizsgálatban DN-áz I enzim segítségével 125 sejtvonalat hasonlítottak össze. 2,9 millió DN-áz hiperérzékeny helyet detektáltak összesen, amelynek durván 1/3-a csak egyetlen sejt típusban volt megtalálható, és csak 3700 volt megtalálható mindegyik sejt típusban. Ezek az eredmények mutatják, hogy milyen óriási különbségeket lehet találni abban, hogy az egyes sejtekben hogyan szabályozódik a genom működése.

Egyetlen sejt vonalban (K562), 127 417 promóterközpontú **kromatin-kölcsönhatást** detektáltak, amelynek 98% intra-kromoszomális volt (**géncsóknak** (gene kissing) is nevezik). A gének 90%-ánál multigén-interakciót lehet tapasztalni, amely több megabázisig nyúlhat, számos promóter-promóter és promóter-enhancer kölcsönhatást magában foglalva. Ezeknek a kölcsönhatásoknak jelentős része sejtspecifikus.

Az eredmények azt is mutatják, hogy a betegségekhez kapcsolt, nem kódoló régiókban található helyek közül számos valamilyen funkcionális (szabályozó) régióban van. **De a funkció szempontjából a sejt típus fontos!** Ki lehetett mutatni, hogy **az egyes betegség-specifikus variációknak csak bizonyos sejtekben van funkciója**. Az ENCODE projekt által feltárt új funkcionális régiók így lehetőséget nyújtanak, hogy az egyes betegségekben detektált, eddig ismeretlen funkciójú régiókhoz sejtspecifikus tulajdonságokat rendeljünk, megértve így szerepüket a betegségben.

A genom 3 dimenziós szerkezetének és kromatinstruktúrájának is fontos jelentősége van. Ez utóbbira is történtek vizsgálatok. Eszerint, ha olyan algoritmussal hasonlították össze a különböző fajok genomját, hogy az azokat alkotó nukleinsavak milyen 3D-szerkezetet vesznek fel, akkor a humán genom 12%-át találták konzerválnak [20]. Egyes elméletek szerint, építőipari hasonlatot használva, a genomban kódolt fehérjéket nevezhetjük építőköveknek, míg az azon kívüli részek tartalmazzák azt az információt, hogy

ezeket a köveket hogyan kell úgy összerakni, hogy azokból egy működőképes szervezet jöjjön létre. Erre egyfajta bizonyíték az is, hogy bár az élet már 4 milliárd évvel ezelőtt kialakult a Földön, a többsejtű élőlények mindössze 525 millió évvel ezelőtt jelentek meg. Valószínűnek tűnik, hogy ez a 3,5 milliárd éves evolúció kellett ahhoz, hogy egy olyan szabályozó mechanizmus alakuljon ki, amely lehetővé tette a bonyolultabb életformák létrejöttét. Nyilvánvaló, hogy a szabályozáshoz szükséges információ nem a fehérjéket kódoló génekben található, azaz elvileg minél több ilyen szekvencia van egy genomban, annál több szabályozómechanizmus „férhet bele” [18].

Az alacsony génszám–bonyolult szervezet ellentmondást némileg feloldja az a felfedezés is, hogy génjeink 94%-a nemcsak egy fehérjét kódol, azaz például alternatív splicing útján a különböző szövetekben ugyanabból a génből más-más szerkezetű és funkciójú fehérjék íródnak át. Egyszerűbb szervezeteknél ilyen mechanizmus nincs, vagy csak jóval kisebb mértékű. Továbbá a fehérjék poszttranszlációs módosításaival rengeteg különböző fehérje jöhet létre. Egyes becslések szerint az ember fehérjéinek száma eléri a 2 milliót.

2001-ben még úgy gondolták, hogy a genom fő funkcionális részei a fehérjéket kódoló gének. Az **RNS-eket** egyfajta segédszereplőknek gondolták, azaz fő funkciójuk, hogy (mRNS, t-RNS, rRNS formában) a fehérjére való átíródásban segédkezzenek. Azonban az utóbbi években egyre másra fedezik fel, hogy az RNS-eknek milyen funkcióik vannak még, főleg a szabályozásban. A leghíresebb példa az RNS-interferencia és a mikro-RNS-ek (**miRNS**) felfedezése, amelyért 2006-ban Nobel-díjat is adtak [21]. Kiderült, hogy a gének > 60%-ának a szabályozásában játszanak szerepet, egy miRNS akár több száz génben is, lehetővé téve egy igen bonyolult, összehangolt szabályozást. De ide tartoznak a főleg a spermatogenezis szabályozásában, a transzpozonok elleni védelemben szerepet játszó *piwi-interacting* (pi) RNS-ek, vagy a pszeudogénről átíródó *competitive endogenous* RNS-ek (ceRNS), vagy *antisense termini-associated short* RNS-ek (aTASRs), *Large intervening noncoding* RNS (lincRNS) stb. [22]. Általában ezek fő szerepe a transzkripción, ritkábban a transzláción keresztüli géncsendesítés.

Az ENCODE projekt azonosított 8800 kis RNS-t, 9600 hosszú, nem-kódoló RNS-t (*long noncoding RNA*), amelyek mind legalább 200 bp hosszúak. Azt figyelték meg, hogy ezek az RNS-ek meghatározott sejt-kompartmenekbe „mennek”, mintha meghatározott címük lenne. Van, amelyik a sejtmagba, van, amelyik a nukleoluszba, van, amelyik a citoplazmába. Ez arra utal, hogy szerepük a szabályozásban igen szofisztikált lehet.

8.8. Komparatív genomika

A junknak nevezett, fehérjére nem átíródó szekvenciák fontos szerepét mutatják a komparatív genomika eredményei is. A komparatív genomikában különböző fajok genomját hasonlítják össze, és olyan kérdésekre keresik a választ, mint pl.: Milyen gének jellemzőek egy fajra (pl. csimpánz vs. ember)? Milyen szekvenciák nélkülözhetetlenek az emlőslethez (pl. egér vs. ember vs. gyümölcsleány)? Melyek a többsejtűek alapfehérjéi (féreg vs. ember vs. egysejtűek)? stb. Ezek a mi témánk szempontjából olyan eredményeket hoztak, mint pl., hogy az egér hasonlósága az emberrel 90%, génjeinek 99%-ának van humán megfelelője, csak kb. 300 génben különbözünk, azaz az egér jól használható, mint modell élőlény emberi gének funkciójának vagy betegségek vizsgálatában [23].

Az egér az evolúciós fejlődésben kb. 75 millió évvel (420 millió egérgeneráció) vált el tőlünk. Érdekes módon a kutyától régebben váltunk el, azonban tekintve a kutya lényegesen hosszabb generációs idejét, génszinten kisebb a különbség. Az emberi genomot

ezzel a két állatfajjal összehasonlítva 7–7,5%-ban találtak konzervált régiókat a fehérjéket kódoló géneken kívül [24].

Konzervált régiók: Ha két genomikai régió egymással csaknem teljesen megegyezik két, egymástól már régen elvált fajban, akkor ez a régió szelekciós nyomás alatt van, azaz valamilyen olyan funkciója van, amelynek változása életképtelenné teszi az élőlényt (a mutáns kiszelektálódik). Az ember genomjának, ha az emlősökével összehasonlítjuk, kb. 5%-a konzervált.

Nyilvánvalóan az ember legközelebbi rokonánál, a csimpánznál, melytől >6,3 millió évvel, és mindössze kb. 250 ezer embergenerációval ezelőtt váltunk el, még több azonosságot találtak. Ennek közelségét egy olyan, kicsit humoros példával szokták demonstrálni, hogy képzeljük el, hogy egy ember, ha megfogja az anyja kezét, és az is az ő anyját, és így tovább, akkor ha a mai ember Budapesten van, akkor kb. Debrecenben már egy csimpánzszerű anya fog állni. A csimpánzzal a hasonlóságunk 99%, ha az egymáshoz illeszthető szekvenciákat nézzük, összességében a hasonlóság 96%. A különbségektől főleg inzerciók/deléciónok („indelek”) a felelősek. Érdekes módon a legnagyobb a különbség az Y-kromoszómában, ahol a két faj 30%-ban különbözik. Az X-kromoszóma hasonlósága miatt viszont, egy akkoriban nagy port felvert feltételezés is történt, azaz 1,2 millió évvel a két faj szétválása után kimutatható még „genomcsere”, azaz utódokat eredményező párosodás történt a két faj között. Egy másik érdekesség, hogy találtak egy, amúgy nagyon konzervált gént (**FOXP2**), amely különbözött az ember és a csimpánz között, de nem az ember és a neandervölgyi ember (*Homo neanderthalensis*) között. A FOXP2 mutációja emberben egy sajátos beszédzavart okoz, azaz a mutáció hordozója képtelen a nyelvtan legalapvetőbb szabályait is megtanulni. Ezt annak idején elnevezték (nyilván helytelenül) nyelvtangénnek.

Ha a ma élő ember genomját a régen kihalt neandervölgyi ember genomjával hasonlították össze, aminosav-szekvenciában mindössze 1000–2000 különbséget találtak, a különbség a csimpánzokhoz képest 20–50 x kevesebb. Igaz, ahogy előzőekben már tárgyaltuk, a korábbi tudományos vélekedéssel ellentétben a két faj szétválása után (amely 500 ezer évvel ezelőtt történt) párosodott egymással, azaz mind az európaiak, mind az ázsiaiak genomjának 1–4%-ában kimutatható a két faj keveredése. 78 olyan fehérjeváltozást okozó különbséget találtak az emberi genomban, amely ez idő alatt alakult ki, illetve jó néhány olyan változást, amely az emberben pozitív szelekciónak minősülhet. Ilyenek pl. a spermamozgékonytságot, a sebgyógyulást, a bőr működését vagy a kognitív képességeket befolyásoló („javító”) mutációk [17, 25].

8.9. Irodalom

1. http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/home.shtml 2009.
2. International Human Genome Sequencing Consortium: Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 2001; 409:860–921.
3. Venter JC et al. The sequence of the Human Genome. *Science* 2001; 291:1304–51.
4. International Human Genome Sequencing Consortium: Finishing the euchromatic sequence of the human genome [Nature 431, 931–945 \(21 October 2004\)](#)
5. <http://genomics.xprize.org/>
6. Rusk N, Kiermer V. Primer: Sequencing — the next generation. *Nature Methods* 2008;5:15.
7. <http://www.genome.gov/10005107>; 2009.
8. Pennisi E. 1000 Genomes Project Gives New Map Of Genetic Diversity. *Science* 2010; 330: 574–5.)

9. <http://www.epigenome.org/>; 2009.
10. Redon R. és mtsai.: Global variation in copy number in the human genome. *Nature* 2006; 444: 444–454.
11. Armour JA. Copy number variation and antigenic repertoire. *Nat Genet.* 2009;41(12):1263–4.
12. Bruder CE, és mtsai.: Phenotypically concordant and discordant monozygotic twins display different DNA copy-number-variation profiles. *Am J Hum Genet.* 2008;82:763–71.
13. Ng PC, et al. Genetic variation in an individual human exome. *PLoS Genet.* 2008 Aug 15;4(8):e1000160.
14. Reich D, et al. Genetic history of an archaic hominin group from Denisova Cave in Siberia. *Nature.* 2010 Dec 23; 468 (7327):1053–60.
15. Green RE, et al. A draft sequence of the Neandertal genome. *Science.* 2010 May 7; 328 (5979):710–22.
16. Reich D, et al. Denisova admixture and the first modern human dispersals into southeast Asia and Oceania. *Am J Hum Genet.* 2011 Oct 7;89(4):516–28.
17. Burbano HA, et al. Targeted investigation of the Neandertal genome by array-based sequence capture. *Science.* 2010 May 7; 328 (5979):723–5.
18. Gibbs W.W. (2003) "The unseen genome: gems among the junk", [Scientific American](#), 289(5): 46-53.
19. The ENCODE Project Consortium. Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project. *Nature* 2007; 447:799–816.
20. Parker SC, Hansen L, Abaan HO, Tullius TD, Margulies EH. Local DNA Topography Correlates with Functional Noncoding Regions of the Human Genome. *Science.* 2009; 324: 389–392.
21. Fire A, Xu S, Montgomery M, Kostas S, Driver S, Mello C (1998). "Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*". *Nature* 391 (6669): 806–11.
22. Swami M. RNA world: A new class of small RNAs *Nature Reviews Genetics* 2009;10, 425.
23. Waterston RH. Et al. Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature* 2002; 420 (6915) 520–562.
24. Kirkness EF et al. The Dog Genome: Survey Sequencing and Comparative Analysis. *Science.* 2003; 301:1898–1903
25. Krause J et al. The Derived FOXP2 Variant of Modern Humans Was Shared with Neandertals. *Current Biology* 2007; 17: 1908–1912

8.10. Fejezethez tartozó kérdések

1. Mi az a genom?
2. Mivel foglalkozik a genomika?
3. Mi a különbség a genetika és a genomika között?
4. Mikor indult a Humán Genom Projekt?
5. Melyik szervezet koordinálta a nemzetközi Humán Genom Projektet?
6. Mondjon néhányat a Humán Genom Projekt fő céljai közül!
7. Mi annak a cégnek a neve, amely 1998-ban kezdte meg a humán genom szekvenálását?
8. Miért adják az Archon X-díjat a genomikáért?

9. Mondjon példát genomprojektekre!
10. Mekkora kb. a humán genom mérete?
11. Hány fehérjét kódoló gént tartalmaz körülbelül a humán genom?
12. Hány százaléka körülbelül a fehérjekódoló rész a teljes genomnak?
13. Melyik a legnagyobb humán gén?
14. Melyik fehérjének van a leghosszabb kódolószekvenciája?
15. Melyik kromoszómán legnagyobb a génsűrűség?
16. Melyik a leggénszegényebb kromoszóma?
17. Mikor keletkezik a legtöbb öröklődő mutáció?
18. Mit nevezünk CpG-szigeteknek?
19. Mi az a genetikai imprinting?
20. Hogy hívják a leggyakoribb ismétlődő szekvenciát?
21. A humán genom kb. hány százaléka tartalmaz ismétlődő szekvenciát?
22. Egy ember átlagosan hány olyan gént hordoz, melyben funkcióvesztéses mutáció van?
23. Mi az az SNP?
24. Minek a rövidítése a MAF?
25. Mi az a Copy Number Variations (CNV)?
26. Mi az a CNP?
27. Átlagosan mennyire különbözik két ember egymástól genetikai szinten?
28. Keveredett-e a homo sapiens más emberfajokkal/alfajokkal?
29. Melyik a humán genom legvariábilisabb régiója?
30. Mit nevezünk pszeudogénnek és lehet-e funkcionális szerepe?
31. Hogyan keletkeznek a paralógok?
32. Hol gyakoribb a polimorfizmus az intronban vagy az exonban?
33. Mi az a junk-DNS és mi a jelentősége?
34. Mi a célja az ENCODE projektnek? Mondjon példát az eredményeire!
35. Milyen eredményeket kaptak a DN-áz hiperérzékeny helyek vizsgálatával?
36. Milyen összefüggés lehet a transzkripciós faktorok és a DNS-metiláció (epigenetika) között?
37. Mi az a géncsók?
38. Milyen szerepei lehetnek az RNS-eknek?
39. Mivel foglalkozik a komparatív genomika?
40. Mik azok a konzervált genomrégiók, és mi a jelentőségük?
41. Milyen eredményeket kaptak az emberi, csimpánz és a neandervölgyi genom összehasonlításakor?

9. A komplex betegségek genomikai megközelítése

9.1. Komplex betegségek általános jellemzői

Multifaktoriális vagy komplex betegségeknek nevezzük azokat a betegségeket, amelyek néhány (oligogénes vagy *oligogenic*), vagy sok (poligénes vagy *polygenic*) gén és környezeti hatások révén alakulnak ki. A multifaktoriális betegségek, szemben a monogénes betegségekkel, melyek a populáció töredékét érintik, általában nagyon gyakoriak, sőt azt lehet mondani, hogy élete során kisebb-nagyobb mértékben minden ember szenved valamilyen multifaktoriális betegségben. Ide tartoznak az olyan népbetegségek, mint például: allergiás betegségek, asztma, rák, magas vérnyomás, cukorbetegség, kardiovaszkuláris betegségek, Alzheimer kór stb. De hozzá kell tennünk, hogy a tulajdonságainkat (mind külső, mind belső) meghatározó tényezők is multifaktoriálisak, és genomikai vizsgálatuk nem különbözik a betegségekétől, így a kettőt, mivel ráadásul sokszor szoros kapcsolatban is állnak egymással, nem választjuk el egymástól élesen.

Néhány jellemzője a multifaktoriális betegségeknek:

- **Általában gyakoriak** (vs. monogénes betegségek). Pl.: asztma gyakorisága 6–10% (Magyarországon 7,5%; a tüdőgondozók által nyilvántartott asztmások száma 250 000 körüli), de vannak, általában fejlett országokban található, városok, ahol gyakorisága egyes korosztályokban elérheti a 30%-ot. Vagy pl. a kardiovaszkuláris halál az összes halál 39%-áért felelős.
- **Családi halmozódás** figyelhető meg, de nem mutatható ki mendeli öröklődés. Ez azt jelenti, hogy bizonyos betegségek egyes családokban jelentősen gyakrabban fordulnak elő, mint a populációgyakoriság alapján várható lenne, de a családfa alapján általában nem állapítható meg mendeli öröklődés (pl. domináns, recesszív, X-hez kötött stb.).
- Általában **gyakoribbak a posztreprodukciós korban**. Azaz, szemben a monogénes betegségek többségével, a betegség akkor jelentkezik, amikor már az illetőnek megszülettek a gyermekei, sőt részben fel is nevelte őket, azaz nincs kiz szelekciótárolás, a betegségre hajlamosító gének továbböröklődnek.
- **Összgazdasági jelentőségük óriási**. Pl.: kardiovaszkuláris betegségek az EU országában >170 milliárd €/év, az USA-ban 300 milliárd \$/év költséget, az asztma az USA-ban 18 milliárd \$/év emészt fel.
- Egyes betegségek **gyakorisága** az elmúlt évtizedekben, főleg a fejlett országokban jelentősen **emelkedett** (pl. obezitás, T2DM, magas vérnyomás, allergia, asztma stb.). Az okok tárgyalását ld. később.
- Gyakran tapasztalható **komorbiditás** (ld. [Rendszerbiológia fejezet](#)).

Meg kell jegyezni, hogy bizonyos szempontból minden betegséget tekinthetünk multifaktoriálisnak. Például az olyan „egyokú” betegségek, mint a fertőző betegségek is, multifaktoriális háttérűnek tekinthetők. Gondoljunk bele, hogy például egy óvodai közösségben egyes gyermekek szinte minden betegséget elkapnak, mások meg soha nem betegszenek meg. Ennek háttérében főleg genomikai, részben környezeti (otthoni táplálkozás, higiénia stb.) különbségek állnak. Még a monogénes betegségek egyéni tüneteit, súlyosságát is komolyan befolyásolják genomikai és környezeti tényezők.

9.2. Környezeti tényezők

A környezeti tényezők nagyon fontos szerepet játszanak a multifaktoriális betegségek kialakulásában. Az esetek túlnyomó többségében egy adott genetikai háttér csak bizonyos környezeti körülmények között hajlamosít valamilyen betegségre (ld. később). Környezeti tényezőnek nevezünk minden olyan faktort, ami nem genetikai. A teljesség igénye nélkül ide tartoznak: méhen belüli hatások (az epigenetikai tényezőkön keresztül egész életre kihatnak), étkezés, stressz, dohányzás, fertőzések, életmód, nevelés, éghajlat stb.

9.3. Miért fontos kutatni a multifaktoriális betegségek genomikai háttérét?

Felmerülhet a kérdés, hogy mi értelme van a multifaktoriális betegségek genomikai háttérét vizsgálni?

- Talán a legfontosabb, hogy **segít megismerni a molekuláris patomechanizmust**. Szemben a hagyományos módszerek többségével, a genomikai módszerek egy része **hipotézismentes**, azaz nem szükséges a semmilyen prekonceptió arra vonatkozólag, hogy a betegség kialakulásának mi a lehetséges molekuláris patomechanizmusa. Így új mechanizmusokat, anyagcsere-útvonalakat, géneket fedezhetünk fel. Ezek befolyásolása gyógyszerekkel vagy akár életmódváltással, terápiával nagyban javíthat a meglévő gyógymódokon, hiszen ezeknek a betegségeknek a gyógyítása, kezelése általában messze nem megoldott.
- Az előző után szintén fontos lehetősége a genomikai vizsgálatoknak, hogy **feltárhatja az emberek közötti genetikai különbségeket**, és összefüggést lehet találni a genomikai háttér és a kezelésre adott válasz között. Ezt a témát a farmakogenomika fejezetben részletesen tárgyaljuk, itt azt emeljük ki, hogy a genetikai háttér megismerésével lehetőség nyílik a személyre szabott kezelésre.
- **Ki lehet szűrni a betegségre genetikailag hajlamos embereket**. Sokszor ezt tekintik a genomika legfontosabb feladatának, hiszen akár születésünk után rögtön meg lehet állapítani genomikai háttérünket, ami lehetőséget teremt, hogy pl. áttérjünk a ma gyakorlatban lévő „diagnosztizáld és kezeld” stratégiáról a „jósold meg és előzd meg” stratégiára. Itt azonban meg kell jegyezni, hogy ebben az esetben az elvárások általában nagyobbak a realitásoknál. Ahogy azt a későbbiekben részletesen tárgyaljuk, az esetek túlnyomó többségében olyan soktényezős és bonyolult összefüggésekről van szó, hogy határozott válaszokat, s így biztos eredményeket, soha nem fogunk tudni adni, csak valószínűségeket; illetve ez utóbbinak az értékét tudjuk növelni.

Meg kell jegyezni, hogy a genomikai eredmények átültetése a gyakorlatba sokkal lassabban és máshogy történik, mint ahogy még a 90-es években vártuk. Ezenkívül a genomikára is igaz a technológiai fejlődés első törvénye: Mindig túlbecsüljük az új technológiák rövid távú, és alábecsüljük a hosszú távú hatását.

Itt a teljesség igénye nélkül néhány problémát megemlítünk, hogy mik lehetnek azok, amelyek gátolják, hogy a genomikai eredmények a gyakorlatban is gyorsabban hasznosuljanak.

1. Az emberek genetikailag túlságosan heterogének ahhoz, hogy megvalósuljon a személyre szabott terápia (bár vannak már példák: tumorok kezelése kemoterápiával).
2. Az emberek általában nem nagyon vehetők rá életmód-változtatásra a jövőbeni egészségük érdekében (ld. dohányzás, ivás, drog, étkezés). Itt is van azonban ellenpélda. A mostanában induló személyre szabott genomikai cégek, közvetlenül a „laikus” megrendelőnek adnak el, a genomikai háttér alapján megfogalmazott tanácsokat, amelyeket felmérések alapján sokan követnek, megelőzve ezzel bizonyos betegségek kialakulását. Persze hozzá kell tenni, hogy itt messze nem átlagemberekről van szó, hanem az átlagosnál jóval egészségtudatosabb egyégekről.
3. A genomikai háttér-fenotípus összefüggés a vártnál sokkal bonyolultabb (ld. később).

9.4. Öröklődés bizonyítása

Ha azt nézzük, hogy több betegség gyakorisága az elmúlt évtizedekben jelentősen emelkedett, miközben a népesség genomikai háttere nyilvánvalóan nem változott, felmerülhet a kérdés, hogy egyáltalán van-e öröklődő része ezeknek a betegségeknek?

Ennek egyik egyszerű módszere a λ_R -érték kiszámítása. Ebben a paraméterben az alsó indexben szereplő R a rokonság mibenlétét jelenti, azaz itt az angol *relative* (rokon) szó első betűje. Például testvérek esetén az „s” betűt (*sibling*) szokták használni. Itt a családi halmozódást hasonlítjuk össze a populációs gyakorisággal. Például, ha annak az esélye, hogy egy betegség egy egypetéjű ikerpár mindkét tagjában megjelenik, 0,8, míg ugyanennek a betegségnek a populációs gyakorisága 0,2, akkor a λ_s értéke $0,8/0,2 = 4$. Ebből két dolog látszik: 1. Ha a $\lambda = 1$, akkor a betegségnek nincs öröklődő hányada; 2. a populációsan gyakori betegségeknél, ahol a nevező magas, a λ -értéke alacsony, míg a ritkább genetikai betegségeknél, ahol a nevező kicsi, a λ általában magas, és nyilvánvalóan nagyon magas a monogénes betegségeknél, ahol a számláló magas, a nevező alacsony. Összehasonlításképpen pl. a monogénes cysticus fibrosis-nek a λ_s -értéke 500, míg a komplex multifaktoriális betegség közül az I-es típusú cukorbetegségnek (type I diabetes mellitus = T1DM) 15, a II-es típusúnak (T2DM) 3,5, a skrizoféniának 8,6, az asztmának 2 (bár vannak populációk, ahol ez utóbbi szám magasabb).

A legfontosabb ok, ami hibához vezethet a λ -érték megadásakor, hogy **a rokonok, főleg a testvérek általában ugyanabban a környezetben nőnek fel**, hasonló a táplálkozásuk, hasonló hatások (fertőzés, pszichés stb.) érik őket, s ez nyilvánvalóan torzítja a vizsgálatok eredményét, hiszen várhatóan a környezeti okok miatt is jobban hasonlítanak egymásra, mint két egymással rokonságban nem álló ember. Ezen lehet javítani, ha **külön nevelt egypetéjű ikreket vagy testvéreket vizsgálunk**. Ezzel az a probléma, hogy ilyenből egyrészt jóval kevesebb van, másrészt a közös környezetet itt sem lehet teljesen kizárni. Például az egypetéjű ikreknél az anyaméhben ért közös hatások nagyon jelentősen torzíthatják az eredményeket. Számos vizsgálat bizonyítja ugyanis, hogy az ember képességeit, betegségre való hajlamait talán legerősebben az anyaméhben ért ha-

tások módosíthatják a környezeti hatások közül. Ismert például, hogy a koraszülés hajlamosít számos későbbi betegség (pl. T2DM) kialakulására, vagy a nagy születési testsúly pl. T1DM-re. Illetve, egy kutatásban kimutatták, hogy pl. az intelligenciában (IQ-ban) az öröklődő hányad mellett a legerősebbek az anyaméhben ért hatások. Mindezek ellenére jó néhány betegségben születtek értékes eredmények ilyen típusú vizsgálatokban, amikhez nagyban hozzájárult az is, hogy Dániában a második világháború környékén, amikor nagyon sok volt az árva gyerek, az volt a szokás, hogy a testvéreket, még az egypetéjű ikreket is, külön nevelőszülőkhöz adták örökbe. Emiatt relatív sok olyan testvérpár adata állt rendelkezésre, akik külön nevelkedtek [1].

9.5. Az öröklődő hányad számítása

Az **öröklődő hányad vagy örökölhetőség** egy populációban függ a **genetikai és környezeti faktoroktól**. Ebből következik, hogy ez nem egy konstans fogalom. Ha egy populációban a környezeti tényezők konstansak, akkor ott nagyobb a genetikai faktorok hatásának aránya a fenotípusra, és fordítva. A megfigyelt fenotípust (P) fel lehet írni, mint a genotípus (G) és a környezeti hatások (E) összegét.

Phenotype (P) = Genotype (G) + Environment (E).

Hasonlóan a fenotípusok variabilitását fel lehet írni:

$$\text{Var}(P) = \text{Var}(G) + \text{Var}(E)$$

Az örökölhetőség (vagy öröklődő hányad) definíciója:

$$H^2 = \text{Var}(G) / \text{Var}(P)$$

Az örökölhetőség számításáról részletesebben olvashatunk az angol nyelvű Wikipédián [itt](#).

A tudományos irodalomban az örökölhetőséget gyakran százalékban adják meg. Pl. a magasság öröklődő hányada 80%. Természetesen ez egy populációs átlag, azaz az egyénekre nem vonatkoztatható. **Az öröklődő hányad azt jelenti, hogy a populációban tapasztalt fenotípus-variációkért milyen arányban felelősek a genetikai faktorok variációi.** Meg kell jegyezni, hogy az örökölhetőség meghatározásának feltétele, hogy legyen a populációban variabilitás. Pl. ha mindenkinek fekete a haja egy populációban, akkor erre nem lehet örökölhetőséget számolni. Hasonlóan nem lehet olyan környezeti faktorokat figyelembe venni, amelyek konstansak. Pl., ha mindenki rizst eszik, vagy senki sem kap antibiotikumot.

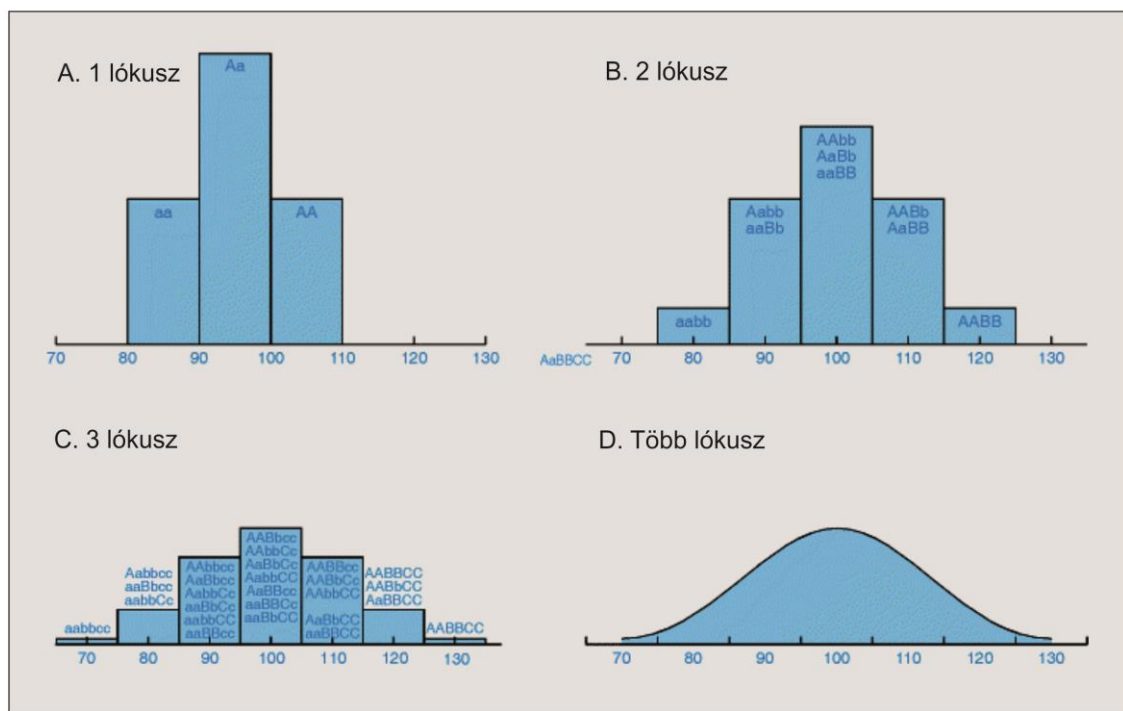
9.6. Multifaktoriális betegségek genomikai hátterének tisztázását nehezítő jellemzők

A genomikára is igaz az a gyakran emlegetett tétel, hogy minél jobban megismerünk valamit, annál inkább ráébredünk arra, hogy mennyi mindent nem tudunk. A HGP indulásakor, és utána is, még a 2000-es évek első felében gyakorlatilag minden szakember azt jósolta, hogy a genomika forradalmasítani fogja az orvostudományt, és általában a nagyon közeli jövőben megvalósulni látták a személyre szabott gyógyászatot is. Mint tudjuk ez 2012-ig biztos nem valósult meg, és most úgy néz ki, hogy az elkövetkezendő években sem kerül sor nagy áttörésre. Mi lehet ennek az oka?

Az eddigi eredmények alapján a legfontosabb okok a genom szabályozásának hihetetlen bonyolultságából és a betegségek multifaktoriális jellegéből adódnak. Az 9.1. ábra bemutatja, hogy ha egy QT-t genetikai faktorok határoznak meg, a QT-nek milyen populációs eloszlása várható.

Először ehhez definiáljuk a QT-t, illetve néhány hozzá kapcsolható fogalmat:

- **QT: a quantitative trait** angol kifejezés rövidítése: valamilyen számmal definiálható jellemző. Pl. LDL-C, vérnyomás, IgE-szint vagy az intelligenciakvóciens (IQ) értéke.
- **Discontinuous (dichotomous)**, azaz a diszkrét, nem folytonos értékekkel jellemezhető **jellemzők**, pl. ajakhasadék. Az ilyen típusú értékeket is fel lehet a QT-vizsgálatokban használni.
- QT-kat is lehet dichotomizálni: pl. 130 Hgmm feletti szisztolés vérnyomás a kóros.
- **QTL: quantitative trait locus:** olyan genetikai lókuszt (hely a genomban), amelyik az adott jellemzővel (QT-val) együtt szegregál, azaz rokonokban azzal együtt öröklődik. Ilyenek például az éhgyomri inzulin- vagy koleszterinszintet befolyásoló genetikai lókusztok.



9.1. ábra. **A.** Populáció eloszlása, ha egy lókuszt, két, egyenlő gyakorisággal előforduló, és egyenlő hatású allélja határozza meg a mérhető tulajdonságot (QT-t). Ha az egyik allél csökkenti az értékét a másikhoz képest, akkor háromféle populációt kapunk. **B.** és **C.** ábrákon ugyanez látható 2, illetve 3 lókuszt esetén. Mint látható, 3 lókusznál már 7-féle értékkel rendelkező populációt kapunk, és egy adott értékkel jellemezhető populációt akár 7-féle genotípus is adhat. **D.** A multifaktoriális és poligénes betegségeknél viszont akár több 100 vagy ezer lókuszt is befolyásolhat egy QT-t, így a populáció gyakorlatilag folytonos eloszlást mutat a QT szempontjából.

Térjünk vissza az előbb felvázolt problémára és az 9.1. ábrára. Ha egy lókuszt két egyenlő gyakorisággal előforduló allélja határozza meg a QT-t, az egyik csökkenti az értékét a másikhoz képest, akkor az ábra „A” részén látható módon a QT szempontjából 3-féle populációt kapunk. A B és C ábrákon ugyanez látható 2 és 3 lókuszt esetén. Mint látható 3 lókusznál már 7-féle értékkel rendelkező populációt kapunk és egy adott QT-vel jellemezhető populációt akár 7-féle genotípus is adhat. A multifaktoriális és poligén betegségeknél, viszont akár több 100, vagy ezer lókuszt is befolyásolhat egy QT-t, a QT eloszlása a populációban folytonos lesz, ami azt is jelenti, hogy a QT meghatározásával csak nagyon kevés információt kaphatunk a genetikai háttérrel, hozzátevé, hogy ilyenkor még a környezeti tényezők hatását nem is vettük számításba.

Az 9.1. táblázatban található néhány tényező, amely jellemző a multifaktoriális betegségekre, és megnehezíti a genetikai háttérük tisztázását.

Probléma	Magyarázat
Genetikai heterogenitás	Különböző allélkombinációk ugyanahhoz a betegséghez vezetnek.*
Fenokópia	Kizárólag környezeti hatások ugyanazt a klinikai képet eredményezik, mint a genetikai tényezők.
Pleiotrópia	Ugyanez a mutáció vagy polimorfizmus a környezet hatására más klinikai képet eredményezhet.*
Inkomplett penetrancia	A magas genetikai hajlammal rendelkező egyén nem beteg.
Nehéz a pontos diagnózis	Sokszor nincs standard diagnózis. Lehet klinikai tünet vagy biokémiai paraméter. Életkorral változhat a klinikai kép. A tünetek epizódokban jelentkezhetnek. Más betegség hasonló tünetekkel. A különböző betegségek gyakran együtt fordulnak elő.

*eltér a monogén betegségeknél megfogalmazott definíciótól (ld. [5. fejezet](#))

9.1. táblázat. A multifaktoriális betegségek meghatározását nehezítő jellemzők

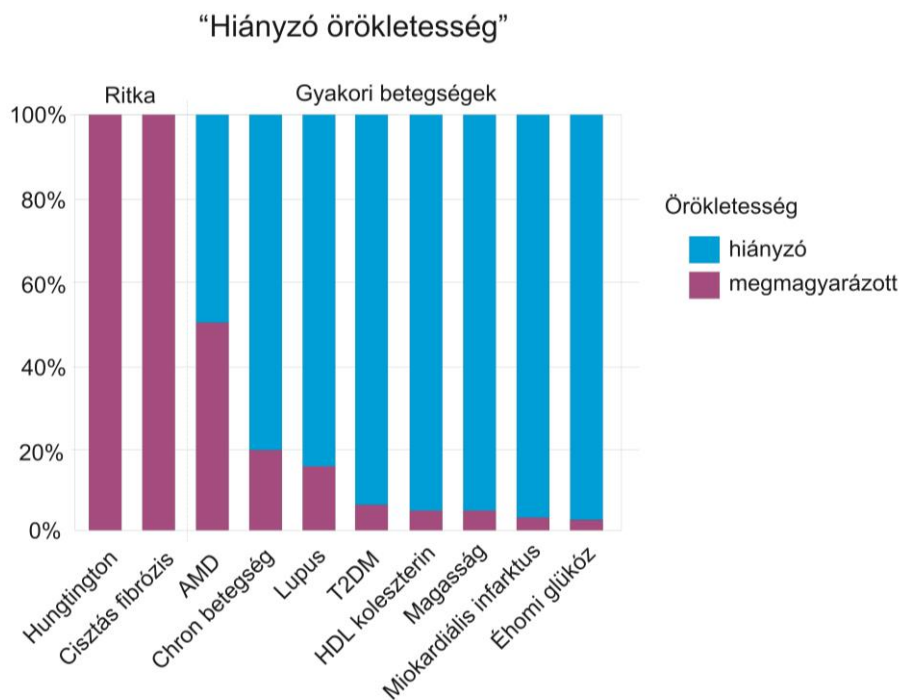
9.7. Genomikai módszerek fejlődése, nehézségek

Mivel a genomikai eredmények jelentősége nyilvánvaló volt mind a társadalom egésze, mind a kutatók számára, óriási erőfeszítések történtek a genomikai módszerek fejlesztésére, és hatalmas áttöréseket értek el (ld. [módszerek fejezet](#)).

Ennek ellenére messze nem lehetünk elégedettek, és a vártnál lényegesen kevésbé jutottunk közelebb a problémák megoldásához. 2009-ben Manolio és munkatársai, egy azóta is sokat idézett táblázatot mutattak be egyik közleményükben (9.2. ábra), amelyben összesítik, hogy néhány multifaktoriális jelleg öröklődő hányadának mekkora részét sikerült addig megtalálni [2]. Ebben az összefoglaló cikkben összesítették azt, amit a kutatók már addig is tudtak, azaz a GWAS (genome wide association study, ld. [módszerek](#)) eredmények a jellegek túlnyomó többségének az öröklődő hányadnak csak a töredékét, kevesebb, mint 10%-át tudták igazolni. Így például a magasságot befolyásoló 44 lókussszal csak az öröklődő hányad ~5%-át tudták addig magyarázni, de az azóta 180 lókuszt duzzadt eredményekkel is csak a 10%-át. Ezt úgy kell értelmezni, hogy a várható magasságot 80%-ban öröklődő tényezők határozzák meg, és ennek a 10%-át tudjuk a jelenlegi genomikai eredményekkel magyarázni. Egy-két olyan betegséget le-

számítva, mint például az időskori makuladegeneráció, ahol az öröklődésért néhány erős hatású genetikai mutáció a felelős, a jellegek túlnyomó részénél ugyanez a helyzet. Így például a 2-es típusú diabetes mellitus (T2DM) öröklődő hányadának 6%, az éhgyomri cukorszint 1,5%, míg például a korai miokardiális infarktus 2,8%-át lehet magyarázni a megismert genomikai eredményekkel. Ezzel szemben ugyanezt a monogénes, mendeli betegségekneként gyakorlatilag 100%-ban meg tudjuk tenni.

Mi lehet ennek a jelenségnek az oka, amelyet egyes genetikusok, a világúrból vett analógiával élve az öröklődés „sötét anyagának” neveznek, azaz bizonyítottan létezik, hatását detektálni tudjuk, de nem „látjuk”, nem tudjuk megmagyarázni? A magyarázatra az előzőekben említett nehézségeken kívül számos elmélet létezik, és valószínűleg ezek nagy része valóban igaz. A legelfogadottabbakat itt most röviden ismertetem.



9.2. ábra. A betegségek, jellegek öröklődő hányadának 2009-ig detektált része. A monogénes betegségek esetén ez általában 100%-osan sikerült. Poligénes, multifaktoriális jellegek esetén a rengeteg befektetett munka és eredmény ellenére ez az érték általában jóval kisebb. Az ábra a [2] cikkben található táblázat alapján készült.

9.8. Ritka variációk problémája

Jellegükből adódóan a GWAS-ra használt chipekkel a gyakoribb variációkat tudjuk vizsgálni, azaz a chipek túlnyomó részénél az 5%-nál gyakoribbakat. Ez egybeesik azzal az elmélettel, amelyet **gyakori betegség – gyakori variációnak** (angolul **common disease common variants**, vagy **CD/CV**) hívnak, azaz a gyakori betegségeket gyakori kis-, de összeadódó hatású genetikai variációk okozzák. Ezzel szemben számos bizonyíték van rá, hogy legalábbis egyes betegségeket a ritka, de erős hatású genetikai variációk okozzák (ez a **gyakori betegség-ritka variáns, angolul common disease-rare variants (CD/RV)** hipotézis. Ilyen pl. a mellrák, amelyben különböző géneknél már több ezer olyan, populációs szintén ritka variációt találtak, amelyek hajlamosítanak a betegségre. De hasonló példákat lehet mondani a lipidanyagcserével, hallásvesztéssel,

mentális retardációval, autizmussal vagy skizofréniával kapcsolatban. **Ezek hozzájárulnak a betegségre való hajlam továbbörökítéséhez, de a rendelkezésre álló chippekkel, illetve GWAS-szal nem lehet őket detektálni.**

A ritka variációk egy statisztikai problémát is okozhatnak, amit egy cikk **szintetikus asszociációnak** hív. Itt megállapították, hogy egyes gyakori variációk véletlenszerűen gyakrabban fordulnak elő a ritkább, oki variációval, és ebből hibás következtetéseket vonhatunk le. Azaz olyan géneket, szabályozó régiókat detektálhatunk, amelyek nem játszanak szerepet az adott fenotípusban.

9.9. Epigenetikai problémák

Az elmúlt évek egyik jelentős felfedezése volt, hogy nemcsak a DNS-t alkotó nukleotidok sorrendje, hanem annak módosulásai (például metilációja, acetilációja) is generációkon keresztül öröklődhetnek. Ezzel foglalkozik az **epigenetika**. Egy meglepő svéd vizsgálatban például kimutatták, hogy az 1900-as évek elején élő emberek étkezési szokásai befolyásolják a napjainkban élő unokáiknak sorsát, betegségeit [3]. Itt egyértelműen epigenetikai öröklődést lehet feltételezni. A nukleotidvariációk kimutatására koncentrált GWAS nyilvánvalóan nem képes ennek detektálására.

Ráadásul a környezeti tényezők már a fogantatás pillanatától hatnak. A kutatások során kiderült, hogy a magzatot ért hatások az egész életre kihatnak, leginkább az epigenetikai módosításokon keresztül. Ezek a környezeti hatások azután folyamatosan érnek minket egész életünkben. A szervezet adott állapota mindig függ az őt korábban ért környezeti hatásoktól, a genetikai adottságoktól és ezek kölcsönhatásától. Ráadásul a genetikai szabályozás is sokszintű, jelenleg nem is teljes mértékben feltárt. Ismert, hogy a genomunk működése függ a szekvenciától, de a funkcionális egységeket még mindig nem ismerjük teljesen, és messze nem csak a fehérjéket kódoló régiók a meghatározóak. Az egyes gének pedig nem önmagukban hatnak, hanem folyamatos kölcsönhatásban állnak a többi génnel, bonyolult hálózatokat alkotva, melyben a kölcsönhatások is többfélék lehetnek. Ezeknek a hálózatoknak a felderítésével, megfejtésével foglalkozik a rendszerbiológia, angol kifejezéssel a **systems biology**, amellyel egy külön fejezetben foglalkozunk ([Rendszerbiológia](#)).

9.10. A genom véletlenszerű viselkedése

2010 szeptemberében a kutatók a genom viselkedésével kapcsolatban egy olyan tulajdonságot fedeztek fel, amely további nehézségekre hívta fel a figyelmet. Kiderült, hogy szemben a korábban gondoltakkal, a genom működésében, a genetikai hálózatok szabályozásában sztochasztikus, véletlenszerű zajok figyelhetők meg. Azaz a genom válasza egy hatásra, vagy működése még akkor sem jósolható meg teljes bizonyossággal, ha minden funkcionális egységét, és minden befolyásoló faktort ismerünk. A vizsgálatot végzők egysejtűekben azt is igazolták, hogy ennek a viselkedésnek evolúciós előnye is van, azaz a véletlenszerűség, a zaj be van építve a genomba [4].

9.11. Statisztikai problémák

Egy következő probléma az adatok elemzéséből, azaz az alkalmazott statisztikai módszerekből származik [5]. Az eddig talált, betegségekre hajlamosító variációk jellemzően csak

10–20%-kal emelik meg hordozójukban a betegségre való hajlamot. Ez azt jelenti például, hogy annak az esélye, hogy a variációt hordozó beteg legyen 1,1–1,2-szer magasabb, mint annak, aki nem hordozza. Az ilyen gyenge hatású gének detektálása pedig nagyon nehéz. Ráadásul a vizsgált betegek genetikailag heterogének, azaz egy azon betegségre számos (gyakorlatilag szinte végtelen számú) genetikai háttér hajlamosíthat. Statisztikai szempontból pl. előnyös, ha minél nagyobb populációt vizsgálunk, genomikai szempontból azonban egyre nő a populáció genetikai heterogenitása, így az egyes genetikai variációk hatása felhígul.

Egy másik probléma ezzel kapcsolatban a megfelelő statisztikai módszer hiánya. Probléma például a többszörös teszt okozta statisztikai hiba kiküszöbölése. Százezer variáció mérése egyetlen chippel statisztikai szempontból azt jelenti ugyanis, hogy 100 ezer független mérést végzünk. Ilyenkor az egyes asszociációknál a hamis állítás valószínűsége összeadódik (1-es típusú statisztikai hiba). Ennek az egyik megoldása, ha a statisztikai hibahatárt elosztjuk a vizsgálatok számával. Ezt **Bonferroni-korrekciónak** hívjuk. Például 100 ezer SNP vizsgálatánál $p = 0,05$ helyett 5×10^{-7} értéket használunk. Azonban a független vizsgálatok tényleges száma nemcsak az SNP számától, hanem számos más körülménytől is függ, így pl. a mintaszámtól, a tesztől, vagy a vizsgált klinikai paraméterek számától is. Azonban a Bonferroni-korrekción túl konzervatív, hiszen csak a nagyon erős asszociációt mutató faktorokat tudja detektálni. Ezzel szemben a multifaktoriális betegségeknek éppen az az egyik legfőbb jellemzője a CD/CV hipotézis alapján, hogy a betegségre való megnövekedett hajlam sok, önmagában csak nagyon gyenge hatású genetikai variáció kölcsönhatásából ered. Ráadásul ezek a betegségek populációs szinten genetikailag heterogének, azaz az egyes emberekben más-más genetikai faktorok lehetnek felelősek a betegségért. Ennek az lesz a következménye, hogy a legtöbb genetikai variáció eloszlása csak nagyon kis mértékben fog különbözni a beteg és az egészséges populáció között, és a fent leírt statisztikai módszerrel nem lehet detektálni őket. Ráadásul a helyzetet több más tényező tovább bonyolítja, illetve a statisztikai értékelhetőséget rendkívüli mértékben megnehezíti. Az egyik legnagyobb, hogy nem elég a 100 ezer variációt egyenként vizsgálni, hanem a variációk kölcsönhatásait is, hiszen előfordulhat, hogy az egyes variációk önmagukban nem, csak más variációkkal, vagy esetleg valamilyen környezeti faktoral együtt hatva okozzák a vizsgált fenotípust. Ilyenkor a vizsgálandó kölcsönhatásoktól függően az elvégzendő elemzések száma csillagászati magasságokban van. Például, 1,8 millió variáció esetén csak a páros, elemzendő gén-gén kölcsönhatások száma 3,2 billió, és ismert, hogy ilyen kölcsönhatásokban sokszor akár több száz szereplő is lehet.

9.12. Megoldáshoz közelítő utak

A fent említett problémákra a kutatók folyamatos fejlesztésekkel válaszolnak. Így például az előző fejezetben említett 1000 genom projekt eredményeit felhasználva már fejlesztés alatt vannak az olyan chippek, amellyel ritkább variációkat is ki lehet mutatni (pl. Illumina 5M chip-je). Illetve, a genetikai variációkra koncentrálnak detektálás mellett egyre inkább fejlődik a teljes genomszekvenálás is („újgenerációs” vagy angolul **new generation sequencing, vagy NGS**), ami egyre gyorsabb és olcsóbb lesz. Elképzelhető, hogy a közeljövőben a GWAS-t ennek a technikának a segítségével fogják végezni. Ez ugyanis minden ritka mutációt ki tud mutatni. Hozzá kell tenni azonban, hogy az ehhez tartozó informatikai, számítástechnikai igény nagyságrendekkel nagyobb (tekintve, hogy itt egyetlen embernél terrabit mennyiségű információt kapunk) a csak a variációkra

koncentrálóknál, ami valószínűleg még nagyobb kihívás, mint maga a mérés technikai végrehajtása. Továbbá, a ritka variációk funkcionális jellemzése is jelentős problémákat tartalmazhat.

Hasonlóan, vannak már metilációs mintázat elemzésére alkalmas chipek, az epigenetikai vizsgálatok elősegítésére. Azonban mivel az epigenetikai (metilációs) mintázat szövetenként különböző, illetve az eredmények interpretálása is nagyon nehéz, még itt is hosszú út áll előttünk, hogy ezeket az eredményeket először a szakemberek, majd később a nem szakemberek számára is értelmezhetően hasznosítani tudjuk. További nehézség ezzel kapcsolatban, hogy az epigenetikai információ, szemben a genom szekvenciájával, a különböző környezeti tényezők hatására, illetve az életkor előrehaladásával állandóan változik.

A statisztikai problémák megoldására is hatalmas erőfeszítések történnék. Egy lehetséges megoldás például a Bayes-statisztikai keretrendszer és a Bayes-háló alkalmazása, amelyben Magyarországon is történnék fejlesztések. Itt nem az egyes variációk gyakoriságát hasonlítják össze a populációkban, hanem valószínűségi modellek, kölcsönhatási háló elemzése folyik. Feltételezhető, hogy megfelelő statisztikai módszerekkel már a ma meglevő eredményekből is sokkal több információt ki lehet nyerni. Például, az egyik közleményben a már meglevő eredmények újraelemzésével a magasság öröklődő hajlamának 67%-át tudták magyarázni, szemben az eredeti közleményben található 5%-kal [6]. Egy másikban számos, magas vérnyomásra hajlamosító olyan gént azonosítottak, amelyeket az eredeti közleményben nem detektáltak. Ebben nem az egyes genetikai variációkra koncentráltak, hanem azt vizsgálták, hogy vannak-e olyan anyagcsere-útvonalak, amelyben a genetikai variációk eloszlása eltért a várttól [7].

Szintén nagy kihívást jelent, hogy a detektált, betegséggel asszociált SNP-k 93%-a nem a fehérjekódoló régiókba esik, és nagyon nehéz a variációk betegségben betöltött szerepét magyarázni. Ebben nagy segítséget jelenthetnek az ENCODE projekt eredményei [8. fejezet; és <http://genome.ucsc.edu/ENCODE/>]. Az egyik vizsgálat pl. kimutatta, hogy a nem-kódoló GWAS-sal detektált SNP-k 76,6% valamelyik vizsgált sejt típusban DN-áz hiperérzékeny helyen van, vagy azzal szoros kapcsoltságban:

<http://www.nature.com/encode/#/threads>;

<http://www.sciencemag.org/content/337/6099/1190>.

A DN-áz hiperérzékeny helyek szabályozó, promóter és enhancer régiókra utalnak. Viszont azt is megfigyelték, hogy ezek a DN-áz hiperérzékeny helyek sejt-specifikusak, azaz az egyes SNP-k funkciói is sejt-specifikusak lehetnek. A vizsgálatok azt is igazolták, hogy az SNP-k túlnyomó többsége, a betegségben releváns sejtben, vagy szövetben esett a DN-áz hiperérzékeny helyre, azaz befolyásolta a genom szabályozó régióját.

9.13. Miért gyakoribbak manapság a multifaktoriális betegségek?

Ismert, hogy több multifaktoriális betegség gyakorisága az utóbbi évtizedekben, és főleg a gazdaságilag fejlettebb országokban jelentősen megnőtt, némelyik gyakorisága közülük jelenleg is folyamatosan nő. Erre az egyik legjobb példa a kóros kövérség, az obezitás és a társult betegségeinek (T2DM, magas vérnyomás, szív- és érrendszeri betegségek stb.) gyakoriságának a növekedése az USA-ban. 2010-ben az USA államaiból 16-ban volt az obezitás prevalenciája >30%, szemben 2007-tel, amikor még csak egyben volt ilyen magas érték tapasztalható. Sőt 20 évvel ezelőtt egyben sem volt a betegség gyakorisága 15%-nál magasabb. Az obezitás prevalenciájának növekedéséről 1985–2010 között

szemléletes animációt nézhetünk meg a <http://www.cdc.gov/obesity/data/trends.html> weboldalon.

De hasonló a helyzet az allergiás betegségekkel kapcsolatban, amelyek, mint pl. a szénanátha, amely régebben ritkaságnak számított, manapság népbetegségnek számít, és gyakorisága folyamatosan nő. Ugyanez igaz az asztmára is. A XX. század elején Budapesten még nem is volt a gyermekeknek külön, asztmával foglalkozó kórházi osztály, és évente csak egy-két új beteget találtak. Ezzel szemben napjainkban évente kb. 20 ezer új asztmás gyermeket diagnosztizálnak Budapesten.

Mi lehet az oka ezeknek a trendeknek? Az emberek genomikai háttere egész biztos nem változott ezekben az években, ebből kifolyólag csak a környezeti tényezők változtattak meg! Mivel a genomika a rendszerbiológiai tudományok közé tartozik, vizsgálatához szükséges a genomikai háttérre ható környezeti faktorok feltárása is.

A betegségek gyakoriságának növekedésére számos elmélet létezik, ezek közül a legnépszerűbbeket, legelfogadottabbakat ismertetem.

9.13.1. Takarékosgén-hipotézis

A takarékos gén (angolul *thrifty gene*) hipotézis azt állítja, hogy az emberiség evolúciója során, illetve az elmúlt évszázadokban is alkalmazkodni kellett a periodikus éhezésekhez. Ezek az éhezési időszakok sokszor évekig is eltartottak, és komoly szelekciós nyomást gyakoroltak. Akinek a szervezete nem tudott elég takarékosan bánni a bevitt étellel (energiával), vagy a jobb időszakokban nem tudott megfelelő mennyiséget elraktározni, az kiszelektálódott (meghalt, vagy nem tudott szaporodni), és azok a gének maradtak fenn, amelyek hordozói takarékosan tudtak bánni a bevitt kalóriákkal [8]. A mai, fejlett országokban élő népesség, legtöbbször még a szegények is, nincsenek kitéve nagyobb éhezési periódusnak, rengeteg, energiában dús élelmiszert vesznek magukhoz, ami a társulva a jellemző mozgásszegény életmóddal obezitáshoz, és a hozzá kapcsolható betegségekhez vezet. Ebből az is következhet, hogy a mai fejlett („civilizált”) világban a kisebb-nagyobb túlsúly számíthat természetesnek (a „vad” típusnak), és az, aki ilyen körülmények között nem hízik el, számíthat a „mutánsnak”, azaz a ritkább genetikai variációkat hordozónak.

Ide tartozik az a feltételezés is, hogy a mai relatív jólét epigenetikai szinten is átprogramozza a szervezetet, ami már kora gyermekkortól elhízáshoz vezethet. Erre az egyik bizonyíték abból a korábban már említett svéd tanulmányból származik, amelyik azt találta, hogy azoknak a 20. század elején élt azoknak a férfiaknak, akik serdülőkoruk előtt jólétben éltek (nem éheztek), a fiú unokái nagyobb valószínűséggel haltak meg cukorbetegségben, mint azok, akik éheztek [3]. Érdekes módon ezzel szemben az éhezés kifejezetten védett a fiú-unokák diabétesszel kapcsolt halálával szemben. Ezt a férfiágon továbbmenő transzgenerációs hatást patkányokban is megerősítették.

Hasonló, és valószínűleg erősebb epigenetikai hatást gyakorol a nők viselkedése, dohányzása, táplálkozása a terhességük alatt a magzat további sorsára. Mivel a ma felnövő generációknak általában már a szülei, nagyszülei sem éheztek, magyarázhatja a túlsúly, és a hozzá kapcsolódó betegségek járványszerű elterjedését már gyermekkorban is.

A **takarékos gén** hipotézishez tartozik még a **sóviasszatartáshoz** kapcsolható elmélet [9]. Régebben, pl. a meleg Afrikában, a nagyfokú izzadás mellett, a hozzáférhető só mennyisége is messze alatta volt a mainak. Ezért alakult ki az, hogy az emberek többsége szereti a sót, a sós ételeket, így kényszerítve tudat alatt magát arra, hogy minél több, amúgy létfontosságú sót (konyhasót, NaCl) juttasson folyamatosan a szervezetébe. Ez régebben, a sóínség időszakában egy fontos szelekciós tényező volt, hiszen a sóhiány

súlyos egészségkárosodáshoz vezet. A mai világban, amikor korlátlan mennyiségben áll rendelkezésre só, ez túlzott sóbevitelhez és magas vérnyomáshoz vezet. Részben ezzel lehet magyarázni, hogy az USA-ban, Kanadában élő Afrikából származók között lényegesen gyakoribb a magas vérnyomás gyakorisága, mint az ugyanolyan környezetben élő fehérek között.

A takarékos gén hipotézisre számos olyan példát lehet sorolni, amelyben a pár évtizede még éhező populáció hirtelen bekerült a jólétbe, az obezitás, T2DM stb. gyakorisága pedig ugrásszerűen megnőtt. Erre az egyik leggyakrabban említett példa az USA-ban és Mexikóban is élő pima indiánok esete. Az USA-ban élő indiánok között az obezitással összefüggő T2DM gyakorisága meghaladja az 50%-ot, míg korábban ez a betegség gyakorlatilag nem fordult köztük elő. Jellemző még, hogy a kevésbé jólétben élő, és genetikailag tőlük feltehetőleg nem nagyon különböző mexikói pima indiánok között ugyanennek a betegségnek a gyakorisága mindössze 8%.

Az elmélet szerint azt is kijelenthetjük, hogy a gyakori multifaktoriális betegségek egy részét normális gének okozzák, amelyek rossz kombinációban fordulnak elő, vagy nem megfelelő környezeti viszonyok közé kerültek.

9.13.2. Tisztasághipotézis

Az allergiás betegségek gyakoriságának növekedését magyarázza a tisztasághipotézis, amelyre számos bizonyíték is van. Ez azt állítja, hogy a mai, relatív tiszta világban az újszülöttek nem engedjük, hogy kialakuljon a normális immunrendszere, és ez vezet oda, hogy az amúgy ártatlan allergénekre (pl. virágporok, poratka) adjon IgE típusú immunválaszt. Az elmélet szerint, a magzat immunválasza el van tolódva az ún. Th2 típusú immunválasz felé. Az újszülötteket érő fertőzések (kiegészítve az anyatejes táplálkozással) ezt az immunválaszt tolják el Th1-es irányba. A tiszta, betegségek esetén antibiotikumokkal kezelt újszülöttben ez a folyamat nem zajlik le, **megmarad a magzati, Th2 felé eltolódott immunválasz**, és ez, allergiás, atópiás betegségek kialakulására hajlamosít. Ehhez hasonló folyamat később is, akár felnőttkorban is lejátszódhat. A Th2-es immunválasz eredetileg a különböző paraziták ellen alakult ki. Az elmélet szerint, mivel a fejlett világban általában (szerencsére) nem kell a szervezetnek paraziták (pl. bélférgék) ellen harcolnia, az immunválasz „unatkozó” Th2-es karja új ellenséget „keres” magának, és reagál az amúgy ártatlan allergénekre. Ezekre az elméletekre számos bizonyíték van. A hasonló genomikai háttérrel rendelkező populációk tisztább helyen élő részében általában kimutathatóan, szignifikánsan nagyobb az allergiás betegségek gyakorisága.

Steril körülmények között élő egereken megfigyelték, hogy sokkal nagyobb valószínűséggel alakul ki náluk asztma vagy 1-es típusú cukorbetegség.

Meg kell azonban jegyezni, hogy ez nem jelenti azt, hogy kontrollálatlanul piszkosabban kell élnünk, gyereket nevelnünk, hogy megelőzzük az allergia kialakulását. Ugyanis azt is megfigyelték az ilyen populációkban, hogy a tisztább környezetben élő populációkban lényegesen magasabb volt a várható élettartam, mint a kevésbé higiénikus körülmények között élőkben.

A korai antibiotikum-használat is számos későbbi betegséggel asszociálható. Például egy vizsgálatban megállapították, hogy gyakrabban lesznek kövérek azok, akiknél csecsemőkorban antibiotikumot használtak. Ezt arra vezették vissza, hogy ezeknek a gyermekeknek megváltozott a bélflórája, és ezzel a táplálék felszívódása.

Ehhez kapcsolódik a tisztasághipotézis elmélet egy másik iránya, a **Th1-érés (maturation) hipotézis**. Ez azt állítja, hogy a csökkent csecsemőhalandóság áll az allergiás betegségek megnövekedett prevalenciájának hátterében. Ismert, hogy még a XX. század

elején is a csecsemők jelentős része, általában különböző fertőzések következtében, meghalt. Az elmélet szerint ezek egy része azért halt meg, mert gyenge volt a fertőzések leküzdésében fontos Th1-es immunválaszuk. A mai, gyenge immunválasszal rendelkező csecsemőket különböző antibiotikumokkal életben tartjuk, és bennük nem tud kialakulni a normális, Th1 irányba eltolódott immunválasz. A fentiekhez hasonlóan, a bennük dominánsabb Th2-es immunválasz allergiás betegségek kialakulásához vezethet.

9.13.3. További elméletek

A fenti két elmélet rokona a következő is, amely azt állítja, hogy vannak olyan **genetikai variációk, amelyek régebben szelekciós előnyt élveztek, manapság viszont bizonyos betegségek kialakulására hajlamosítanak**. Ilyenek lehetnek pl. a gyulladásos válasszal kapcsolatos gének variációi. Az erőteljesebb gyulladásos válasz régebben a különböző fertőzések leküzdésében szelekciós előnyt élvezhetett, manapság viszont több multifaktoriális betegségre hajlamosíthat. Ilyenek például a krónikus gyulladással jellemezhető asztma, atherosclerosis, vagy az autoimmun betegségek.

Ezzel kapcsolatos annak a kutatásnak az eredménye, mely azt mutatta ki, hogy a fiatalokban hasznos gének időskorban betegséget okozhatnak. Ismert, hogy az erős gyulladásos hajlammal rendelkező emberek hajlamosak öregséggel kapcsolatos betegségekre (pl. atherosclerosis). Viszont fiatalokban előnyt jelenthet egy erőteljesebb immunválasz [10, 11]. Ez az **antagonisztikus pleiotrópia (antagonistic pleiotropy)**. Megállapították, hogy a 100 éven felüliekben ritkábbak az erős gyulladásos válasszal asszociációt mutató génvariációk. Erre példa az egyes baktériumok elleni immunválaszban fontos szerepet betöltő toll like receptor 4 (TLR4)-ben talált Asp299Gly (D299G) SNP. Ez a receptor gyengébb működésével, és alacsonyabb NF- κ B aktiválással asszociál. Továbbá, a hordozók gyengébb választ adnak Gram negatív baktériumokra és ez szepszisre és számos más betegségre hajlamosít. Viszont a mai „steril”, antibiotikumos világban a polimorfizmus alacsonyabb gyulladásos válasszal és magasabb várható élettartammal asszociál, azaz a 100 éven felüli populációban gyakrabban fordult elő, mint a populációátlag [12].

A tisztasághipotézishez kapcsolható az ún. **Old Friends, azaz régi barátok hipotézis**, amely azt állítja, hogy az allergia, és az autoimmun betegségek ma tapasztalható elterjedése azzal magyarázható, hogy elvesztettük régi barátainkat, azaz a mikroorganizmusokat, akikkel együtt alakultunk ki az evolúció során. Ismert, hogy az emberi szervezetben kb. 100-szor annyi mikroba található, mint ahány emberi sejt. Az emberi szervezet normális működéséhez ezek szorosan hozzátartoznak. Azonban az elmúlt évszázadokban táplálkozásunk, illetve a gyógyszerek (antibiotikumok) ennek a flórának az összetételét megváltoztatták, ami szervezetünk működésének zavarához, és a fent említett betegségek elterjedéséhez vezetett.

<http://www.sciencedaily.com/releases/2012/10/121003082734.htm>

A fentiekén kívül vannak további magyarázatok egyes multifaktoriális betegségek gyakoriságának növekedésére. Például, hogy a **dízelolaj és a virágporok egymásra hatásakor** a virágporok allergizáló hajlama megnő. Ezzel is magyarázható a nagyvárosokban tapasztalható magasabb asztmaprevalencia.

Egy másik elmélet alapján a mai globalizált világban, a bizonyos **környezeti tényezőre szelektálódott emberek máshol élnek**, és az ottani környezetre érzékenyebbek lesznek. Erre példa, hogy a fekete bőrű, afrikai származású emberek, akik a nagyfokú napsugárzásra szelektálódtak, az északi országokban D-vitamin-hiányosak lesznek, és ez pl. autoimmun betegségekre, vagy asztmára hajlamosítja őket. Ehhez kapcsolódó elmélet, hogy a korábban egymástól izoláltan élő populációk közötti keveredés is növelheti a

poligénes betegségek gyakoriságát. Itt azt feltételezik, hogy egyes allélok egymás mellé kerülhetnek, és az amúgy semleges hatású allélok kölcsönhatása betegséghez vezethet.

9.14. Irodalom

1. Sørensen TI, et al. Childhood body mass index--genetic and familial environmental influences assessed in a longitudinal adoption study. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1992 Sep; 16(9):705–14.
2. Manolio TA, et al. Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature*. 2009 Oct 8; 461(7265):747–53.
3. Kaati G, et al. Cardiovascular and diabetes mortality determined by nutrition during parents' and grandparents' slow growth period. *Eur J Hum Genet*. 2002 Nov;10(11):682-8.
4. Eldar A, Elowitz MB. Functional roles for noise in genetic circuits. *Nature*. 2010 Sep 9; 467(7312):167–73.
5. Moore JH, Asselbergs FW, Williams SM (2010) Bioinformatics challenges for genome-wide association studies. *Bioinformatics* 26: 445–455.
6. Yang J és mtsai. Genomic inflation factors under polygenic inheritance. *Eur J Hum Genet*. 2011;19(7):807–12.
7. Torkamani A, Topol EJ, Schork NJ. Pathway analysis of seven common diseases assessed by genome-wide association. *Genomics*. 2008 Nov; 92 (5):265–72.
8. Johnson RJ, Andrews P, Benner SA, Oliver W. Theodore E. Woodward award. The evolution of obesity: insights from the mid-Miocene. *Trans Am Clin Climatol Assoc*. 2010; 121:295–305;
9. Lev-Ran A, Porta M. Salt and hypertension: a phylogenetic perspective. *Diabetes Metab Res Rev*. 2005 Mar-Apr; 21(2):118–31.
10. Franceschi C, et al. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann N Y Acad Sci*. 2000 Jun;908:244–54.
11. Capri M, et al. Human longevity within an evolutionary perspective: the peculiar paradigm of a post-reproductive genetics. *Exp Gerontol*. 2008 Feb; 43(2):53–60.
12. Candore G, et al. Inflammation, longevity, and cardiovascular diseases: role of polymorphisms of TLR4. *Ann N Y Acad Sci*. 2006 May; 1067:282–7.

9.15. Fejezethez tartozó kérdések

1. Mit nevezünk multifaktoriális betegségeknek?
2. Milyen jellemzői vannak a multifaktoriális betegségeknek?
3. Miért fontos kutatni a multifaktoriális betegségek genomikai hátterét?
4. Hogyan bizonyíthatjuk egy betegség örökölhetőségét?
5. Mi lehet a hibája a λ_R -adatoknak?
6. Hogyan szűrhetők ki az öröklődés vizsgálatakor a környezeti hatások?
7. Tulajdonságok, betegségek vizsgálatánál mit értünk öröklődő hányadnak?
8. Mi az a QT?
9. Mik azok a discontinuous jellemzők?
10. Mi az a QTL?
11. Milyen tényezők nehezítik meg a multifaktoriális betegségek vizsgálatát?
12. Mi az a genetikai heterogenitás?

13. Mi az az inkomplett penetrancia?
14. Mi a fenokópia?
15. Mi az a genetikai pleiotrópia?
16. Mondjon példákat arra, hogy miért nehéz egy multifaktoriális betegség fenotípusát meghatározni!
17. Mi az a CD/CV és a CD/RV hipotézis?
18. Mondjon példát a betegségek fenotípusát befolyásoló környezeti faktorokra!
19. Mi az a takarékosgén-hipotézis?
20. Mi az a tisztasághipotézis?
21. Mi lehet a magyarázata, hogy a GWAS-vizsgálatok az öröklődő hányad töredékét találták meg?
22. Milyen eredményeket hozott az ENCODE projekt a betegséggel asszociáló, nem-kódoló régióra eső SNP-kkel kapcsolatban?
23. Mi az a szintetikus asszociáció?
24. Miért nehezítik meg az epigenetikai változások a betegségek genomikai hátterének vizsgálatát?
25. Mi az az antagonisztikus pleiotrópia?
26. Mit jelent az, hogy a genom véletlenszerűen viselkedik, és milyen nehézséget okoz?
27. Mi az a Bonferroni-korrekció?
28. Mivel asszociálhat napjainkban a fejlett világban az olyan polimorfizmus, amely alacsonyabb gyulladáscsökkentő választ okoz?
29. Mi az az „Old friends” hipotézis?
30. Milyen következményei lehet az elvándorlásnak?

10. Betegségek genomikai vizsgálati módszerei

Ebben a fejezetben a multifaktoriális betegségek, genomikai vizsgálatok fontosabb módszereit, és a hozzájuk tartozó elméleti alapokat foglaljuk össze. A csak genetikai vizsgálatokra alkalmas módszereket, illetve a módszerek technikai hátteréről más forrásokból tájékozódhatunk. A genetikai, statisztikai alapokról itt csak annyiban lesz szó, amennyi szorosan kapcsolódik a tárgyalt módszerek megértéséhez.

10.1. Genetikai markerek

Minden olyan genetikai variáció használható genetikai markernek, amellyel jellemezni lehet egy lókuszt, és jó eséllyel, két homológ kromoszómán levő lókuszt között különbséget lehet tenni.

Az egyik legnépszerűbb marker a **mikroszatellita**, amelyet **short tandem repeat**-nek vagy **STR**-nek is szoktak hívni. Ezek 1–6 ismétlődésből (más definíció szerint 1–4 ismétlődésből) álló szekvenciaszakaszok, melyek általában neutrálisak. Ilyen pl. a TA-ismétlődés, pl. TATATATA, amelyet $(TA)_n$ -nel szokás jelölni (itt $n=4$). Itt a polimorfizmus abból adódik, hogy az ismétlődések száma két homológ kromoszóma között nagymértékben különbözhet. Azaz, pl. $(TA)_n$ -nél az n értéke széles skálán mozoghat. Egy STR-nél szokás megadni a diverzitás fokát, azaz a **heterozigótaság valószínűségét**. Ez alapján a **diverzitás foka** egy markernél annak a valószínűsége, hogy egy marker egy véletlenszerűen kiválasztott emberben heterozigóta; 0 ha nem variábilis, 1 ha nagyon variábilis. Ez utóbbi értéket nyilván nem veheti fel, mert ez azt jelentené, hogy a marker minden emberben más. Informatív a marker, ha a diverzitás foka $\geq 0,7$, azaz $>70\%$ a valószínűsége, hogy egy véletlenszerűen kiválasztott emberben a marker heterozigóta. Az STR-eknek az előnye az SNP-kkel szemben, hogy egy STR-nek több allélja is lehet (akár >10), szemben az SNP-knél általános 2-vel. Az emberi genom kezdeti feltérképezéséhez, a monogén betegségek genomikai hátterének felderítéséhez, teljes genomszűrésekhez mikroszatellita markereket használtak, és sokszor használnak még ma is. Sőt bizonyos esetekben, pl. emberek (bűnözők, áldozatok, rokonok stb.) azonosítására még ma is ezek a hivatalos markerek. A humán genomban kb. 30 ezer STR-markert ismerünk. A humán genom, vagy egérgenom szűréseket általában 5 vagy 10 cM-os szettel végezték (ld. lent), ami azt jelenti, hogy két marker egymástól való távolsága a humán genomban 5, illetve 10 cM. Ez utóbbi a humán genomban 811 markert jelentett.

Fő előnyei:

- (1) A nagyfokú polimorfizmusból adódó diverzitás. Két ember között jóval kevesebb STR-rel tudunk különbséget tenni, mint a biallélikus SNP-kel. Pl. igazságügyi or-

vosszakértői azonosításnál használt 10-15 STR-rel összehasonlítva, 20-50 SNP ad azonos szintű információt.

- (2) Régebben használják, ezért pl. az igazságügyi adatbankok mind STR-alapúak, így ezek használatát preferálják.

Hátrányai:

- (1) Bonyolult a kimutatása

(ld. [http://en.wikipedia.org/wiki/Microsatellite_\(genetics\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Microsatellite_(genetics))).

Az SNP-knél az utóbbi években óriási fejlődés történt, amellyel az STR-ek nehézkes kimutatása nem tudott lépést tartani.

- (2) Jóval kevesebb van belőlük, mint az SNP-kből (kb. 30 ezer, vs. >30 millió)

- (3) Mutációs rátája 100 ezerszer magasabb, mint az SNP-ké, így a rokonsági vizsgálatoknál hátrányban van.

- (4) Eloszlása nem olyan egyenletes, mint az SNP-ké, ezért vannak nem lefedett genomterületek.

Manapság az STR-ek hátrányai messze meghaladják előnyeiket, ezért humán genomikai vizsgálatokban egyre inkább SNP-ket használnak (ld. lent GWAS). De pl. már készül a 45 SNP-ből álló, emberi azonosításra tesztelt univerzális teszt, amelyet a világ 44 populációjában teszteltek, és átveheti az igazságügyi vizsgálatokban használt mikroszatelliták szerepét.

Az SNP-k előnyeit, mint markerek, tartalmazza az előző felsorolás. Hátránya abból származik, amelyik egyben az előnye is, hogy olyan mennyiségben lehet egy mérésben meghatározni őket, amely egy sor új, elemzési, statisztikai problémát vet fel (ld. előző fejezet).

10.2. Betegségek genomikai hátterének vizsgálati módszerei

10.2.1. Genetikai variációk szerepének vizsgálata betegségekben

Két fő típust különböztetünk meg:

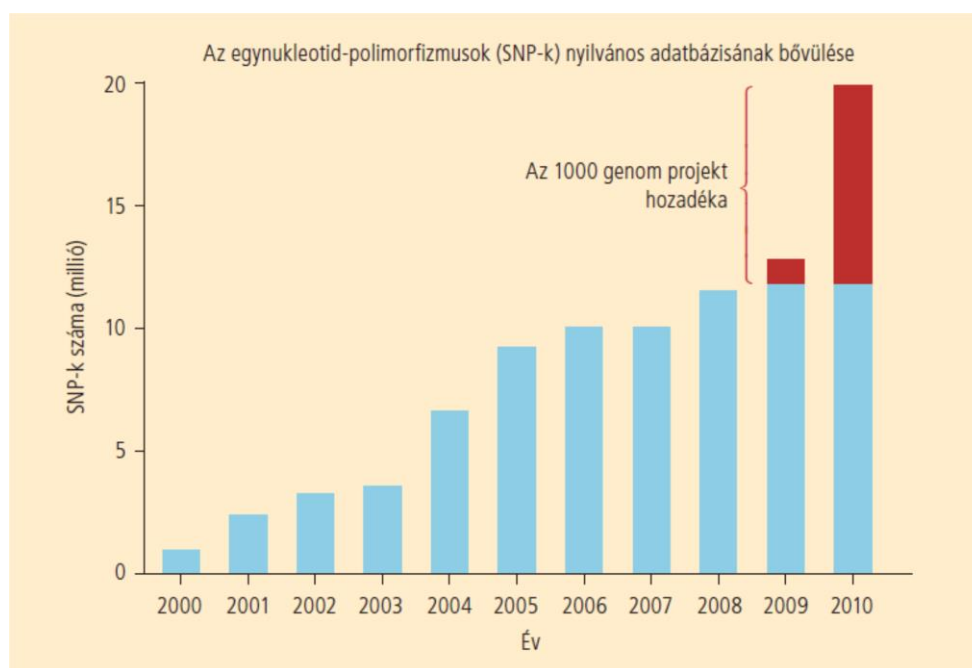
- **Hipotézis, prekonceptió által irányított**; pl. jelölt génasszociációs vizsgálat, gének szekvenálása stb. (általában a **genetikai módszerek**)
- **Hipotézismentes**; pl. teljes genomszűrés, teljes genomasszociációs vizsgálat (**genome wide association study = GWAS**), teljes genomsekvencálás, mikroarray mérések (**genomikai módszerek**)

A betegségek genetikai hátterének kiderítésében, új gyógyszercélpontok keresésében, a személyre szabott gyógyászatban, azaz a gyógyszerkutatásban nagyon fontosak a genetikai variációk, hiszen számos kutatás igazolta, hogy a különböző betegségekre való hajlamban, vagy a gyógyszerekre való válaszban döntő jelentőségűek. A molekuláris genetika fejlődésével lehetőség nyílt ezek vizsgálatára is, hiszen már a HGP-ben is rengeteg variációt azonosítottak, majd több nagy, nemzetközi projekt is ezek felderítését tűzte ki célul (pl. Human Variome Project, HapMap, 1000 Genome project).

Kezdetben a legnépszerűbbek az ún. **jelölt (vagy kandidáns) génasszociációs vizsgálatok** voltak. Ezekben a vizsgálatokban olyan géneket választottak ki, amelyekről tud-

ták, hogy **szerepet játszanak a betegség kialakulásában**, bennük genetikai variációkat kerestek, majd összehasonlították azok gyakoriságát beteg és egészséges populációban. Rengeteg ilyen vizsgálat történt a különböző betegségekből. **Előnyük**, hogy relatív olcsók, egyszerűek, könnyű értékelni őket és jól magyarázható eredményeket adnak.

Ezekkel a vizsgálatokkal azonban **számos probléma** volt, illetve van. Először is ismerni kell hozzá a betegség patomechanizmusát, azaz új gének (új gyógyszer-célpontok, új patomechanizmusok) felfedezésére nem alkalmas. Másodszor, különböző okok miatt számos hamis pozitív eredmény született, és az eredményeket később más vizsgálok más populációkban nem tudták reprodukálni. Végül, például az is problémát jelentett, hogy a korai módszerekkel általában egyszerre egy, vagy csak néhány variációt tudtak vizsgálni, és már akkoriban ismert volt, hogy az ún. multifaktoriális, vagy gyakori betegségekből (pl. cukorbetegség, atherosclerosis, magas vérnyomás, asztma stb.) több száz genetikai variáció egymásra hatásából alakul ki az a genetikai hajlam, amely a környezeti faktorok hatására végül betegséghez vezet.



10.1. ábra. A nyilvános SNP-adatbázis növekedése. 2009 és 2010-ben az 1000 genom projekt 8,5 millió új SNP-t talált a megszekvenált, különböző etnikumú genomokban [4]

Az első és az utolsó probléma megoldására a **teljes genomszűrés** módszerét fejlesztették ki, amelyet **kapcsoltsági vizsgálatoknak** is szoktak nevezni. Ebben általában beteg testvérpárral (**ASP = affected sib pair**) rendelkező családokban a genom teljes területén nagyjából egyenletesen elosztva variábilis mikroszatellita markereket határoztak meg, és azt nézték, hogy a betegekben milyen genomterületeken tér el a markerek eloszlása a várttól. A markerekhez valószínűségi értékeket rendeltek (**LOD score**), azaz, hogy milyen eséllyel asszociálnak a betegséggel (**LOD = logarithm of odds**, annak az esélynek a 10-es alapú logaritmus, hogy két lókuszt genetikailag kapcsol, összehasonlítva annak az esélyével, hogy nem kapcsol). Pl. $LOD = 3$ azt jelenti, hogy 1000-szeres a valószínűsége (10^3) annak, hogy két lókuszt együtt öröklődik, mint annak, hogy nem.). A módszer számos értékes és hasznos eredményt hozott, új gének felfedezéséhez vezetett, **de számos probléma** volt vele. Az egyik, hogy a mikroszatelliták meghatározása, ahol az ismétlődések pontos számát kell meghatározni, nagyon **munka- és időigényes és drága** is.

Ezért egy-egy vizsgálatba csak néhány száz mikroszatellitát tudtak bevonni, ami azt jelentette, hogy az **egyes mikroszatelliták egymástól nagyon távol (általában kb. 10 cM-ra) estek**. Ebből kifolyólag viszonylag **kicsi volt az esély, hogy egy betegség ló-kusszal egy mikroszatellita kapcsoltságban legyen**, azaz vele egyszerre öröklődjön. Ebből kifolyólag a legtöbb betegséghez kapcsolható variáció elveszett. A drágaságon és a nagy munkaigényen kívül még olyan problémák is voltak pl., hogy **nehéz volt a mintagyűjtés** (nehéz megfelelő számú, együttműködésre is hajlamos szülővel rendelkező beteg testvérpárt gyűjteni).

10.2.2. GWAS

A 2000-es évek fejlesztései során kiderültek, hogy az SNP-k kimutatása automatizálható, és óriási mennyiségben lehet őket egyszerre meghatározni. Párhuzamosan több cég is olyan rendszereket fejlesztett ki, amelyekben egyetlen chippel, vagy array-vel több 100 ezer SNP-t lehet meghatározni. A versenyben a meghatározások árát is sikerült erősen leszorítani. Ma már a több 100 ezer variációt kimutatni képes chipék ára 100 \$ nagyságrendű. A chipfejlesztések során derült ki, hogy az SNP-k mellett nagy jelentőségük van a CNV-knek is. A cégek gyorsan reagáltak. Az időközben felfedezett CNV-kre jellemző markerek pillanatok alatt belekerültek a vizsgálatokba.

Jelenleg két vezető cég van a piacon. Az egyik az Affymetrix, melynek a 6.0 array-e 906 ezer SNP-t és 946 ezer CNV-re jellemző markert tartalmaz. A másik az Illumina, melynek jelenleg legfejlettebb terméke a HumanOmni5BeadChip, amely 4,3 millió ló-kuszt jellemez, mely SNP-eket és CNV-eket is tartalmaz, ráadásul egy chippel egyszerre 8 mintát, mindössze 200 nanogramnyi DNS-ből képes mérni. Közben más technikákban, így például a DNS-szekvenálásban is óriásit fejlődött a tudomány. Ennek folyamánként olyan projektek indultak, mint pl. az 1000 genom projekt, amely különböző etnikumú populációkhoz tartozó, összesen 2500 ember megszekvenálását tervezi [4]. A projekt már rengeteg új genetikai variációt tárt fel (10.1. ábra). Ezeknek a felhasználásával készült a fent említett Illumina chip, amely gyakorlatilag minden olyan variációról tartalmaz információt, melynek a populációs gyakorisága (a megszekvenált afrikai, ázsiai és európai populációkban) nagyobb, mint 1%.

A GWAS-vizsgálatok általában úgy történnek, hogy a fenotípusos jellel (pl. beteg) rendelkező, illetve kontrollpopulációt genotipizálnak, azaz a fent említett chipék segítségével >100 ezer SNP-t meghatároznak, majd megkeresik, hogy melyik marker gyakorisága különbözött a két populáció között. A statisztikai módszerek fejlődésével már folytonos változókat is fel lehet használni GWAS-okban. Például a vércukorszinttel, vagy vérnyomással asszociáló genetikai markerek keresésénél már nincs szükség két jól elkülöníthető populációra. Ha statisztikailag szignifikáns összefüggést találnak, akkor azt mondják, hogy a marker kapcsol a jelleghez. Ez legtöbbször két dolgot jelenthet: [1] a marker a funkcionálisan befolyásolja a jelleget (pl. fehérjefunkciót vagy struktúrát, genom 3D-struktúrát, génexpressziót); [2] a markerhez genetikailag kapcsol (vele általában együtt öröklődő) szekvenciavariáció a jelleg funkcionális oka (ld. még 11. fejezet). A módszer a **hipotézismentes** módszerek közé tartozik, azaz végrehajtása nem igényel előzetes genetikai tudást a jellegről.

Napjainkban a GWAS óriási lehetőségeket nyújt a multifaktoriális jellegek genomikai hátterének tisztázására, amit a különböző kutatócsoportok gyakorlatilag rögtön ki is használtak. Mivel ezek az eredmények nagy valószínűséggel valós összefüggéseket mutatnak, pl. a betegségek patomechanizmusának új aspektusait mutatják be, létrehozta egy weboldalt is, amelyre összegyűjtve felkerülnek az eredmények (A Catalog of

Published Genome-Wide Association Studies (<http://www.genome.gov/gwastudies/>). Erre olyan vizsgálatoknak az eredményei kerülhetnek fel, amelyekben minimum 100 ezer SNP-t vizsgáltak, és csak olyan SNP-k, melyekre a p érték $9,5 \times 10^{-6}$, azaz ekkora a tévedés esélye. Az eredmények mennyiségére jellemző, hogy 2008. november 25. és 2011 novembere között 1062 publikáció és 5267 SNP került fel az oldalra.

10.2.3. GWAS-eredmények értékelése

A GWAS-eredmények **értékelése különösen nagy kihívás elé állította a bioinformatikusokat**. Mint ahogy már korábban is írtuk, a hamis pozitív állítás elkerülése miatt nagyon szigorú statisztikai szabályokat kellett bevezetni az eredmények értékelésénél. A legegyszerűbb, és legtöbbször használt a Bonferroni-korrekción, amikor a 0,05-ös p-értéket osztjuk a vizsgált SNP-k számával, és akkor mondjuk, hogy egy SNP asszociál, ha a rá kapott p-érték ennél az értéknél kisebb. Ennek teljesülésekor azt mondjuk, hogy az SNP **genomszintű asszociációt** mutatott. Ez pl. 1 millió SNP esetén 5×10^{-8} . Ennek eléréséhez, viszont a multifaktoriális betegségekre jellemző gyenge hatású variánsok miatt sokszor 100 ezres nagyságrendű populációkat kell vizsgálni, amelyet egyes betegségek-nél nagyon nehéz, vagy nem is lehet elérni. Ezen probléma elkerülésének az egyik módszere, hogy több kisebb populációt külön-külön vizsgálunk, pl. úgy, hogy az első teljes GWAS-ban kiválasztják a legjobban asszociáló x darab ($x = 25-120$) SNP-t, és az ismétlődő populációkban (replication cohorts) már csak ezeket nézik. Mivel az egyes populációkban kapott p-értékek összeszorozódnak, ráadásul a Bonferroni-korrekción is csak x-szel (mondjuk 100-zal) kell végezni, így megnő az esélye, hogy pozitív asszociációt találjanak. Ezekben a vizsgálatokban az első elemzés a kritikus, hiszen ilyenkor kell „elkapni” az asszociáló SNP-eket, és a nagy mennyiségű adat miatt itt merülnek fel azok a nehézségek, amelyekről a [2. fejezet](#)ben szóltunk, azaz pl. a többszörös tesztelés problémája (Bonferroni-korrekción), vagy az SNP-SNP kölcsönhatások óriási mennyisége. Ennek a vizsgálatnak az is az előnye, hogy így két vagy több független populáción is validáljuk az eredményeinket, így nagymértékben lecsökkenthetjük a hamis pozitív eredményeket. Hátránya, hogy a hamis negatív eredmények száma is nőhet. Az előny viszont túlkompensálja a hátrányt, hiszen egy hamis pozitív eredmény sokszor több év felesleges kutatásait vonja maga után, annak minden költség-, munka- és idővonzatával együtt. Emiatt a jelentősebb újságok ma már megkövetelik, hogy az asszociációs vizsgálatok eredményeit legalább egy független populáción validálni kell.

Egy másik lehetséges megoldás az **útvonal-analízis** [5]. Itt a géneket aszerint, hogy az általuk kódolt fehérjék milyen anyagcsere-útvonalban szerepelnek, funkcionális kategóriákba sorolják. Ebben két fontos adatbázis áll rendelkezésre: a **GO**, azaz **Gene Ontology** (<http://www.geneontology.org/>), illetve a **KEGG**, azaz **Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes** (<http://www.genome.jp/kegg/>). Ezután egy megfelelő szoftverrel (pl. ALIGATOR) azt nézik, hogy az útvonalon levő egyes génekben genotipizált szignifikáns variánsok feldúsulnak-e az egyes útvonalon. Azaz azt vizsgálja a szoftver, hogy az egyes útvonalakon talált asszociált SNP-k eloszlása hogyan tér el a várt eloszlástól. Ha egy útvonalon sok olyan gén van, amelyben szignifikánsan asszociáló SNP-k vannak, akkor az az útvonal szerepet játszhat a betegségben, vagy egyéb jellegben. Fontos persze, hogy itt az egyes SNP-kre a szignifikanciahatár nem a genomszintű szignifikanciaérték, hanem annál nagyságrendekkel magasabb. A Bonferroni-korrekción itt általában a tanulmányozott útvonalak számával végzik.

Hasonló a **Gene set enrichment analysis (GSEA)**, amelyet először a génexpressziós eredmények értékelésére fejlesztettek ki. Itt előre meghatározott „génszettek” elemez-

nek, és azt nézik, hogy az egyes génszettekben hány gén asszociál az adott fenotípussal, és eszerint rangsorolják az egyes génszetteket.

Ezeknél a vizsgálatoknál felmerül, hogy az olyan SNP-k, amelyek nem génben találhatóak, hová sorolhatók? Itt az egyes statisztikusok más-más stratégiát követnek. Az egyik ilyen, hogy a nem génben található SNP ahhoz a génhez tartozik, amelyik az SNP-től 20 kilobázison (kb) belül található. Ha több ilyen gén is van, akkor mindegyikhez tartozik. Ha nincs ilyen gén, akkor az SNP kiesik ebből az elemzésből.

Ezekkel a módszerekkel több, már a hagyományos módszerrel elemzett GWAS-t értékelték újra, és pl. magas vérnyomásban számos addig ismeretlen, a vérnyomás szabályozásában addig nem ismert anyagcsere-útvonalat fedeztek fel.

10.2.4. Parciális genomszűrések

A teljes genomszűrések mellett ezek egyszerűbb változatai is gyakran kerülnek alkalmazásra. Ilyen pl. a kapcsoltsági analízisek után elvégzett parciális genomszűrés, vagy jelölt régió asszociációs vizsgálat. Itt a korábbi vizsgálatokban LOD-csúcsokat adó markerek közelében nagyobb sűrűségű újabb markerekkel, általában SNP-kkel végeznek asszociációs vizsgálatot (**partial genome association study, vagy PGAS**). Előnye, hogy jóval kevesebb adatot kell elemezni, így a statisztikai nehézségek jó része megoldódik.

Egy másik lehetőség, hogy a betegségben szerepet játszó szövetben, esetleg állatmodellek segítségével elvégzett teljes mikroarray génexpressziós mérés után, az eltérő expressziót mutató gének közül a kiválasztottakban végeznek SNP-asszociációs vizsgálatot.

10.2.5. Pozicionális klónozás

Pozicionális klónozásnak nevezzük azt a technikát, amikor pl. a kapcsoltsági vizsgálatoknál az asszociált genomrégiókat különböző újabb markerekkel tovább szűkítjük, majd pl. *in silico* és laboratóriumi módszerekkel (pl. génexpressziós mérés, DNS-szekvenálás, funkcionális vizsgálatok) megkeressük az asszociációért felelős gént, és annak mutációját.

Részletesebben: http://en.wikipedia.org/wiki/Genetic_screen#Positional_cloning.

10.2.6. Személyre szabott genomika

Személyre szabott genomikáról beszélünk, amikor a genomikai eredményeket egy adott személyre alkalmazzuk.

A szigorúan vett tudományos kutatások mellett sokan hamar felismerték, hogy a GWAS vagy az NGS kapacitását, eredményeit profitorientált módon is értékesíteni lehet. Hamarosan megjelentek a személyre szabott genomika (**personal genomics**) jelszavát a zászlójukra tűző, az eredményeket közvetlenül a felhasználó számára rendelkezésre bocsátó cégek (angolul *direct to consumer*, vagy DTC-szolgáltatás; 10.1. táblázat). Ennek az egyik legismertebb példája a 23andMe cég [6]. A cégnél a feltételektől függően 99–399 \$ között lehet a szolgáltatást megrendelni. Ekkor elküldenek egy kisebb tartályt egy részletes útmutatóval. A tartályban a nyálunkat kell visszaküldeni, amelyből DNS-t vonnak ki, majd az Illumina egyik chipje segítségével kb. 1 millió SNP-t határoznak meg benne. Az eredményeket kielemezve 6-8 hét múlva kapjuk meg. Olyan információkat kaphatunk, mint pl. a genomunk milyen etnikumú genomok keveredéséből származik; ha családunk több tagjának a mintáját beküldtük, meghatározzák, hogy a genetikai hátterük milyen arányban egyezik, különbözik (pl. testvérek unokatestvérek, távolabbi rokonok

stb.). Értesítést kaphatunk, ha velünk rokonságban állókat találtak; különböző híres emberekkel hasonlítják össze a genomunkat; a jelenlegi tudományos ismeretek birtokában 198 betegségről becslést kapunk, hogy az átlagpopulációhoz képest nagyobb vagy kisebb kockázattal rendelkezünk; vagy a genomunk hogyan befolyásolja különböző gyógyszerekre való reakciónkat stb.

Cég	Szolgáltatás	Ár
23andMe	Kb. 1 millió SNP meghatározásából 178 betegség genetikai kockázatáról egy becslés, illetve származás- és rokonságelemzés	399 \$, vagy 99 \$ + 9\$/ hónap előfizetés az újabb eredményekre
deCODEme	Illumina Human 1M BeadChip, mely >1 millió SNP-t detektál, 47 betegség, származás	2000 \$
Knome	Illumina genomszekvenáló platform; az eredmények értelmezése	39 500 \$
Existence Genetics	Saját fejlesztésű chip; 700 betegség és jelleg; javaslatok a betegségek megelőzésére	350 \$
Navigenics	Affymetrix 6.0; 900 000 SNP; szigorú tudományos követelmények, 28 betegség, 12 gyógyszerre való reakálás	999 \$

10.1. táblázat. Jelentősebb cégek, melyek orvosi és más célokból genomikai tesztek elvégzését, és az eredmények értékelését kínálják

Amint az várható is volt, a közvetlenül a megrendelőnek, sőt „laikusoknak” eladott genetikai teszteredmények számos jogi és etikai problémát vetettek fel. Ez kifejezetten igaz akkor, amikor a különböző betegségekre való hajlamról van szó. Ilyen problémák például, hogy joga van-e egy profitorientált magáncégnek ilyen típusú orvosi jellegű diagnózist kiadni, illetve, hogy mit kezd egy ember egy olyan információval, hogy bizonyos betegségekre az átlagosnál egy kicsit emelkedettebb hajlama van? A váratlan, gyors technikai fejlődés, és a hozzá kapcsolódó szolgáltatás a törvényhozókat is váratlan helyzet elé állította. Erre jellemző, hogy például Kalifornia 2008 júniusában levelet küldött 13 ilyen cégnek, amelyben felszólította a cégeket, hogy állítsák le ezeknek a teszteknek az eladását kaliforniai lakosok számára, és bizonyítékokat kért arra vonatkozólag, hogy a cégek megfelelő szabályozással és engedélyekkel rendelkeznek [7]. Az elmúlt években a cégek idomultak a meglévő szabályozásokhoz, és pl. Kaliforniában is engedélyezték működésüket, bár hozzá kell tenni, hogy a törvényhozás, illetve szabályozások egyelőre nem tudtak lépést tartani az új kihívásokkal. Pl. az USA-ban egyetlen törvény született ezekkel a tesztekkel kapcsolatban, amely azt mondja, hogy eredményeiket biztosító cégek, illetve munkaadók semmilyen módon nem vehetik figyelembe.

A cégek hangsúlyozzák, hogy az általuk adott információ nem helyettesíti a szakorvosi tanácsot, diagnózist vagy kezelést. Például a 23andMe olyan dokumentumot irat alá a megrendelővel, amely tartalmazza, hogy a kapott információ nem szolgál betegség vagy más állapot diagnózisára, megakadályozása, vagy kezelésére, és a szolgáltatás kizárólag oktatási és kutatási célokat szolgál.

Sokan tartottak attól, hogy az olyan információk, hogy az illetőnek valamilyen súlyos, esetleg kezelhetetlen betegsége az átlagosnál nagyobb hajlama van, károsan befolyásolja az illető pszichés állapotát, például depressziós lesz. Érdekes módon, az ezzel kapcsos-

latos felmérések semmi ilyesmit nem mutattak ki. Valószínűleg ez kicsit hasonlít ahhoz, mint amikor a dohányos vagy elhízott ember is tudja, hogy számos betegségre megnő a hajlama. Sőt, mivel feltehetőleg az átlagosnál egészségtudatosabb emberek kérnek ilyen információkat, inkább pozitív hatásokat tapasztaltak. Azaz, a kapott eredmények hatására egyes emberek tudatosan megelőző lépéseket tettek, vagy egészségesebb életformára tértek át.

10.2.7. Újgenerációs szekvenálás (NGS)

Részleteket ld. a [8. fejezet](#)ben.

Az NGS jelenleg még túl költséges több alkalmazáshoz, és nehezen kezelhető, nagy mennyiségű adatot ad. Ezért sokszor ennek redukált formáit használják. Ilyen pl. az **exomszekvenálás**, amikor csak a fehérjét kódoló gének exonjait szekvenálják meg, ami kb. 30 Mb, a teljes genom 1%-a. Ld.: http://en.wikipedia.org/wiki/Exome_sequencing. Becslések szerint a monogénes betegségeket okozó mutációk 85%-a található itt. Hátránya persze, hogy más funkcionális szekvenciákról nem kapunk információt, és az eddigi GWAS-eredmények alapján a multifaktoriális jellegekért (pl. betegség) felelős variációk 93%-a a proteinkódoló régiókon kívül esik. Viszont az erős hatású ritka variánsok többsége valószínűleg itt található.

Az ENCODE projektben egyik központi módszer volt a **DN-ase-seq** ([8.](#) és [9. fejezetek](#)). A módszer azon alapszik, hogy a DN-áz I enzim könnyebben emészti az „élő” kromatin helyeket, azaz ahol nem-hiszton szabályozó fehérjék (transzkripciófaktorok, enhancerek) kötődnek a genomhoz. Ezután az emésztési pontot megszekvenálják. Ezzel a módszerrel lehet a transzkripciófaktorok és az enhancerek kötődési helyeit meghatározni. Az ENCODE projekt eredményei alapján ezek a helyek nagyrészt sejtspecifikusak.

ChIP-seq: Kromatin immunprecipitáció, majd szekvenálás. A DNS-hez asszociált fehérjéket formaldehiddel reverzibilisen keresztkötik a DNS-hez, majd a DNS-darabolás (emésztése) után a kérdéses fehérje ellen termelt antitesttel „kihalásszák”, pl. úgy, hogy az antitestet egy oszlopban szilárd hordozóhoz kötik, vagy mágneses részecskéhez rögzítik. Az így kiszedett fehérje-DNS hibridben a keresztkötést felbontják (pl. melegítéssel), és a DNS-t megszekvenálják. Ezzel a módszerrel is azt lehet meghatározni, hogy az egyes, pl. szabályozó fehérjék hová kötődnek a genomban.

10.2.8. Génexpresszió-mérés

A harmadik nagy jelentőségű módszer, amely alkalmas a genom vizsgálatára, amelynek fontos szerepe van a gyógyszerkutatásban, és itt röviden ismertetjük, az a génexpresszió-mérés. Mint tudjuk, a különböző sejtjeink genomja megegyezik egymással. Amiben mégis különböznek, az az expresszált, vagyis működő gének halmaza. **A sejtek működéséről sok információt kaphatunk, ha ismerjük a bennük működő géneket,** azaz melyik gén milyen arányban íródik át, expresszálódik. **Ez egy adott szövet esetén is eltérhet, attól függően, hogy éppen milyen állapotban van, milyen hatások érik.** Például egy asztmás tüdőben, vagy egy atherosclerotikus plakkban más a génexpressziós mintázat, mint egy egészséges szövetben. Ugyanígy a sejtekre ható külső hatások, pl. a gyógyszerek is, megváltoztatják a sejt génexpressziós mintázatát.

A fejlődés itt is azt az utat járta be, mint a DNS-variációknál. Először egyesével, elég bonyolult módon próbálták meg kvantifikálni a gének működését, majd a magyar származású Stephen Fodor révén az Affymetrix cég 1996-ban kezdte el forgalmazni **génexpressziós chipjeit (mikroarray)**. Azóta más cégek (pl. az Agilent, Illumina) is megje-

lentek a piacon, és a mikroarray-alapú módszerek egyre inkább kezdik levetkőzni gyermekbetegségeiket. Kezdetben ugyanis sok problémát jelentett a nagy mérési pontatlanság, a nehezen reprodukálható és értékelhető eredmények, valamint a módszerek magas ára. Jelenleg az árak a kiindulásiakhoz képest drasztikusan lecsökkentek, a folyamatos fejlesztésekkel a mérések pontossága, reprodukálhatósága is sokat javult, és az adatok értékelése is rengeteget fejlődött az elmúlt években. Egy Agilent chip 44 ezer transzkriptumot tud mérni, sőt egyes termékeken (pl. 4x44K chip) párhuzamosan több különböző mintát is lehet vizsgálni. Szerinte a világon, így Magyarországon is, több szolgáltatólabor működik ahol viszonylag olcsón, teljes génexpressziós mintázatot lehet, ma már elég pontosan, mérni, azaz nem is kell feltétlenül megvenni a drága leolvasót. A bioinformatika fejlődésével pedig a nem matematikusvénával rendelkező kutatók is értékes eredményeket tudnak kihozni a több 10 ezer, elsősre igen kaotikusnak tűnő számadatból, amely egyetlen méréshez tartozik.

A nagy áteresztőképességű módszerek közé az utóbbi időben felzárkózott az NGS-technikát felhasználó **RNS-szekvenálás** (<http://en.wikipedia.org/wiki/RNA-Seq>) is. A módszer előnye, hogy a transzkriptum mennyiségének mérése mellett olyan információt is kaphatunk, mint pl., hogyan expresszálódnak a gén különböző alléljai, detektálhatóak a poszttranszkripció mutációk vagy a génfúziók. Mivel a módszer a génexpresszió kvantifikálása (mérése) mellett pluszinformációkat ad, ha az ára megfelelő mértékben lecsökken, ki fogja szorítani a mikroarray-alapú módszert.

10.2.9. Egyéb mikroarray-alapú módszerek

A technika, illetve a tudásunk fejlődésével számos egyéb termék nőtt ki a génexpressziós chip módszeréből. A miRNS-ek felfedezése után rövidesen megjelentek a piacon a miRNS chipek, a **komparatív genomhibridizációval** (**CGH**; http://en.wikipedia.org/wiki/Comparative_genomic_hybridization), pedig pl. CNV-eket lehet mérni, vagy vizsgálni lehet a tumorokban keletkező nagyobb genomikai átrendeződéseket. A **ChIP-on-chip array** termékkel (<http://en.wikipedia.org/wiki/ChIP-on-chip>), amely a ChIP-seq mikroarray változata, monitorozni lehet, hogy a génexpresszió szabályozásában részt vevő fehérjék hová kötődnek.

Az újgenerációs szekvenálás, illetve a mikroarray-alapú módszerek fejlődésével egyre nagyobb hatékonysággal lehet a **metilációs mintázatot** is meghatározni. Mint korábban említettük, a DNS metilációja leggyakrabban a CpG dinukleotid citozin bázisán történik, ahol a 'p' a két bázist összekötő foszfodiészter csoportra utal. A citozin metilációja az 5. szénatomon történik. A legelterjedtebb módszereknek az az alapjuk, hogy ha a **DNS-t nátrium biszulfittal (NaHSO₃) kezeljük**, az a **metilálatlan citozint uracillá alakítja** (UpG). Ezután szekvenálással vagy mikroarray segítségével összehasonlítják a kezelt és a kezeletlen DNS-t. Ahol maradt a citozin a kezelés után, ott a DNS metilálva volt.

A transzkriptom térképezés (*mapping*) technikával, lokalizálni lehet az expresszáló géneket a genomban. Ez utóbbi módszerek a „*tiling array*” módszer családba tartoznak (http://en.wikipedia.org/wiki/Tiling_array), de ugyanazzal a leolvasóval lehet őket értékelni, és hasonló elven működnek, mint a hagyományos génexpressziós chipek.

Az NGS egyre olcsóbbá, gyorsabbá és precízebbé válásával a mikroarray-alapú módszerek lassan kezdenek kiszorulni.

10.3. Állatmodellek

10.3.1. Állatmodellek előnyei

A multifaktoriális betegségek genomikai hátterének, patomechanizmusának megismerésében nagyon fontos szerepet töltenek be az állatkísérletek, állatmodellek. Vannak olyan betegségek (pl. asztma, atherosclerosis), amelyek patomechanizmusában a molekuláris és sejtszintű tudásunk nagy részét állatkísérletek révén nyertük.

Nézzük meg, milyen előnyei vannak ezekben a vizsgálatokban az állatok használatának:

- A kísérleti állatok általában szabadon keresztezhetőek. Az emberrel szemben itt lehetőségünk nyílik több generáción keresztül a genetikai háttér és a fenotípus közötti összefüggéseket vizsgálni, ezzel kapcsolatban sokkal könnyebb QTL-vizsgálatokat elvégezni. Az egérnek pl. 2 hónap a generációs ideje, szemben az ember 20-30 évével. Irányított keresztezésekkel nyomon lehet pl. követni, hogy egy genetikai marker milyen QT-val, fenotípussal asszociál, szegregál stb.
- Különböző egértörzsek állnak rendelkezésre, amelyek fenotípusban (pl. betegségre való hajlamban) különböznek egymástól. Ezeket egyrészt fel lehet használni betegségmodellként, vagy keresztezésekkel vizsgálhatjuk a fenotípus és a genotípus szegregációjának összefüggését. Ezeket az állatokat szigorúan kontrollált körülmények között tarthatjuk, szemben az emberrel, ahol a vizsgálatban résztvevők előéletét, környezetét, táplálkozását stb. nem lehet pontosan ismerni, kontrollálni.
- Génszinten az ember nem különbözik jelentősen a többi élőlénytől. A legfontosabb alapgének gyakorlatilag minden élőlényben megtalálhatók. Az emlősökhöz különösen hasonlít az ember génszinten, pl., az egér genom csak 300 génben különbözik az emberétől, de sok vizsgálatban alacsonyabb rendű állatokat is eredményesen használhatunk, pl. gyümölcslegyet (*Drosophila melanogaster*), vagy a *Caenorhabditis elegans* nevű fonalférget elterjedten használják genetikai vizsgálatokban. Érdekesség, hogy ez a kis állat „kétszeres Nobel-díjas”, hiszen mind a szervfejlődés és a programozott sejthalál genetikai szabályozásával, mind az RNS-interferencia leírásával kapcsolatban tanulmányozóit Nobel-díjjal tüntették ki.
- Embereken nyilvánvaló etikai okokból csak nagyon korlátozottan lehet kísérletezni. Állatokkal ez sokkal szélesebb körben megtehető.
- Az előzőek folytatásaként az állatokból sokkal könnyebb szövetekhez jutni (pl. tüdő, agy stb.), és pl. génexpressziós vizsgálatokat végezni, könnyebb, pontosabb a betegségek diagnózisa.
- Rengeteg állatspecifikus reagens, anyag áll már rendelkezésünkre, pl. egérspecifikus ellenanyagok, genetikai próbák. Ismert már több állat géntérképe.
- Legtöbb betegségünkre kidolgozható állatmodell, amely segítségével részletesen vizsgálható a betegségek molekuláris háttere.
- Genetikailag módosított állatok lehetősége.

Ez utóbbi két pontot, témánk miatt kicsit részletesebben tárgyaljuk.

Témánk szempontjából kéttípusú, genetikailag módosított állatot kell megemlíteni. Az egyik a génkiütött, **knockout vagy KO állat**. Közülük is magasan kiemelkedik témánk szempontjából a KO egér, melynek kialakításáért 2007-ben Nobel-díjat is adtak. Röviden,

itt az egér egy génjét (vagy esetleg a genom egy másik funkcionális egységét) valamilyen módszerrel inaktívvá teszik.

Részletesebben: http://en.wikipedia.org/wiki/Knockout_mouse. 2006-ban 9 országban 33 kutatóközpont megalakította az **International Knockout Mouse Consortium**-ot (IKMC), majd 2011 júniusában az **International Mouse Phenotyping Consortium**-ot (IMPC), amelyek azt a célt tűzték ki maguk elé, hogy az összes génre előállítsanak KO egeret, majd fenotipizálják őket.

KO állatok segítségével vizsgálni lehet, hogy egy gén hiányának milyen fenotípusos jegyei vannak, így a gén funkciójáról jóval többet megtudhatunk, mintha csak *in vitro* körülmények között tanulmányoznánk. Az ismert gének többségéről már kapható KO egér, illetve meg is rendelhetünk cégektől ilyen egereket. Így derült ki pl., hogy az **APOA5** gén hiánya magas szérumtriglicerid-szintet okoz. Egy másik lehetőség, hogy gén-KO segítségével elő lehet állítani az egéren valamilyen betegséget. Pl. ismert, hogy a „vad” egéren nem alakul ki atherosclerosis. Azonban, ha az LDL-receptor (**LDLR**), vagy az **APOE** génjüket kiütjük, és megfelelő, ún. Western-típusú diétával etetjük őket, az emberéhez igen hasonló atherosclerotikus léziók alakulnak ki az ereik falában.

A másik típusú genetikailag módosított állat, ahol főleg egeret használnak, a **transzgenikus egér**. Itt, szemben az előzőekkel, egyes gének működését felerősítik, túl-expresszáltatják. Ennek végső céljai ugyanazok, mint a KO egérnél elmondottak.

Mindkét technikát akár szövetspecifikusan is alkalmazhatjuk. Pl. transzgenikus esetben a gént egy olyan gén promótere után illesztjük be, ami csak az egyik szövetben expresszálódik. Pl. a **SCGB1A1**, korábban CC16 gén főleg a tüdőben expresszálódik, ott viszont nagyon erősen. Amikor egérbe az **IL5** génjét rakták mögé, az IL5 a tüdőben mutatott igen erős expressziót, és az állatban tüdőeozinofília és asztma alakult ki. Ezzel bizonyították, hogy az IL-5 citokin az eozinofilek működésében fontos szerepet játszik, és a tüdőeozinofília közvetlenül asztmát okozhat.

Sokáig problémát okozott a magzati életben életfontosságú gének tanulmányozása, hiszen azok hiánya vagy esetleg túlexpressziója magzati korban letális. Ezért fejlesztették ki a Cre-lox-rekombináció segítségével (ld. http://en.wikipedia.org/wiki/Cre-Lox_recombination) az olyan KO állatokat, ahol pl. valamilyen indukció (pl. antibiotikum-evés) segítségével időzítetten lehet *in vivo* kivágni a kérdéses gént vagy genomszakaszt. Ezek az ún. **kondicionális KO állatok**.

Más *in vivo* technikákkal is lehet még géneket időlegesen inaktíválni. Ezek közül a legjelentősebbek az RNS-interferencia jelenségét felhasználó technikák. Pl. a fonalféreg *Caenorhabditis elegans*-ban minden génnek tanulmányozták az RNSi-vel inaktívált hatását. De a módszer pl. egérben is működik.

10.3.2. Állatmodellek hátrányai

Ha génszinten kicsi is a különbség pl. ember és egér között, genomszinten nagyobb. A vizsgálatok során kiderült, hogy egyes folyamatok egerekben teljesen máshogy működhetnek, mint emberben. Ebből az következik, hogy az egéren kapott eredmények csak kiinduló-pontok lehetnek, ha emberre akarunk következtetni. Ezután még az összefüggéseket emberben is meg kell erősíteni, ami persze nem mindig könnyű.

Hasonló a helyzet a betegségeknél is. Sok betegség nem modellezhető tökéletesen egérben, mások a vezető patomechanizmusok, sokszor pont a legfontosabb tünetek különböznek, vagy egyes gének hiányai emberben igen, egérben nem okoznak betegséget, vagy fordítva. Egyes, a betegségben az emberben jelentős gének az egérben más sejtekben, vagy szövetekben expresszálódnak, más a funkciójuk. Például az inzulinrezisztenciát

fokozó hatású, így a 2-es típusú cukorbetegségben fontos resistencián egérben főleg a zsírszövetekben, emberben a makrofágokban expresszálódik.

10.3.3. Kísérleti betegségmodellek

A betegségben fontos gének manipulálásával az emberéhez hasonló betegségeket lehet egereken előidézni. Ezt lehet közvetlenül az ismert gének kiütésével, vagy túlexpressziójával (10.2. táblázat), de lehet keresztezésekkel is elérni, amikor több nemzedéken keresztül mindig a betegség tüneteit leginkább hordozó állatokat szaporítjuk tovább. Ez utóbbi esetben genomikai szempontból a cél, hogy megállapítsuk a betegséget okozó variációkat. Ráadásul ilyenkor az emberi multifaktoriális kórképekhez sokkal hasonlóbb kórformákat kapunk, hiszen itt, szemben az egy gén módosításával okozott betegséggel, általában a többféle egértörzsben jelen levő, amúgy gyenge hatású variációk keveredhetnek össze, halmozódhatnak fel. Ezt a folyamatot mesterségesen is fel lehet gyorsítani. Ez történik pl. a „**The Jackson Laboratory**”-ban, ahol a hím egerekbe N-ethyl-N-nitrosourea (ENU)-t juttatnak, amely 1000x-esére növeli a spermatogenezisben a mutációs rátát. Ezután megfelelő keresztezésekkel tovább szaporítják az egereket. Nagyon részletes fenotipizálás segítségével különböző betegségi tüneteket hordozó egereket katalogizálnak, amelyekre rá lehet keresni, és meg lehet vásárolni őket. Az egész a „**Mouse phenome project**”-ből nőtt ki, és az adatokat a **Mouse Phenome Database**-ban tárolják. Részletek: <http://phenome.jax.org/>.

Néhány elterjedten használt poligénus állatmodell: Non-obese diabetes: **NOD** egér (1-es típusú cukorbetegség); spontaneously hypertensive rat: **SHR** patkány (magas vérnyomás); **Dahl** sóérzékeny patkány (magas vérnyomás); New Zealand Obese: **NZO** egér (obezitás) stb.

Gén	Manipuláció	Állatfaj	Betegség
LDLR	KO	egér	atherosclerosis
apoE	KO	egér	atherosclerosis
Leptin	KO (ob/ob)	egér	obezitás
Leptin receptor	KO (db/db)	egér	obezitás
TBX21	KO	Egér	asztma
ANP	KO	egér	magas vérnyomás
SNCA	túlexpresszió	drosophila	Parkinson-kór
Mutáns APP	túlexpresszió	egér	Alzheimer-kór

10.2. táblázat. Néhány állatmodell, amelyben egy gén manipulációjával állítottak elő, az emberi betegséghez hasonló tünetekkel rendelkező állatot

10.4. Irodalom

1. International HapMap 3 Consortium, Altshuler DM, et al. Integrating common and rare genetic variation in diverse human populations. *Nature*. 2010; 467(7311):52–8.
2. International HapMap Consortium, Frazer KA, et al. A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. *Nature*. 2007; 449(7164):851–61.

3. Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature*. 2007; 7; 447:661–78.
4. Pennisi E. 1000 Genomes Project Gives New Map Of Genetic Diversity. *Science* 2010; 330: 574–5.)
5. Wang K, Li M, Bucan M. Pathway-based approaches for analysis of genomewide association studies. *Am J Hum Genet*. 2007 Dec; 81(6):1278–83.
6. <https://www.23andMe.com/>
7. Kaye J. The regulation of direct-to-consumer genetic tests. *Hum Mol Genet*. 2008; 17:180–3.
8. Allayee H, Ghazalpour A, Lusk AJ. Using mice to dissect genetic factors in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003 Sep 1; 23(9):1501–9.
9. Mehrabian M, et al. Identification of 5-lipoxygenase as a major gene contributing to atherosclerosis susceptibility in mice. *Circ Res*. 2002 Jul 26; 91(2):120–6.
10. Rapp JP. Genetic analysis of inherited hypertension in the rat. *Physiol Rev*. 2000 Jan; 80(1):135–72.

10.5. Fejezethez tartozó kérdések

1. Mi az a genetikai marker, és milyeneket ismer?
2. Mi az előnye és a hátránya az STR-eknek az SNP-khez képest?
3. Milyen módszereket lehet használni a multifaktoriális betegségek genomikai hátterének tisztázására?
4. Mondjon példát a hipotézis által irányított és a hipotézismentes genomikai módszerekre betegségek genetikai hátterének vizsgálatában!
5. Multifaktoriális betegségek vizsgálatakor hol használhatják a mikroszatellitákat?
6. Mi a hátránya a kapcsoltsági vizsgálatoknak?
7. Multifaktoriális betegségek vizsgálatakor hol használhatják az SNP-eket?
8. Mi az a jelölt génasszociációs vizsgálat, és mi az előnye és a hátránya?
9. Milyen markereket használnak a kapcsoltsági vizsgálatoknál?
10. Mit jellemez egy marker esetén a heterozigótaság mértéke?
11. Minek a rövidítése a GWAS?
12. Mi az a teljes genomasszociációs vizsgálat?
13. Mi a hátránya a teljes genomasszociációs vizsgálatoknak?
14. Mi az a genomszintű asszociáció?
15. Mi az az útvonal-analízis?
16. Mi az a Gene set enrichment analysis?
17. Mi az a parciális genomszűrés?
18. Mi az a pozicionális klónozás?
19. Milyen céget ismer, amelyik nagy teljesítményű genotipizáló berendezést forgalmaz, és kb. mekkora ezek teljesítménye?
20. Mit jelent a személyre szabott genomika?
21. Milyen problémák lehetnek a személyre szabott genomikai cégekkel kapcsolatban?
22. Mi az az exomszekvenálás?
23. Mi az a DN-ase-seq módszer?
24. Mi az a ChIP-seq módszer?
25. Mi lehet az előnye a microarray génexpressziós méréseknek?
26. Mi az az RNA-seq módszer?

27. Mi az a CGH?
28. Hogyan lehet metilációs mintázatot meghatározni?
29. Milyen előnyei lehetnek betegségek tanulmányozásánál állatmodellek alkalmazásának?
30. Milyen típusú genetikailag módosított állatmodelleket ismer?
31. Mire lehet használni KO állatokat?
32. Mi az a transzgenikus egér?
33. Mi aza kondicionális KO állat?
34. Milyen hátrányai vannak humán betegségek tanulmányozása esetén az állatmodelleknek?
35. Hogyan lehet betegségekre genetikailag hajlamos egértörzseket előállítani?
36. Mondjon példát monogénes állatmodellre!
37. Mondjon példát poligénes állatmodellre!

11. Populáció- és evolúciógenetika

11.1. Populációgenetika

A populációgenetika az allélfrekvenciák eloszlásának és változásának vizsgálata különböző populációkban. Ez a betegségek genetikai és genomikai hátterének vizsgálatában az egyik legtöbbet használt kutatási. A fejezet első felében az ezekhez a vizsgálatokhoz tartozó fogalmakkal és módszerekkel ismerkedhetünk meg.

11.1.1. Mintagyűjtések típusai

A betegségek pathomechanizmusának, genetikai és környezeti tényezőknek a vizsgálatára két alapvető mintagyűjtési módszert különböztetünk meg. Az egyik a retrospektív mintagyűjtés (**retrospective study**), ahol a legegyszerűbb esetben két populációt, egy beteget és egy kontrollt gyűjtünk össze. Ezt technikailag viszonylag egyszerű lebonyolítani, akár egyetlen szakorvos is könnyedén elvégezheti, egyszerűen, a hozzá járó betegtől, illetve egy kontrollpopulációtól megfelelő biológiai mintát vesz, és rögzíti (pl. kérdőív kitöltésével) a vizsgálathoz szükséges laboratóriumi, klinikai, kezelési, környezeti, viselkedési stb. adatokat. Itt nagyon fontos, hogy az adatok felvétele gondosan, alaposan és előre megtervezetten történjen, hiszen ezeken az adatokon nagyban múlik az értékelések minősége. A könnyű kivitelezhetőség és a gyors elvégezhetőség miatt a genetikai, genomikai vizsgálatok túlnyomó többségénél ilyen vizsgálat folyik. Angolban **case-control study**-nak hívják ezt a vizsgálatot. Számos ilyen nagy vizsgálatot ismerünk. Kifejezetten a genetikai háttér kutatását célozta meg a 2005-ben indult **WTCCC** (Wellcome Trust Case-Control Consortium; <http://www.wtccc.org.uk/>). Itt 50 kutatócsoport együttműködésével 16 ezer beteg és 3 ezer egészséges ember mintájának segítségével a gyakori variációk (SNP és CNV) és a betegségek összefüggéseinek vizsgálatát tűzték ki maguk elé. A projekt sikeres volt, hiszen 90 új genetikai variációt azonosított, amelyek valamilyen szerepet játszanak gyakori betegségekre való hajlamban. A projekt sikere főleg abban rejlett, hogy a nagyszámú minta és a szigorú statisztikai elemzések következtében a talált új variációk mindegyike nagy valószínűséggel valós asszociációt mutat, szemben a korábbi eredményekkel, ahol az eredmények túlnyomó többségét nem tudták egyértelműen igazolni. Az eredmények másik nagy jelentőségét az adja, hogy mivel nem célzott géneket, variációkat vizsgáltak, hanem hipotézismentes vizsgálatokat folytattak (GWAS), a talált gének nagy része a betegségekkel kapcsolatos új anyagcsereutakat, és pathomechanizmusokat tárt fel, megadva a lehetőségét új típusú kezelések, gyógyszerek kifejlesztéséhez (3).

A WTCCC sikere nyomán 2008 áprilisában létrehozták a nemzetközi WTCCC2-t, amelyben összesen 120 ezer minta mérését és elemzését tűzték ki célul (teljes genomasszociációs vizsgálatok segítségével, ld. később) különböző gyakori betegségekből, de olyan poligénes jellegekben is, mint a matematikai és az olvasási képességek, vagy a statinkezelésre adott válasz. 2009-ben elindították a WTCCC3-t is (ld. <http://www.wtccc.org.uk/>).

A prospektív mintagyűjtésnél (**prospective study**) egészséges populációtól gyűjtünk mintát, majd sorsukat (pl. visszahívásokkal) sokszor évtizedekig nyomon követjük, és összefüggéseket keresünk a bennük kialakuló betegségek és a különböző vizsgált, pl., genetikai, laboratóriumi és környezeti tényezők között. Ez jóval nagyobb szervezési munkát, több gyűjtött beteget és hosszabb időt igényel, így drágább, mint a retrospektív, viszont számos előnye van. A retrospektív vizsgálatoknál számos torzítás lehetséges pl. a mintagyűjtésnél. Így a betegségben meghaltak mintái nyilván alulreprezentáltak.

Több híres prospektív vizsgálatot ismerünk. Az egyik a **Framingham heart study**, amely 1948-ban indult az USA-beli Framingham városában 5209 férfi és nő részvételével, és ma – már a 3. generáció vizsgálatával – azóta is folyik. Mai tudásunk nagy része a kardiovaszkuláris betegségek kockázati faktorairól ebből a vizsgálatból ered (ld. <http://www.framinghamheartstudy.org/>).

Még nagyobb ilyen vizsgálat az **UK biobank** projekt, mely 2007-ben kezdődött és 500 ezer, 40–69 éves ember mintáinak és adatainak összegyűjtését célozta meg, mely azóta teljesült is 2010-ben. A vizsgálat fő célja a 21. század betegségeinek kutatása. Részleteket ld. a UK biobank honlapján: <http://www.ukbiobank.ac.uk/>.

1990-ben több mint 14 500 terhes nőtől kezdtek el információkat gyűjteni az angliai Bristolban és Bath-ban és környékükről az Avon régióban. Ez az *Avon Longitudinal Study of Parents and Children (ALSPAC)* study, ld. <http://www.bristol.ac.uk/alspac/>, amelyet a „90-es évek gyermekei”-nek (Children of the 90's) is szoktak nevezni. A nők több mint 100 oldalas kérdőívet töltöttek ki egészségükről, kapcsolataikról, munkájukról, otthonaikról. Szülésük után a kutatók a gyermekek sorsát követték nyomon, és vettek tőlük rendszeresen biológiai mintákat. Az akkor született gyermekeknek a születendő gyermekeiknél is tervezik, hogy folytatják a minta- és adatgyűjtést és az értékelést. A study weboldalán olvashatunk az eredményekről. A genetikai eredményekre példa, hogy többek között ennek a populációnak a segítségével azonosították először az FTO-génvariációk és az obezitás kapcsolatát. Egy másik, epigenetikai vizsgálat azt mutatta, hogy összefüggést találtak a köldökzsinórban 9 gén metilációs mintázata és a 9 éves kori testmagasság között. Ez is mutatja, hogy az anya terhesség alatti viselkedése meghatározóan befolyásolja gyermekének későbbi sorsát.

11.1.2. Biológiai minta gyűjtése populációgenetikai vizsgálatokhoz

Amikor egy retrospektív genomikai vizsgálatához populációt gyűjtünk, kétféleképpen járhatunk el.

1. Alkalmazhatunk nagyon **szigorú feltételeket**. Ilyenkor pl. betegségek esetén az a szempont, hogy a betegcsoportba a betegek fenotípusa között lehetőleg ne legyen különbség. Ez sok esetben szinte megvalósíthatatlan. Gondoljunk bele, hogy az asztmás betegek egy része allergiás is, rhinitise, conjunctivitise, esetleg dermatitise van. Van, aki jól reagál a kezelésre, mások nem reagálnak rá, van, akinek magas az eozinofil- vagy az IgE-szintje másoknak nem stb. Különbözhetnek abban is, hogy mi váltja ki az asztmikus tüneteket (pl. fertőzés, allergén, hideg levegő, sportolás, aszpirin stb.), és még számos dologban különbözhetnek egymástól. Ideális esetben, egy betegcsoportba csak olyan betegeket gyűjtünk, akik semmilyen tünetben nem különböznek egymástól, hiszen így nagy az esély, hogy genetikailag homogénebb populációt vizsgálunk, és megtaláljuk azokat a variációkat, géneket, amelyek ahhoz a fenotípushoz vezetnek. A hátrány nyilvánvalóan az, hogy így egy csoportba kevesebb beteg kerül, ami nagyon megnehezíti, hogy statisztikailag értékelhető eredményeket kapjunk.

2. Alkalmazhatunk **lazább feltételeket**. Ebben az esetben több a beteg, de heterogénebb a genetikai háttér, az egyes variációk hatása felhígul.

Az egyik lehetséges megoldás erre a problémára, hogy **köztes fenotípust (intermediate, vagy endofenotípust)** használunk. Itt azt használjuk ki, hogy egy betegségen belül bizonyos tünetek különböznek. Pl. allergiánál, asztmánál vizsgálhatjuk QT-ként az IgE-szintet. Ebben az esetben olyan genetikai variációkat (QTL-eket) fogunk találni, amelyek az IgE-szintet befolyásolják. Mivel a magas IgE-szint fontos szerepet játszhat a betegségekre való hajlamban, a betegségek genetikai hátterének egy részét megfejthetjük. Persze ezzel nem kapunk olyan genetikai variációkat, amely a betegség más tünete miatt, esetleg manifesztációjáért felelősek. De ilyen endofenotípus lehet pl. atherosclerosisban a stabil/nem stabil angina, vagy LDL-C-szint, CRP-szint stb., magas vérnyomásnál az alacsony reninszint (emelkedett ARR)/ normális reninszint, obezitásnál a leptin- vagy az inzulinszint, vagy a kövérség típusa (pl. hasi) stb.

11.1.3. Hardy-Weinberg-eloszlás

Hogy megbízható eredményeket kapjunk, minden populációgenetikai vizsgálatnál el kell végezni a **Hardy-Weinberg-egyensúly (HWE)** vizsgálatát. A HWE a genotípusok várható eloszlását írja egy random populációban.

Az allélok relatív gyakoriságát két allél esetén két egyenlettel írhatjuk le.

$$p + q = 1 \text{ és } p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

Ahol:

- p a gyakoribb (major) allél frekvenciája
- q a ritka (minor) allél frekvenciája
- p^2 és q^2 a homozigóta egyedek gyakorisága
- $2pq$ a heterozigóta egyedek gyakorisága

A genotípus várható eloszlásának számszerű értékeit úgy számolhatjuk ki, hogy a kapott értékeket megszorozzuk a vizsgált populációban levő egyedek számával. Például, ha a ritkább allél gyakorisága 20% ($q = 0,2$; $p = 0,8$), akkor a ritka allél homozigóták várható száma egy 100 fős populációban $0,2^2 \times 100 = 4$; a heterozigótáké $2 \times 0,2 \times 0,8 \times 100 = 32$; a gyakori allél homozigóták száma $0,8^2 \times 100 = 64$.

A HWE-től való eltérés ellenőrzését minden populációgenetikai vizsgálatnál el kell végezni, amelyben a vizsgált csoportok genotípus-eloszlását vizsgáljuk valamilyen szempontból. Az összehasonlítást, amelyben az elméletileg várható eloszlást hasonlítjuk össze a kapott eloszlással, χ^2 statisztikával lehet elvégezni, és manapság remek *online* internetes programok állnak rendelkezésre, amelyekkel könnyedén el tudjuk végezni a tesztet. Ilyen weboldal pl. a <http://ihg2.helmholtz-muenchen.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>, amellyel egyszerre több allélnál is el lehet végezni a vizsgálatot, ráadásul, ha két populációt hasonlítunk össze, az oldal asszociációs teszteket is végez.

A HWE elméletével itt csak annyiban foglalkozunk, hogy mit jelenthet általában ezekben a vizsgálatokban, ha a kapott eloszlás szignifikánsan különbözik a várttól. Az eltérés több okra vezethető vissza:

- A genotipizálás hibás volt.
- A mintavétel nem véletlenszerű. Pl.: sok rokon van a populációban.

- Beltenyészet (*inbred*) populáció. Mindkét utóbbi esetben a homozigóták aránya megnő.
- A vizsgált allél egy ismétlődő (*repeat*), pl. CNV-régióban helyezkedik el. Ebben az esetben általában a heterozigóták arány nő meg.
- A vizsgált allél valamilyen szerepet játszik a vizsgált populáció fenotípusában. Pl.: a cisztikus fibrózis (CF) monogénes betegség nagy részéért felelős CFTR gén $\Delta F508$ -es allélt vizsgálva, CF-esekben a homozigóták túlsúlya mutatható ki.

Ha egy genotípusnál eltérést tapasztalunk a HWE-ben a kontrollpopulációban, akkor az általában kizárja azt az allélt a további vizsgálatokból, hiszen hibás eredményekhez vezethet. A beteg populáció esetében is (case-control vizsgálatoknál) az első négy eset mindegyikében hasonló a helyzet, de itt már ennek megállapítása eseti elemzéseket igényel, pl. másik módszerrel is el kell végezni a genotipizálást, vagy a populációban tapasztalható rokoni kapcsolatokat más módszerekkel is vizsgálni kell. De a genomikai típusú elemzéseknél, amikor egyszerre nem egy, hanem esetleg több 100 ezer, vagy millió genotípust vizsgálunk, ez a többi genotípus elemzésével tisztázható. Tulajdonképpen számunkra a legutolsó eset a legérdekesebb. Ha egy genotípus hajlamosít a vizsgált betegségekre, akkor az a vártnál gyakrabban fordulhat elő a beteg populációban, mint az egészségesben. Ha véd a betegség kialakulásával szemben, akkor pedig ritkábban. Mindkét esetben értékes információhoz jutottunk az illető genotípusról, amit persze más módszerekkel még igazolni kell, hiszen, mivel itt egy statisztikai próbát végzünk, nem zárható ki a véletlenszerű tévedés lehetősége. Ritkán ezek ellentéte is előfordulhat, azaz pl. egy másik lókuszon található allél okozza a betegséget, és a gyakrabban, vagy ritkábban előforduló genotípus befolyásolja az egyedek túlélésének esélyét. Természetesen, mivel itt is asszociációról van szó, erre is érvényesek azok a megállapítások, amelyet az asszociáció címszó alatt tárgyalunk.

11.1.4. Kapcsoltság és haplotípus

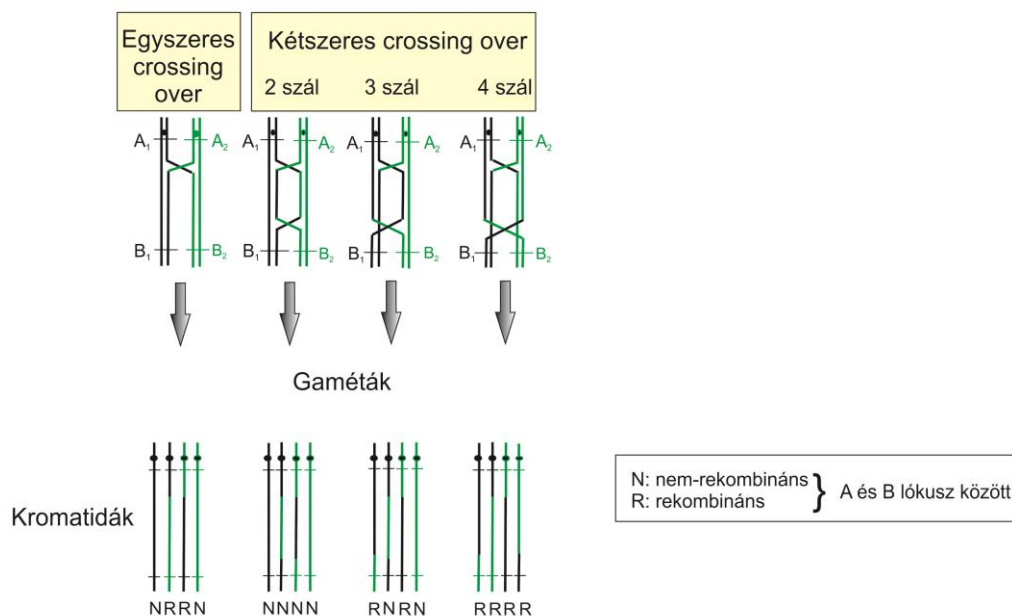
Ismert, hogy az ivarsejtek fejlődésekor a **meiózis** során a homológ kromoszómák között **crossing over**, vagy **genetikai rekombináció** zajlik le, azaz a két homológ kromoszóma genetikai anyaga részben kicserélődik egymással (11.1. ábra). Például az emberi hím-ivarsejtek meiózisa során átlag 49 crossing over történik. Ennek szempontunkból az a jelentősége, hogy a korábban egy kromoszómán, két egymás melletti marker elkerülhet egymás mellől. Mivel az asszociációs és kapcsoltsági vizsgálatok esetén genetikai markereket használunk ([10. fejezet](#)), ennek, mint látni fogjuk, fontos következményei vannak. Annak jellemzésére, hogy egy populációban két allél milyen eséllyel öröklődik egyszerre, vezették be a **linkage disequilibrium (LD, kapcsoltsági kiegyensúlyozatlanság)** fogalmát. Ez a fogalom azt takarja, hogyha két allél egymástól függetlenül öröklődik, akkor a populációs eloszlásuk egymáshoz képest random, véletlenszerű (azaz köztük egyensúly van). Ha azonban valami oknál fogva, (általában azért mert egymás közelében vannak így nem egymástól függetlenül öröklődnek) ez a véletlenszerű eloszlás megszűnik, azt mondjuk, hogy kapcsoltságra öröklődnek, és valamilyen fokú LD van közöttük. Egy másik **definíció**: egy kromoszómán lévő két markerpozíció között linkage disequilibrium áll fenn, ha a két pozíción található allélokat tekintve bizonyos allélkombináció gyakorisága eltér az egyes allélok gyakoriságának szorzatától.

Példa: két SNP, mindkettőn 50-50% gyakorisággal A, ill. G nukleotidok fordulhatnak elő. Ha nincs LD a két pozíció között, azaz egymástól függetlenül öröklődnek, akkor az AG

kombinációnak $50\% \times 50\% = 25\%$ gyakorisággal kell előfordulnia egy populációban. Ha a várt 25%-os együttes előfordulás helyett 40%-ban fordul elő az AG kombináció egy populációban, azt jelenti, hogy nem egymástól függetlenül öröklődnek.

Az LD-t koeficienssel szokták jellemezni. Leggyakrabban két ilyen koeficienszt használnak: a standardizált LD-koeficienszt D' -vel, az ún. korrelációs koeficienszt pedig r^2 -tel jelölik. A két koeficienszt eltérő módon számolják (lásd: http://en.wikipedia.org/wiki/Linkage_disequilibrium), de az értékük két szélső értéke és azok jelentése megegyezik egymással. Mindkét koeficiens esetében 0 azt jelenti, hogy a két allél egymástól függetlenül öröklődik (azaz egymással egyensúlyban „equilibriumban” van), míg az 1-es érték teljes kapcsoltságot jelent, azaz a két allél abban a populációban mindig együtt fordul elő. Ezt úgy szokták interpretálni, hogy a két allél egymással teljes LD-ben van. Az 1 közeli értékek mindig erős kapcsoltságra utalnak.

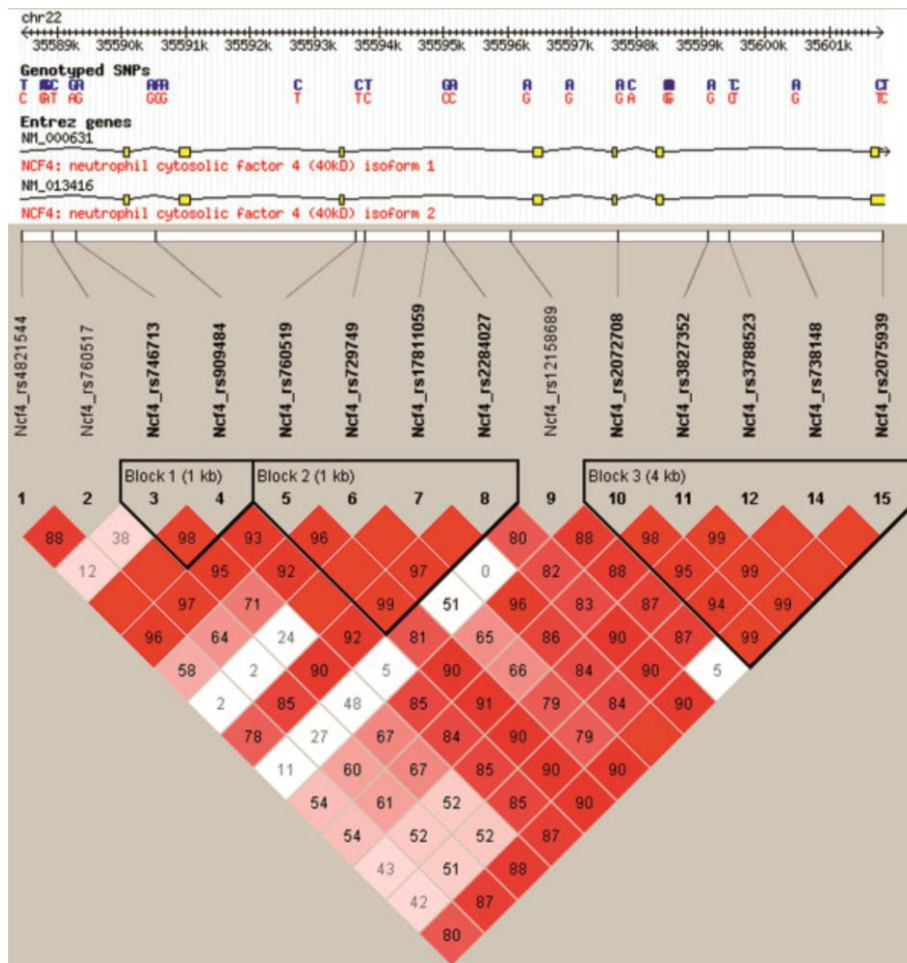
Ha két vagy több allél egymás mellett van, és egyszerre fordulnak elő, akkor azt mondjuk, hogy egy **haplotípuson** vannak. Egy másik definíció szerint: Ha több, egymás melletti allél gyakran fordul elő különböző emberekben egyszerre, azaz együtt öröklődnek (köztük csak ritkán van crossing over) akkor azt mondjuk, hogy ezek az allélok egy haplotípuson vannak. Hogy egy adott populációban milyen gyakran fordulnak elő egyszerre az allélok, annak jellemzésére a **haplotípus-frekvenciát** szoktuk használni. A különböző populációkban eltérő haplotípusokat és haplotípus-frekvenciákat lehet találni. Ennek feltérképezésére indult el 2002-ben a **HapMap project**, a HGP folytatásaként (ld. <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/> és http://en.wikipedia.org/wiki/International_HapMap_Project), melynek azóta már 3 fázisa is lezajlott (1,2).



11.1. ábra. Rekombináció, vagy crossing over meióziskor. Például az emberi férfi meióziskor sejtenként átlag 49 rekombináció történik. A folyamatban a homológ, két szülői kromoszóma genetikai anyaga kicserélődik. Eredményeképpen, az eredetileg egymás mellett található allélok (pl. A_1 és B_1) elkerülhetnek egymás mellől.

Genomikai vizsgálatoknál fel szokták rajzolni a vizsgált populációk és SNP-k haplotípus-térképét. A leggyakrabban használt ábrázolási módot a 11.2. ábrán mutatjuk be. A haplotípusok megállapítására és frekvenciájuk kiszámítására szintén *online* szoftverek állnak rendelkezésre, pl. Haploview 4.1: <http://www.broad.mit.edu/mpg/haploview/>.

Még térjünk vissza a kapcsoltságra. Genomikai/genetikai vizsgálatoknál a kapcsoltságot két értelemben szoktuk használni. Az első jelentése, ahogy előbb is kifejtettük: kapcsoltság lehet két genetikai lókuszon elhelyezkedő két allél között (azaz együtt öröklődnek). A másik jelentése, hogy kapcsoltság lehet egy allél, vagy egy haplotípus és egy fenotípus között (pl. betegség, hajszín, szemszín, IQ, koleszterinszint stb.). Ilyenkor feltételezni lehet, hogy ez az allél (vagy a vele kapcsoltságban lévő másik allél, vagy egy egész haplotípus) befolyásolja annak a fenotípusnak a manifesztálódását.



11.2. ábra. Az LD- és haplotípusblokkok legelterjedtebb ábrázolása. A háromszög feletti számok egy-egy allélt jelölnek, itt 15-öt. Minden allélhoz két irány tartozik, amelyet az első négyzet felfelé mutató két oldala jelképez. Az egyes négyzetekbe írt számok LD-koefficiens jelentenek, amelyek a négyzet két felső oldala irányában az egyes allélokra vonatkoznak. Például a 11-es és a 8-as allél között az LD-koefficiens értéke 83, ami 0,83-at jelent. A jobb vizualizáció miatt a négyzetek színezve vannak. Minél sötétebb piros egy négyzet, annál nagyobb az LD-érték a két allél között. A fehér négyzetek azt jelentik, hogy a két allél között nincs kapcsoltság, alacsony az LD-koefficiens. Bizonyos allélok, a négyzetekkel együtt, egy ötszögbe vannak rajzolva. Ezek között nagy az LD, és haplotípusblokkokat alkotnak. Ezen az ábrán 3 haplotípusblokkot láthatunk ([on line link](#); 2013. február 13.).

11.1.5. Founder populációk

Mivel két lókuszt közötti, a meióziskor bekövetkező crossing over valószínűsége megközelítőleg arányos a két lókuszt egymástól való távolságával, ezt felhasználták az ún. **genetikai távolság** becslésére, és bevezették (Thomas Hunt Morgan, Nobel-díjas genetikus tiszteletére) a **centiMorgan (cM)** mértékegységet. Ennek alapján **két lókuszt között 1 cM a genetikai távolság, ha annak a valószínűsége, hogy köztük crossing over következik be, 1%**. Régebben, a humán genom megszekvenálása előtt ezt a mértékegységet használták két lókuszt közötti távolság megadásakor. Mivel a rekombináció mértéke (a két homológ X-kromoszóma miatt) enyhén nagyobb a nőkben, ezért a genetikai távolságok általában kisebbek férfiakban. Manapság alkalmazása kezd kiszorulni, és egyre inkább a bázisokban megadott fizikai távolságot használjuk, bár markerek távolsága esetén, főleg családvizsgálatokban, sokszor praktikus a genetikai távolságot (is) megadni. Körülbelül, 1 cM = 1 Mb (megabázis) fizikai távolságnak felel meg.

A meióziskor bekövetkező crossing over következtében, ha egy mutáció keletkezik egy családban, és az nemzedékeken át továbböröklődik, a közelében található lókusztok egy idő után egy bizonyos eséllyel elkerülnek mellőle. Minél messzebb van egy lókuszt, annál nagyobb eséllyel. Ennek kapcsoltsági vizsgálatoknál az a következménye, hogy ha egy betegséget okozó mutációt egy kapcsolt marker segítségével szeretnénk detektálni, annál közelebbi markert kell használni, minél régebben keletkezett a mutáció. Ez teljes genomszűréseknél azt jelenti, hogy nagyon sűrű genetikai markereket kell alkalmaznunk, hogy jó eséllyel használjunk olyan markert, ami a betegséget okozó mutációval kapcsolt. Minél távolabbi rokonságban állnak egy populáció tagjai egymástól, annál sűrűbben elhelyezkedő markereket kell használnunk. Ehhez még azt is hozzá kell tennünk, hogyha történelmi távlatokban gondolkodunk, akkor minden ember rokonságban áll egymással. Például, becslések szerint az UK jelenlegi lakosságából két egymással nem rokon embernek átlagosan 22 generációval ezelőtt volt közös őse, azaz 44 meiózis választja el őket egymástól. Ennek az a következménye, hogy a közös ősből 3 cM-ra levő lókusztok esetén $(1-0,03)^{44}=0,26$ az esélye, hogy a két nem-rokon emberben is egymás mellett maradjanak. Ez úgy jön ki, hogy 3 cM azt jelöli, hogy 3% az esély a rekombinációra a két lókuszt között. Annak az esélye, hogy nincs rekombináció $1-0,03 = 0,97$, amit a 44 generáció miatt, ennyiszor kell összeszorozni. 20cM távolságban levő lókusztok esetén, $(1-0,2)^{44}=5 \times 10^{-5}$ az esély ugyanerre. Mivel a humán genom cM-ben kifejezett mérete 3000 cM, ki lehet számolni, hogy az UK populációban, milyen sűrűn kell a markereket elhelyezni, hogy jó (mondjuk 95%-os) esélyünk legyen arra, hogy minden mutációt megtaláljunk.

A humán kapcsoltsági vizsgálatokban itt lehetett felhasználni, az ún. „founder populációkat”. **Founder populáció:** kisszámú ősről visszavezethető beltenyésztet populáció, azaz olyan populáció, melyet vissza lehet vezetni kis számú családra vagy egyénre. Ezek valamilyen oknál fogva izoláltan élnek pl. földrajzi (pl. kis szigeten élnek), vagy társadalmi, vallási okokból csak egymás között köthetnek házasságot), emiatt a rokoni távolság sokkal kisebb közöttük, mint egy nyitottabb populációban. Emiatt kevesebb meiózis választja el őket, így hosszabb haplotípusblokkokkal rendelkeznek, és nagyobb az esély, hogy egy vizsgált marker kapcsoltságban van a fenotípust okozó variánszal. Ilyen populációt alkotnak, pl. a finnek, a quebec-i francia-kanadai populáció, izlandiak, a hutterite, vagy az amish közösségek.

A modern genomikai módszerek fejlődésével (GWAS, NGS), ahol nagyon sűrűn elhelyezkedő markereket használnak, vagy pl. a teljes genomszekvenálással az összes variációt ki tudják mutatni, a founder populációk kezdik elveszíteni a jelentőségüket.

11.1.6. Asszociációs vizsgálatok

Valamilyen jellemző (pl. betegség) genetikai hátterének tisztázására jelenleg a legnépszerűbb módszer az asszociációs vizsgálat. Ilyenkor pl. egy beteg és egy egészséges populáció marker-genotipizálásával, majd statisztikai módszerekkel azt vizsgáljuk, hogy egy marker milyen eséllyel asszociál a betegséggel.

Az **asszociáció** egy statisztikai kijelentés. Ha egy marker asszociál egy fenotípussal az azt jelenti, hogy az adott allél (marker) szignifikánsan gyakrabban fordul elő együtt az adott fenotípussal, mint az várható.

A pozitív asszociációnak számos oka lehet:

- Direkt hatás: a vizsgált allél közvetlenül befolyásolja a fenotípust.
- Természetes szelekció. Az illető allél megnöveli a túlélés esélyét a tanulmányozott betegséggel szemben
- Populációs rétegződés (**population stratification**): egyes népcsoportokban bizonyos allélok gyakrabban fordulnak elő. Pl. evőpálcika-gén (HLA-A1 gyakoribb a kínaiakban)
- Statisztikai hiba (ún. egyes típusú hiba, azaz hamis pozitivitás)
- A vizsgált allél LD-ben van a betegségben szerepet játszó alléllal (pl. mutációval).

A fenti okok közül itt kettőt részletezünk (a statisztikai hibákról, ld. pl. a [8. fejezetet](#)). Az egyik a **populációs rétegződés**, ami az egyik legnehezebben korrigálható problémát okozza. Ez azt jelenti, hogy ilyen típusú populációs vizsgálatoknál fontos szempont, hogy az összehasonlítandó két populáció populációs (pl. etnikai) összetétele megegyezzen egymással. Hogy milyen problémát okozhat, ha ez nem teljesül, a legismertebb elméleti példázat az evőpálcika-gén esete. Ez a példázat röviden azt mondja: tegyük fel, hogy azt akarjuk, kideríteni, hogy van-e annak a képességnek, hogy valaki tud-e evőpálcikával enni, genetikai háttere? Gyűjtünk hozzá két populációt, amelyek közül az egyik tud evőpálcikával enni, a másik nem (kontrollpopuláció). Abban az esetben, ha az első populáció főleg kínaiakból áll, a másik pedig nem, akkor azt fogjuk találni, hogy a kínaiakban gyakori (és európaiakban ritkább) bizonyos HLA-A2-es allél erős asszociációban áll az evőpálcikával evés képességével. Ez nyilvánvalóan hamis asszociáció, amit a két populáció helyes megválasztásával el lehet kerülni. Azonban ez nem mindig ilyen egyértelmű. Főleg a mai, globalizált világban, gyakran élnek együtt különböző etnikai csoportok, részben kevert, sokszor vegyes genetikai háttérrel (pl. USA-ban afroamerikaiak, hispán-amerikaiak, európai eredetű amerikaiak stb., vagy Magyarországon a romák és nem-romák stb.), és az etnikai besorolás, sokszor pl. etikai okok miatt nagyon nehézkes, vagy akár lehetetlen. Amikor két, eredetileg más etnikumhoz tartozó populáció genomszinten keveredik egymással, **population admixture**-nek nevezzük, és ezt a jelenséget egyes genetikai vizsgálatoknál fel is lehet használni (ld. http://en.wikipedia.org/wiki/Admixture_mapping).

A populációrétegződésből adódó hibáknak az elkerülésére számos módszert dolgoztak ki. Pl. a belső kontrollmódszerek. Ilyen a **transmission disequilibrium test (TDT)** alkalmazása. Ez ugyan 50%-kal több munkával jár, hiszen beteg + szülők is kellenek hozzá. Azokat a szülőket választják ki, akik heterozigóták a betegséggel asszociáló M1 markerre, és azt vizsgálják, hogy hány szülő adja át az M1 allélt a beteg gyermekébe vs. hány nem. Ha az M1 marker nem asszociál a betegséggel, annak esélye, hogy a beteg megkapja a szülőtől 50%, ha asszociál, akkor ennél nagyobb. Ld.: http://en.wikipedia.org/wiki/Transmission_disequilibrium_test.

Egy másik módszer a **discordant sib pair** analízis. Itt olyan testvérpárokat vizsgálnak, melyek közül az egyik beteg, a másik nem.

Manapság a genomikai módszerek fejlődésével egyszerre rengeteg markert tudunk vizsgálni. Ezzel kapcsolatban már kifejlesztettek olyan statisztikai módszereket, amelyek korrigálni képesek az eltérő etnikai háttérrel rendelkező populációk összehasonlításából eredő statisztikai torzításokat.

A másik téma, amit itt még ki kell emelni, hogy a vizsgált allél LD-ben van a felelős alléllal. Ez azért fontos, mert pozitív asszociáció esetén a legnagyobb valószínűséggel ez következik be. Az egyik fontos feladat annak megállapítása, hogy a marker direkt hatása, vagy az LD-ben levő allél felelős a kapott asszociációért. A legjobb módszer, ha laboratóriumi körülmények között, *in vitro*, vagy *in vivo* módszerekkel, állatkísérletekkel igazoljuk a funkcionális hatást. Manapság annak is megnőtt az esélye, hogy *in silico* módszerekkel találunk valamit. Az interneten számos olyan adatbázis (ld. ENCODE projekt), szoftver található, amelyekkel egy allélhez funkcionális hatást lehet kapcsolni. Például, a variáció megváltoztatja egy transzkripció faktor kötőhelyét, megváltoztatja a kódolt protein szerkezetét, a miRNS-szekvenciát, vagy kötőhelyet befolyásol, szabályozó szekvenciát változtat meg stb. A vizsgált alléllal LD-ben lévő felelős allél azonosítása történhet direkt szekvenálással, vagy a populáció haplotípustérképe alapján keresünk markerünkkel szoros LD-ben lévő másik polimorfizmust. Ez utóbbihoz olyan SNP-adatbázisok állnak rendelkezésre, mint a [dbSNP](#), vagy a haplotípusblokkok feltérképezésére a [Haploview](#) szoftver.

11.1.7. Kockázatszámítás

Asszociációs vizsgálatoknál számszerűsíteni szokták a talált összefüggések erősségét. Az egyik ilyen jellemező a p-érték, amely azt mutatja, hogy mekkora a valószínűsége a hamis asszociációnak. A szignifikanciahatár általában $p = 0,05$. Az ennél kisebb értékeket fogadjuk el szignifikáns, azaz statisztikailag igazolt asszociációnak. Ld. még Bonferroni-korrekción (2. fejezet).

A kockázatszámolásnál használt p-értékkel összefüggésbe hozható fogalom retrospektív vizsgálatoknál az **odds ratio** vagy **OR**-érték. OR jelentése: az esély, hogy az illető allél (vagy lókus) asszociál a betegséggel a betegekben, osztva az eséllyel a kontrollcsoportban. Részletesebben: http://en.wikipedia.org/wiki/Odds_ratio.

Ezzel rokon a prospektív vizsgálatoknál használt **relative risk**, vagy **RR**-érték. RR jelentése: az asszociáció valószínűsége a betegcsoportban osztva az asszociáció valószínűségével a kontrollcsoportban. Ld.: http://en.wikipedia.org/wiki/Relative_risk.

Mindkét érték azt mutatja, hogy az adott genetikai variáns hordozása hányszorosára növeli meg az illető kockázatát a betegség kialakulására. Az 1-nél nagyobb érték kockázatonövekedést, a kisebb érték kockázatcsökkenést jelent. Fontos még megadni az érték 95%-os konfidencia- (95%CI) határát is. Ez azokat az értékhatárokat mutatja, amelyekben belül az összefüggés 95%-os valószínűséggel igaz. Az összefüggés akkor fogadható el általában, ha a két szám közötti érték nem lépi át az 1-et. Pl. az $OR = 3,2$ (2,4-4,8) nem lépi át, így elfogadható az összefüggés, míg pl., $OR = 1,8$ (0,8-3,6) átlépi, így nem való az összefüggés. Egy marker vizsgálatánál $p = 0,05$ az a határ, amely fölött átlépi, alatta nem lépi át az OR 95%CI-je az 1-et. Ez mutatja, hogy a szignifikanciahatár és a kockázatértékek között összefüggés van.

11.2. Evolúciógenetika

A **modern evolúciógenetika** a darwini evolúció, a genetika és a molekuláris genetika szintéziséből származik. Az evolúciógenetikát itt most főleg humán, orvosi szempontokat figyelembe véve tárgyaljuk, és leginkább arra szorítkozunk, hogy milyen tényezők játszhattak szerepet a mai ember genomjának kialakulásában.

11.2.1. A humán genomot formáló gén-környezet kölcsönhatások

Genomunk és a környezet folyamatos kölcsönhatásban áll egymással. A mai ember genomja a környezettel való folyamatos kölcsönhatás során alakult ki. A genomot formáló szelekciós mechanizmusok lehetnek:

- **Természetes** (vagy tisztító) **szelekció** (az előnytelen mutáció nem öröklődik tovább).
- **Pozitív szelekció** (az előnyös mutáció feldúsul).
- **Kiegyensúlyozó szelekció**: pl. a heterozigótáság valamilyen környezeti tényezővel szemben előnyt jelenthet.

Az ember az állatvilágban különleges helyet foglal el, ami a genomján is nyomot hagy, illetve hagyott (1). Például az öltözködés, különböző eszközök, mezőgazdaság, gyógyszerek, úgy általában a civilizáció, lehetővé tették, hogy az egyébként toxikus variánsok feldúsuljanak. Ez a mai, fejlett orvostudománnyal rendelkező korunkban különösen felgyorsult. Sokszor nagy penetranciájú, kóros mutációjú emberek is tudnak szaporodni, továbbadva a toxikus variánsokat. Ez ugyan az emberiség nagyobb diverziasát, komplexitását is lehetővé tette, kiszolgáltatott lett viszont a technikai innovációknak.

Az emberi genomot formáló környezeti tényezők közül kiemelkedő fontosságúak és hatásúak a **mikroorganizmusok**, illetve az embert érő **fertőzések**. Ennek a szelekciós tényezőnek még történelemformáló hatásait is ismerjük, illetve még manapság is tapasztaljuk. Gondoljunk bele, hogy a különböző hatalmas járványokban (pestis, kolera, tífusz, himlő stb.) az arra érzékenyek meghaltak (kiszelektálódtak), és nem örökítették tovább genomjukat. Aki valami miatt ellenálló volt, életben maradt, és továbbörökítette a betegségrezisztens genomját. Például Amerika meghódításában az eltérően szelektálódó populációk találkozása oda vezetett, hogy az amerikai őslakosok túlnyomó többsége a hódítók által behurcolt fertőzésekbe halt bele, de az európaiak is vittek haza jó néhány súlyos betegséget okozó fertőzést. A ma élő populáció azoknak az utóda, akik túléltek ezeket a nagy járványokat, és termékeny utódokat hoztak létre. Itt azonban meg kell jegyezni, hogy az, hogy valaki hogyan reagál egy fertőzésre, a genomján kívül természetesen mástól is függ. Ilyenek lehetnek pl. a korábbi és egyidejű fertőzések, általános fizikai állapot, vagy az adott epigenetikai állapot.

Az elmúlt években a humán genom megismerésével ezeknek a mikroorganizmus-emberi genom kölcsönhatásoknak számos nyomát fedezhettük fel. Pl.:

- A vírusok és a baktériumok beépültek genomunkba, több 100 génünk származik baktériumokból
- 8%-a a genomunknak származik retrovírusokból
- Vannak speciálisan vírus- és baktériumellenes génjeink Ilyenek pl. a mintázatfelismerő receptorok a baktériumok ellen (Toll like receptor, MBL, CD14 stb.), vagy az antivirális gének, fehérjék (pl. *APOBEC3G*, *BST2* (tetherin), *TRIM5*).

Az első két pont a **génáramlás** egy fajtájára, **horizontális géntranszferre** is példa.

A mikroorganizmusok az emberi genomot állandó szelekciós nyomás alatt tartották és tartják ma is. Ezzel kapcsolatban végeztek el egy GWAS-t, amelyben 52 populációban található 950 emberben, 660 ezer SNP-eloszlása, és az epidemiológiai adatok között kerestek összefüggést. Az epidemiológiai adatokat a *Gideon* adatbázisból hasznosították (<http://www.gideononline.com/>). Ez a *Global Infectious Disease and Epidemiology Network database* elnevezésű adatbázis. Az volt a feltételezés, hogy az eltérő földrajzi helyen élő populációkra eltérő vírusok hatottak, és az egyes populációkban kiszelektálódtak az ott levő vírusokra legkevésbé érzékenyek, azaz azok, akiknek a genomjában olyan variációk voltak/vannak, amelyek miatt sikeresebben éltek túl a vírusfertőzéseket. Ebben a GWAS-ban 441 variánst azonosítottak 139 génben, amelyek asszociáltak a vírusdiverzitással. A variánsok nagy része fehérjekódoló génekben volt, befolyásolták az immunválaszt, illetve a vírus-receptorként szolgáló glikánstruktúrákat, valamint a vírusgazdaszervezet kölcsönhatást (5).

11.2.2. Genetikai sodródás

Egyes populációk genetikai összetételét, az allélgyakoriságokat véletlen események is döntően befolyásolhatják. Ilyen lehet például, amikor egy nagyobb populáció néhány tagja, egy újabb, izolált populációt hoz létre (bottleneck effect). Ilyenkor előfordulhat, hogy egy, az eredeti populációban ritka allél gyakorivá válik, egy másik meg esetleg teljesen el is tűnhet. De az is lehet, hogy kis populációban egy allélt hordozónak, az alléltól függetlenül, sok utóda lesz, ezáltal megnőhet annak gyakorisága. Ez a genetikai sodródás, vagy angolul *random drift*.

Ennek orvosi szempontból is lehet jelentősége. Előfordulhat, hogy egy genetikai sodródás miatt felszaporodott allél új környezetbe kerülve betegséget okozhat, vagy esetleg védhet bizonyos betegségekkel szemben.

Evolúciógenetikai szempontból a **populációgenetika** az allélfrekvencia természetes szelekció, genetikai sodródás, mutáció és génáramlás által irányított eloszlásának és változásának tanulmányozása.

11.2.3. Miért gyakori néhány súlyos betegséget okozó mutáció?

A természetes szelekció alapján, a súlyos betegséget okozó mutációkkal rendelkezők, ha a mutáció az ivarérett kor előtt, vagy az alatt jelentkezik, jóval kisebb eséllyel örökítik azt tovább, így hosszú távon a mutáció kiszelektálódik a populációból. Néhány súlyos betegséget okozó mutáció viszont, furcsa módon, populációs szinten nagyon gyakori. Hogyan lehetséges ez?

Ennek egyik magyarázata a heterozigóták **szelekciós előnye** (azaz a kiegyensúlyozó szelekció). Ez azt jelenti, hogy bizonyos mutációk, melyek homozigóta formában súlyos betegséget okoznak, a hordozóknak valamilyen előnyt adnak, ami növeli a túlélésük, szaporodásuk esélyét. Így a mutáció fennmaradását biztosítják.

A szelekciós előny szempontjából európaiakban az egyik legismertebb példa a **cisztikus fibrózis (CF)**, vagy mukoviszcidózis. Ez a leggyakoribb autoszomális recesszív betegség, gyakorisága a fehér populációban: 1/2500–3000; hordozók gyakorisága Magyarországon: 1/28. A betegséget okozó mutációk körül kiemelkedően gyakori a $\Delta F508$ mutáció, amely a *CFTR* génben található, és az összes CF-mutáció 66%-át adja. A betegség még néhány 10 évvel ezelőtt is általában gyerekkori halált okozott, sőt az ivarérett kort elérő beteg férfiak 95%-a terméketlen. Azaz, ez egy tipikusan olyan

betegség, amelyben a betegek kiszelektálódnak a populációból, és nem adják tovább a hibás génjüket. Ennek ellenére Magyarországon is minden 28. ember hordozó. Felmerül a kérdés, miért ilyen gyakori a CF-mutáció?

A CF-et a **CFTR** gén mutációja okozza. Ez egy transzmembrán fehérjét kódol, egy kloridion-csatornát az epitélisejtekben, és fontos szerepet játszik a sejtek és a szervezet só-víz háztartásában. Egyes feltételezések szerint a CFTR-nek szerepe van a *Vibrio cholerae* és az *Escherichia coli* toxinjai által kiváltott hasmenés miatti kiszáradásban. A heterozigótákban csökken a működése, így nagyobb a fertőzöttek túlélési esélye. Mivel az emberiséget többször is megtizedelték a hasmenést okozó fertőzések (pl. kolera, vérhas, tífusz stb.), azoknak, akik a mutáció miatt lassabban száradtak ki, megnőtt az esélyük a túlélésre.

Hasonlóan a kiszáradás ellen nyújtott a *CFTR*-mutáció relatív védelmet egy másik elmélet szerint. Itt a szarvasmarha-tenyésztéshez kapcsolatosan a felnőttkorban kialakuló **laktózi intolerancia** (ld. később) által okozott hasmenés ellen nyújt a mutáció védelmet.

Egy másik elmélet szerint a mutáció a **tuberkulózis** ellen nyújtott részben védelmet. Ez a betegség 1600 és 1900 között az összes halál 20%-áért volt felelős Európában. Az elmélet szerint a betegséget okozó baktérium szervezetben belüli fennmaradásához szükség van egy olyan tápanyagra, amelyet a CF-betegek nem termelnek, a heterozigóták pedig kevesebbet termelnek, így bennük a betegség lassabban alakul ki.

A szelekciós előnyt könnyebb magyarázni a **sarlóssejtes vérszegénységet** okozó mutációnál. Ez az autoszomális betegség, egyes afrikaiakban nagyon gyakori. Az USA-ban minden 600 fekete bőrű emberből 1 beteg, a hordozók aránya: 1/12. Pedig a heterozigóták sem mindig tünetmentesek. A hordozók 5%-nak vér van a vizeletében, katonai alapkiképzésben 20x gyakrabban halnak meg váratlanul. Afrikában egyes területeken a hordozók aránya 1/3. A betegség leggyakoribb oka a hemoglobingén Glu6Val mutációja, amit **hemoglobin S**-nek neveznek. Ha ennek a mutáns génnek az eloszlását Afrikában összehasonlítjuk a maláriabetegség elterjedésével, rögtön világossá válik, hogy vajon milyen betegség ellen nyújt bizonyos fokú védelmet a mutáció. A szúnyog által terjesztett **malária** Afrika egyik leggyakoribb betegsége. Évente kb. 350–500 millió megbetegedés történik, ezek közül a halálos kimenetelűek száma egymillió felett van. A **hemoglobin S** gén heterozigóta hordozása szelekciós előnyt nyújt a malária ellen. A vizsgálatok alapján a heterozigóták maláriával és bizonyos parazitákkal szemben védettebbek.

Az ember genomjában egyre másra találnak nyomokat, amelyek régi fertőzésekre utalnak. Ezek közül az egyik legismertebb a **CCR5**, és az **AIDS** vírusa a **HIV-1**. A HIV-1 fő receptora a makrofágokba és a T-sejtekbe való bejutáshoz a CD4. Fertőzéshez azonban szükség van egy koreceptorra is, ez a CCR5 kemokin receptor. Amikor a HIV-1 vírust felfedezték, és elkezdték terjedését vizsgálni, azt találták, hogy főleg nemi úton terjed. Amikor olyan családokat vizsgáltak, ahol az egyik tag HIV-fertőzött volt, azt vették észre, hogy vannak olyan európai eredetű házastársak, akik nemi életet élnek, az egyikük HIV-fertőzött, de a másik mégsem nem kapja el a fertőzést. Mikor ezek genomját elkezdték vizsgálni, azt találták, hogy homozigóták a CCR5 funkcióvesztett deléciós, $\Delta 32$ -es mutációjára. A gén hiányának különösebb tünete nincsen, és európai populációban kb. minden 100. emberben nincs működőképes CCR5. Azaz a heterozigóta-gyakoriság kb. 1/10. Ez Magyarországon is így van, itt az allélfrekvencia 11% (6). A mutáció homozigóta hordozóinak nincs CCR5 génje, és a HIV-fertőzéssel szemben gyakorlatilag teljesen védettek. A mutációra heterozigótaság is előnyt jelent. Ugyan ők megfertőződnek, de az

AIDS betegség sokkal lassabban alakul ki bennük a vad allél homozigótákhoz képest (kezeletlenül 6–8 év vs. 2–4 év). A kutatások alapján a mutáció több ezer éve keletkezett (7000 év (2900–15 750)). Gyakorisága Európa északi felén nagyobb és dél felé csökken, tehát valószínűleg valamelyik északi népből keletkezett, és onnan terjedt dél felé. Nem európaiakban (afrikai, ázsiai) a mutáció nem fordul elő, kivéve, ha az őseik között volt európai. Feltehetőleg az európai populáció átesett HIV-1-hez hasonló fertőzéseken, valószínűleg többször is, ami szintén a CCR5-öt használta a sejtekbe való bejutáshoz. A CCR5Δ32 szelekciós előnyt biztosított ebben az esetben is. Ezt a fertőzést eddig még nem sikerült egyértelműen bizonyítani. Először a pestisre gyanakodtak (baktérium), majd a himlőre, hiszen ez a HIV-hez hasonlóan szintén vírus (7), de a bizonyítékok nem voltak meggyőzőek. 2013-ban egy, [Nature-ben megjelent publikációban](#) leírták, hogy a **Staphylococcus aureus leukotoxin ED citotoxikus hatásához is szükséges a CCR5 receptor**, a CCR5 KO egerek rezisztensek a fertőzésre, így ez nagy valószínűséggel hozzájárulhatott a CCR5Δ32 allél populációs feldúsulásához.

11.2.4. Példák a genomot formáló szelekciós hatásokra

Az elmúlt néhány évben az újgenerációs szekvenálás fejlődésével és elterjedésével egyre több embert szekvenálnak meg különböző populációkból (1). Így lehetőség nyílik olyan populáció-specifikus variációkat felfedezni, amelyek visszavezethetőek valamilyen környezeti hatásra, genomot formáló természetes szelekcióra. Lássunk ezek közül néhányat.

Az egyes populációk között az egyik legszembetűnőbb különbség lehet a **bőrszín**. Az ebben tapasztalható különbségeket felelős legfőbb környezeti faktor a napfény. Azokban a populációkban, akiknek az ősei sok napfénynek voltak kitéve sötét, míg azoknak, akik kevésnek, világosabb bőrük van. Ennek két fő hajtóereje van. A napfényben levő UV-sugárzás DNS-mutációkat okoz. Ez ellen a legjobb védelem a melanociták által termelt melanin, amely körbeveszi a sejtmagot, és megvédi a káros sugárzástól. A másik szelekciós tényező a D-vitamin. A D3-vitamin a bőrben, napfény hatására képződik. Minél sötétebb valakinek a bőre, annál több napfény kell, hogy elegendő mennyiségű D-vitamin képződjön benne. Ennek a két nagyon erős szelekciós tényezőnek a hatását több mutációban is tetten érhetjük. Az *SLC24A5*, *TYR*, és *SLC45A2* gének termékei a melanociták anyagcseréjében játszanak szerepet (1, 9). Ezekben populáció-, és bőrszín-specifikus mutációkat találtak. Az *SLC24A5* génben az európaiak közel 100%-ban a 111-es pozícióban treonin van, az afrikaiakban itt alanin. A 111-es treonin becslések szerint 5300–12 000 évvel ezelőtt alakult ki, világosabb bőrszínt okozva. Ez a mutáció az európaiak és az afrikaiak közötti melaninindex-különbség 25–38%-áért felelős. Az *SLC45A2* génben L373F mutációban az F (fenilalanin) szintén európai-specifikus. Pl. egy vizsgálatban Sri Lanka-iak és európaiak között 100%-osan különbséget lehetett tenni ez alapján a mutáció alapján.

A **napsugárzás** erős szelekciós nyomásának ma is tanúi lehetünk. Erre példa, hogy a sok napfényre szelektálódott, Kanadában élő afrikaiak 100%-a, az indiaiak 83%-a, kelet-ázsiaiak 85%-a D-vitamin-hiányban szenved.

A rendelkezésre álló táplálék szintén szelektáló tényező lehet. Erre az egyik példa az *AMY1* gén. Ez a keményítő emésztéséért felelős nyálenzimet, az amilázt kódolja. A génben populációspecifikus CNV-t találtak. A mezőgazdálkodással foglalkozó népekben több kópiában fordul elő az *AMY1* gén, mint a vadászattal foglalkozókban. A génből több kópiával rendelkezők jobban emésztik a keményítőt.

Szelekciós tényező lehet a magaslaton levő élet is. Itt kevesebb az oxigén, és a nem erre szelektálódott emberek evolúciós hátrányba kerülhetnek. Erre példa, hogy azokban

a tibeti nőkben, akiknek magasabb a vér oxigéntartalma, 2x annyi gyermeke marad életben 4000 m magasban. Ez egy jó, élő példa a természetes szelekció működésére.

Felnőttkori tejintoleranciában, más néven **laktózingtoleranciában** felnőttkorban a tejcukor emésztéséhez szükséges gén (laktáz) egyes emberekben kikapcsol. Ennek következtében a tej és tejcukrot tartalmazó tejtermékek hasgörcsöket, hasmenést okoznak. Ebben az esetben az a megoldás, hogy kerülni kell ezeket az ételeket. Magyarországon a lakosság 14%-a tejcukor-érzékeny, de az egyes populációk nagyon különböznek ebben egymástól. Pl. egyes közép-afrikai populációk 100%-a tejcukorérzékeny felnőttkorában.

Az elmúlt évek kutatásai alapján kiderült, hogy a laktázgén (a ritka enzimhiányos körképet leszámítva), mindenkinél aktív kora gyermekkorban, hiszen ez létszükséglet az anyatejes táplálkozáshoz. A laktázra ezután őseinkben nem volt szükség, ezért az epigenetikai szabályozással (metilációval) felnőttkorra kikapcsolt. Azaz, ez a gén eredeti, vad változata. Később, amikor egyes népcsoportok állattenyésztéssel kezdtek foglalkozni, evolúciós előnyt jelentett, ha valaki felnőttkorban is meg tudta inni a tejet, hiszen éhezési időszakokban ez megmenthette az éhhaláltól. Így azok, akikben valamilyen mutáció miatt nem kapcsol ki a gén felnőttkorra, nagyobb eséllyel éltek túl a táplálékhiányos periódusokat, és túlszaporodtak azokat, akikben kikapcsolt. Ez a folyamat az elmúlt kb. 11–12 000 évben párhuzamosan zajlott több pásztorokodással foglalkozó populációban. Mivel a laktázgén szabályozása a gén előtt 13-14 ezer bázispárral történik, itt azonosítottak olyan mutációkat, ami oda vezetett, hogy a gén bekapcsolva marad felnőttkorra is. Amikor különböző populációkat vizsgáltak, azt vették észre, hogy populációspecifikus mutációkról van szó, azaz az egyes populációk különböznek abban, hogy milyen mutáció miatt marad a gén működőképes. Ezt a folyamatot, amikor különböző populációkban különböző folyamatok ugyanahhoz a fenotípushoz vezetnek, **konvergens evolúciónak** hívjuk (8).

Az egyes populációkban sokszor olyan jellegek is megjelennek, amelyek csak melléktermékei a természetes szelekció indukálta mutációk elterjedésének. Ez két okra vezethető vissza. Az egyik, hogy sokszor a gének **pleiotrópok**, azaz nem csak egy funkciót töltenek be. Pl. az **EDAR** gén befolyásolja a hajfollikulusok sűrűségét, az izzadságmirigyek kifejlődését, és a fogak alakját (1). A hidegebb klímára való adaptálódásként az EDAR génben való mutáció befolyásolja a testhőmérséklet szabályozását, illetve a sűrűbb haj kialakulását. Melléktermékként a fogak alakja is megváltozott, aminek pedig nincs köze a populációs fitneszhez. A másik lehetséges ok a nagyobb kiterjedésű haplotípusok jelenléte. Ha a szelekció indukálta mutáció **LD** miatt magával visz olyan géneket is, amelyeknek nincs köze az adott jelleghez, de esetleg fenotípust befolyásoló hatása van, ez utóbbi is elterjedhet.

Főleg baktériumoknál figyelhető meg, hogy horizontális géntranszferrel a túlélésükhöz előnyös mutációkat tudnak felvenni, pl. antibiotikum-rezisztenciát. Azonban megfelelő módon az elmúlt években embernél is találtak erre bizonyítékot. A nemrég felfedezett homo populáció a Denisovan (gyenyiszovai) genomja bizonyítottan 2–7%-ban megtalálható egyes ázsiai populációkban (10). Itt arra találtak bizonyítékokat, hogy a homo sapiens a HLA alléljainak diverzitásának növeléséért HLA-allélokat vett át a gyenyiszovai emberektől, ami feltehetőleg előnyös volt a populáció stabilitásához. Minél diverzebb egy populációnak a HLA-ja, annál több kórokozó ellen tud sikerrel túlélni.

11.3. Fejezethez tartozó kérdések

1. Mivel foglalkozik a populációgenetika?
2. Mi az a prospektív és a retrospektív mintagyűjtés?

3. Mivel foglalkozik a WTCCC?
4. Mondjon nagy prospektív vizsgálatokat!
5. Melyik biobank segítségével fedezték fel az FTO gén és az obezitás közötti kapcsolatot?
6. Mi az előnye és a hátránya, ha a beteg populáció gyűjtésénél szigorúbb, vagy lazább feltételeket használunk?
7. Mi az az endofenotípus?
8. Mi az a Hardy–Weinbergeloszlás?
9. Mi lehet az oka a Hardy–Weinberg-egyensúlytól való eltérésnek?
10. Mi az a haplotípus?
11. Mi az a linkage disequilibrium?
12. Mivel foglalkozik a HapMap project?
13. Mit használunk az LD mérésére, milyen értékei lehetnek és azok mit jelentenek?
14. Genetikai vizsgálatokban mik között lehet kapcsoltság?
15. Mit jelent a „founder populáció” és mi az előnye kapcsoltsági vizsgálatoknál?
16. Minek a mértékegysége és mit jelent a cM?
17. Mit jelenthet a jelölt gén polimorfizmusának vizsgálatakor az asszociáció?
18. Mik lehetnek a pozitív asszociáció okai SNP-vizsgálatoknál?
19. Mi az a „population stratification”?
20. Mi az a population admixture?
21. Milyen módszert lehet használni, hogy asszociációs vizsgálatoknál a kontrollcsoport összetétele ne befolyásolja nagyon az asszociációs vizsgálat eredményét?
22. Kockázatszámolásnál milyen értékeket használhatunk?
23. Mi az az evolúciógenetika?
24. Milyen genomot formáló szelekciós mechanizmusokat ismer?
25. Miért gyakori néhány súlyos betegséget okozó mutáció?
26. Milyen bizonyítékok vannak rá, hogy a fertőzések befolyásolták az emberi genom kialakulását?
27. Hogyan vizsgálták a vírusok hatását a különböző populációk genomjára?
28. Mi az a genetikai sodródás?
29. Miért lehet gyakori a $\Delta F508$ -as mutáció?
30. Miért gyakori Afrikában a sarlóssejtes vérszegénység?
31. Milyen mutáció nyújt védelmet az AIDS ellen?
32. Mondjon genetikai példát a természetes szelekcióra!
33. Mi a következménye annak, hogy egyes színes bőrűek nem ott élnek, ahol az őseiknek kialakult a bőrszíne?
34. A melanocita differenciálódásban szerepet játszó SLC24A5 gén Ala111Thr mutációja milyen szelekciós tényezőre alakult ki?
35. Melyik gén kópiaszáma különbözik a mezőgazdasággal foglalkozó népek és a vadászattal foglalkozók között?
36. Mit tud a felnőttkori tejintolerancia genetikai hátteréről?
37. Mi az a konvergens evolúció?
38. Mi lehet a magyarázata, hogy a szelekciós nyomás hatására sokszor olyan tulajdonságok is megjelennek, amelyek nem függenek össze a szelektáló környezeti hatással?
39. Mi az a horizontális géntranszfer?

12. A genom és a környezet kölcsönhatása

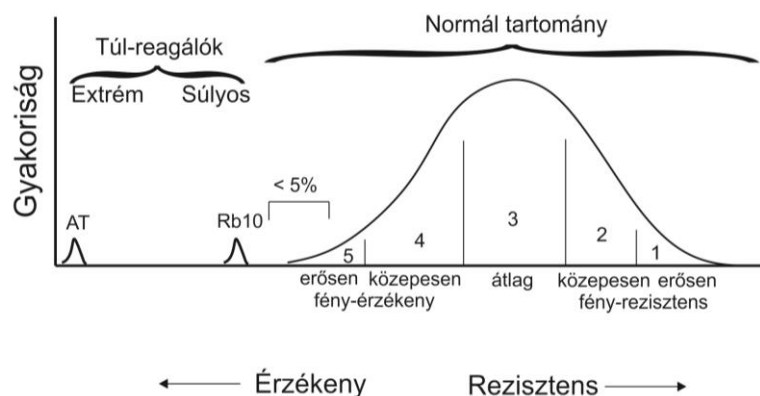
Az előző fejezetben néhány példát láthattunk arra, hogy a környezeti tényezők hogyan alakították a humán genomot. Ebben a fejezetben a gén-környezet kölcsönhatását abból a szempontból mutatjuk be, hogy az egyes környezeti faktorok hatását az egyénekre hogyan befolyásolhatja az egyén egy-egy genetikai variációja.

12.1. Mutációk penetranciája

Abból a szempontból, hogy egy genetikai variáció vagy mutáció milyen mértékben manifesztálódik, azaz nyilvánul meg fenotípusosan, két kategóriát lehet megkülönböztetni:

- **Nagy penetranciájú mutáció:** a mutáció jelentősen befolyásolja a gén, fehérje vagy a genom valamilyen más, funkcionális egységének működését. Hatása nagy valószínűséggel fenotípusosan is megjelenik. Ilyenek pl. az öröklődő betegséget okozó mutációk.
- **Kis penetranciájú mutáció:** A mutáció általában nem okoz jelentős változást a gén vagy a fehérje működésében, vagy az érintett gén nem kódol létfontosságú fehérjét, esetleg nem is fehérjekódoló régióban van. A mutáció közvetlenül nem okoz betegséget, vagy más markáns fenotípust, de más faktorokkal kölcsönhatásban (környezeti, vagy genetikai) megnyilvánulhat, illetve befolyásolhatja azok hatását. Pl.: betegségre hajlamosító polimorfizmusok.

Természetesen az átmenet a kétféle mutáció között folytonos. Az, hogy ki hogyan fog egy környezeti hatásra reagálni, nagyjában függ az illető genomikai háttérétől. A 12.1. ábrán a fény-, illetve sugárzásérzékenység alapján látható a populáció eloszlása. A 12.1. ábrán látható eloszlás a legtöbb gén-környezet kölcsönhatásban felrajzolható.



12.1. ábra. A populáció eloszlása fény-, illetve sugárzásérzékenység alapján

Az x tengely bal oldalán az emberek vannak ábrázolva, akik különösen érzékenyek fényre, vagy más sugárzásra. Ezekben olyan nagy penetranciájú mutációk vannak, amelyek súlyos fény-, illetve sugárzásérzékenységből adódó betegséget okoznak. Ilyen pl. az AT-vel jelölt *ataxia-telangiectasia*, melyet az **ATM** génben történő mutáció okoz. Ez a gén egy kinázt kódol, és a p53 aktivitásban nélkülözhetetlen szerepet tölt be. Hiányában a sejtosztódáskor, vagy sugárzás okozta DNS-károsodáskor keletkező hibákat nem ismeri fel a szervezet, azokat nem javítja ki, illetve a sejt nem pusztul el, ha a hibát nem lehet kijavítani. A betegek extrém érzékenyek lesznek ionizáló sugárzásra. Kiemelkedően fényérzékenyek, a különböző mutációk által okozott porfíriában szenvedők. Ez a betegség a porfirinanyagcsere zavara, azaz a hem bioszintézisben részt vevő valamelyik enzim hiánya miatt a porfirinútvonat nem működik megfelelően, a szervezetben felhalmozódó porfirin (a hem előanyaga), fényérzékenységet és a fénynek kitett területen bőrelváltozásokat okoz. Többféle mutáció különböző génekben különböző szintű fényérzékenységet okozhat az emberekben.

A nagy haranggörbe a kis penetranciájú mutációkkal rendelkező átlagpopuláció eloszlását mutatja fényérzékenység szempontjából. A haranggörbe bal oldalán találhatóak a fehér bőrű, vörös hajú emberek, akik az átlagosnál érzékenyebbek a napsugárzásra, és ha túl sokat napoznak, könnyen leéghetnek, sőt pl. melanoma is az átlagosnál könnyebben alakulhat ki náluk. A haranggörbe jobb oldalán azok vannak, akik nagyon ellenállók a fénynek és más sugárzásokkal szemben. Ilyenek általában a sötétbőrű emberek, pl. az afrikaiak.

12.2. Nagy penetranciájú mutációk és a környezet kölcsönhatása

Számos példát lehet sorolni arra, hogy egy mutáció akkor nyilvánul meg, ha a hordozót valamilyen környezeti hatás éri. Itt most csak néhány példát sorolunk fel. Az előzőekben említettük az **ataxia-telangiectasiát**, melyet az ATM génben történő mutáció okoz, és ionizáló sugárzásra tesz érzékennyé, illetve a porfíriákat, amely a fényre. Szintén a napfényre, azaz az UV-sugárzásra érzékenyek a **xeroderma pigmentosum**-ban szenvedők. Ezt többféle DNS repair mutáció okozza. A betegekben az UV-sugárzás által előállított pirimidin dimereket az epidermal sejtek DNS-javító enzimrendszere nem tudja korrigálni, ami mutációkhoz, rákhoz vezet.

Az előzőeknél jóval gyakoribb betegség a **fenilketonúria (PKU)**, azaz fenilalanin-hidroxiláz hiány. Ez egy autoszomális recesszív betegség. Magyarországon a hordozók aránya 1/50. Minden 10 000 születésre jut egy PKU-s csecsemő. A fenilalanin nevű aminosav lebontás elmaradása visszafordíthatatlan idegrendszeri károsodásokhoz vezet. Életen át tartó szigorú, fehérjeszegény diétával kezelhető, azaz a gén hatása csak akkor nyilvánul meg, ha az illető fenilalanint eszik.

Szintén gyakori, és szintén befolyásolható diétával, illetve gyógyszereszedéssel (pl. statinokkal), a **familiáris hiperkoleszterinémia**, amit az LDLR mutációja okoz (ld. [5. fejezet](#)). Ez egy kodomináns öröklődésű betegség. A diétával, gyógyszerekkel való befolyásolhatóság kizárólag a gyakori (1/500) heterozigótákra igaz. A nagyon ritka homozigótaságban (1/1 millió) a betegség ilyen módon nem tartható kordában.

12.3. Példák kis penetranciájú mutációk és a környezet egymásra hatására

Az alábbiakban néhány gyakori, és ismert példát ismertetünk a polimorfizmusok és a környezet egymásra hatására. Ezek vizsgálatát több genetikai szolgáltató is kínálja.

- **α -1 antitripszin-hiány (AR)**, melyet a **SERPINA1** (régebben A1AT) gén mutációja okoz (14q32.1). A gén egy proteázinhibítort kódol, a heterozigóták gyakorisága: 4,9%. Leggyakoribb oka európaiakban a Z-mutáció (Glu342Lys, rs28929474). A hordozókban a dohányzás vagy szennyezett munkaköri levegő tüdőemphysemát (tüdőtágulatot), asztmát, vagy COPD-t okozhat.
- **V-ös faktor mutáció**, más néven Leiden-mutáció az F5 génben: R506Q, (AD). A véralvadási kaskád V (ötös) faktorában a mutáció APC- (aktivált protein C) rezisztenciát okoz. Az APC szerepe a véralvadás gátlása azáltal, hogy az V faktort inaktiválja. A mutációval rendelkezőkben a véralvadási folyamat hosszabb ideig tart, így nagyobb véralvadékok képződnek. Magyarországon a heterozigóták gyakorisága 6,5%, homozigótáké 3/665. Mélyvénás trombózisra hajlamosít (tüdőembólia). A hordozók általában tünetmentesek, de fogamzásgátló tabletta, műtéti beavatkozások, tartós mozgáshiány (pl. repülőút), terhesség hatására kialakulhat a mélyvénás trombózis.
- **Prothrombin mutáció:** 20210G/A az F2, génben (11p11-q12), gyakorisága 1–3%. Az előzővel egy anyagcsere-útvonalon van. A gén-környezet kölcsönhatás hasonló, mint a Leiden-mutációnál. Gén-gén kölcsönhatás is megfigyelhető: ha valakiben a Leidennel együtt fordul elő, 2,6-szor nagyobb a valószínűsége, hogy trombózis lesz, mintha csak Leiden-mutációja lenne.
- **Öröklődő hemochromatosis.** Vastárolási betegség. Főbb tünetei: túl sok vas, amely különböző szervekben (pl. májban) lerakódik, májcirrózis, T2DM, bőrelszíneződés, fáradékonyság stb. A **HFE** gén (6p21.3) mutációja okozza. A C282Y mutációra homozigóta a betegek 80–100%-a. A H63D mutáció a C282Y-ra heterozigótákban szintén hajlamosít. A C282Y homozigóta frekvencia kiemelkedően magas (1/100–1/300) a kelta eredetű populációkban, ami sokkal magasabb, mint a betegek száma, ami azt mutatja, hogy a mutáció nem elégséges feltétele a betegség kialakulásának. Magyarországon a heterozigóták aránya 3,8%, homozigótáké 1/700. Hajlamosít még időskorban szívbetegségre és Alzheimer-kórra is. A mutáció feltehetőleg véd a hiányos táplálkozás miatti vashiány ellen, ezért olyan gyakori. Ahhoz, hogy a mutáció manifesztálódjon, környezeti faktorokra is szükség van. Növeli a betegség kialakulásának valószínűségét az alkohol (károsítja a májat), a C-vitamin (növeli a vas felszívódását), vörös húsok (magas vastartalom). Csökkenti, ha a vas-felszívódást gátló élelmiszereket fogyasztunk: magas tannintartalmú tea, kalcium, brokkoli stb. [11].

12.4. Dohányzás és a genom kölcsönhatása

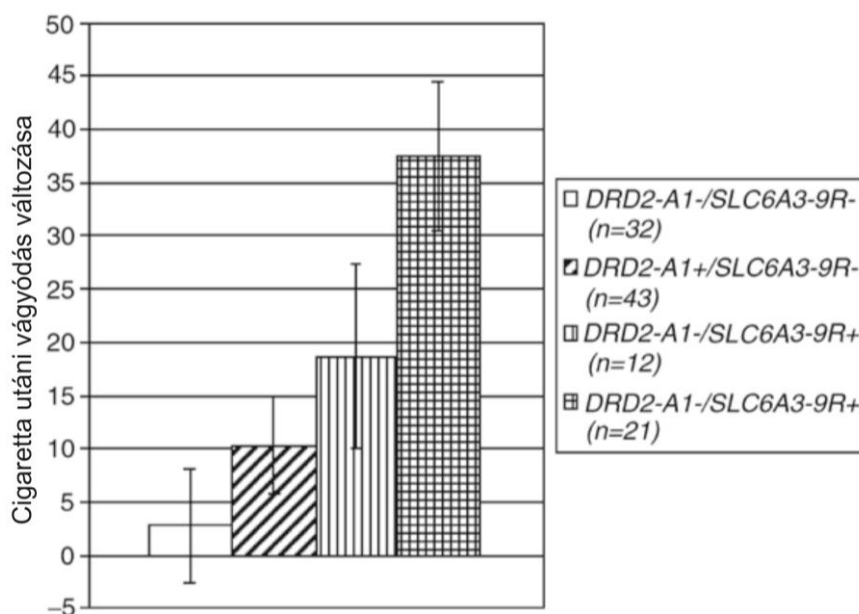
A dohányzás az egyik legjobban mérhető, erős hatású környezeti faktor, amellyel kapcsolatban számos eredmény áll rendelkezésre genetikai és genomikai vonatkozásban is. A dohányzás és a genom kölcsönhatása két aspektusból vizsgálható. Egyrészt a dohányzás, ha elsőre meglepőnek is tűnik, szintén egy **multifaktoriális betegségnek** tekint-

hető, hasonlóan az alkoholizmushoz, vagy a drogfüggéshez. Másrészt ismert, hogy a dohányzás számos, súlyos betegségre növeli meg a hajlamot: asztma, COPD, tüdőrák, T2DM, CAD, MI, Alzheimer-kór stb. Ezek a betegségek nem minden dohányosban alakulnak ki, azaz feltehetőleg az egyén genomikai háttere befolyásolja, hogy kiben milyen betegség alakul ki a dohányfüst hatására.

12.4.1. Dohányzásra való hajlam genomikai háttere

A dohányzás öröklődő hányada magasabb, mint számos más poligénes betegségé: 60%. A dohányosoknál megfigyelhető, hogy stresszes szituációban hajlamosak rágyújtani. Egy vizsgálat a stressz indukálta cigaretta utáni vágyódás és a dopaminrendszer polimorfizmusai között talált összefüggést [12]. A vizsgálatba dohányosokat hívtak be, és a következő protokollt végeztették el velük:

1. Egy cigarettát elszívni.
2. Stressz-vágyódás-skálán bejelölni, hogy mennyire vágyódik egy cigaretta után.
3. Felolvastak egy semleges dolgot (égőcsere) és el kellett képzelni.
4. Stressz-vágyódás-skálát bejelölni.
5. Természetfilm, 5'
6. Felolvastak egy stresszes dolgot (fogorvos), amit el is kellett képzelni.
7. Stressz-vágyódás-skálát bejelölni



12.2. ábra. Y-tengely: A cigaretta utáni vágyódás változása egy stresszes szituáció után. Az egyes oszlopokban a DRD2 A1 és az SLC6A3 9R polimorfizmusokat különböző mértékben hordozó populációk. Azok, akik mindkét variánst hordozták (utolsó oszlop), 12-szeres vágyódást mutattak azokhoz képest, akik egyik variánst sem hordozták (első oszlop) [12].

Ezután a résztvevőkön 2 olyan gén polimorfizmusát vizsgálták, amelyeket már korábban összefüggésbe hoztak dohányzással. Ezek a D2 dopaminreceptor gén (**DRD2**, 11q23), A1 allél: csökkent receptorsűrűség, és agy dopaminerg funkció, populációs gyakoriság: 36%; és **SLC6A3**, 5p15.3 a dopamin transzporter génje. Ebben egy 9 nukleotid ismét-

lódás (VNTR= *variable number of tandem repeats*) növeli a gén transzkripcióját, amely miatt nő a dopamin eltávolítása a szinapszisból. Populációs gyakorisága 17%. Mindkét mutáció a dopamin anyagcsere-útvonal gyengébb működését eredményezi. Az eredményeket a 12.2. ábra mutatja. Mindkét, azonos anyagcsere-útvonalon található gén polimorfizmusa növelte a stressz indukálta cigaretta utáni vágyódást, de legerősebben azokban, akik mindkét polimorfizmust hordozták. Itt 12-szeres különbséget mértek a nem-hordozókhoz képest. Ez azt mutatja, hogy a dopamin anyagcsere-útvonal alulműködése növeli az esélyét annak, hogy valaki dohányozzon. Ez az anyagcsere-útvonal szerepet játszik más függőségbetegségekben is (alkoholizmus, drogfüggőség, játékszenvedély stb.).

Egy másik fontos anyagcsere-útvonal, amelyik szerepet játszik a dohányzásra való rászokásban, a **nikotin anyagcsere-útvonala**. A **CYP2A6** (19q13.2) gén terméke a nikotin lebontásáért felelős enzim. Hiánya (populációs gyakorisága 10–17,6%) csökkent nikotinlebontást okoz, és akiknél hiányzik ez az enzim, **kisebbségi valószínűséggel szoknak rá a dohányzásra**, illetve ha dohányoznak, **kevesebb cigarettát szívnak, kisebb valószínűséggel lesz rákjuk, vagy tüdőrágulatuk**. Szervezetükben felhalmozódik a nikotin, így kevésbé fognak vágyódni rá, így a dohányzás fő toxikus hatásáért felelős füstből is kevesebb jut a szervezetükbe.

Dohányzás genetikai hátterére GWAS-t is végeztek. 2008-ban 3 GWAS is azonosította az egyik **nikotin típusú acetilkolin receptor**ban található SNP-t (rs1051730), amely asszociált dohányzással és tüdőrákkal is. Vita volt, hogy melyik a kettő közül az ok, és melyik a következmény. Végül asszociációs vizsgálatok igazolták, hogy a genom régió, ahol több nikotinreceptor gén is található (**CHRNA5-CHRNA3-CHRNA4, 15q24**; CHRNA = *neuronal acetylcholine receptor subunit alpha*), egyértelműen az erős dohányzással asszociál, és ezen keresztül asszociál a tüdőrákkal [14]. Ezt úgy igazolták, hogy amikor az egyik vizsgált populációból kivették az elemzésből a tüdőrákosokat, akkor az asszociáció megmaradt. A nikotinreceptorok jelentőségét a dohányzásban mutatja, hogy egy másik nikotinreceptor génklasztert is azonosítottak a 8p11 régióban. A dohányzásban, az elszívott cigaretta mennyiségével asszociáltak a **CHRNA6-CHRNA3** nikotinreceptor gének által reprezentált genom régióban található variációk/markerek.

Egy magyar vizsgálat az **MHC III** (6p21.3) egyik haplotípusa, és a dohányzásra való rászokás között talált kapcsolatot [15]. A **8.1-es ősi haplotípusát** hordozó nők 13x-os valószínűséggel lesznek dohányosok, mint a nem hordozók. Ezt a haplotípust a következő allélokkal lehet jellemezni: **C4A*Q0** (a komplement C4A gén nulla változata), **C4*B1** (a C4B gén vad változata), **TNF-308A** a proinflammatorikus citokin TNF α gén promóter variánsa, amely emelkedett génexpresszióval asszociál. A hipotézis szerint az asszociációért valójában nem az MHC III gének a felelősek, hanem a közvetlenül mellettük található és velük LD-ben levő szagreceptorok génjei [15]. Elképzelhető, bár nem bizonyított, hogy az LD-ben levő szagreceptor variációval rendelkező hordozó nők a füst szagát nem tartják taszítónak, így könnyebben rászoknak a dohányzásra. Ez párhuzamba állítható a nők, illetve pl. egereknél a nőstények párválasztási preferenciájával. Megfigyelték, hogy embereknél a nők a férfiak testszaga, egereknél a nőstények a hím egerek vizeletszaga alapján azt a férfit, illetve hímet preferálják párválasztás szempontjából, akiknek/ amelyeknek az MHC-régiója különbözik a nőétől/nőstényétől. Így az utódok heterozigóták lesznek az MHC-régióra, azaz nagyobb lesz az MHC gének variabilitása, ami diverzebb immunválaszt és jobb túlélési esélyt eredményez.

12.4.2. Dohányzás és gének kölcsönhatása betegséghajlamokban

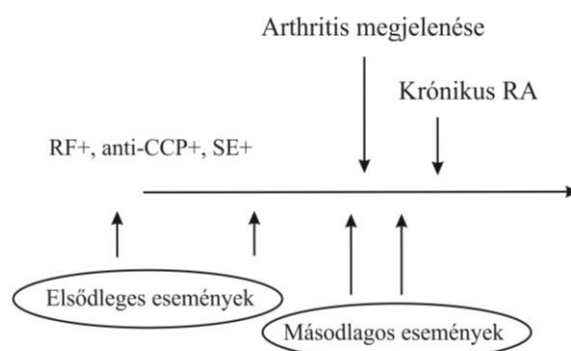
Az előzőekben az α -1 antitripszin hiánynál már említettük, hogy a dohányosokban tüdőtágulást és asztmát válthat ki.

A **GSTM1** (glutathion S transzferáz M1, 1p13.3) gén terméke a reaktív oxigén eltávolításában játszik szerepet. Gyakori a nulla mutációjának gyakorisága: 39%. A gén hiánya növeli dohányosokban, az azbesztnak és az ózonnak kitett emberekben az asztma és a tüdőrák kialakulását. C- és E-vitamin-védelmet jelenthet.

Rheumatoid arthritises (RA) betegek 80-90%-a rendelkezik bizonyos **HLA-DRB1** szubtypusokkal: DRB1*0401, *0404, *0405, *0408, *0101, *0102. Ezeket közös epitópoknak (angolul *shared epitope: SE*) nevezzük. Hordozóikban növelik a betegség kockázatát, de a betegekben prognosztikai jelentőségük is van. A betegség kialakulására a dohányzás az egyik legfontosabb környezeti tényező. Az elmúlt évek egyik felfedezése volt, hogy anti-CCP (*anti-cyclic citrullinated peptide*) autoantitestek jelennek meg RA-ban. Mikor vizsgálták ennek mechanizmusát, azt találták, hogy a **HLA-DRB1 SE** hordozó emberekben a dohányzás anti-CCP megjelenéséhez vezet. Mindez a tüdőben kezdődik és évek múlva alakul ki RA. Ez úgy történik, hogy a dohányzás aktivizálja a *peptidylarginine* deiminázt, amitől a fehérjék citrulinálódása megnő. A dohányfüst helyi adjuvánsként a tüdőben elősegíti az anti-CCP kialakulását. A HLA-DRB1 SE-k különösen jól kötik és prezentálják a citrulinált proteineket. Később (hónapok, évek múlva), egy amúgy múltó ízületi gyulladás hatására citrulinálódó fehérjék jelenhetnek meg az ízületben. Akikben magas az anti-CCP-szint, ez krónikus RA-vá alakul (12.3. ábra). Ha egy dohányos egy HLA-SE allélt hordoz, a relatív rizikó: 6,5, 2 allél hordozása esetén a RR = 21 [16].

Fontos **gén-gén-környezet hármass kölcsönhatás** figyelhető meg, amikor a **GSTM1 nulla** mutációra homozigótáság a RA-ra hajlamosító **HLA-SE** allélre homozigótákban jelenik meg [17]. Ez **dohányosokban** 58-szoros kockázatot jelent RA kialakulására (12.4. ábra).

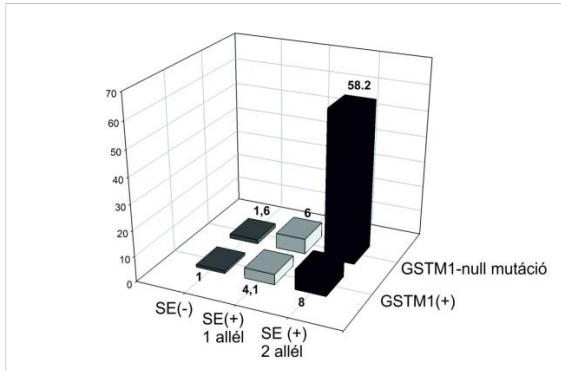
A dohányosok várható élettartama alacsonyabb a nemdohányzóknál. A korábban már említett komplement C4B gén nulla variánsa, a dohányzás és a várható élettartam között magyar kutatók szoros összefüggést találtak. A C4B*Q0 allélban a C4B izoforma hiányzik. Ez egy gyakori mutáció, a 45 év alatti magyar populációban 16%-ban fordul elő. Viszont a 70–79 év közötti populációban a mutáció gyakorisága már csak 6%. Ugyanezt a gyakoriságcsökkenést tapasztalták izlandiakban is, ahol a C4B*Q0 gyakorisága 15,6% fiatalokban, és 2,6% idősekben. Ez nyilvánvalóan azt jelenti, hogy a C4B*Q0 hordozók valami miatt korábban halnak meg, mint az átlagpopuláció. Az allélhoz kapcsolódó betegségeket vizsgálva megállapították, hogy a C4B*Q0 hordozó dohányosoknak nagyobb valószínűséggel lesz infarktuszuk és stroke-juk késő középkorukban, amitől nagyobb valószínűséggel nem érik meg az öregkort [18, 19].



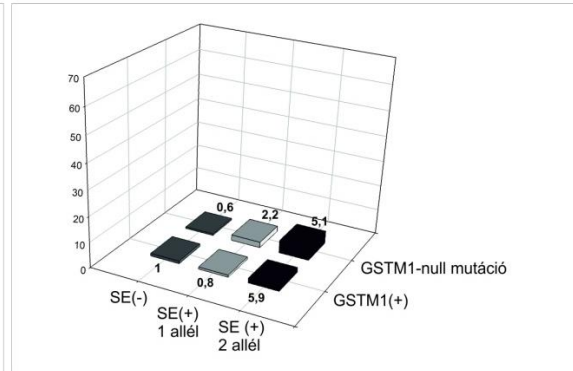
12.3. ábra. Rheumatoid arthritis kialakulásának egy lehetséges patomechanizmusa HLA-DR SE hordozó dohányosokban:

- A dohányzás aktivizálja a peptidylarginine deaminázt: fehérjék citrulinálódása ↑
- Dohányzás helyi adjuvánsként a tüdőben elősegíti az anti-CCP kialakulását. A HLA-DRB1 SE-k különösen jól kötik és prezentálják a citrulinált proteineket (elsődleges események). RF = reumafaktor.
- Később (hónapok, évek múlva), amúgy múltó ízületi gyulladás esetén, citrulinálódó fehérjék keletkeznek az ízületekben, így az anti-CCP-immunitás az ízületekbe koncentrálódik (másodlagos események).
- Akikben magas az anti-CCP-szint, ez krónikus RA-vá alakul [16].

Dohányosok



Nem-dohányosok



12.4. ábra. RA kialakulásának kockázata (függőleges tengely) HLA-DR SE- és GSTM1-mutációk hordozása és a dohányzás függvényében. A bal oldali ábra a dohányosokat, a jobb oldali a nem dohányzókat mutatja [17]

A **CYP1A1** szervezetünk fő méregtelenítője, a citokróm P450 géncsaládba tartozik (15q22-q24), és a dohányzás toxinjait is főleg ez az enzim bontja le. A gyermekkorban a leggyakoribb rákos megbetegedés az **akut limfoid leukémia (ALL)**. A passzív dohányzás köztudottan növeli a rákos megbetegedések gyakoriságát. Az egyik vizsgálatban megállapították, hogy azokban a családokban, ahol az apa otthon dohányzik, 1,8-szorosra nő a valószínűsége, hogy a gyermekben ALL fejlődjön ki a nemdohányos családokhoz képest. A CYP1A1 variációi (SNP-k és haplotípusok) önmagukban nem befolyásolták az ALL-kockázatot. Azonban azokban a gyermekekben, akiknek az apja otthon dohányzik és hordozzák a CYP1A1 bizonyos haplotípusait, 2,8-szoros volt a valószínűsége az ALL kialakulásának. Ez a szám még magasabb erős apai dohányzás esetén. Ha az apa otthon >10 karton/évet szív, OR = 4,9 [20].

12.4.3. Dohányzás-gén kölcsönhatás multifaktoriális betegségekben

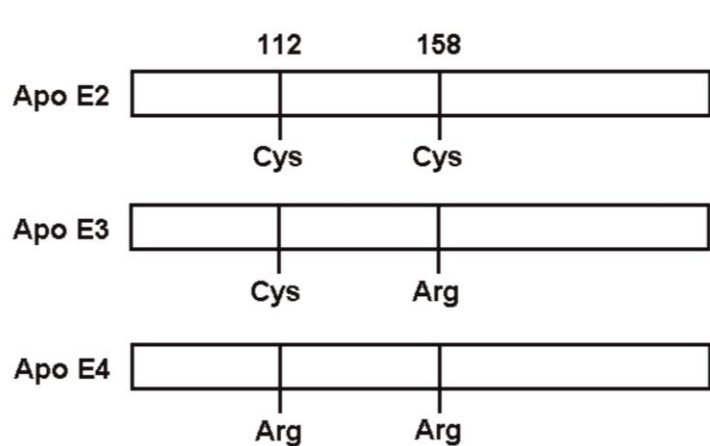
A dohányzás számos betegségnél kockázatonövelő tényező. Nézzünk néhány példát, hogy milyen genomikai háttér erősítheti ezekben a betegségekben a dohányzás káros hatását.

A dohányfüst komoly kockázatot jelent **asztna** kialakulására. Az egyik teljes genom-szűrésben azt vizsgálták, hogy melyik genomrégió növeli az asztma kockázatát olyan gyermekekben, akiknek a szülei dohányoznak. Ezt a vizsgálatot a *Collaborative Study for the Genetics of Asthma (CSGA)* hajtotta végre [21]. A vizsgálatba európai származású (fehér) USA-lakosokat vontak be. Összesen 144 olyan családot tanulmányoztak, amelyben legalább egy asztmás testvérpár volt. Több család volt 3 generációs. Azt a kérdést tették fel, hogy dohányzott-e valaki a családban, amikor a beteg kisgyermek volt? Összesen

323 mikroszatellita markert vizsgáltak autoszómákon. Az eredmények alapján három kromoszómarégió, az 1, 5 és 17 kromoszómákon, asszociált asztmával passzív dohányosokban. A legmagasabb LOD-számot az 5q karon a D5S1505 és D5S816 markerek között kapták. Ebben a régióban több asztma jelölt-gén is van. Itt találhatóak pl., az **ADRB2**, az IL4 és az IL13 gének. Ezek közül is a leginkább valószínűsíthető gén az ADRB2, melynek terméke a **β 2 adrenerg receptor**, hiszen ez a tüdőben expresszálódik, a β -agonisták támadáspontja és a dohányfüst egyes alkotóelemei kötődnek hozzá. A receptornak van egy gyakori polimorfizmusa, az Arg16Gly, mely befolyásolja az expresszálódó receptor-számot, illetve ismert farmakogenomikai hatása is van. Amikor azt nézték, hogy a dohányzás hatását befolyásolja-e ez az SNP, azt találták, hogy az arginin-16 homozigóta dohányzóknak közel 8-szoros az esélyük arra, hogy asztmásak legyenek, összehasonlítva a nemdohányzó glicin-16 homozigótákkal. A magyarázat szerint a Gly16 homozigótáknak kevesebb a β 2 adrenerg receptoruk, azaz a dohányfüst kevésbé hat rájuk (de kevésbé reagálnak a β 2 agonista kezelésre is). A jobban reagáló Arg16 receptor száma, valószínűleg a füst hatására, erőteljesen leregulálódik, ami növeli az asztma tüneteinek kialakulásának esélyét [22].

A dohányzás többek között atherosclerosisra és T2DM-re is hajlamosít. Az előzőekben említett **CYP1A1** génnek van egy **MspI** polimorfizmusa (T6235C), amelyben a C allél a gén jobb indukálhatóságával asszociál. A C allél-hordozó (10% gyakoriság) enyhe dohányosoknak magasabb a kockázata **atherosclerosisra, T2DM-re**, és a komplikációk aránya is magasabb. Erős dohányosokban túl erős a negatív környezeti hatás (túl sok toxin jut a szervezetbe), elnyomja a gének gyengébb hatását, azaz ez már gyakorlatilag mindenkinek ártalmas, így itt nem találtak a C allélra ilyen összefüggést [23].

A több betegségben is szerepet játszó (atherosclerosis, Alzheimer-kór) **APOE** gén három allélja (E2, E3, E4) a redukálóképességükben is különböznek egymástól (12.5. ábra). A legkisebb redukáló hatással rendelkező **APOE4** kevésbé tudja csökkenteni a dohányzással kapcsolt nagyobb oxidatív stresszt. Egy vizsgálatban a dohányos, APOE4-hordozókban mérték a legmagasabb oxLDL-szintet, és a legnagyobb CAD-kockázatot.



12.5. ábra. Az APOE gén 3 legfontosabb polimorfizmusa, és a polimorfizmusokat megkülönböztető aminosavak. Az aminosavak befolyásolják az apoE receptorhoz való kötődését, és a redukáló képességét.

Az élet középső szakaszában a fizikai inaktivitás, a telített zsírok fogyasztása, a dohányzás és az erős alkoholfogyasztás emeli az időskori demenciák, így az Alzheimer-kór

kockázatát is. Az APOE4 ezeket a hatásokat felerősíti, azaz ez az allél sebezhetőbbé teszi az embereket a környezeti tényezőkkel szemben [25].

Erre példa a 11. fejezetben leírt vizsgálat, amelyben az élet középső időszakában a dohányzás 4,93-as OR-rel asszociált Alzheimer-kórral, amelyet módosított az apoE4 hordozói státusz. Az apoE4 hordozó dohányosokban az OR = 6,56 volt, és az összefüggés csak ebben a csoportban maradt szignifikáns [26].

Az **APOE4** allél gyakoriságát is magyarázzák szelekciós előnnyel. A magasabb LDL-C-szinttel asszociáló E4 nagyobb affinitással kötődik az LDL-receptorhoz. Ez a koleszterin jobb felszívódását segíti elő. A gyűjtögető életmódot folytató, főleg növényi eredetű táplálékot fogyasztó, kevés vagy alacsony koleszterintartalmú ételhez jutó populációkban ez egy szelekciós előnyt jelenthetett. Ez a gyakorlatban is bizonyított, hiszen ezekben a populációkban az E4 allél gyakoribb.

Az APOE allélok befolyásolják a várható élettartamot is. A legmagasabb várható élettartammal az APOE2 allél-hordozók, a legalacsonyabbal az APOE4 hordozók rendelkeznek. Az előzőek alapján ez talán arra vezethető vissza, hogy az APOE4 érzékenyebbé teszi a káros környezeti tényezőkkel szemben. Ezt figyelembe véve az APOE4-hordozóknak fokozottan ügyelni kellene az életmódjukra. Ezzel kapcsolatban érdekes megfigyelést tettek. Mivel ezek az allélok leginkább időskorban hatnak, azt gondolnánk, hogy nincsenek szelekciós nyomás alatt. Az egyik vizsgálatban ennek az ellenkezőjét figyelték meg. A mai, modern világban, amikor egyre idősebb embereknek is születik gyermekük, azt lehet megfigyelni, hogy az E2 és E3 allélok gyakorisága enyhe, de konzekvens emelkedést mutat az E4 allél rovására. Ez az emelkedés az E2 allél esetében még erőteljesebb [27].

A CAD-kockázatot jelentő magas koleszterinszintet sokszor lehet csökkenteni megfelelő diétával. Azonban ez nem mindenkinél működik. Egy vizsgálatban ennek keresték a genetikai hátterét. Önkéntes férfiakat etettek koleszterinben gazdag diétával. 9%-uk egyáltalán nem reagált (**hyporesponder**), 9%-uknak az átlagosnál sokkal jobban megemelkedett a szérumkoleszterin-szintje (**hyperresponder**). Ez egy reprodukálható jellemzőnek bizonyult, és a koleszterincsökkentő diétára is ugyanígy reagáltak. A legerősebb hatása az APOE-variánsoknak volt erre a jellemzőre. Az apoE2-hordozók voltak a hyporesponderek. Míg a koleszterinszint-csökkentő diétára az apoE 3/4 genotípussal rendelkezők reagáltak a legjobban (23% csökkenés). Ez utóbbi eredmény azt is mutatja, hogy egy genotípusnak ugyanannál az egyénnél a környezeti hatástól függően lehet negatív, és lehet pozitív hatása is.

Mind az atherosclerosis, mind az asztma kialakulásában és tüneteiben komoly szerepet játszanak a **leukotriének**. Ezek lipid típusú gyulladáshoz vezető mediátorok, melyek szintjének csökkentése mindkét betegség tüneteit mérsékli. Az antileukotriének az egyik leggyakrabban használt antiasztmatikus gyógyszer családba tartoznak.

Az 5-lipoxigenáz (**ALOX5**, 10q11.2) a leukotrién szintézis egyik kulcsenzimje. Szubsztrátjai az állati zsírokban megtalálható arachidonsav és a linolénsav. A génnek van egy gyakori polimorfizmusa, a promóter régióban található ismétlődő szakaszon. Ez egy tandem, ismétlődő szekvencia, amelyben egy 5'GGGCGG3' szakasz ismétlődik, és amely egy Sp1- (transzkripciófaktor) kötő motívum is. A vad típusban ebből 5 van, a variánsban 3 (12 bp deléció). A Los Angeles-i populációban a homozigóta hordozók aránya 6% volt (28/470), tehát gyakorinak tekinthető a variáns homozigótaság. Egy vizsgálatban az **arachidonsav és linolsav** fogyasztása **megnövelte** a karotisz **intima média** vastagságát az ALOX5 promóter variáns allél (3 ismétlődés) homozigótákban, a vad allél hordozóiban nem [28]. Többszörösen telítetlen **omega-3 zsírsavakban** gazdag táplálkozás (pl. halolaj fogyasztása) **a variáns homozigótákban megakadályozta a karotisz intima média vastagságának növekedését**. Azaz, a halolaj fogyasztása csak a homozigóta

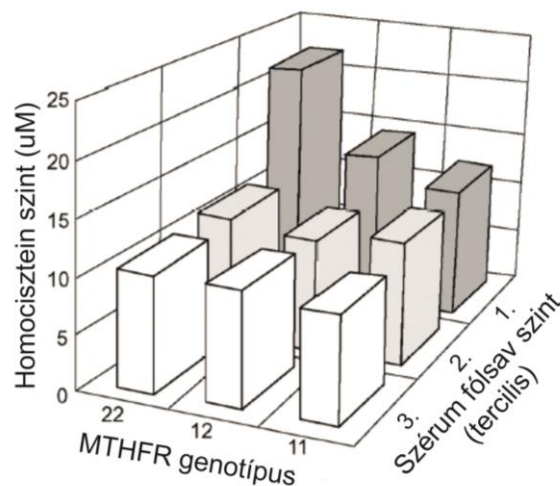
hordozókban csökkenti a karotiszszűkület kialakulásának esélyét. Feltehetőleg a halolaj fogyasztása eltolja a leukotrién útvonalat a kevésbé aktív leukotrién B5 szintézis felé, és gyulladáscsökkentő mediátorok szintézisét is indukálja.

A **CD14** gén -159C/T promóter polimorfizmusa környezeti tényezőktől függően hajlamosíthat vagy védhet az allergiás betegségekkel szemben. A CD14 egy jó példa arra, hogy az immunrendszer speciális géneket „fejlesztett ki” a fertőzések elleni védekezésre. A CD14 a Gram-negatív baktériumok felszínén található LPS-t köti, és Th1 típusú immunválaszt indukál a Toll like receptor 4 (**TLR4**) segítségével. A CD14/-159C/T promóter polimorfizmusban a ritkább T allél növeli a transzkripciót, emeli a szolubilis CD14-szintet és csökkenti az IgE-szintet. Egy francia vizsgálatban azt tanulmányozták, hogy a különböző környezet hogyan befolyásolja ennek a polimorfizmusnak a hatását **allergiás rhinitis** hajlamra. Önmagában a CD14 -159 TT genotípus kb. 2x-es kockázatcsökkenést jelentett atópiára és allergiás rhinitisre. Ha valaki a gyermekkorát egy farmon töltötte, az szintén 2-szeres kockázatcsökkenést okozott. Ha valaki farmon élt, és TT genotípussal is rendelkezett, már 4-5-szörös kockázatcsökkenést lehetett nála tapasztalni. Ebben a vizsgálatban a gén és környezet hatása összeadódott, sőt bizonyos fokú szinergizmust is lehetett tapasztalni.

Érdekes vizsgálatot végeztek el a gén-környezet kölcsönhatásra a **karél népcsoporton** [29]. A karélok a finn-orosz határon, mindkét országban élnek, és jó bizonyítékot szolgáltatnak a higiéniahipotézisre. A két országban élő etnikum genetikailag homogénnek tekinthető, és a külső környezet is gyakorlatilag ugyanaz. A különbség közöttük az életmódban, kultúrában és a gazdasági fejlettségben van. A nyugati kultúrához tartozó, fejlett, higiénikus környezetben élő finn karélokban az atópia gyakorisága 4-szerese a jóval kevésbé tiszta, és fejlett környezetben élő orosz karélokhoz képest (fű pollen elleni pozitív bőrteszt 36,1% vs. 8,1% finn vs. orosz gyermekekben). **A finn karélokban a CD14 -159T allél növelte az atópia kockázatát, míg az orosz karélokban ez az allél védelmet nyújtott**, és a C allél növelte a kockázatot. Hasonló ellentétes hatást tapasztaltak más génvariánsok esetében is. Ez az eredmény jó példa arra, hogy egy adott genomikai háttér megnyilvánulásait a környezet erősen befolyásolni tudja, és a környezet változtatásával befolyásolni lehet a genom hatásait.

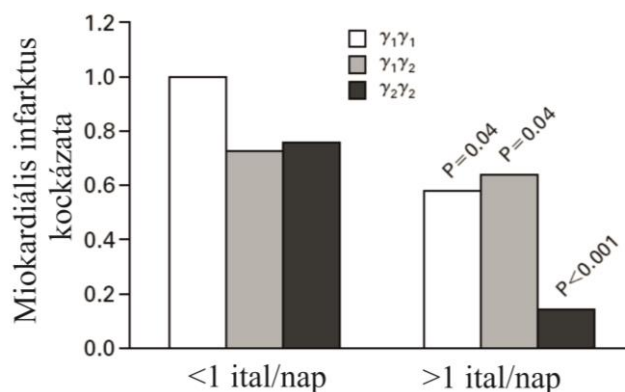
A modern ember környezete drasztikusan más, mint az a környezet, amire az emberiség szelektálódott. Ez két dologban nyilvánul meg. Az egyik, hogy jelentősen megnőtt a fejlettebb társadalmakban a várható élettartam, a másik, hogy számos ún. civilizációs betegség szaporodott meg soha nem látott mértékben. Mivel ez a kettő szorosan összefügg egymással, ezért nagyon nehéz a gyakori betegségek elleni küzdelem. Erre példa a fent említett karélok példája is. A tisztább környezetben élő finn karélokban megnőtt az atópiás megbetegedések száma. Kérdés az, hogy akkor az-e a megoldás, hogy éljünk koszosabban? A válasz egyértelműen nem! Ugyanis, ha jobban megnézzük a finn és az orosz karélok egészségi helyzetét, kiderül, hogy ugyan több allergiás van a finneknél, viszont a várható élettartamuk is sokkal magasabb. Úgy tűnik, hogy a civilizációs betegségek az ár, amit az emberiségnek fizetni kell a kényelmesebb, hosszabb életért. Persze, ha alaposabban megismerjük azokat a mechanizmusokat, amelyek ezekhez a civilizációs betegségekhez vezetnek, talán be tudunk úgy avatkozni úgy, hogy a kényelmesebb és hosszabb élethez ne társuljanak ilyen betegségek. Például a karélok esetében az egyik fő különbség a két területen élő csoport között a bakteriális endotoxinterhelésben volt. A nagyobb endotoxinterhelés nagyobb védelmet jelent az atópiás betegségekkel szemben. Ha ezt a hatást szimulálni tudnánk úgy, hogy közben a bakteriális fertőzések negatív hatásait elkerüljük, csökkenthetnénk ezeknek a betegségeknek a gyakoriságát, és a várható élettartam sem csökkenne.

Az emelkedett homociszteinszint asszociál CAD-dal. Hozzájárul az endotélsejtek sérüléséhez és az érfal-simaizmok proliferációjához, így az atherosclerotikus plakk kialakulásához. A **homocisztein** anyagcsere fontos résztvevői az **MTHFR** enzim (metilén-tetrahidrofolát reduktáz) és a **folsav**. Az MTHFR ún. termolabil változata, a 677C→T (ALA222VAL), **folsavhiányosokban** asszociál a magas homociszteinszinttel és CAD-dal [30]. A legmagasabb szinttel asszociáló TT homozigótákban folsavbevitellel jól csökkenthető a homociszteinszint (12.6. ábra). Ennek atherosclerosis mellett még terhességben is jelentősége van, hiszen ott a 677TT genotípusú nőknek alacsony folsavbevitel mellett, kiemelkedően magas a megszülető gyermekeknél a velőcső-záródási rendellenesség, illetve az ajak- és száypadhasadék kockázata [31].



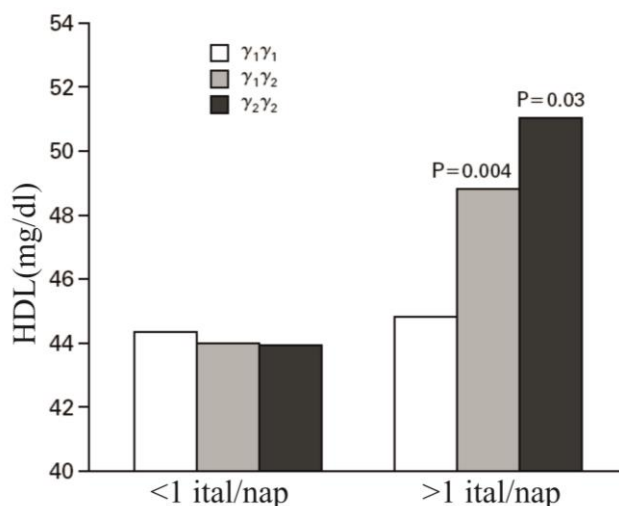
12.6. ábra. MTHFR 677C/T SNP, a szérumfolsav és a homociszteinszint összefüggése. Az atherosclerosis kialakulásának kockázatát növelő homociszteinszintje azokban a legmagasabb, akik homozigóták az MTHFR ritka, termolabil alléljára (677TT, itt 22-vel jelölve), és alacsony a folsavsztintjük. Ezek alapján folsavbevitellel a 677TT homozigótákban a homociszteinszint jelentősen csökkenthető.

A dohányzás mellett egy másik jól mérhető, erős környezeti hatás az **alkohol**. Az alkohol lebontásának első lépését az alkohol-dehidrogenázok végzik. Ezek közül az **ADH3** izoformának 2 gyakori allélja van. A $\gamma 1$ allél 40% gyakoriságú, és gyors metabolizmussal asszociál. A $\gamma 2$ 60%-os gyakoriságú, lassabban működik (2,5x-es különbség). A $\gamma 2\gamma 2$ homozigóták hajlamosak alkoholizmusra, míg a $\gamma 1\gamma 1$ hordozók alkohol okozta szervkárosodásra. Egy nagy vizsgálatban 40–84 éves USA férfi orvosok vettek részt [33]. Kiinduló létszám 14 916, a követési idő 12 év volt. Ez alatt az idő alatt a résztvevők közül 396 kapott infarktust. Azokban, akik ADH3 $\gamma 2\gamma 2$ genotípusúak voltak, és naponta legalább 14 g alkoholt ittak, (kb. 1 pohár sör), az MI kockázata 0,14-re csökkent, azaz 7,1x kisebb esélyük volt az MI kialakulására (12.7. ábra). Ez összevág azzal a megfigyeléssel, hogy kis-mértékű alkoholfogyasztás (kb. napi egy-két korsó sörnek vagy pohár bornak megfelelő alkohol) csökkenti a kardiovaszkuláris betegségek kockázatát. Ha ábrázoljuk a CAD-mortalitás kockázatát az elfogyasztott alkohol függvényében, egy J alakú görbét kapunk, melynek minimuma 2 korsó sörnek megfelelő alkoholmennyiségnél van.



12.7. ábra. A miokardiális infarktus relatív kockázata a napi elfogyasztott alkohol és az ADH3 genotípusok ($\gamma_1\gamma_1$; $\gamma_1\gamma_2$; $\gamma_2\gamma_2$) függvényében [33]

Amikor megvizsgálták az alkohol nyújtotta védelem mechanizmusát, azt találták, hogy a napi több mint egy italt (14 g alkohol) elfogyasztó, ADH3 $\gamma_2\gamma_2$ genotípusú férfiaknak volt a **legmagasabb a HDL-szérumszintjük** (12.8. ábra). Az összefüggést nőkben is igazolták. Az alkohol ezek szerint részben a HDL-szint emelésével csökkenti az MI kockázatát. A lassabban lebontó izoenzimekkel rendelkezőkre erőteljesebb ez a hatás.



12.8. ábra. A napi több mint egy italt (14 g alkohol) elfogyasztó, ADH3 $\gamma_2\gamma_2$ genotípusú férfiaknak (nőknek is) magasabb a HDL-szérumszintjük, mint a másik két genotípussal rendelkezőknek [33]

Statistikai elemzések alapján azonban az alkohol más mechanizmussal is csökkenti a CAD kialakulását. Ez utóbbi pl. a **gyulladásos hajlam csökkentése**. Kis mennyiségű alkohol csökkenti egy, az IL-6 szabályozásáért felelős transzkripciós faktor szintjét. A proinflammatorikus IL-6 szintje arányos a szervezet gyulladásos állapotával. Már kismértékű krónikus gyulladás is komoly CAD-kockázattal asszociál. Nagy mennyiségű alkohol viszont gyulladásos választ vált ki. Ez utóbbi is magyarázza a J görbe felfelé futó szárát magasabb alkoholbevitelnél. Mint ismert mind az alacsony HDL szint, mind a magas IL-6 szint növeli a CAD és az MI kockázatát. A mérsékelt alkoholfogyasztás a fentiek alapján mindkét mechanizmus ellen hat.

Az egyes genetikai tényezők hatása sokszor más fiatal- és más időskorban. A fiatal korban előnyös mutációk időskorra hátrányosak lehetnek, és ez fordítva is igaz lehet. Ezt a jelenséget **antagonisztikus pleiotrópiának** nevezzük (angolul *antagonistic pleiotropy*) [34]. Például az erőteljesebb immunválasz fiatal korban előnyös lehet, hiszen a szervezet gyorsabban és intenzívebben reagál a fertőzésekre. Ez egy szelekciós tényező is, hiszen régebben, amikor nem volt pl. antibiotikum, létfontosságú volt, hogy hatékonyan és gyorsan elpusztítsa a szervezet a kórokozókat. Akiben ez gyengébben működött, kisebb valószínűséggel élte meg a reprodukciós kort és adta tovább génjeit. Ez az erőteljes immunválasz viszont időskorban káros lehet, hiszen az időskori krónikus gyulladásos betegségekre (pl. atherosclerosis) való hajlamot növelhetik. Erre jó példa a **TLR4 Asp299Gly (D299G) SNP**. Ez az SNP, a mintázatfelismerő receptor gyengébb működését okozza. *In vitro* kísérletekben az **LPS** (a Gram-negatív baktériumok felületén található lipopoliszacharid) hatására a mutáns TLR4-gyel rendelkező sejtek alacsonyabb NF- κ B aktiválással válaszoltak. Mivel ez a kulcs transzkripció faktor, egyebek mellett az IL12 gén működését is indukálja, az alacsonyabb NF- κ B aktivitás gyengébb Th1-es választ jelent. Ennek következtében a Gram-negatív baktériumokra lassabban, gyengébben reagál a szervezet. Viszont populációs vizsgálatok kimutatták, hogy ez a variáció a 100 éven felüliekben gyakoribb, mint a fiatalokban. Ez azt jelenti, hogy a mai, „sterilebb” világban a gyengébb immunválasszal, így az alacsonyabb gyulladásos hajlammal asszociáló genomikai háttér előnyös lehet a hosszú élethez azáltal, hogy az időskori krónikus gyulladásos betegségeket kisebb valószínűséggel jelennek meg [35].

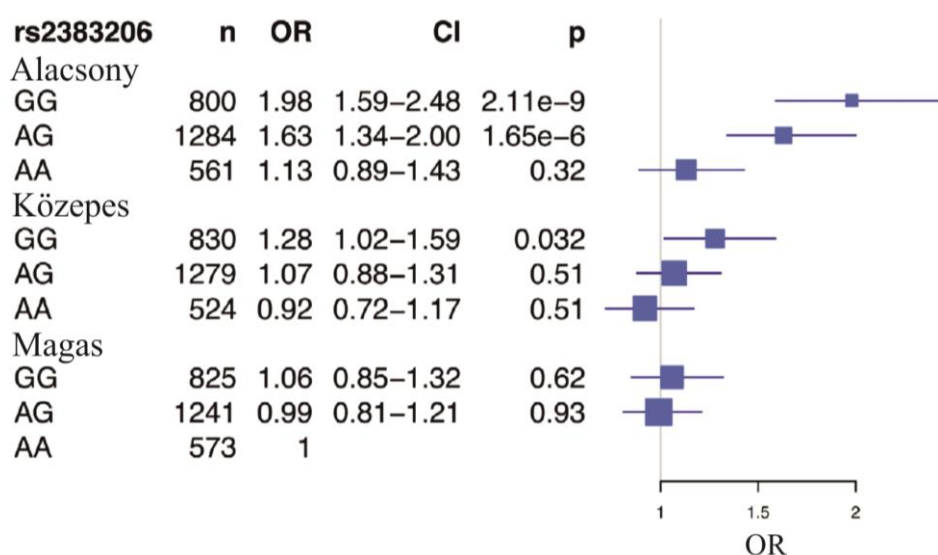
12.5. Gén-környezet kölcsönhatás vizsgálata a genomikai érában

Az elmúlt években a genomikai módszerek ugrásszerű fejlődésével és az egyre nagyobb és minőségileg is jobb klinikai és biológiai adatokkal rendelkező biobankok kialakításával megnőtt a lehetőség a gén-környezet kölcsönhatások alaposabb vizsgálatára. Ma már több etnikumból van több 100 ezres populáció összegyűjtve, részletes adatokkal, és szintén több 100 ezer főnél végeztek már el teljes genom-SNP-szűrést, azaz GWAS-t. A rendelkezésre álló adatok és mérési eredmények hosszú évekre ellátják a kutatókat olyan adatokkal, amelyeket különböző szempontok alapján és módszerekkel lehet újra-elemezni. Az alábbiakban bemutatunk néhány eredményt, amelyek a genomikai érában keletkeztek, és felhasználták a legújabb lehetőségeket.

Egy nagy, több populációt érintő vizsgálatban azt vizsgálták, hogy a CAD- és MI GWAS-vizsgálatokban legerősebb hatást mutató **9p21** genom régióhoz kapcsolódó rizikónövekedést befolyásolják-e különböző környezeti hatások [36]. A legnagyobb hangsúly a vizsgálatban a **diéta** hatására irányult. A vizsgálatba bevont személyek által fogyasztott diétát három típusra osztották. **Orientális** (jellemző ételek pl. szója, tofu, pácolt ételek, zöldlevelű zöldségek, tojás, illetve alacsony cukorbevitel), **nyugati** (tojás, hús, sült és sós ételek, cukor, diófélék, desszert) és **prudens** (bölcs, előrelátó, ésszerű, angolul „prudent”) (nyers zöldségek, gyümölcsök, diófélék, desszert, tejtermékek). A prudens diéta csökkent MI-kockázatot mutatott (OR = 0,81), míg a nyugati diéta emelkedett (OR = 1,14), az orientális nem asszociált MI-vel. A 9p21 régióból 4 korábbi GWAS-ban erős MI-asszociációt mutató SNP-t választottak ki. A vizsgálatba különböző etnikumú populációkat vontak be az **INTERHEART study**-ból (európai, dél-ázsiai, kínai, latin-amerikai és arab populáció). A vizsgálatban összesen 8114 egyén (3820 beteg (MI-n átesett) és 4294 kontroll) vett részt. Az SNP-k 1,18–1,28 OR-értékkel többnyire asszociációt mutattak MI-

vel. Kivételt jelentett az arab populáció, ahol ilyen összefüggést nem találtak. Ezután azt vizsgálták, hogy a dohányzás, fizikai aktivitás vagy a diéta befolyásolja-e az SNP-k kockázatonnövelő hatását. A dohányzás és a fizikai aktivitás nem befolyásolta, a diéták közül a prudens diéta viszont befolyásolta mind a 4 SNP kockázati értékét. A legerősebb diéta-SNP hatást az rs2383206 SNP-nél mérték. Abban a csoportban, akik a legalacsonyabb prudens értéket kapták (azaz a legkevesebb ilyen ételt fogyasztották) az SNP OR értéke 1,32 ($p = 6 \times 10^{-7}$) volt, míg a legmagasabb prudens értékkel rendelkező csoportnál az SNP nem asszociált MI-vel ($OR = 1,02$; $p = 0,68$). A diéta-SNP kölcsönhatás mértéke etnikumonként különbözött. Legerősebb volt a dél-ázsiaiaknál, szignifikáns volt az európaiakban és a latin-amerikaiakban, a szignifikanciahatáron volt a kínaiakban, és nem volt tapasztalható az arabokban. Ha a prudens diétát tovább elemezték, akkor a **nyerszöldség-diéta** volt a meghatározó. A többi, a prudens diétához tartozó ételmisszerrel való korrekció nem befolyásolta a szignifikanciaértéket. Az eredmények replikációjához a prospektív **FINRISK** study populációját is megvizsgálták. Ez a populáció 19 129 egyénből állt, melyek közül 1014-ben alakult ki a nyomon követés ideje alatt CVD. Ebben a populációban a 9p21 rs2383206 SNP-je emelkedett CVD-kockázattal asszociált. Csökkent kockázattal asszociált a magas zöldség- és gyümölcsstartalmú étrend ($HR = 0,79$). Ezeknek az ételeknek az alacsony fogyasztása itt is megemelte az SNP kockázati értékét ($OR = 1,22-1,35$), míg a magas zöldség- és gyümölcsfogyasztás eltüntette az SNP kockázati értékét. Az INTERHEART study résztvevőin az SNP-diéta kölcsönhatás legmagasabb és legalacsonyabb kockázati csoportja között kétszeres kockázatkülönbség volt MI-re (12.9. ábra). Ugyanez a FINRISK study résztvevőin CVD-re 1,66 volt [36].

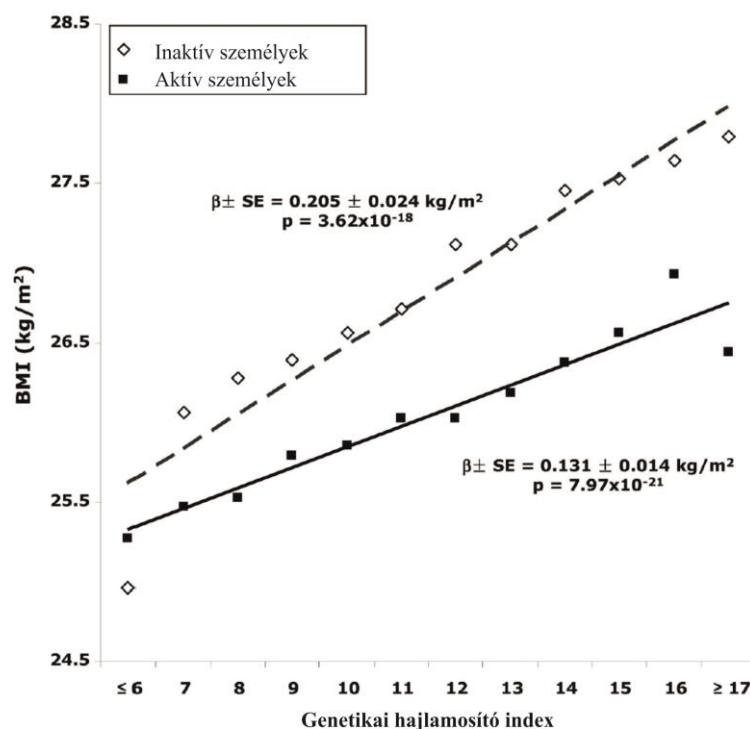
Összefoglalva, ez a nagy vizsgálat azt mutatta ki, hogy a 9p21 régió kockázati alléljának hatását MI-re, illetve CVD-re az ún. prudens diétával csökkenteni lehet. A diéta meghatározó eleme a nyers zöldség volt. Az az étrend, amiben alacsony a prudens diéta, de főleg a nyerszöldség-tartalom, a 9p21 régió kockázati alléljának hatását erősíti. Hozzá kell még tenni, hogy ez a hatás etnikumfüggő volt, így pl. arab etnikumúaknál nem lehetett mérni. Ez utóbbi mutatja, hogy más genomikai és környezeti hatások is befolyásolják ezeket a hatásokat.



12.9. ábra. Diéta-SNP kölcsönhatás és a kockázati értékek miokardiális infarktusra, prudens diéta relatív mennyisége alapján felosztott populációkban

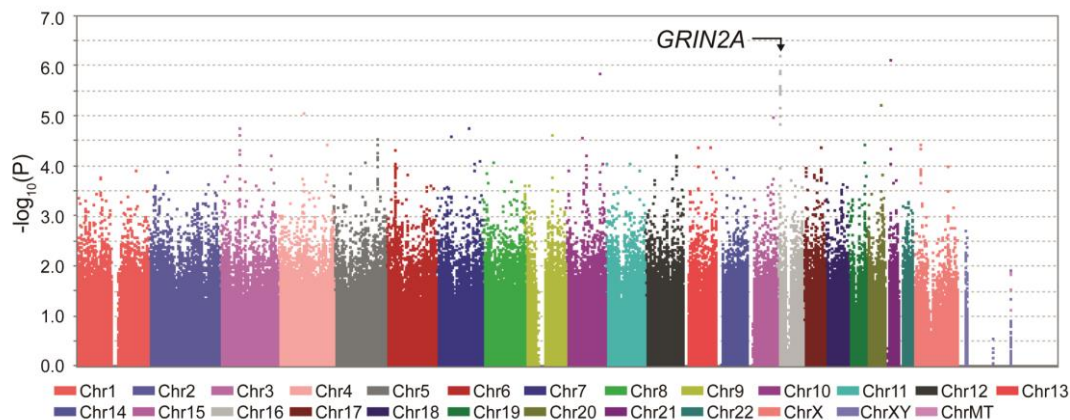
Az alacsony prudens diétát fogyasztó csoportban a 9p21 régió kockázati alléljára homozigótáknak van a legmagasabb MI-kockázatuk (OR = 1,98), összehasonlítva a másik allélra homozigóta (AA), és magas prudens diétát fogyasztókkal [36].

Az előzőhöz hasonló vizsgálatot végeztek el **obezitással** kapcsolatban [37]. A vizsgálatba több mint 20 ezer európai eredetű embert vontak be. A résztvevők kérdőívet töltöttek ki, amelyben kérdések szerepeltek arra vonatkozólag, hogy a munkahelyén milyen fizikai igénybevételnek van kitéve (pl., ülő- vagy állómunka, fizikai munka, nehéz fizikai munka), illetve szabad idejében milyen és mennyi fizikai aktivitást folytat. A fizikai aktivitás alapján 4 csoportra osztották a résztvevőket. Korábbi GWAS-ok alapján azonosítottak 12 génben (NEGR1, SEC16B, TMEM18, ETV5, GNPDA2, BDNF, MTCH2, FAIM2, SH2B1, FTO, MC4R, és KCTD15) egy-egy, azaz összesen 12 BMI-vel és obezitáskockázattal asszociáló SNP-t. Mindegyik allél 0,154 kg/m² BMI-érték-növekedéssel asszociált, ami egy 170 cm magas embernél 445 g testtömeg-növekedést jelent. A kockázati allélok hordozása kumulatív volt. Amikor az inaktív csoportba soroltakat vizsgálták, a BMI-növelő allélok 0,205 kg/m² növekedéssel asszociáltak (592 g/allél testtömeg-növekedés), ez az aktív csoportban csak 0,126 kg/m² (364 g) (12.10. ábra) volt. Hasonló összefüggést figyeltek meg az obezitáskockázat vonatkozásában is. Ezek alapján az aktív életmód szignifikánsan csökkentette (40%-kal) a 12 SNP-vel asszociáló obezitáskockázatot, azaz mozgással a hátrányos genetikai háttér negatív hatását csökkenteni lehet.



12.10. ábra. A 12 BMI-t és obezitáskockázatot növelő SNP alapján számolt genetikai hajlamosító index függvényében az átlagos BMI-növekedés, fizikai aktivitás alapján aktív és inaktív csoportba sorolt európaiakban. Az ollószerűen szétnyíló két egyenes azt mutatja, hogy a fizikai aktivitás BMI-befolyásoló hatása a legnagyobb genetikai kockázati értékkel rendelkezőknél a legerősebb [37]

Több vizsgálat kimutatta, hogy az egész életen át tartó, rendszeres kávéfogyasztás csökkenti a Parkinson-kór (PD) kockázatát. A következő bemutatott GWAS-ban azt vizsgálták, hogy ezt milyen genomikai háttér befolyásolja. A vizsgálatot **GWAS**-ak hívták (**genome-wide association and interaction study**), és a *NeuroGenetics Research Consortium* (NGRC) hajtotta végre 1458 betegen és 931 kontrollszemélyen, Illumina array-jel, több mint 800 ezer SNP-t genotipizálva [40]. A legerősebb jelet az rs4998386 SNP-re és környékére kapták, a **GRIN2A** génben (16p13.2, 12.11. ábra). A gén az agyban működő *glutamate [NMDA] receptor subunit epsilon-1* fehérjét kódolja, amely egy glutamátreceptor, és a neurotranszmisszió szabályozásában játszik szerepet, befolyásolja a mozgást és a viselkedést. Amikor a résztvevőket az elfogyasztott kávé mennyiség alapján csoportosították, genomszinten szignifikáns kockázatcsökkenést csak az **erős kávéfogyasztókban** lehetett mérni (OR = 0,43). A T allél asszociált kockázatcsökkenéssel (vs. CC genotípus). A kevés kávé fogyasztó CC genotípusúakhoz képest az erős kávéfogyasztó CC genotípusúaknak 18%-kal alacsonyabb kockázata volt, míg a TC genotípusú erős kávéfogyasztóknak 59%-kal. **Imputációval**, azaz, amikor az LD-ben levő, de nem genotipizált SNP-eket is bevették az analízisbe, a genom régióban található SNP-blokk erős kávéfogyasztókban, még alacsonyabb, OR = 0,41 kockázattal asszociált, ami 2,4-szeres kockázatcsökkenésnek felel meg. A gén szerepe biológiailag jól magyarázható ebben az összefüggésben. Későbbi vizsgálatok hasonló összefüggést találtak más koffeintartalmú élelmiszerekben is (pl. tea, csokoládé, koffeintartalmú üdítők), ami azt mutatja, hogy a védelemért a kávéban a koffein a felelős. A koffein egy adenosin A_{2A} receptor agonista, amely a kalcium influxot erősíti az NMDA-n keresztül. Az adenosin A_{2A} receptor agonisták PD állatmodellben neuroprotektívek voltak, azaz ez az útvonal fontos szerepet játszik PD-ben.



12.11. ábra. Manhattan-plot ábrázolása GWAS-nak (genome-wide association and interaction study), Parkinson-kórban, erős kávéfogyasztókban. Itt azt vizsgálták, hogy az erős kávéfogyasztás milyen genetikai háttérrel kölcsönhatásban csökkenti a betegség kockázatát. A legerősebb összefüggést a GRIN2A génre kapták (legmagasabb $-\log_{10}(P)$ érték) (65).

Letöltve:

<http://www.plosgenetics.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pgen.1002237>

(2013. június 27.)

Ez az eredmény azt mutatja, hogy a gén-környezet kölcsönhatás GWAS-vizsgálatával **olyan géneket is azonosítani lehet, amelyeket korábbi genetikai, genomikai vizsgálatok (GWAS) nem detektáltak.** Ez azt mutatja, hogy új géneket is lehet így találni, amelyek a **hiányzó öröklődő hányad mennyiségét csökkenthetik** más

betegségekben is. Ezen túlmenően, talán még nagyobb jelentősége van, hogy a GRIN2A genotipizálás **segíthet eldönteni, hogy PD-s betegek közül kinek, milyen kezelés lenne optimális.** A jelenleg használt L-DOPA tüneti kezelés, a betegség romlását nem tudja megakadályozni. A glutamát-receptor-blokkolókkal történt klinikai vizsgálatok kudarcra végződtek. Talán, ha a GRIN2A genotípus alapján csoportosítani lehetne a betegeket, lenne olyan alcsoport, mely pozitívan reagálna erre a kezelésre.

12.6. Nutrigenetika és nutrigenomika

A gén-környezet kölcsönhatásának vizsgálatában fontos helyet foglal el a nutrigenetika és genomika. Ez a tudományág azzal foglalkozik egyrészt, hogy **a genetikai háttér hogyan befolyásolja a tápanyagok hatását, másrészt a tápanyagok hogyan befolyásolják a gének expresszióját.** Az elsősre az előzőekben több példát is láttunk (az APOE genotípusok hatása a koleszterincsökkentő diétára, az ALOX5 gén promóter variációi hogyan befolyásolják az állati zsírok és a halolaj hatását az atherosclerosis kockázatára; alkoholfogyasztás, kávéivás, prudens diéta, vagy az MTHFR genotípus és a folsav kiégésítés viszonya). A másodikkra példa az a vizsgálat, amelyben a **szűz olívaolaj** hatását vizsgálták. Megállapították, hogy fogyasztása 98 proinflammatorikus gén expresszióját befolyásolta, amelyek a gyulladásos folyamatok irányításában vesznek részt. Az eredmények alapján az olívaolaj csökkenti a gyulladásos folyamatokat, így több betegség kockázatát [39].

Bár az egyik legerősebb környezeti tényező, amely rendszeresen és erősen hat mindenkinél a szervezetre, az a táplálkozás, nagy valószínűséggel nutrigenomikai vizsgálatokra a rutin orvosi vizsgálatokban még jó ideig biztos nem kerül sor. Viszont a személyre szabott genomikával foglalkozó cégek ezeket az információkat is beveszik már az elemzésekbe és adnak róluk személyre szabott információkat.

Nézzük, **milyen előnyöket hozhat a nutrigenomika?**

- Lehetőséget ad az optimális, személyre szabott táplálkozásra
- Egészségesebb életre ad lehetőséget mind testi, mind lelki szinten
- Számos genetikai betegség tünete enyhíthető a megfelelő diétával
- Betegségek megelőzésével csökkennek az egészségügyi költségek.

Vannak egyének, akik egyes ételekre a genetikai háttérük miatt különösen érzékenyek. Erre példa a glükóz-6 foszfát dehidrogenáz- (**G6PD**) hiány következtében fellépő túlérzékenység a lóbabra (vicia faba). Az X-kromoszómán található gén mutációja miatt a hordozó férfiak vagy homozigóta nők egy részében a lóbab fogyasztása után súlyos hemolitikus anémia alakulhat ki. A lóbab egyik elnevezése (fava bean) miatt a betegséget **favizmusnak** is hívják. A G6PD hiány a leggyakoribb enzimhiány a világon, kb. 400 millió embert érint. Főleg a maláriával fertőzött területeken gyakori, mivel a mutáció védelmet nyújt a betegséggel szemben (ld. még: <http://en.wikipedia.org/wiki/Favism>). A mutációt hordozók számos gyógyszerre vagy például a hennára is túlérzékenyek. Ezekben az esetekben a genetikai háttér ismerete akár életmentő is lehet.

Természetesen a nutrigenomikai vizsgálatok drágák és az eredmények csak megfelelő kritikával, más vizsgálatokkal, személyes tapasztalatokkal együtt, szakemberek bevonásával hasznosíthatók optimálisan. Ide is vonatkoznak természetesen a genomikai eredmények jóslhatóságának korábban tárgyalt korlátai. Például, ha valakinél korábban valamilyen krónikus betegség alakult ki (pl. reflux vagy ételallergia), akkor az is erősen

befolyásolhatja az elfogyasztásra javasolt ételek választékát. Így pl. hiába véd Parkinson-kór ellen a kávé a GRIN2 bizonyos genotípusaiban, ha érzékeny a gyomra valakinek a kávéra, akkor a koffeint valamilyen másik formában kell a szervezetbe juttatnia. Illetve az is lehet, hogy valamilyen genetikai ok miatt magára a koffeinre úgy általában érzékeny az illető. Ebből nyilvánvaló, hogy megjósolni, hogy a genom variációinak eredőjeként az egyén hogyan fog reagálni egy táplálékra, egyrészt genomikai, nagy áteresztő képességű módszerek szükségesek, másrészt az eredő megbecsléséhez **hálózatelemzés, illetve rendszerbiológiai eszközök**. A megbízható eredmények összegyűjtésében, illetve a rendszerbiológiai módszerek fejlesztésének még csak az elején vagyunk, így nem meglepő, hogy egyelőre nem áll rendelkezésre megbízható nutrigenomikai teszt, illetve döntéstámogatás.

12.7. A gén-környezet kölcsönhatás vizsgálat jövője

A gén-környezet kölcsönhatás vizsgálatának különböző betegségekben rendkívül nagy jelentősége van. A tudományos jelentőségén túl, ez a vizsgálat adhat közvetlenül a gyakorlatban is hasznosítható eredményeket. Az itt kapott eredmények alapján **ki lehet választani a populációból azokat, akik valamilyen környezetre kiemelten érzékenyek, vagy valamilyen konkrét terápiára jól, vagy rosszul reagálnak**. Bár ilyen típusú vizsgálatokat már korábban is végeztek, a genomikai módszerek fejlődésével, és az egyre növekvő, és egyre jobb minőségű biobankokkal most lesz igazán lehetőség, hogy igazán értékes és hasznosítható eredményeket kapjunk.

Azonban, a környezeti hatásokat bevonva az elemzésekbe, rendkívüli módon megnehezítjük a kísérlettervezést és értékelést. A környezeti hatások többsége véletlenszerű, hullámzó, sőt sokszor észrevétlen. Gondoljunk például a légszennyezettségre, amely fontos kockázati tényező számos betegségre (asztma, COPD, atherosclerosis stb.). Ennek pontos mennyisége és minősége azonban, amely egy adott emberre hat, rendkívül nehezen kvantifikálható. A környezeti tényezők hatása ráadásul függ az egyén életkorától, fizikai, pszichés állapotától stb., amikor a hatás történik.

Mindezen nehézségek ellenére a kísérlettervezés, és az értékelő statisztikai módszerek fejlődésével sok nehézség kiküszöbölhető, csökkenthető, és a jövőben sok értékes, a mindennapokban is hasznosítható eredmények várhatók, ezen a területen is.

A gén-környezet kölcsönhatásba tartozik a gyógyszerek és a genom egymásra hatása is, amelyet farmakogenomikának, vagy farmakogenetikának hívnak. Ezt, jelentősége miatt, külön tudományágba sorolják, így mi is külön fejezetben foglalkozunk a témával.

12.8. Irodalom

1. Laland KN, Odling-Smee J, Myles S. How culture shaped the human genome: bringing genetics and the human sciences together. *Nat Rev Genet.* 2010 Feb;11(2):137–48.
2. International Human Genome Sequencing Consortium: Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 2001; 409:860–921.
3. Venter JC et al. The sequence of the Human Genome. *Science* 2001; 291:1304–51.
4. Barreiro LB, Quintana-Murci L. From evolutionary genetics to human immunology: how selection shapes host defence genes. *Nat Rev Genet.* 2010 Jan; 11(1):17–30.

5. Fumagalli M, et al. Genome-wide identification of susceptibility alleles for viral infections through a population genetics approach. *PLoS Genet.* 2010 Feb 19; 6(2):e1000849.
6. Szalai Cs, Czimmer A, Császár A, Szabó T, Falus A: Frequency of the HIV-1 resistance CCR5 deletion allele in Hungarian newborns. *Eur J Pediatr* 1998; 157:9:782.
7. Hütter G, Ganepola S. The CCR5-delta32 polymorphism as a model to study host adaptation against infectious diseases and to develop new treatment strategies. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2011 Aug 1; 236(8):938–43.
8. Tishkoff SA, et al. Convergent adaptation of human lactase persistence in Africa and Europe. *Nat Genet.* 2007 Jan; 39(1):31–40.
9. Tully G. Genotype versus phenotype: human pigmentation. *Forensic Sci Int Genet.* 2007 Jun;1(2):105–10.
10. Reich D, et al. Denisova admixture and the first modern human dispersals into Southeast Asia and Oceania. *Am J Hum Genet.* 2011 Oct 7; 89(4):516–28.
11. Chambers V, et al. Haemochromatosis-associated HFE genotypes in English blood donors: age-related frequency and biochemical expression. *J Hepatol.* 2003 Dec;39(6): 925–31.
12. Erblich J, et al. Stress-induced cigarette craving: effects of the DRD2 TaqI RFLP and SLC6A3 VNTR polymorphisms. *Pharmacogenomics J.* 2004; 4(2):102–9.
13. Minematsu N, et al. Association of CYP2A6 deletion polymorphism with smoking habit and development of pulmonary emphysema. *Thorax.* 2003 Jul; 58(7):623–8.
14. Stevens VL, et al. Nicotinic receptor gene variants influence susceptibility to heavy smoking. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008 Dec; 17(12):3517–25.
15. Füst G, Arason GJ, Kramer J, Szalai C, et al. Genetic basis of tobacco smoking: strong association of a specific major histocompatibility complex haplotype on chromosome 6 with smoking behavior. *Int Immunol.* 2004 Oct; 16(10):1507–14.
16. Lundström E, et al. Gene-environment interaction between the DRB1 shared epitope and smoking in the risk of anti-citrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis: all alleles are important. *Arthritis Rheum.* 2009 Jun; 60(6):1597–603.
17. Criswell LA, et al. Smoking interacts with genetic risk factors in the development of rheumatoid arthritis among older Caucasian women. *Ann Rheum Dis.* 2006 Sep; 65(9):1163–7.
18. Blaskó B, et al. Low complement C4B gene copy number predicts short-term mortality after acute myocardial infarction. *Int Immunol.* 2008 Jan; 20(1):31–7.
19. Füst György, Kramer Judit, Kiszél Petra, Blaskó Bernadette, Szalai Csaba, Gudmundur Johann Arason, Chack Yung Yu . C4BQ0, egy génvariáns, amely jelentősen csökkenti az esélyt az egészséges öregkor megélésére. *Magyar Tudomány*, 2006/3 266. o.
20. Lee KM, et al. Paternal smoking, genetic polymorphisms in CYP1A1 and childhood leukemia risk. *Leuk Res.* 2009 Feb; 33(2):250–8.
21. Susan Colilla, et al. Evidence for gene-environment interactions in a linkage study of asthma and smoking exposure. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111:840–6.
22. Wang Z, et al. Association of asthma with beta(2)-adrenergic receptor gene polymorphism and cigarette smoking. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001 May; 163(6):1404–9.
23. Wang XL, et al. Effect of CYP1A1 MspI polymorphism on cigarette smoking related coronary artery disease and diabetes. *Atherosclerosis.* 2002 Jun; 162(2):391–7.
24. Talmud PJ, Hawe E, Miller GJ. Analysis of gene-environment interaction in coronary artery disease: lipoprotein lipase and smoking as examples. *Ital Heart J.* 2002 Jan; 3(1):6–9.

25. Kivipelto M, et al. Apolipoprotein E epsilon4 magnifies lifestyle risks for dementia: a population-based study. *J Cell Mol Med.* 2008 Dec; 12(6B):2762–71.
26. Rusanen M, et al. Midlife smoking, apolipoprotein E and risk of dementia and Alzheimer's disease: a population-based cardiovascular risk factors, aging and dementia study. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2010; 30(3):277–84.
27. Drenos F, Kirkwood TB. Selection on alleles affecting human longevity and late-life disease: the example of apolipoprotein E. *PLoS One.* 2010 Apr 2; 5(4):e10022.
28. Dwyer JH, et al. Arachidonate 5-lipoxygenase promoter genotype, dietary arachidonic acid, and atherosclerosis. *N Engl J Med.* 2004 Jan 1; 350(1):29–37.
29. Zhang G, et al. Opposite gene by environment interactions in Karelia for CD14 and CC16 single nucleotide polymorphisms and allergy. *Allergy.* 2009 Sep; 64(9):1333–41.
30. Alam MA, et al. Association of polymorphism in the thermolabile 5, 10-methylene tetrahydrofolate reductase gene and hyperhomocysteinemia with coronary artery disease. *Mol Cell Biochem.* 2008 Mar; 310(1-2):111–7.
31. Bufalino A. Maternal polymorphisms in folic acid metabolic genes are associated with nonsyndromic cleft lip and/or palate in the Brazilian population. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2010 Nov; 88(11):980–6.
32. Chen L, et al. Alcohol intake and blood pressure: a systematic review implementing a Mendelian randomization approach. *PLoS Med.* 2008 Mar 4; 5(3):e52.
33. Hines LM, et al. Genetic variation in alcohol dehydrogenase and the beneficial effect of moderate alcohol consumption on myocardial infarction. *N Engl J Med.* 2001 Feb 22; 344(8):549–55.
34. Capri M, et al. Human longevity within an evolutionary perspective: the peculiar paradigm of a post-reproductive genetics. *Exp Gerontol.* 2008 Feb; 43(2):53–60.
35. Candore G, et al. Inflammation, longevity, and cardiovascular diseases: role of polymorphisms of TLR4. *Ann N Y Acad Sci.* 2006 May; 1067:282–7.
36. Do R et al. The Effect of Chromosome 9p21 Variants on Cardiovascular Disease May Be Modified by Dietary Intake: Evidence from a Case/Control and a Prospective Study. *PLoS Medicine* 2011; 9 (10)
37. Li S, et al. Physical activity attenuates the genetic predisposition to obesity in 20,000 men and women from EPIC-Norfolk prospective population study. *PLoS Med.* 2010 Aug 31; 7(8). pii: e1000332. PubMed PMID: 20824172; PubMed Central PMCID: PMC2930873.
38. Lu Y, Feskens EJ, Dolle ME, et al. Dietary n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acid intake interacts with FADS1 genetic variation to affect total and HDLcholesterol concentrations in the Doetinchem Cohort Study. *Am J Clin Nutr* 2010; 92:258–265.
39. Ordovás JM, Robertson R, Cléirigh EN. Gene-gene and gene-environment interactions defining lipid-related traits. *Curr Opin Lipidol.* 2011 Apr; 22(2):129–36.
40. Hamza TH, et al. Genome-wide gene-environment study identifies glutamate receptor gene GRIN2A as a Parkinson's disease modifier gene via interaction with coffee. *PLoS Genet.* 2011 Aug; 7(8):e1002237.

12.9. A fejezethez kapcsolódó kérdések

1. Mit jelent, hogy egy mutáció kis vagy nagy penetranciájú?
2. A környezeti hatásokra való érzékenység alapján milyen eloszlást mutathat egy populáció?

3. Mit okoz az ATM génben található mutáció?
4. Mondjon példát nagy penetranciájú mutáció és környezet egymásra hatására!
5. Mondjon példát kis penetranciájú mutáció és környezet egymásra hatására!
6. Genetikai szempontból milyen betegségek tekinthető a dohányzás?
7. Mondjon olyan gént, amelyik szerepet játszhat a dohányzásra való rázkódásban!
8. A nikotin típusú acetilkolinreceptor gén SNP-it milyen betegséggel hozták összefüggésbe 3 GWA-vizsgálatban is?
9. Milyen szerepet játszanak a CYP2A6 gén variánsai a dohányzásban?
10. Az MHC III régió milyen, a dohányzásra való rázkódásban is szerepet játszó genomrégióval van LD-ben?
11. Mondjon példát olyan génre, amelyik polimorfizmusa károsan befolyásolja a dohányosok egészségét!
12. Milyen betegségre hajlamosít a HLA-DRB1 SE?
13. Milyen környezeti faktor kerül interakcióba a HLA-DRB1 SE alléllal?
14. Melyik gén variációi befolyásolják a dohányosok asztmára való hajlamát?
15. Melyik géncsalád végzi a dohány toxinjainak lebontását?
16. A CYP1A1 gén egyes haplotípusai milyen környezeti tényező kölcsönhatásával hajlamosítanak gyermekkori leukémiára?
17. Miért fokozottan káros, ha valaki apoE4-hordozó és dohányzik?
18. Milyen betegségre van nagy esélye az apoE4-hordozó, dohányzó öklívónak időskorában?
19. Melyik gén egyik gyakori variánsa befolyásolta a plazma oxidált LDL-szintet dohányosokban?
20. Milyen génvariációk játszhatnak szerepet abban, hogy valaki hogyan reagál a táplálék magas koleszterintartalmára?
21. Melyik gén variációi játszanak szerepet a táplálék arachidonsav-tartalma és a karotisz intima média vastagság közötti összefüggésben?
22. Milyen táplálékkiegészítőt javasolna 5-LO promóter polimorfizmussal rendelkező férfiaknak?
23. Milyen környezeti tényező befolyásolja a CD14 gén variációinak hatását allergiára való hajlamban?
24. Milyen gén-környezet kölcsönhatást találtak a karél népcsoportban? Milyen következtetéseket lehet ebből levonni?
25. Milyen táplálékkiegészítőt ajánlana MTHFR termolabil változatával rendelkező középkorú férfiaknak?
26. Az ADH3 $\gamma 2/\gamma 2$ genotípusúakban milyen környezeti tényező hatására csökkent drasztikusan az MI kialakulásának kockázata? Mi lehetett ennek a mechanizmusa?
27. Mi az az antagonisztikus pleiotrópia?
28. A 9p21 genomrégió variánsainak a CAD kockázatonövelő hatását milyen környezeti tényező befolyásolta? Hogyan végezték el ezt a vizsgálatot?
29. Milyen nem-genetikai tényező befolyásolta az obezitással asszociáló SNP-k hatását?
30. A GRIN2A gén variációi milyen környezeti tényezővel kölcsönhatásban, milyen betegség kockázatát befolyásolták?
31. Mi az az imputáció a genetikai vizsgálatokban?
32. Mivel foglalkozik a nutrigenomika és mi a jelentősége?
33. Mi az a favizmus?
34. Hogyan bizonyították, hogy a szűz olívaolaj csökkenti a gyulladáshajlamot?
35. Mi a jelentősége a gén-környezet kölcsönhatás vizsgálatának?

13. Farmakogenomika

13.1. A farmakogenomika céljai

13.1.1. Gyógyszerfejlesztés

A farmakogenomikának két fő feladata van. Az egyik, hogy DNS/RNS szintű vizsgálatokkal új hatóanyagokat és **gyógyszercélpontokat keressen**. Ennek óriási jelentősége van, hiszen a jelenleg forgalomban levő összes gyógyszernek kb. 400 célfehérjéje van, szemben a humán genomban a 20-22 000 gén által kódolt fehérjével. Becslések szerint a fehérjék különböző módosult variánsainak összmenyisége eléri a 2 milliót, de gyógyszercélpontoknak tekinthetők az eddig ilyen szempontból figyelmen kívül hagyott, fehérjét nem kódoló nukleotid szekvenciák (szabályozórégiók, fehérjére át nem íródó RNS-szekvenciák, pszeudogének stb.), melyek becsült mennyisége meghaladja a fehérjéket kódoló génekét. Az ezt vizsgáló **ENCODE projektből** tudjuk pl., hogy a humán genom 80%-ához lehet valamilyen funkciót társítani (2,4 milliárd bázis), és a sejtsecifikus „enhancer” régiók száma 400 ezer. Még ha ezeknek a molekuláknak, genomrégióknak csak a töredéke is valódi terápiás célpont, akkor is nyilvánvaló az óriási kihasználatlan lehetőség.

Ezzel szemben, a gyógyszerfejlesztés jelenleg válságát éli. 1998 és 2002 között évente átlagosan 68 új gyógyszert engedélyezett az amerikai FDA (az új gyógyszerek engedélyezésével foglalkozó hatóság az USA-ban), ami 2003-ra 2/3-val csökkent, 2004-ben pedig csak 22 új gyógyszert engedélyeztek, amelyek közül egyet (Tysabri) már biztonsági okok miatt vissza is vontak. 2007-ben volt a mélypont, amikor 18 új gyógyszert engedélyeztek; 2008-ban 24-et, 2009-ben 25-öt és 2010-ben 21-et [1], [2].

2011-ben egy kis fellendülés látszik. Ebben az évben 30 új gyógyszert engedélyezett az FDA (<http://www.fda.gov/Drugs/InformationOnDrugs/ApprovedDrugs/default.htm>). Molekuláris genetikai, de főleg genomikai módszerekkel az új gyógyszercélpontok azonosítása rendkívül felgyorsítható, és a gyógyszerfejlesztés ára is csökkenthető. Például, megfelelő automatizálással naponta több millió genetikai variáció vizsgálható, és ha egy variáns kapcsolatba hozható egy betegséggel, vagy a betegség valamilyen tünetével, az azt jelenti, hogy a genomban a közelben olyan szekvencia található, amelyik valamilyen módon szerepet játszik a betegségben, és így maga a szekvencia, a kódolt fehérje vagy a befolyásolt anyagcsereút potenciális gyógyszercélpontnak tekinthető. Másrészt, mivel a genomikai módszerek egy részéhez nem kell prekoncepció (azaz nem kell ismerni a betegség patomechanizmusát), olyan új anyagcsereutakat is felfedezhetünk, amelyeket előtte nem ismertünk. Sajnos ennek az eredménye csak jó néhány év vagy inkább évtized múlva fog jelentkezni, hiszen a gyógyszercélpont azonosításától az engedélyezett gyógyszerig nagyjából ennyi idő szükséges.

Az előző fejezetekben néhány példát láthattunk új terápiás célpontok azonosítására, és a gyógyszerkutatókkal foglalkozók már rengeteg, genetikai, genomikai módszerrel felfedezett új terápiás célpont használhatóságát vizsgálják.

13.1.2. Gyógyszermellékhatások

Ennek a fejezetnek a célja elsősorban a farmakogenomikának a másik fontos területéről származó eredményeknek a bemutatása. A farmakogenomikának ez az ága azzal foglalkozik, hogy az emberek közötti genetikai különbségek hogyan befolyásolják a **kezelésekre, gyógyszerekre adott választ**. Általában, amikor farmakogenomikáról vagy farmakogenetikáról beszélünk, akkor ez utóbbira gondolunk.

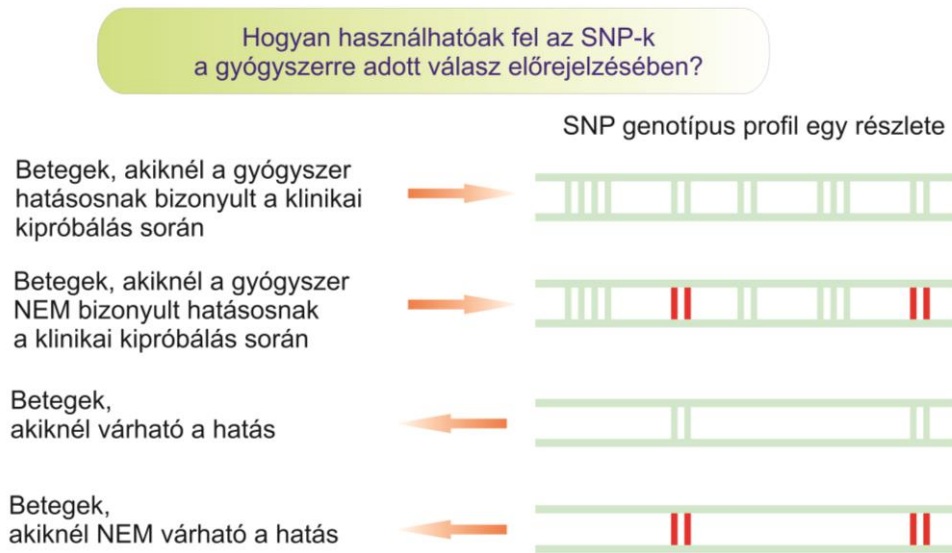
Ezeknek a vizsgálatoknak, legalább olyan nagy jelentőségük van, mint az új gyógyszer-célpontok keresésének. Egyrészt az emberek közötti genetikai különbségek miatt egyes gyógyszerek bizonyos emberekben hatástalanok. Így például a vérnyomás kezelésére használt β -blokkolók az emberek 30%-ában, míg az antidepresszánsok a kezelték 50%-ában hatástalanok. Az asztma terápiájában is hasonló a helyzet. Becslések szerint az asztmások kétharmadánál nem kontrollálják teljesen a betegséget. Kortikoszteroid-inhalációval a kezelték egyharmadánál nem érnek el a légúti funkciókban vagy a légúti reaktivitásban objektív javulást. A leukotrién antagonistákkal való kezelés statisztikája még rosszabb.

Ennél is nagyobb problémát jelent, hogy egyes embereknél bizonyos gyógyszerek súlyos mellékhatásokat okoznak. Statisztikai adatok alapján például az USA-ban évente több 100 000 ember hal meg a gyógyszerek mellékhatásai miatt, és Európában a kórházi beutalások 10%-áért felelősek a gyógyszerek nem kívánatos hatásai. Az asztmában például az orális kortikoszteroiddal kezelték egyharmadában alakul ki osteoporosis, míg az 5-lipoxigenáz-gátlókkal kezelték 3–5%-ánál megemelkednek a májenzimértékek. Ritkán asztmásoknál, akik inhalációs kortikoszteroid-kezelést kapnak, katarakta és/vagy glaukóma alakulhat ki, sőt egy nagyon kis százalékuknál, akik nyújtott hatású β -agonista kezelést kapnak, növekszik a mortalitás kockázata. Becslések szerint **a gyógyszerekre adott válaszokban mutatott egyének közötti különbségek 60–80%-áért a genetikai különbségek a felelősek**.

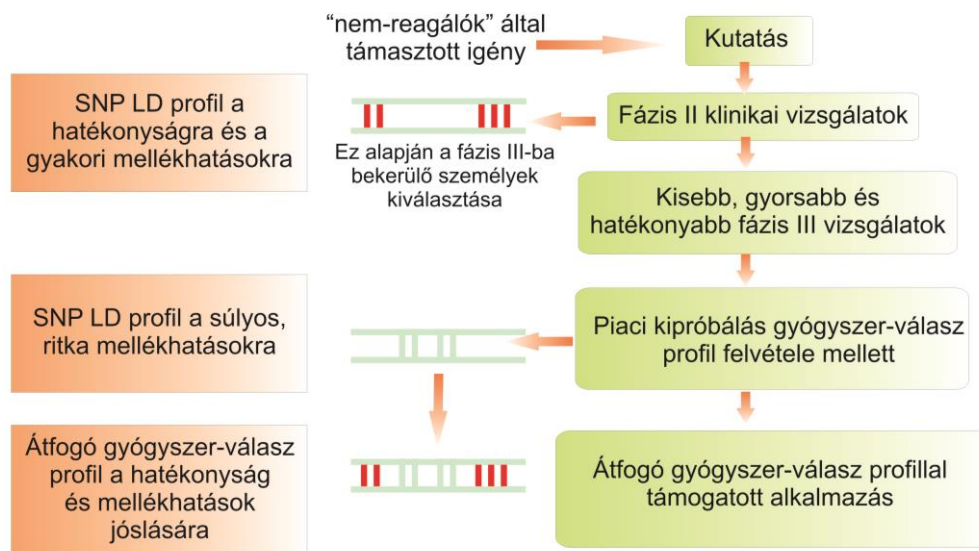
Bár egyre több farmakogenetikai információval rendelkezünk, ezek csak nehezen mennek át a gyakorlatba, még akkor is, ha az FDA által elfogadott információkról van szó. Egy retrospektív felmérésben, amelyben 53 ezer beteget, és 99, az FDA javaslatára farmakogenetikai információval ellátott gyógyszert vizsgáltak, kimutatták, hogy 300–600 súlyos mellékhatás lett volna elkerülhető, ha a javasolt farmakogenetikai tesztet elvégzik, és az eredménynek megfelelően járnak el.

A farmakogenomikának a fent említett két ága, a gyógyszerfejlesztés és a gyógyszerekre adott válaszok genetikai különbözőségének vizsgálata természetesen átfedésben van egymással. Ha már egy kifejlesztett gyógyszer átjut a toxikusságot vizsgáló I-es fázisú vizsgálatokon, a hatékonyságát vizsgálják a II-es fázisban. Mivel az emelkedő fázisú klinikai vizsgálatok emelkedő költségekkel járnak, azokat a szereket, amelyek csak a betegek egy kis hányadánál hatásosak, általában túl kockázatosnak találják, hogy tovább vizsgálják. Ha a farmakogenomika be tudná azonosítani azokat, akiknél a gyógyszer hatásos, a következő klinikai vizsgálatok célzottan ezekre irányulhatnának, így kisebbek és olcsóbbak lehetnek (13.1.A. ábra). Vagy a már forgalomban levő gyógyszereknél is ki lehetne választani azt az alpopulációt, akiknél a kezelés hatásos lesz. Érdekes és tanulságos példa erre az az eset, amikor az FDA visszautasította egy szívelégtelenség kezelésére kialakított kombináció engedélyezését (BiDil, NitroMed), mert a klinikai vizsgálatok nem igazolták statisztikailag a szer hatásosságát egy általános (etnikailag kevert) populációban. Amikor azonban a gyógyszert 1050, önmagát afrikai-amerikainak definiáló betegen próbálták ki, a randomizált klinikai vizsgálat olyan markánsan pozitív eredményt hozott, hogy a vizsgálatot etikai okok miatt 2004 júliusában meg kellett szakítani, mivel a place-

bocsoportban sokkal magasabb volt a mortalitás aránya, összehasonlítva a BiDil-lel kezelt csoporttal. 2005-ben ez lett az első engedélyezett „rasszspecifikus” gyógyszer. Mivel a rassz megállapítása egyrészt szubjektív, másrészt etikailag is problémás, az lenne az optimális megoldás, ha be tudnánk azonosítani azt a genomikai konstellációt, amelynél a gyógyszer hatásos, és így a felírás előtt egy genetikai teszttel el lehetne dönteni, hogy kinél érdemes a gyógyszert alkalmazni.



13.1.A. ábra. Az új gyógyszer klinikai vizsgálatának II-es fázisában elvégzett GWAS-sal meg lehet határozni azt az SNP-készletet, amely jelzi, hogy a gyógyszer kiben lehet hatásos. A későbbi fázisokban ennek az SNP-készletnek a segítségével ki lehet választani azokat az embereket, akiket érdemes bevonni vizsgálatokban, amivel nagyfokú megtakarítás érhető el, és a gyógyszer hatásosságának sikerét is növeli.



13.1.B. ábra. A fázis III–IV.-ben, amikor már tömegesen kezdik használni a gyógyszert, a ritka és súlyos mellékhatást mutató emberek teljes genom-SNP-szűrésével ki lehet választani a mellékhatással asszociáló SNP-készletet. A hatásossággal és a mellékhatással asszociáló SNP-k genotipizálásával későbbiekben ki lehet választani, akikre hatásos a gyógyszer és nem alakul ki bennük súlyos mellékhatás. Ezt az információt mellékelni lehet a gyógyszer-tájékoztatóhoz.

Az utóbbi időben is számos példa volt arra, hogy egy, már engedélyezett gyógyszer kivontak a forgalomból, mivel egyeseknél súlyos, sokszor halálos mellékhatásokat okozott. Ezekért a mellékhatásokért sokszor genetikai okok tehetőek felelőssé. Ezek a visszavonások mellett, hogy a gyógyszergyáraknak okoznak sokszor több milliárd dolláros kárt, a betegek egy részét is megfoszthatják egy esetleg a forgalomban maradóknál jobb gyógyszertől. Ha a súlyos mellékhatásokért felelős genetikai variációkat sikerülne beazonosítani, egy genetikai teszttel ki lehetne azokat szűrni, akiknél az egyes gyógyszerek nem kívánt mellékhatásokat okoznak (13.1.B. ábra). Egyes szakértők szerint a jövőben valóra válhatna az a még kissé futurisztikusnak tűnő kép, hogy mindenkiről egy genetikai polimorfizmus-adattár, vagy esetleg teljes genom szekvencia áll rendelkezésre, mondjuk a házi orvosnál, az beírja a komputerébe, hogy milyen hatású gyógyszert szeretne felírni az adott betegnek. Ezután egy szoftver megadja, hogy melyik konkrét gyógyszer vagy gyógyszerek a leghatásosabbak, vagy lesz a legkevesebb és legkevésbé veszélyes mellékhatásuk az adott genetikai mintázattal rendelkező betegnél.

13.2. Gyógyszermellékhatások genomikai háttere

A farmakogenomikai kutatás egy fő kérdése, hogy milyen mechanizmussal okozzák a genetikai variációk a terápiára adott válaszok ilyen mértékű különbözőségét? A genetikai variációk három fő mechanizmussal befolyásolhatják a gyógyszerek hatását:

- (1) **Farmakokinetikus.** Genetikai variációk, melyek befolyásolják a gyógyszer metabolizmusát. Ide tartoznak a farmakonok felszívódásáért, lebontásáért, átalakításáért, transzportjáért, kiválasztásáért felelős enzimek, vagy egyéb fehérjék genetikai variációi.
- (2) **Idiosyncrasiás.** Variációk, melyek olyan génekben vannak, melyek fehérjetermékeire hat a gyógyszer, bár ezek a fehérjék nem a terápiás útvonalon vannak. Feltételezések szerint ilyen mechanizmus okozza az olyan mellékhatásokat, mint például a glucocorticoidok esetében tapasztalt glaukóma, katarakta vagy a csontritkulás mértéke. Eddig itt van a legkevesebb farmakogenetikai eredmény.
- (3) **Farmakodinamikus.** Genetikai variációk, melyek a gyógyszerek célmolekulájában, vagy a hozzátartozó anyagcsereúton vannak.

13.3. Farmakogenomikai kutatások nehézségei

Felmerülhet az a kérdés, hogy a farmakogenomika fent leírt jelentősége, a gyógyszergyárak nyilvánvaló érdekeltsége és az eddig befektetett hatalmas pénzüsszegek ellenére miért van ilyen kevés értékelhető eredmény. Ennek az egyik magyarázata, hogy csak az elmúlt néhány évben keletkeztek azok az ismeretek (nagy átteresztőképességű genomikai módszerek, nagy, és jól definiált biobankok, elméleti, bioinformatikai és technikai háttér stb.), melyek nélkülözhetetlenek az ilyen típusú vizsgálatok elvégzéséhez, és értékeléséhez. Viszont a gyógyszerfejlesztés ideje kb. 10–15 év. Nehezítő tényezők például a nem-genetikai tényezők zavaró hatásából is adódnak. Hiszen lehet, hogy két egyforma mellékhatást mutató beteg közül az egyik valamilyen nem-genetikai, a másik pedig genetikai okok miatt reagál nem megfelelően (**fenokópia** jelensége). Ez például statisztikai szempontból rendkívül megnehezíti az értékelést.

További zavaró tényező lehet a **gén-gén kölcsönhatás**, amikor egyszerre előforduló genetikai variációk befolyásolják egymás hatását. Ezek előfordulhatnak ugyanabban, vagy különböző génekben is. Például, asztmakezelésben, ha egy beteg a β -adrenerg receptorában olyan polimorfizmust hordoz, amelyik gyengébb β -agonista választ okoz, de ugyanakkor egy másik génjében (pl. a *corticotropin releasing hormon receptor 1* (CRHR1)) egy terápiásan hasznos polimorfizmus található, akkor szemben a csak az egyik polimorfizmust hordozóval, intermedier választ fog adni nyújtott hatású β -agonista és inhalációs kortikoszteroidos kombinált kezelésre (ld. később). Így **egy polimorfizmus hatását elfedheti, vagy felerősítheti egy, vagy több másik polimorfizmus**. Ezek a kölcsönhatások mind egyénekenként, mind populációnként különbözhetnek. Például a β_2 -adrenerg receptor egyik, későbbiekben részletesen ismertetett polimorfizmusa (16 Arg/Arg) egy korábbi vizsgálatban befolyásolta a terápiás választ Puerto Ricó-iakban, de nem mexikóiakban.

A farmakogenomika még csak mostanában kezd beszivárogni a rutinvizsgálatokba. Itt is igaz az, hogy a genomikai módszerek fejlődésével és az óriási, jó minőségű biobankok fejlesztésével csak az elmúlt években jött el annak a lehetősége, hogy a mindennapokban is használható farmakogenomikai eredményeket kapjunk. Az FDA honlapján megtalálható azoknak a gyógyszereknek a listája, amelyeknél olyan genetikai tesztek állnak rendelkezésre, amelyek validáltak, és amelyeknél a genetikai információk szerepelhetnek a gyógyszer-kísérőben [3].

2012 novemberében az oldalon található táblázatban 118 tétel volt látható. A legtöbb itt található tétel az onkológiai (32 darab) és pszichiátriai (30 darab) betegségeket érinti. A kardiovaszkuláris betegségekre használt gyógyszerekre 8 db bejegyzés. A gének közül magasan a **legtöbbször a CYP géncsalád fordul elő**, az esetek több mint a felében, összesen 60-szor valamilyen CYP gén variációi szerepelnek. Ez azt mutatja, hogy a farmakokinetikus mechanizmusok, azaz a gyógyszerek metabolizmusára vonatkozó kutatásokból származik a legtöbb hasznosítható eredmény. **A konkrét gének közül kiemelkedik a CYP2D6**, amely 37-szer, illetve a **CYP2C19**, amely 14-szer fordul elő. Ez azt jelenti, hogy ezek a gének nagyon sok gyógyszer metabolizmusában vesznek részt, és klinikailag is jelentős, gyakori polimorfizmusokkal rendelkeznek.

Az alábbiakban, az FDA-s táblázatban található konkrét példák közül csak néhányat ismertetünk, illetve mutatunk be erre irányuló, de a táblázatban még nem szereplő kutatásokat. A betegségek közül példaként kiemeljük az aterószklerózist és az asztmát, amelyeket részletesebben is leírunk és megbeszélünk néhány farmakogenetikai kutatást.

Meg kell még jegyezni, hogy bár a genomikai módszerek fejlődésével az eredmények közül egyre több származik ezeknek a módszereknek a segítségével, az eredmények túlnyomó többsége mégis inkább genetikai jellegű, azaz egy-egy génvariációnak a befolyását írják le valamilyen gyógyszerre. Ennek ellenére ezeket az eredményeket sokszor farmakogenomikainak írják le, azaz a farmakogenetika és a farmakogenomika kifejezéseket egymás szinonimájaként használják. Bár itt azt is hozzá kell tenni, hogy egyes definíciókban az **új hatóanyagok felfedezésére irányuló kutatásokat farmakogenomikának**, míg a **genetikai variációk hatását** a gyógyszerek hatásosságára és a mellékhatásokra **farmakogenetikának** hívják. Azonban ebben a fejezetben, bár fenntartva a [8. fejezetben](#) tárgyalt különbséget, mi **szinonimaként** használjuk a két fogalmat.

13.4. Farmakokinetikát befolyásoló gének, génvariációk

Becslések szerint a piacon levő gyógyszerek 20%-ának hatását befolyásolja a gyógyszert lebontó enzim polimorfizmusa. Ha az enzim génjében olyan polimorfizmus van, amely fokozza az enzim aktivitását (**gyors metabolizmus**), akkor a gyógyszer túl gyorsan kiürül, és nem éri el a hatásos szintet. Ellenkező hatású variációk esetén (**lassú metabolizmus**) gyógyszer felhalmozódhat, a megfelelő hatáshoz kisebb dózis is elég lehet, de fokozódhatnak a mellékhatások is.

Nézzünk néhány példát a gyógyszerek lebontását végző enzimek hibájára, és az ebből adódó problémákra.

A **succinylcholin** (suxamethonium chloride, suxamethonium) izomrelaxáns, a kolinészterázok bontják le. Használják például altatáskor kiegészítő izomrelaxánsként. Minden 2500. emberben a **butirilkinolinészteráz (vagy pszeudokolinészteráz, génje a BCHE)** mindkét génje mutált, és ezért a homozigóták nagyon lassan tudják lebontani a succinylcholint, ami miatt a szer hatására a betegeknél súlyos mellékhatások jelentkeznek: hosszú izombénulás, apnoe (átmeneti légzésmegállás).

A **mercaptapurine**-t pl. leukémiás, rákos gyermekek kezelésére használják. Lebontóenzimje a tiopurin metiltranszferáz (génje a **TPMT**), melyben 3 SNP-t találtak. Bármelyik is van, az enzim lassabban működik, így a lebontás is lassabb. Mellékhatásként életveszélyes csontvelő-károsodást lehet megfigyelni.

A **multidrog-rezisztencia-1 (MDR-1)** fehérje génje az ABC-transzporter családba tartozik, neve **ABCB1**. A vesetubulusokban és a hepatocyták canalicularis membránjában levők a **drogok szervezetből való kiürítését végzik**. Az ABCB1 gén C3435T polimorfizmusában a T allél a gén csökkent expresszióját okozza. Ezért a TT genotípusúakban, pl. metotrexát kezelésnél akut limfoblasztos leukémiában (ALL) emelkedik a mellékhatások gyakorisága [4, 5].

Ugyanebbe a géncsaládba tartozik az **ABCC1**, más néven **MRP1 (multidrug resistance-associated protein 1)**, ami az antraciklinek egyik **legfontosabb, kifelé irányuló transzportere** a szívben. Az antraciklinek a rák-kemoterápia egyik leghatékonyabb szereje (pl. doxorubicin). Egyik legfontosabb mellékhatása a kardiotoxicitás, melynek hatása sokszor évtizedekkel a kezelés után jelentkezik. Az ABCC1 polimorfizmusai befolyásolják működését és az **antraciklinek korai és késői mellékhatásait** [6].

Az egyik legfontosabb gyógyszer-metabolizáló enzimrendszer a **cytochrom P-450 (CYP)** család, mely a májban termelődik, összesen 57 gén tartozik ide, és fő hatása az idegen anyagok oxidálása. A géncsalád néhány tagja igen polimorf, és becslések szerint a génekben található **variációk a súlyos gyógyszer mellékhatások 80%-áért felelősek**.

Néhány ismertebb, polimorf CYP gén:

- **CYP3A4, CYP3A5:** a gyógyszerek 50%-nak a metabolizmusáért felelősek.
- **CYP2D6:** a gyógyszerek negyedének metabolizmusáért felelős.
- **CYP2C9:** 5%-ért felelős.
- **CYP2C19:** sok fontos gyógyszer metabolizmusáért felelős (pl. Clopidogrel, ld. később).

Lássunk néhány jól ismert példát, ahol a CYP-ek polimorfizmusai komoly mellékhatásokat okozhatnak:

Warfarin: az egyik leghíresebb körben használt véralvadásgátló, tromboembólia megelőzésére. A terápia elkezdése a legnagyobb arányú mellékhatással, és sürgősségi ellátással társul. Az USA-ban évente több mint 2 millióan kezdenek warfarin-terápiába, közülük 20% az első 6 hónapon belül kórházi ellátást igényel. A farmakogenomikai teszt bevezetésével ez 30%-kal csökkenthető. A **CYP2C9** vad allél (CYP2C9*1) homozigóták jól bontják a warfarint. A génnek van két gyakori allélvariánsa. A CYP2C9*2 és CYP2C9*3, amelyek a gén 3-as, illetve 7 exonjában egy pontmutációt hordoznak, lassabban bontanak. Leglassabban a CYP2C9*3 homozigóták, akik 90%-kal lassabban metabolizálnak. A CYP2C9*2 homozigóták metabolizációs rátája kb. 60%-os a vad homozigótáknak. Az európai eredetű populációban a 2-es allél hordozásának gyakorisága 8%, a 3-as allélé 6%. A lassú lebontóknál súlyos, életveszélyes vérzés alakulhat ki [7].

A **kodein:** fájdalom- és köhögéscsillapító. A **CYP2D6** alakítja át hatékony morfinná. Az emberek 10%-ában van egy polimorfizmus, ami miatt nem alakul át, így hatástalan. Egy esettanulmányban beszámoltak egy újszülött haláláról, akinek az anyja kodeint szedett szoptatás alatt. Kiderült, hogy mind az anya, mind a gyermek a CYP2D6 olyan variánsával rendelkezett, ami a kodein ultragyors metabolizmusához, így gyors morfiumpéldőződéshez vezetett. Így az újszülöttben toxikus mértékben szaporodott fel a morfium [8].

A CYP gének polimorfizmusainak fontos befolyásoló szerepük van több rákellenes, illetve pszichére ható gyógyszerek metabolizmusára. A CYP-eknek fontos szerepük van az ateroszklerózissal kapcsolatos gyógyszerek metabolizmusára is, amelyeket külön, ott tárgyalunk.

A CYP polimorfizmusok jelentőségét a farmakoterápiában mutatja, hogy több cég is gyárt már **CYP SNP-elemző chippet**, és néhány nyugati kórházban már elkezdtek őket használni.

13.5. Farmakodinamikát befolyásoló gének, génvariációk

A warfarinhoz kapcsolódik farmakodinamikát befolyásoló polimorfizmus is [7]. A warfarin célpontja a **VKOR** (vitamin K 2,3-epoxide reductase), amelyet gátol. A **VKORC1** (-1639G>A) polimorfizmusra heterozigóták 25%-kal, az AA homozigóták 50%-kal kevesebb warfarint igényelnek. Metaanalízis alapján az egyének közötti dóziskülönbségek 12%-áért a CYP2C9, 25%-áért a VKOR gén polimorfizmusai a felelősek. Az FDA a két gén variációinak célzott tesztelését warfarin farmakogenetikai tesztként engedélyezte. A warfarin dózisát más gének polimorfizmusai is befolyásolják (pl. CYP4F2 és GGCX), de itt az eredmények egyelőre limitáltak. Jelenleg nagy, prospektív farmakogenomikai klinikai vizsgálatok vannak folyamatban a warfarin személyre szabott optimális dózisának beállításához. Mindenesetre az már most is látszik, hogy a warfarin dózisát több gén is befolyásolja, így ha a teljes (vagy közel teljes) farmakogenomikai hátteret azonosítják, akkor már döntéstámogató rendszer és szoftver segítsége kellhet az optimális dózis beállításához.

13.6. Példák farmakogenetikai vizsgálatokra, eredményekre

13.6.1. Statinok farmakogenetikája

A statinok a fibrátok mellett a legnépszerűbb anti-ateroszklerotikus szerek. Fő hatásuk, hogy a koleszterinszintézis kulcsenzimjét (**HMG-CoA reduktázt**) gátolják. Az elmúlt évek vizsgálatai alapján, azonban számos más pozitív hatásuk is van, és más betegségekben is kimutatták, hogy javíthatják a betegség tüneteit, késleltethetik kialakulásukat (pl. Alzheimer-kór, időskori kognitív betegségek stb.). A világon az egyik leggyakrabban felírt gyógyszer-család, ráadásul, ha valaki elkezdi, akkor élethosszig folytatni kell szedését, így bár ritkán okoz mellékhatást, a nagy érintett populáció miatt ennek mégis komoly jelentősége van. 2003-ra a Pfizer által forgalmazott Lipitor (atorvastatin) minden idők legjobb eladási statisztikáját mutatta [9]. Mellékhatásaik ritkák, de súlyosak és kiszámíthatatlanok lehetnek. Legfontosabb mellékhatása a miopátia, a rhabdomyolysis. A túl magas statinszint izomkárosodást okoz. Pl.: a Cerivastatint 1998-ban kivonták a forgalomból, mert többen meghaltak rhabdomyolysis (harántcsíkszövetpusztulás) következtében. Különböző okok miatt túl magas volt a statinszintjük. Az egyik esetvizsgálatban igazolták, hogy a CYP2C8 gén funkcióvesztéses mutációja miatt kórosan felhalmozódott a szervezetben a statin.

A statinok és a koleszterin metabolizmusában rengeteg gén vesz részt, melyek variációi befolyásolhatják a statinokra adott választ (13.2. ábra), és amelyek közül nagyon sokat tanulmányoztak farmakogenetikai szempontból [9, 10, 11]. Az eredmények közül néhányat ismertetünk.

A **CYP3A4** a lovastatin, a simvastatin és az atorvastatin metabolizmusában vesz részt, míg a **CYP2C9** a fluvastatint metabolizálja. A **CYP3A4** szintje 10-szeres különbséget mutathat különböző emberek között, ami genetikai variációkra utal. Az egyik vizsgálatban a -290A/G promóter polimorfizmus jelentősen befolyásolta az atorvastatin kezelés utáni LDL-C szinteket, míg az M445T variáns mind a kezelés előtti, mind a kezelés utáni LDL-C szintet befolyásolta. Egy másik vizsgálatban az I118V variáns felerősítette a simvastatin lipidcsökkentő hatását. A 6-os intronban található rs35599367, C>T polimorfizmust hordozóknak 0,2–0,6-szor kevesebb statindózis volt szükséges az optimális lipidszint fenntartásához.

A **CYP3A5**, melyet nem túl régen fedeztek fel, hozzájárul bizonyos statinok biotranszformációjához. Az 3-as intronban található 6986G/A polimorfizmus jelentősen befolyásolja a gén expresszióját. A gén a 6986A allélhordozókban expresszáldik mérhető módon. Az európai eredetű **populáció 10%-a mutat jelentős CYP3A5 expressziót**, és ezekben a lovastatin-, a simvastatin- és az atorvastatinkezelés jóval **kevésbé hatásos**, mint a nem-expresszáldókban.

A **CYP2D6**, amely a simvastatint metabolizálja, szintén polimorf. Az egyik vizsgálatban, azokban a betegekben, akik a CYP2D6 gén 1 vagy 2 mutáns allélját hordozták, csökkent metabolizmust és nagyobb LDL-C-csökkenést tapasztaltak, mint azokban, akik 2 vad allélt hordoztak.

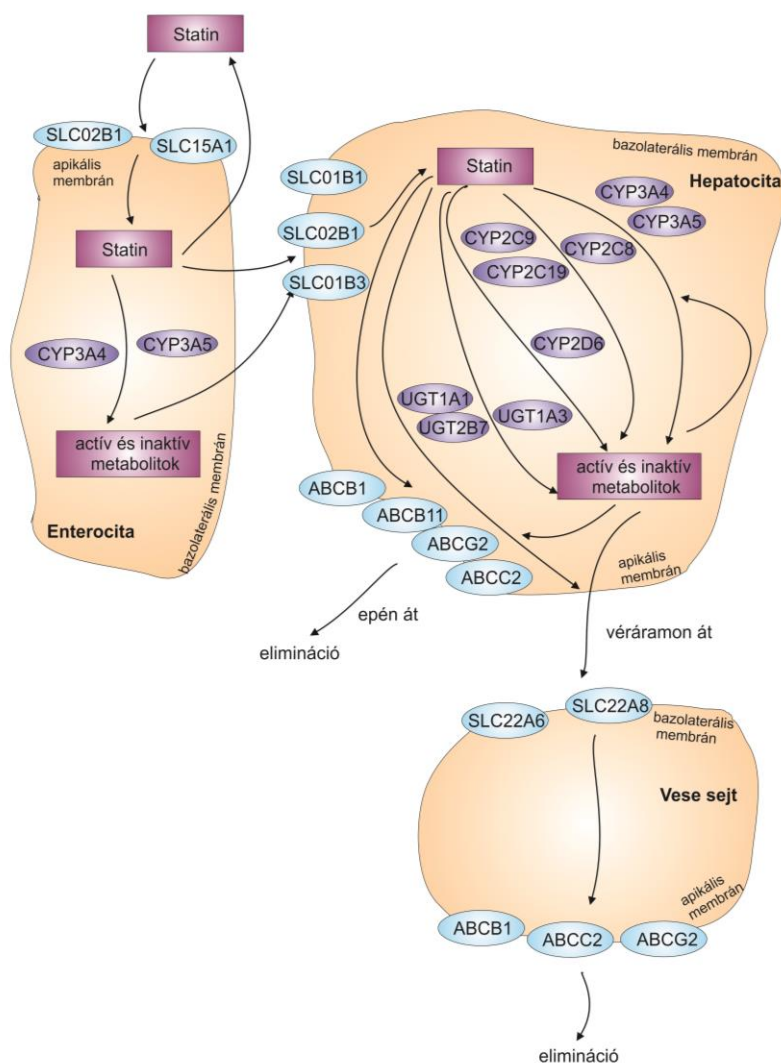
A **multidrog-rezisztencia-1 (MDR1, ABCB1)** transzporter nagyban befolyásolja a statinok transzportját, lokalizációját. Atorvastatinkezelés hatására az ABCB1 C3435T polimorfizmus C allélja független asszociációt mutatott kisebb mértékű LDL-C-csökkenéssel (35% vs. 40%) és nagyobb mértékű HDL-C-növekedéssel (12% vs. 7%) nőkben. Egy másik vizsgálat azonban nem talált ilyen összefüggést.

A statinok célmolekulájának a HMG-CoA reduktáz génjében (**HMGCR**) is találtak két SNP-t, amelyek hordozóiban csökkent a statinokra való válasz.

AZ LDL-receptor (**LDLR**) szintén komoly farmakogenetikai kandidáns, hiszen közvetlenül befolyásolja a statin-mediált LDL-csökkenés hatását. Ráadásul mutációja familiáris hiperkoleszterémiát (FH) okoz. Az FH-betegek attól függően reagálnak statinra, hogy milyen mutációt hordoznak. A funkcióvesztéses mutációt hordozók jobban reagálnak, mint a nulla mutációt hordozók.

A statinok farmakogenomikai vizsgálatában már **GWAS**-t is végeztek. Az „*Additional Reductions in Cholesterol and Homocysteine*” (**SEARCH**) elnevezésű GWAS-ban egy SNP a **SLC01B1** génben (SLC01B1*5 variáns) statin indukálta miopátiával asszociált kardiológiai betegekben, akik simvastatint (Zocor) kaptak. A gén befolyásolja a farmakon májfelvételét, és a szérum koncentrációját.

A statinokkal kapcsolatos farmakogenetikai, farmakogenomikai eredmények egyelőre erősen ellentmondásosak, így jelenleg klinikumban rutinszerűen nem ajánlott tesztként való használatuk.



13.2. ábra. Jelölt gének statinok farmakokinetikájában. A statinok szájon át jutnak be a szervezetbe, és az enterocitákon keresztül aktív és passzív transzporttal kerülnek be a keringésbe. A statinok metabolizmusának fő szerve a máj, és részben a vese. Az aktív transzportban az SLC és ABC géncsalád tagjai vesznek részt. A metabolizmus fő résztvevői a CYP és az UGT szupercsaládokba tartozó gének ([10] alapján).

13.6.1.1. Clopidogrel

A gyógyszert aterószklerózisban trombus-képződés megelőzésére használják, gátolja a P2Y₁₂-t, ami egy ADP kemoreceptor. Évente a világon kb. 40 millióan szedik [13]. A clopidogrel-t a szervezetnek át kell alakítani, hogy **biológiailag aktív metabolit képződjön**. Ezt a **CYP2C19** végzi, melynek funkcióvesztéses mutációjával rendelkezőkben gyakoribbak a kardiovaszkuláris komplikációk. A fehérpopuláció 3-4% homozigóta, 24%-a heterozigóta a gén inaktív változatára [10, 11].

GWAS-t végeztek amish populációban, amelyben egy SNP-t azonosítottak a **CYP2C19** génben, ami csökkent clopidogrel válasszal asszociált, és a gyógyszerválasz-variációk 12%-áért volt felelős. A hagyományos faktorok (BMI, életkor, koleszterinszint) a variációk csak >10%-áért voltak felelősek. Ezt később más vizsgálatokban is megerősítették, sőt egy 12 éves nyomon követéses vizsgálatban a **CYP2C19** státusz volt az egyetlen független kockázati tényező, amikor kardiovaszkuláris halált, nem-fatális MI-t, vagy koronária revaszkularizációt használtak végpontként. Egy másik vizsgálatban a **CYP2C19** mellett még a gyógyszer felszívódásában szerepet játszó **ABCB1** gén két variáns alléljának hordozói mutattak emelkedett mellékhatás-kockázatot.

A **CYP2C19**-nek van egy ultragyors metabolizmussal asszociáló funkcionyeréses allél-variánsa (**CYP2C19*17**), melynek hordozói az átlagosnál jobban reagáltak a gyógyszerre.

Jelenleg az FDA azt ajánlja, hogy a clopidogrelre rosszul reagálóknál alternatív terápiát kell alkalmazni, és 2010 márciusában a gyógyszertájékoztatóba is bekerült a **CYP2C19** genotípusokkal kapcsolatos figyelmeztetés.

13.6.2. Az asztma farmakoterápiája

Az asztma terápiájában jelenleg főleg négyféle gyógyszert használnak: β 2 adrenerg agonisták (β -agonisták), melyek relaxálják a bronchusok simaizomzatát, glükokortikoszteroidok, melyek gyulladáscsökkentő hatásúak, a teophyllin és származékainak fő hatása a gyulladás gátlása és a bronchusok simaizomzatának ellazítása, és a leukotrién-módosítók, melyek gyulladáscsökkentők és bronchodilatátorok. Bronchustágítóként használnak még antikolinerg szereket is, bár ezek kevésbé elterjedtek, mint a β -agonisták. Az antihisztaminoknak jó hatásuk lehet az egyidejűleg asztmában is szenvedő rhinitises betegek alsó légúti tüneteire is. A cromolyn és nedocromil gátolják a gyulladás mediátorainak felszabadulását.

Ezen **gyógyszerek hatékonysága korlátozott**, részben az egyes emberek közötti nagyfokú genetikai különbségek miatt. Itt kell azonban megjegyezni, hogy természetesen **a genetikai faktorok mellett más tényezők is befolyásolják a gyógyszerekre adott választ**. Így például más, **egy időben szedett gyógyszerek, táplálkozás, környezeti tényezők** (asztmásoknál például fontos zavaró tényező lehet a beteg dohányzása, a levegő szennyezettsége vagy allergéntartalma), **a betegség típusa** (pl. allergiás, vagy nem-allergiás asztma), **súlyossága, más betegségek**, vagy olyan faktorok, mint a **beteg életkora, neme, tápláltsága** (az obezitás, vagy az alultápláltság például zavaró tényező lehet), vagy a **máj- és a vesefunkciók**. Mindezek mellett a kezelésre adott válaszban az örökölt genetikai tényezők szerepe a legmeghatározóbb. Így például, egy tanulmány szerint a glükokortikoidokra, a β -agonistákra és a leukotriéngátlókra adott válaszokat 60–80%-ban határozták meg az örökölt tényezők.

Az alábbiakban a β -agonisták farmakogenetikai vizsgálataira mutatunk be példákat.

13.6.3. β -agonisták farmakogenetikája

A β -agonisták egy G fehérjéhez kapcsolt receptoron (β_2 -adrenoceptor [β_2 -AR; **ADRB2**]) keresztül hatnak, melynek génje a citokin géncsoport mellett helyezkedik el az 5-ös kromoszóma hosszú karján, q32-es pozícióban. A receptoron fiziológiásan az endogén katekolaminok hatnak, ellazítva a bronchusok simaizmát, szabályozva a légutak kaliberét. Mivel a β -agonisták hatásmechanizmusa régóta ismert, farmakogenomikai szempontból, az ADRB2 az egyik legjobban és legalaposabban tanulmányozott gén. Az intron nélküli génben és a gén 5' részénél, a fehérjét kódoló rész előtt található szabályozórégióban eddig összesen 13 polimorfizmust találtak, melyek egyforma gyakorisággal fordultak elő asztmásokban és egészségesekben, így feltehetőleg az asztmára való hajlamban egyik sem játszik számottevő szerepet [15, 16]. A vizsgálatok alapján funkcionálisan és farmakológiai szempontból két nagy gyakoriságú, kapcsoltan öröklődő polimorfizmusnak van nagy jelentősége. Ezek a fehérje 16-os pozíciójában Arg/Gly és a 27-os pozíciójában Gln/Glu aminosavcserékhez vezető génvariánsok. Kaukázusi, vagyis európai eredetű populációban az allélgyakoriságuk >15%. A kapcsoltan öröklődés azt jelenti, hogy ha a 16-os pozícióban Arg található, akkor nagy valószínűséggel a 27-es pozícióban Glu, és ha a 16-os pozícióban Gly, akkor a 27-es pozícióban Gln aminosav van. *In vitro* vizsgálatok alapján a Gly-16 receptornál agonista hatására erőteljesebb számbeli csökkenés tapasztalható, mint az Arg-16 receptorvariánsnál. A 27-es variánsok befolyásolják, de nem szüntetik meg a 16-os variánsok hatását. Bár a variánsok nem befolyásolják az asztmára való hajlamot, egyes vizsgálatok alapján betegségmódosító hatásuk lehet. Így egyes vizsgálatokban a Gly16 génváltozat az asztmásokon belül gyakrabban fordult elő súlyosabb asztmásokban. Szintén gyakrabban fordult elő a polimorfizmus az éjszakai tüneteket mutató, valamint szteroidfüggő asztmásokban [17, 18].

A farmakogenomikai vizsgálatok nehézségeit mutatják, hogy a kezdeti tanulmányok általában negatívak, vagy a kisszámú résztvevő miatt csak korlátozott értelmezhetőségűek voltak. Az első nagy volumenű, sokközpontú, placebokontrollált, két-vakos vizsgálat 16 hétig tartott és 255 enyhe asztmás vett rész benne, akik random módon vagy 2 adag (2 permetnyi) salbutamolt (az amerikai szakirodalomban albuterol) kaptak naponta 4x, vagy csak szükség szerint kapták a gyógyszert. Az első analízis alapján a délelőtti és a délutáni csúcsáramlásuk (*peak expiratory flow* = PEF) átlagértékében a két csoport nem különbözött egymástól annak ellenére, hogy átlagosan napi 6 adagnyi belélegzett salbutamol-mennyiségben különböztek egymástól. Ebből arra következtettek, hogy a rendszeres salbutamol-használat nem asszociál erősebben nem kívánatos mellékhatással, mint a csak szükség szerinti adagolás. Azonban amikor a résztvevők közül 190-et a 16-os és 27-es polimorfizmusaik alapján genotípus szerint osztályozták, azt tapasztalták, hogy a 16-os pozícióban Arg/Arg homozigótáknak, akik rendszeresen kaptak salbutamolt, hosszú távon csökkent a reggeli PEF-értékük. A 4 hetes időszak végén, amikor minden beteg csak szükség szerint kapott salbutamolt, azoknak az Arg/Arg genotípusú betegeknek, akik a 16 hetes periódus alatt rendszeresen kaptak salbutamolt, a reggeli PEF-értékük $30,5 \pm 12,1$ l/perccel volt átlagosan alacsonyabb, mint azoknak az Arg/Arg genotípusúaknak, akik a teljes vizsgálat alatt csak szükség szerint használták a gyógyszert. A különbség az Arg/Arg rendszeres salbutamol-használók és a Gly/Gly rendszeres használók között körülbelül 20 l/perc volt [19], [20].

Ligett javasolt egy magyarázatot, amelyik szintetizálja az *in vitro* eredményeket a klinikai vizsgálatok eredményeivel, egy úgynevezett **receptorkinetikai dinamikus modellben** [20]. Eszerint a Gly/Gly homozigótáknál már az endogén katekolaminok csökkentik a β_2 -AR receptorszámot. Így a rendszeres exogén β -agonista receptorszám csök-

centő hatása sokkal nyilvánvalóbb az Arg/Arg homozigótákban, akiknél a kezelés előtti receptorszám valószínűleg magasabb. E modell alapján β -agonista kezelést korábban nem kapott betegek közül az salbutamol kezdeti hatása kisebb kell, hogy legyen a Gly/Gly homozigótáknál, hiszen nekik eleve csökkent receptorszámuk van, az Arg/Arg homozigótákkal összehasonlítva.

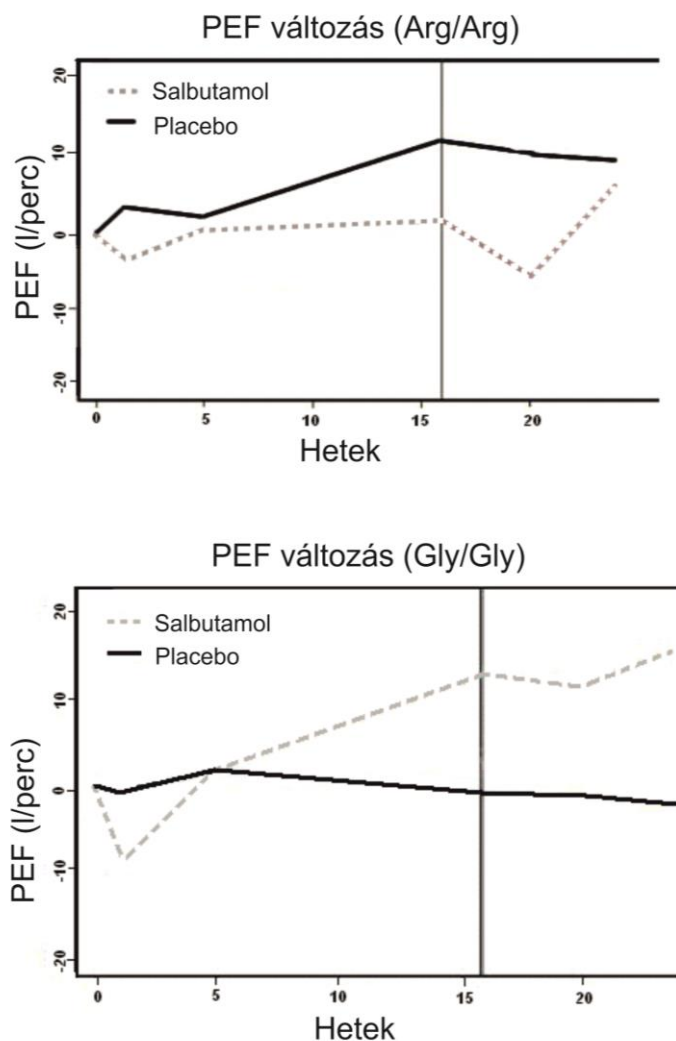
Ezt az elméletet igazolta Martinez és mtsai. eredménye, amely szerint egyszeri dózisú salbutamolnak mind 191 egészséges, mind 78 asztmás tüneteket mutató, β -agonista-kezelést korábban nem kapott gyermek közül az Arg/Arg homozigóta csoport mutatta a legerőteljesebb bronchodilatációs választ [17]. Ha a csoportokat összehasonlították, az Arg homozigóta gyerekek 5,3-szer nagyobb valószínűséggel adtak pozitív bronchodilatációs választ, mint a Gly/Gly-16 homozigóták.

Az eredmények ismeretében ezután a kutatók arra voltak kíváncsiak, hogy a rendszeres salbutamol-használatnak vannak-e genotípustól függő nem-kívánatos hatásai [21]. Ebben a kísérletben 36 Arg/Arg és 36 Gly/Gly genotípusú 18–55 év közötti felnőtt vett részt. Itt olyan asztmás betegek vehettek részt a vizsgálatban, akiknek a betegségüket egyedül bronchodilatátoros kezeléssel, kontroll alatt lehetett tartani. A betegek 6 hetes bevezető, „run-in” periódus során napi 4x2 permetnyi placebót adagoltak maguknak. Ezután 16 héten keresztül salbutamolt (90 μ g/permet), vagy placebót kellett adagolni maguknak 4x2 permet mennyiségben, duplavakos módon. A végén 8 hetes kifizetési időszak zárta a vizsgálatot, amikor mindenki csak placebót kapott. Vészhelyzet esetén minden résztvevő a teljes kísérlet alatt ipratropium bromide-t adhatott magának.

Az eredmények alapján a Gly/Gly-16 genotípusúaknak, akik rendszeresen salbutamolt kaptak a 16 hetes periódus után, szignifikánsan javult a reggeli PEF-értékük a placebo-csoportéhoz képest (14 l/perc). Az Arg/Arg-16 genotípusúaknak ezzel szemben nem változott a reggeli PEF-értéke rendszeres salbutamol-használat során, míg a placebo-használat során szignifikánsan javultak az értékeik. Sőt a 8 hetes placebo kifizetési idő alatt, az addig salbutamolt kapott csoport reggeli PEF-értékei is szignifikánsan javultak. A 16 hetes periódus végén a salbutamolt kapott Gly/Gly genotípusúaknak 24 l/perccel volt jobb átlagosan a reggeli PEF-értékük, mint a hasonló kezelésben részesült Arg/Arg-16 genotípusúaknak (13.3. ábra). Az asztmás rohamok gyakoriságában nem volt különbség a csoportok között.

A vizsgálatot végző kutatók az eredményekből azt a következtetést vonták le, hogy az Arg/Arg homozigótáknál a rendszeres salbutamol-használat helyett más kezelést kellene megfontolni, például ipratropium bromide-t szükség szerinti alapon. Az eredmények arra is rámutatnak, hogy a kezelték egy jelentős hányadánál (az USA-ban minden hatodik asztmás Arg/Arg-16 homozigóta, feltehetőleg Magyarországon is e körül lehet ennek a genotípusnak a gyakorisága) a rendszeres salbutamol-kezelés nemkívánatos hatásokkal is járhat, ami genotipizálással és alternatív kezeléssel elkerülhető lehet.

Az előzőekben tárgyalt rövid hatású β -agonistákat nem rendszeresen, hanem szükség szerint kell alkalmazni. Amikor a fenti vizsgálatokat elvégezték, hosszú hatású β -agonistákkal (formoterol, salmeterol) a nagyobb, így megbízhatóbbnak tartott vizsgálatokban nem kaptak összefüggést az ADRB2 gén polimorfizmusai és a terápiára adott válasz között.



13.3. ábra. Rendszeres salbutamol-kezelés hatása a reggeli PEF-értékre különböző $\beta 2$ -AR (ADRB2) genotípusú asztmásokban. A betegek 16 hétig rendszeresen (4x2 adag) salbutamolt, vagy placebót kaptak. Ezután mindenki 8 héten keresztül csak placebót kapott (kimosási periódus). A betegeket az ADRB2 gén 16-os pozíciójában található Gly/Arg polimorfizmus alapján csoportosították.

A. Az Arg/Arg-16 genotípusúaknak nem változott a reggeli PEF-értéke rendszeres salbutamol-használat során, míg a placebohasználat során szignifikánsan javultak az értékeik. A 8 hetes placebo kimosási periódus végére, az addig salbutamolt kapott csoport reggeli PEF-értékei szignifikánsan javultak.

B. A Gly/Gly-16 genotípusúaknak, akik rendszeresen salbutamolt kaptak, a 16 hetes periódus után szignifikánsan javult a reggeli PEF-értékük a placebo-csoportéhoz képest [21]

13.7. A farmakogenomika jövője

A 13.2. ábrán látható, hogy az egyes gyógyszerek hatását milyen sokrétű, sokszereplős kölcsönhatások befolyásolják. Ebből nyilvánvaló, hogy megjósolni, hogy a genom variációinak eredőjeként az egyén hogyan fog reagálni egy gyógyszerre, egyrészt genomikai, nagy áteresztő képességű módszerek szükségesek, másrészt az eredő megbecsléséhez hálózatelemzés, illetve rendszerbiológiai eszközök. A megbízható eredmények össze-

gyűjtésében, illetve a rendszerbiológiai módszerek fejlesztésében még csak az elején vagyunk, így nem meglepő, hogy a gyógyszerek túlnyomó többségénél nem áll rendelkezésre megbízható farmakogenomikai teszt, illetve döntéstámogatás. Azonban napjainkban számos nagy nemzetközi konzorcium alakult, mely ezeknek a vizsgálatát tűzte ki célul, így várhatóan a jövőben ebben a témában is nagy előrelépések várhatók.

Kérdés az, hogy meg fog-e valaha valósulni a személyre szabott terápia, amikor akár a háziorvos is, a beteg genomikai adatai, tünetei és egy döntéstámogató rendszer segítségével el tudja dönteni, hogy pl. milyen vérnyomáscsökkentő a legoptimálisabb a beteg számára? Nyilvánvaló, egy ilyen rendszer kiépítése lenne a cél. Az, hogy ez meg fog-e valósulni, jelenleg kérdéses. A genomikai forradalom kezdetén, a 90-es években még azt jósolták, hogy néhány éven belül teljesülni fog ez a cél. Jelenleg, 2012-ben azonban csak nagyon kevéssel léptünk előre. A klinikailag is használható eredmények száma rendkívül alacsony, és főleg az itt nem tárgyalt rák terápiájában állnak rendelkezésre. Igazából csak az erős hatású mutációk használhatóak, a jóval gyakoribb polimorfizmusok befolyása jelenleg klinikai szempontból értékelhetetlen. Mindenesetre abban biztosak lehetünk, hogy a közelmúlt genomikai és bioinformatikai eredményei, illetve a biobankok növekvő száma felgyorsítják a farmakogenomikai eredményeket is, és gyarapodni fognak a klinikumban is használható tesztek, illetve a jelenleginél megbízhatóbb döntéstámogató rendszerek állnak majd rendelkezésre. Hogy ez mennyire formálja át a jövő orvoslását, azt jelenleg nem lehet megmondani.

13.8. Irodalom

1. <http://www.fda.gov/>
2. <http://www.fda.gov/downloads/AboutFDA/Transparency/Basics/UCM247465.pdf>
3. <http://www.fda.gov/Drugs/ScienceResearch/ResearchAreas/Pharmacogenetics/ucm083378.htm>.
4. Erdelyi DJ, Kamory E, Zalka A, Semsei AF, Csokay B, Andrikovics H, Tordai A, Borgulya G, Magyarosy E, Galantai I, Fekete G, Falus A, Szalai C, Kovacs GT. The role of ABC-transporter gene polymorphisms in chemotherapy induced immunosuppression, a retrospective study in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Cell Immunol.* 2006 Dec; 244(2):121–4.
5. Erdélyi DJ, Kámory E, Csókay B, Andrikovics H, Tordai A, Kiss C, Félné-Semsei Á, Janszky I, Zalka A, Fekete G, Falus A, Kovács GT, Szalai C. Synergistic interaction of ABCB1 and ABCG2 polymorphisms predicts the prevalence of toxic encephalopathy during anticancer chemotherapy. *Pharmacogenomics J.* 2008 8: 321–327.
6. Semsei AF, Erdelyi DJ, Ungvari I, Csagoly E, Hegyi MZ, Kiszél PS, Lautner-Csorba O, Szabolcs J, Masat P, Fekete G, Falus A, Szalai C, Kovacs GT. ABCC1 polymorphisms in anthracycline induced cardiotoxicity in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cell Biol Int.* 2011 Sep 20. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 21929509.
7. Tan GM, Wu E, Lam YY, Yan BP. Role of warfarin pharmacogenetic testing in clinical practice. *Pharmacogenomics.* 2010 Mar; 11(3):439–48.
8. Gasche Y, et al. Codeine intoxication associated with ultrarapid CYP2D6 metabolism. *N Engl J Med.* 2004 Dec 30; 351(27):2827–31.
9. <http://en.wikipedia.org/wiki/Statin>
10. Mangravite LM, Wilke RA, Zhang J, Krauss RM. Pharmacogenomics of statin response. *Curr Opin Mol Ther.* 2008 Dec; 10(6):555–61.

11. Mangravite LM, et al. Clinical implications of pharmacogenomics of statin treatment. *The Pharmacogenomics Journal* (2006) 6, 360–374.
12. <http://en.wikipedia.org/wiki/Clopidogrel>
13. Rosenson RS. A treasure of pharmacogenomic insights into postprandial lipoproteinemia and therapeutic responses to fibrate therapy: lessons from GOLDN. *Curr Atheroscler Rep*. 2009 May; 11(3):161–4.
14. Wojczynski MK, et al. Apolipoprotein B genetic variants modify the response to fenofibrate: a GOLDN study. *J Lipid Res*. 2010 Nov; 51(11):3316–23.
15. Liggett, S.B.: *Assay Drug Dev Technol*. Polymorphisms of adrenergic receptors: variations on a theme. 2003; 1: 317–326.
16. Liggett, S.B.: *Pharmacogenetics of beta-1- and beta-2-adrenergic receptors*. *Pharmacology*. 2000; 61:167–173.
17. Martinez, F.D., et al. Association between genetic polymorphisms of the beta2-adrenoceptor and response to albuterol in children with and without a history of wheezing. *J Clin Invest*. 1997, 100, 3184–3188.
18. McGraw, D.W., Forbes, S.L., Kramer, L.A., Liggett, S.B.: Polymorphisms of the 5' leader cistron of the human beta2-adrenergic receptor regulate receptor expression. *J Clin Invest*. 1998, 102, 1927–1932.
19. Israel, E., Drazen, J.M., Liggett, S.B, et al. Effect of polymorphism of the beta(2)-adrenergic receptor on response to regular use of albuterol in asthma. *Int Arch Allergy Immunol*. 2001, 124, 183–186.
20. Lazarus, S.C., et al. Long-acting beta2-agonist monotherapy vs continued therapy with inhaled corticosteroids in patients with persistent asthma: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2001, 285, 2583–2593.
21. Israel, E. et al. Use of regularly scheduled albuterols treatment in asthma: genotype-stratified, randomised, placebo-controlled cross-over trial. *Lancet*. 2004, 364, 1505–1512.
22. Drazen, J.M., et al. Treatment of asthma with drugs modifying the leukotriene pathway. *N Engl J Med*. 1999, 340, 197–206.
23. Drazen, J.M., et al.: Pharmacogenetic association between ALOX5 promoter genotype and the response to anti-asthma treatment. *Nat Genet*. 1999; 22, 168–170.
24. Sampson, A.P., et al. Variant LTC(4) synthase allele modifies cysteinyl leukotriene synthesis in eosinophils and predicts clinical response to zafirlukast. *Thorax*. 2000, 55, Suppl 2:S28–31.
25. Sanak M, et al. Enhanced expression of the leukotriene C(4) synthase due to overactive transcription of an allelic variant associated with aspirin-intolerant asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2000, 23, 290–296.
26. Sanak, M., et al. Leukotriene C4 synthase promoter polymorphism and risk of aspirin-induced asthma. *Lancet*. 1997, 350, 1599–1600.
27. Whelan, G.J., et al. Effect of montelukast on time-course of exhaled nitric oxide in asthma: influence of LTC4 synthase A(-444)C polymorphism. *Pediatr Pulmonol*. 2003, 36, 413–420.
28. Hawkins GA, et al. The glucocorticoid receptor heterocomplex gene STIP1 is associated with improved lung function in asthmatic subjects treated with inhaled corticosteroids. *J Allergy Clin Immunol*. 2009 Jun; 123(6):1376–83.e7.
29. Tantisira, K.G., et al. Molecular properties and pharmacogenetics of a polymorphism of adenylyl cyclase type 9 in asthma: interaction between beta-agonist and corticosteroid pathways. *Hum Mol Genet*. 2005; 14: 1671–1677.

30. Tantisira, K.G., et al. TBX21: a functional variant predicts improvement in asthma with the use of inhaled corticosteroids. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101:18099–18104.
31. Tantisira, K.G., et al. Molecular properties and pharmacogenetics of a polymorphism of adenylyl cyclase type 9 in asthma: interaction between beta-agonist and corticosteroid pathways. *Hum Mol Genet.* 2005, 14, 1671–1677.
32. Tantisira KG, et al. Genomewide association between GLCCI1 and response to glucocorticoid therapy in asthma. *N Engl J Med.* 2011 Sep 29; 365(13):1173–83.
33. Palmer, L.J., et al. Pharmacogenetics of asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002,15, 861–866.
34. Distefano JK, Watanabe RM. Pharmacogenetics of Anti-Diabetes Drugs. *Pharmaceuticals (Basel).* 2010 Aug 1; 3(8):2610–2646.
35. Konoshita T; Genomic Disease Outcome Consortium (G-DOC) Study Investigators. Do genetic variants of the Renin-Angiotensin system predict blood pressure response to Renin-Angiotensin system-blocking drugs?: a systematic review of pharmacogenomics in the Renin-Angiotensin system. *Curr Hypertens Rep.* 2011 Oct; 13(5):356–61.
36. Manunta P, et al. Physiological interaction between alpha-adducin and WNK1-NEDD4L pathways on sodium-related blood pressure regulation. *Hypertension.* 2008 Aug; 52(2):366–72.
37. Turner ST, et al. Genomic association analysis suggests chromosome 12 locus influencing antihypertensive response to thiazide diuretic. *Hypertension.* 2008 Aug; 52(2):359–65.
38. Chung CM, et al. A genome-wide association study identifies new loci for ACE activity: potential implications for response to ACE inhibitor. *Pharmacogenomics J.* 2010 Dec; 10(6):537–44.
39. Corvol JC, et al. The COMT Val158Met polymorphism affects the response to entacapone in Parkinson's disease: a randomized crossover clinical trial. *Ann Neurol.* 2011 Jan; 69(1):111–8.
40. Arbouw ME, et al. Novel insights in pharmacogenetics of drug response in Parkinson's disease. *Pharmacogenomics.* 2010 Feb; 11(2):127–9.
41. Roses AD. Pharmacogenetics and the practice of medicine. *Nature.* 2000 Jun 15; 405(6788):857–65.

13.9. A fejezethez kapcsolódó kérdések

1. Mivel foglalkozik a farmakogenomika?
2. Mi annak a projektnek a neve, amely a genom nem fehérjekódoló régióinak funkcióit vizsgálja?
3. Mi a jelentősége a farmakogenomikának?
4. Kb. milyen százalékban felelős a genetikai háttér a gyógyszerekre adott válaszkülönbségekért?
5. Hogyan használhatók fel az SNP-k gyógyszerkipróbálásnál?
6. Milyen típusú folyamatok genetikai variációi befolyásolják a gyógyszerek hatását és mellékhatásait?
7. Mi az a fenokópia farmakogenetikában?
8. Mondjon példát gyógyszermetabolizmust befolyásoló genetikai variációkra!
9. Mit jelent a fenokópia a farmakogenetikában?

10. Az FDA által jóváhagyott gyógyszerkísérőkben melyik gén fordul elő legtöbbször?
11. Melyik géncsalád játszik fontos szerepet a gyógyszerek metabolizmusában?
12. A pszeudokolinészteráz hiánya milyen gyógyszernél okozhat komoly mellékhatást?
13. Az ABC-transzportereknek milyen szerepük lehet a farmakológiában?
14. Melyik géncsalád polimorfizmusaira van forgalomban farmakogenomikai génchip?
15. Melyik géncsaládba tartozó gén polimorfizmusai befolyásolják a leukémia kezelésében is alkalmazott metotrexát mellékhatásait?
16. Milyen gyógyszerek kardiotoxikus mellékhatásait befolyásolják az ABCC1 gén polimorfizmusai?
17. Melyik családba tartozik az az enzim, melynek polimorfizmusa súlyosan befolyásolhatja a warfarin mellékhatását?
18. Melyik gén variációja befolyásolja a warfarin farmakodinamikáját?
19. Mit csinálnak a statinok?
20. Melyik géncsalád játszik szerepet a statinok metabolizmusában?
21. Melyik géncsalád játszik szerepet a statinok transzportjában?
22. Melyik gén aktivitása szükséges, hogy a Clopidogrel biológiailag aktív legyen?
23. A genetikai háttér mellett milyen tényezők befolyásolják a gyógyszerek mellékhatásait?
24. Melyik gén variációi befolyásolhatják a β -agonisták hatását asztmában?
25. Írja le a β 2 adrenerg receptorral kapcsolatos farmakogenetikai vizsgálatot!
26. Mivel magyarázták a β 2 adrenerg receptort alkotó fehérje 16-os pozíciójában található Arg/Gly farmakogenetikai hatását?
27. Milyen nehézségek és lehetőségek előtt áll a farmakogenomika?

14. Betegségek rendszerbiológiai megközelítése

14.1. Bevezetés

Az előző fejezetekben többször utaltunk rá, hogy a genomikai módszerek, a számítógépek és a bioinformatika fejlődésével megnyílt a lehetőség arra, hogy az élőlényeket a valósághoz jobban közelítően, komplex rendszerekként modellezzük és értelmezzük. A nagy áteresztő képességű módszerek (mikroarray génexpresszió-mérés, GWAS stb.) elterjedésével soha nem tapasztalt mennyiségű adatokhoz juthatunk, és az is nyilvánvalóvá vált, hogy az egyes mérési eredmények, adatpontok nem függetlenek egymástól, hanem egymással kapcsolatban, kölcsönhatásban állnak. Például egy SNP, amely egy gén szabályozórégiójában helyezkedik el, nemcsak annak a génnek az expresszióját változtathatja meg, hanem azokét is, amelyekkel az a gén, vagy terméke kölcsönhatásban áll. Továbbá, egy másik SNP befolyásolhatja ennek az SNP-nek a hatását pozitív és negatív irányban is. Egy élő szervezeten belül ezeket a kölcsönhatásokat több szinten is tapasztalhatjuk, és mára világossá vált, hogy egy szervezet működését, vagy például egy mutáció hatását csak akkor tudjuk értelmezni, ha figyelembe vesszük ezeket a kölcsönhatásokat. A biológián belül azt a tudományágot, amely ezeknek a hálózatszerűen ábrázolható kölcsönhatásoknak a feltérképezésével, és értelmezésével foglalkozik, **rendszerbiológiának** hívjuk. **Definíció szerint a rendszerbiológia a biológiai rendszerek komponenseinek kölcsönhatásának tanulmányozása, és annak a vizsgálata, hogy ezek a kölcsönhatások hogyan befolyásolják a rendszer működését, funkcióját.**

Az elmúlt években a rendszerbiológia, amelyet angolul „**systems biology**”-nak neveznek, a fent említett okok miatt is hatalmas fejlődésen ment keresztül. Az alábbiakban a betegségekre koncentrálna biológiai hálózatok tulajdonságait mutatjuk be, és rendszerbiológiai alapfogalmakkal ismerkedünk meg, illetve bemutatunk néhány példát, hogy hogyan alkalmazhatjuk, hasznosíthatjuk a rendszerbiológiát.

14.2. Kölcsönhatások ábrázolása

A rendszerbiológiában az egymással kölcsönhatásban álló faktorokat hálózatos formában ábrázoljuk, amit **gráfnak** is szoktak hívni. Ezt interakciós hálózatnak, vagy angolul „**interactome network**”-nek is szokták nevezni [1, 2]. A kölcsönhatásban álló faktort **csomópontnak**, angolul „**node**”-nak hívjuk, a kölcsönhatást a faktorok között a csomópontokat összekötő vonalakkal ábrázoljuk, amit **éleknek**, angolul „**edge**”-eknek nevezünk. Ha sejteken belüli molekuláris interakciókat ábrázolunk, akkor a csomópontok lehetnek pl. metabolitok, illetve olyan makromolekulák, mint a fehérjék, RNS-ek, DNS-szekvenciák, míg az élek fizikai, biokémiai vagy funkcionális interakciókat jelenthetnek. A különböző technikákkal (pl. génexpresszió-mérés vagy a fehérjék kölcsön-

hatásait vizsgáló két-hibrid (*two-hybrid*) rendszer) megállapított interakciókat ábrázolva, különböző módszerekkel azt vizsgálják, hogy az így kapott hálózat mennyiben és mi-
ben tér el egy véletlenszerű hálózattól, és ezt hogyan lehet vonatkoztatni a biológiai fo-
lyamatokra.

Ezeknek a hálózatoknak az egyik érdekes és fontos tulajdonságát a magyar származású Barabási Albert László és csoportja fedezte fel, és publikálta eredményeit a *Nature* és a *Science* újságokban 1999–2000-ben [3, 4, 5].

Hosszú évtizedeken keresztül a tudósok azon a véleményen voltak, hogy az összes természetben és mesterséges úton létrejövő hálózat véletlenszerű. Bármelyik hálózatról volt szó, alkosson akár olyan összetett rendszert, mint a társadalom vagy a sejtek kémiai anyagai, esetleg a honlapokat összekötő URL-ek, mindegyikről azt feltételezték, hogy véletlenszerűen rendeződnek el. A véletlenszerű hálózat gondolatát, amelyben a csomópontokat véletlenszerűen kötjük egymáshoz, két magyar matematikus, Erdős Pál és Rényi Alfréd vetette fel a hatvanas években. Ebben a hálózatban az egyes csomópontokhoz kapcsolódó élek számának eloszlása normális (haranggörbe alakú) eloszlást mutat. Barabásiék rámutattak arra, hogy ha az Erdős–Rényi-féle elvet alkalmaznánk az internetre, akkor a legtöbb embernek nagyjából ugyanannyi barátja lenne, nagyon kevésnek lenne csak sokkal több vagy sokkal kevesebb. A világhálón azonban ez nem így van: a legtöbb oldalra csak nagyon kevés más oldal mutat, ezek tehát majdnem láthatatlanok a világhálón, néhány oldalra pedig majdnem mindenki rámutat. A kapcsolatok eloszlása, szemben a random Poisson-eloszlással, **hatványeloszlást** mutat. Ezt a fajta hálózatot elnevezték **skalálfüggetlen hálózatnak** [3]. Pontosan ilyen hálózatot alkot az élő szervezetben kimutatható kölcsönhatások többsége is. A legtöbb csomópontnak csak kevés kapcsolata van, azonban vannak csomópontok, amelyeknek nagyon sok. Ez utóbbiakat „**hub**”-oknak nevezzük, és ezek tartják össze az egész hálózatot.

14.3. A humán interaktom

Az elmúlt évtizedben rengeteg olyan eredmény született, amelyekkel emberspecifikus interakciós hálózatokat lehet felrajzolni. Ezek segítenek megismerni, illetve megérteni, hogy az egymásba fonódó hálózatok milyen szerepet játszanak az emberi betegségekben. A molekuláris kölcsönhatások között megkülönböztethetünk **fehérjeinterakciós hálózatokat**, ahol az egyes csomópontokban fehérjék helyezkednek el, és az **élek fizikai kölcsönhatásokat jelentenek**. Ilyen interakciókat számos adatbázisban találhatunk, mint pl.: *Munich Information Center for Protein Sequence (MIPS) protein interaction database*; *Biomolecular Interaction Network Database (BIND)*; *Database of Interacting Proteins (DIP)*; *Molecular Interaction database (MINT)*; *protein Interaction database (IntAct)*; *Biological General Repository for Interaction Datasets (BioGRID)*, *Human Protein Reference Database (HPRD)*.

Az anyagcsere- vagy **metabolikus hálózatok**, amelyekben az egyes csomópontokban metabolitok vannak, és akkor kapcsolódnak egymáshoz, ha ugyanabban a biokémiai reakcióban vesznek részt. Valószínűleg a metabolikus hálózatról eddig szerzett ismeretanyag a legátfogóbb. Több adatbázisban található erről hatalmas mennyiségű információ, mint pl.: *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG)* és a *Biochemical Genetic and Genomics knowledgebase (BIGG)*. Az egyik, tudományos irodalmi adatok alapján összeállított humán metabolikus hálózatban 2766 metabolit és 3311 metabolikus és transzport reakció található, míg egy másikban 3000 metabolikus reakció és 70 ember-specifikus anyagcsere-útvonal [6, 7].

A **szabályozó (regulator) hálózatok** transzkripciós faktorok és gének közötti kapcsolatokat ábrázol, vagy poszttranszlációs módosításokat, mint pl. a kinázok és szubsztrátjaik között. Itt van talán jelenleg a legkevesebb információ, bár a 2012-ben megjelent **ENCODE projekt** eredményei bővíteni fogják ismereteinket. Az ehhez kapcsolódó adatbázisok: *Universal Protein Binding Microarray Resource for Oligonucleotide Binding Evaluation* (UniPROBE); JASPAR. A **DNS-fehérje interakciókat** tartalmazza a TRANSFAC és a B-sejt interaktom (BCI) adatbázis. Az **emberi poszttranszlációs módosításokat** tartalmazza a Phospho.ELM, PhosphoSite, és a foszforilációs hely adatbázis, a PHOSIDA.

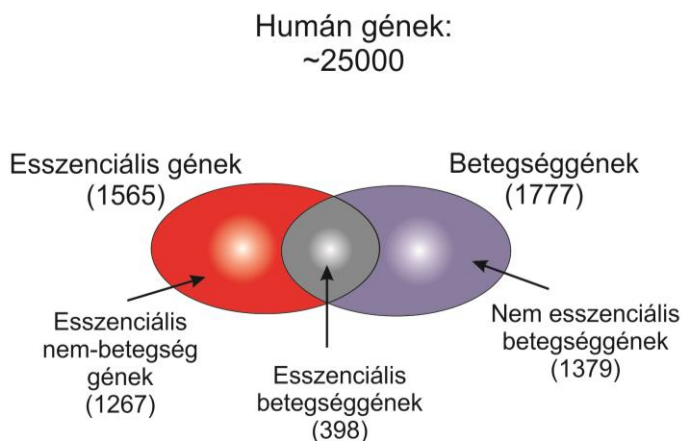
Az **RNS-hálózatok** RNS-RNS, vagy RNS-DNS interakciókat mutatnak, mint pl. a mikroRNS-ek és az siRNS-ek génszabályozása. A mikroRNS-ek szerepét az utóbbi években ismertük meg részletesebben. Erről találhatunk információkat olyan adatbázisokban, mint pl., TargetScan, PicTar, microRNA, miRBase, és miRDB, TarBase és miRecords.

Ezekkel párhuzamosan **fenotípus-hálózatok**at is hoznak létre. Ilyen például a **ko-expressziós hálózat**, azoknak a géneknek a hálózata, amelyek expressziója egymással paralel változik, vagy a **genetikai hálózat**, amelyben két gén akkor kapcsolódik egymáshoz, ha a dupla mutáns fenotípusa különbözik attól, amit a két gén külön-külön mutációja alapján várnánk. A fenotípus-hálózatokban általában az egyes kapcsolatok valamilyen közös anyagcsere-útvonalra utalnak.

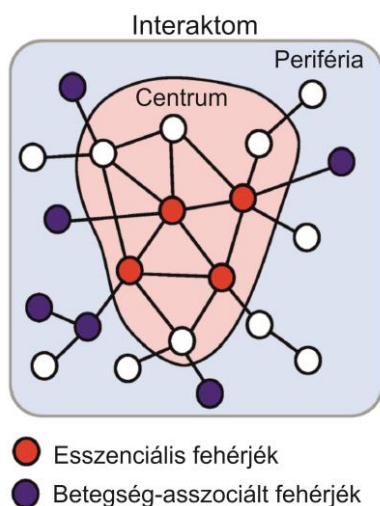
14.4. Betegségének a hálózatokban

Az előzőekben említettük a hálózatokon belül a **hub** fogalmát, amelyek olyan csomópontok, amelyekhez aránytalanul sok kapcsolat tartozik. Amikor a hub fehérjét modellszervezetekben megvizsgálták, azt tapasztalták, hogy általában esszenciális gének kódolják őket és általában konzerváltabbak, mint a nem-hub fehérjék. A hub fehérjét kódoló gének kiütése általában nagyobb fenotípusos változashoz vezet, és hiányuk számos más fehérje funkcióját is befolyásolja. Ez ahhoz a hipotézishez vezetett, hogy a hub-oknak asszociálniuk kell a betegséggénekkal. Ezt támasztja alá az is, hogy amikor az [OMIM](#) adatbázisban szereplő betegséggéneket megvizsgálták, a kódolt fehérjék több fehérje-fehérje interakcióban vettek részt, mint a nem-betegséggének által kódolt fehérjék [1, 2].

Azonban azoknak a géneknek az erős hatású, a funkciót jelentősen módosító mutációi, melyek a korai embrionális fejlődésben létfontosságúak, általában nem tudnak továbböröklődni, így kisselektálódnak a populációból. Ezzel szemben a humán betegség-
okozó mutációk többségét a hordozók sokáig, sokszor felnőttkorig elnyúlóan tolerálni tudják. Ez azt jelenti, hogy emberben (illetve fejlett élőlényekben) a betegséggének nem lehetnek mind esszenciális gének (14.1. ábra). A vizsgálatok alapján azt lehetett megállapítani, hogy emberben a **hub proteinek kódoló gének az esszenciális gének**, míg a **betegséggének inkább a periférián helyezkednek el a hálózatokban** (14.2. ábra). Viszont, ha a gyenge hatású polimorfizmusokat is figyelembe vesszük, számos hub proteinnel találkozhatunk, amelyek kis hatású genetikai variációi több betegséggel is asszociációt mutattak. Ilyen pl. a **TNF**, amely variációi asztmával, obezitással, T1DM-mel, T2DM-mel, Alzheimer-kórral és ateroszklerózissal is asszociálnak. Hasonló hub fehérje még a β_2 adrenerg receptor (**ADRB2**). Variációi befolyásolják az asztmát, obezitást és szerepet játszanak a vérnyomás szabályozásában is. A **PPARG** tipikus hub fehérjét kódol, hiszen mutációja magas vérnyomást, obezitást, T2DM-et okoz, a betegekben ateroszklerózis alakul ki.

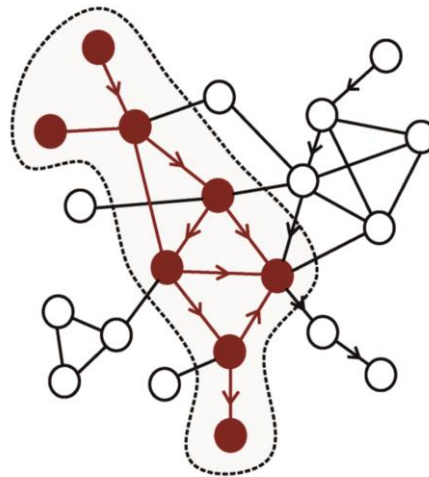


14.1. ábra. Az emberi gének kevesebb, mint 10%-a, 1777, asszociál valamilyen betegséggel. 1565 génünk van, amelyik *in utero*, azaz az embrionális fejlődésben esszenciális. A két halmaz csak részben fed át egymással [1]



14.2. ábra. Az esszenciális és a betegséggének közötti különbség sematikus ábrázolása. Az embrionális fejlődésben esszenciális gének által kódolt fehérjék (piros) a hálózat centrumában helyezkednek, ezek általában hubok. A betegséggének inkább a periférián találhatóak [1]

Ha egy gén vagy egy molekula szerepet játszik egy betegségben, valószínűsíthetjük, hogy a hálózatban a közvetlenül vele interakcióban levő partnereinek szintén lehet valamilyen szerepe abban a betegségben. Ezt alátámasztja az a vizsgálat, amelyben kimutatták, hogy az egyik betegségben szereplő gének termékei között 10-szer annyi kölcsönhatás volt, mint amit a random elvárások alapján tapasztaltak volna. Sőt egy másik vizsgálatban kimutatták, hogy azok a gének, amelyek hasonló fenotípusú betegséggel asszociálnak, a véletlennél sokkal gyakrabban állnak interakcióban egymással. Ebből az következik, hogy ha azonosítunk néhány betegségkomponenst, akkor hálózatelemzéssel más, a betegséghez kapcsolható komponenseket is azonosítani tudunk ***in silico* módszerekkel**. Továbbá és az előzőekből következően, az egyes betegségeknek az interaktomon belül egy jól meghatározott, egymással élekkel összekötött halmazát lehet megkülönböztetni, amelyet szoktak **betegségmodulnak** is hívni (14.3. ábra).



Betegség modul

14.3. ábra. Egy interakciós hálózatban azonosítani lehet betegségmodulokat (piros csomópontok). Itt néhány élen nyíl is lehet látni. Ezt **irányított gráfnak** nevezik, és a nyíl az interakciós hatás irányára utal. Ahol az élen nincs nyíl, az azt jelenti, hogy ott nincs iránya az interakciónak. Például egy transzkripciós faktor hatni tud egy gén expressziójára, azaz ez az interakció iránya, hasonlóan egy enzim aktivitása és a termék keletkezésénél is van irány, míg pl. egy heterodimer fehérje létrehozásában általában nincs ilyen azonosítható irány [1]

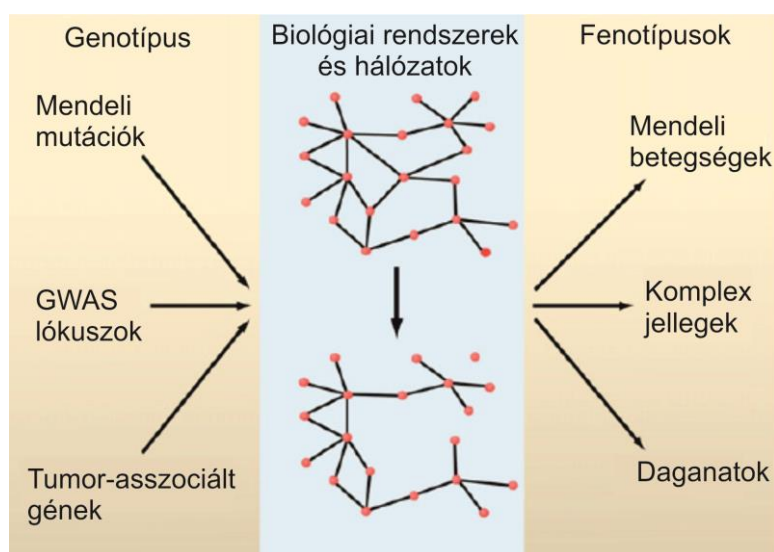
Összességében azt lehet mondani, hogy a **betegséggéneknek több kapcsolatuk van**, mint a nem betegséggéneknek. Emiatt a betegségmodulban, a betegséggének hálózatában a kapcsolatok eloszlása eltér az összes fehérjénél tapasztalt hatványeloszlástól, és nem mutat random eloszlást sem. Viszont **a legtöbb monogénes betegséggel kapcsolatos betegséggén nem hub**, azaz a hálózatban nem központi szerepet tölt be.

Ezeket a betegségmodulokat számos bioinformatikai és genomikai módszerrel lehet azonosítani. Például Chen és mtsai. koexpressziós hálózatokat alkottak máj- és zsírszövetekben [8]. Obezitásban és T2DM-ben azonosított genetikai variációk segítségével azonosítottak alhálózatokat, és megerősítették, hogy a makrofágokban feldúsuló metabolikus alhálózat (*macrophage-enriched metabolic subnetwork*) és az obezitás között kapcsolat van, és validáltak több korábbi obezitásgént is.

14.5. Betegség-hálózatok

A humán interaktom kapcsán leírtakból következik, hogy a teljes emberi interakciós hálózatot fel lehet rajzolni egyetlen nagy, bonyolult hálózattal. A betegségek kialakulását ebből a hálózati megközelítésből úgy lehetne magyarázni, hogy egy betegség akkor jön létre, ha a hálózatot valamilyen módszerrel elrontjuk, megzavarjuk a működését, szakszóval, **perturbáljuk** (14.4. ábra). Ilyen perturbáció lehet egy **csomópont eltávolítása** (pl. fehérje kiesése null-mutáció miatt), vagy hatásának megváltoztatása, például, ha egy génmutáció miatt egy receptor ligandkötő régiója módosul (**élmódosítás**). Viszont, mivel a hálózat minden tagja valamilyen szintű kapcsolatban áll egymással, a hálózat perturbációjának hatása nem maradhat lokális, azaz az egyes betegségek nem lehetnek teljesen függetlenek egymástól. Ez a gyakorlatban is bebizonyosodott. Az egyes betegségmodulok egymással átfedésben vannak, így egy perturbáció, amely elvezet az egyik betegség-

hez, befolyásolhatja a másikat is. Ha egy olyan hálózatot rajzolunk, amelyekben a csomópontokban az egyes betegségek állnak, és közöttük az élek a betegségekkel asszociált celluláris komponensek közötti kölcsönhatásokat ábrázolják, **betegségtérképeket** kapunk melyet angolul a „genome” szó mintájára és a *disease* szóból „**diseasome**”-nak is hívják. Ennek segítségével megérthetjük egyrészt azt, hogy különböző fenotípusok (betegségek) milyen molekuláris kapcsolatban állnak egymással, másrészt azt, hogy egyes betegségek miért fordulnak elő egyszerre. Az egyes betegségek közötti kapcsolat új utakat nyithat a betegségek megelőzésében, diagnosztikában és kezelésében. Hozzájárulhat új gyógyszerek felfedezéséhez, különösképpen, amikor olyan gyógyszerekről van szó, amelyek több betegségben is alkalmazhatók. Illetve alkalmat ad annak a vizsgálatára, hogy egy betegségben bevált gyógyszer használható-e egy másik betegségben is.



14.4. ábra. Biológiai rendszerek vagy sejhálózatok perturbációja betegségeket okozhat. Az ábra bal oldalán egy adott személyben található genotípus megzavarhatja az ábra középső részében felül látható hálózat normális működését. A hálózat egyik tagja például egy mutáció miatt kiesett, egy másiknál megszűnt egy kapcsolat. Ez különböző betegségekhez vezethet. Az ábrán példát láthatunk a csomópontkiesésre és az élmódosításra is [2]

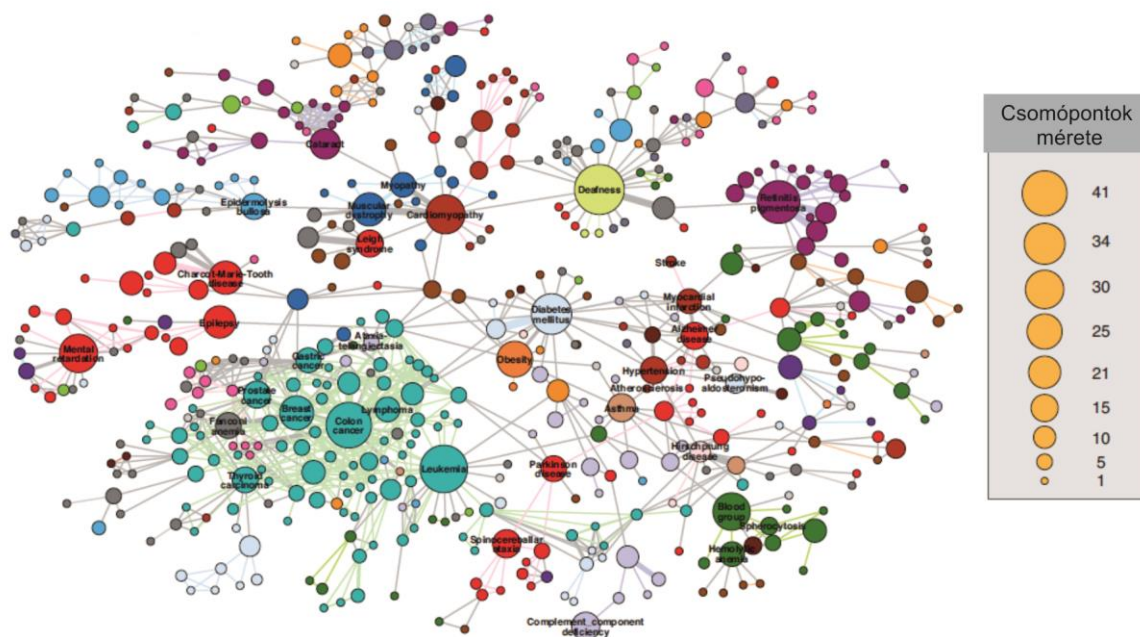
14.6. Csomópontok és élek

Mint az előzőekben tárgyaltuk, a hálózatok perturbációja betegségekhez vezethet. Itt alapvetően két perturbációt különböztethetünk meg. Ha pl. egy nullmutáció miatt egy gén terméke teljesen kiesik, akkor egy **csomópontot eltávolítunk a hálózatból**. Ha egy fehérje egy génmutáció miatt úgy sérül, hogy maga a fehérje megmarad, csak bizonyos funkciói módosulnak, akkor a csomópont megmarad, csak a **kapcsolatok, élek módosulnak**. Nyilvánvaló, hogy a két perturbáció hatása jelentősen különbözik egymástól. Az első esetben nemcsak a csomópont esik ki, hanem minden más csomóponttal való interakciója is, így ennek várhatóan erősebb a hatása, mintha csak az élek módosulnak. Ennek a két perturbációnak a megkülönböztetése új lehetőséget kínál a betegségek patogenezisének megértéséhez, például a domináns és recesszív öröklődés vagy a penetrancia magyarázatához.

A humán mutáció adatbázisban található ~50 ezer mendeli allél körülbelül fele élmódosító hatású. Olyan géneknél, amelyek különböző betegségekkel is asszociálnak, és amelyeknél a fehérje domén interakciói is rendelkezésre állnak, azt lehetett kimutatni, hogy a különböző betegségekhez tartozó élmódosító allélok különböző interakciós doménekben vannak, és ezért vezetnek különböző betegségekhez, fenotípusokhoz.

14.7. Közös gén hipotézis

Ha ugyanazon gén két különböző betegséghez is tartozik, az azt jelzi, hogy a két betegségnek közös genetikai háttere lehet. Az OMIM-adatbázis alapján Barabási és munkatársai felrajzoltak egy betegségtérképet. Két betegséget akkor kötöttek össze egymással, ha egy vagy több közös génjük volt. A 2007-es publikációban bemutatott, és a 14.5. ábrán látható hálózatban az egyes csomópontok egy-egy betegségre utalnak [9]. A csomópontok nagyságai arányosak a betegséggel asszociáló OMIM-gének számával, a kapcsolatok, élek vastagsága arányos a betegségek közös génjeinek számával. Az azonos színnel jelölt betegségek azonos betegségsztályba tartoznak. A 2005-ös OMIM-ban az 1284 betegségből 867 kapcsolódott legalább egy másik betegséghez. Az azonos színnel jelölt, azonos osztályba tartozó betegségek klasztereket alkotnak, azaz egymás közelében helyezkednek el, ami azt jelzi, hogy **a hasonló patofenotípushoz tartozó betegségeknek nagyobb valószínűséggel vannak közös génjeik**, mint a különböző osztályokba sorolt betegségeknek.

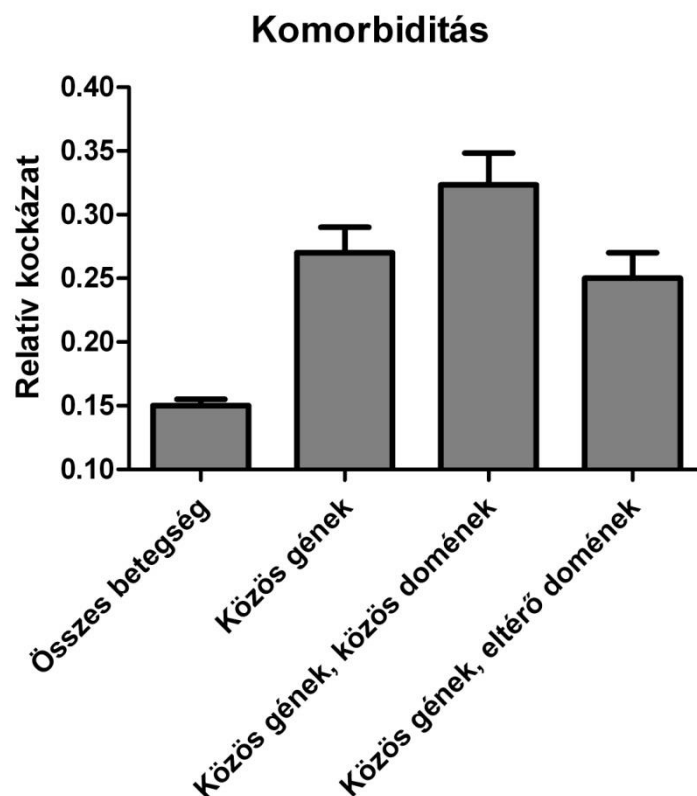


14.5. ábra. Humán betegséghálózat. Az egyes csomópontok egy-egy betegségre utalnak. A csomópontok nagyságai arányosak a betegséggel asszociáló OMIM-gének számával, a kapcsolatok, élek vastagsága arányos a betegségek közös génjeinek számával. Az azonos színnel jelölt betegségek azonos betegségsztályba tartoznak [9]

A betegségek közös génjeinek epidemiológiai következményei vannak. Statisztikai adatokkal igazolható, hogy **ha két betegségnek vannak közös génjei, akkor, ha valaki az egyik betegségben megbetegszik, kétszer akkor esélye van, hogy a másik beteg-**

ség is kialakuljon nála, mintha a két betegségnek nem lennének közös génjei (14.6. ábra). Az obezek jelentős részénél T2DM alakul ki, ez utóbbiak közül soknál ateroszklerózis, illetve az ateroszklerózis kialakulása Alzheimer-kór kialakulására hajlamosít, és mindegyiknek vannak közös génjei is.

Viszont előfordulnak olyan betegségek, amelyeknek vannak közös génjeik, de nem mutatnak jelentős komorbiditást. Ennek egyik magyarázata lehet, hogy ugyanabban a génben a különböző mutációknak más funkcionális hatása van, így másik betegségre hajlamosíthatnak. Ezzel párhuzamosan, azok a betegségpárok, amelyek mutációja a fehérje ugyanazon funkcionális doménját érinti, nagyobb komorbiditást mutatnak, mint azok a betegségek, ahol a mutációk különböző funkcionális doménekben vannak (14.6. ábra).



14.6. ábra. Ha két betegségnek közös génjei vannak (második oszlop), akkor kétszer akkora esély van arra, hogy ha az egyik betegség kialakul, akkor a másik is kialakuljon, mintha nem lennének közös gének. Azok a betegségpárok, amelyek mutációja a fehérje ugyanazon funkcionális doménját érinti (harmadik oszlop), nagyobb komorbiditást mutatnak, mint azok a betegségek, ahol a mutációk különböző funkcionális doménban vannak (utolsó oszlop) [1]

14.8. Közös metabolikus útvonal hipotézis

Ha egy enzim hibájából egy anyagcsere-útvonalon valamelyik termék nem, vagy lassabban, esetleg gyorsabban keletkezik, akkor az befolyásolja az összes utána következő reakciót, és ez metabolikus betegségekhez vezethet. Így a metabolikus betegségeknél a közös anyagcsere-útvonalakból kapott kapcsolatoknak erősebb lehet a hatása, mint a közös géneknek. Ennek bizonyítására felrajzoltak egy **metabolikus betegségi hálózatot**,

amelyben két betegség akkor kapcsolódik, hogyha a betegségben szereplő enzimek egy reakcióútvonalon, és egymást követő reakciókat katalizálnak. Az előzőekhez hasonlóan itt is igazolható volt, hogy az egymáshoz kapcsolt betegségeknek szignifikánsan nagyobb a komorbiditása (1,8-szor), mint azoké, amelyek nincsenek egymással kapcsolatban [10].

14.9. Közös miRNS-hipotézis

Mivel egy-egy miRNS akár több száz gén expresszióját is szabályozhatja, ma már számos miRNS szerepét ismerjük az egyes betegségekben, és az egyes betegségekhez kapcsolt miRNS-ek egymással átfedhetnek. Felrajzolhatunk olyan betegséghálózatot is, amelyben két betegség akkor kapcsolódik, ha van legalább egy közös miRNS-ük. Az így felrajzolt hálózatban is jól elkülöníthető betegségklasztereket láthatunk. Például az onkológiai megbetegedések jól elkülöníthető klasztert alkotnak, amely különbözik a kardiovaszkuláris betegségekkel asszociáló betegségektől [11].

14.10. Fenotípus betegséghálózat

A betegségeket a tapasztalt komorbiditás alapján is össze lehet egymással kapcsolni és hálózat formájában ábrázolni. Például fenotípus betegséghálózatot rajzoltak fel az egyik betegség adatbázis (Medicare) segítségével 30 millió beteg adatai alapján, 657 betegségről [12]. Két betegséget akkor kapcsoltak össze, ha a közös előfordulásuk gyakorisága túllépett egy meghatározott szintet. Az előzőekkel szemben ennek a hálózatnak a felrajzolásakor nem veszik figyelembe a közös mechanizmust, anyagcsere-útvonalakat vagy a környezet, illetve kezelés általi perturbációt. Viszont így, ennek a hálózatnak a segítségével meg lehet állapítani, hogy egy betegség esetén milyen más betegségek kialakulására van esély. Továbbá, a hálózat elemzésével az is megállapítható, hogy azoknak a betegségeknek a mortalitása nagyobb, amelyekhez több másik betegség kapcsolódik.

Egy másik vizsgálatban az OMIM-adatbázis fenotípus leírásai alapján, **szövegbányászati** módszerrel kapcsolták össze a betegségeket. Minél több közös fenotípusa volt két betegségnek, annál erősebb a köztük levő kapcsolat. Itt azt találták, hogy az egymással a fenotípus alapján kapcsolatban álló betegségek molekuláris szinten is kapcsolatban állnak egymással. Így egy ilyen fenotípus betegséghálózatból következtethetünk közös génekre, anyagcsere-útvonalakra is [13].

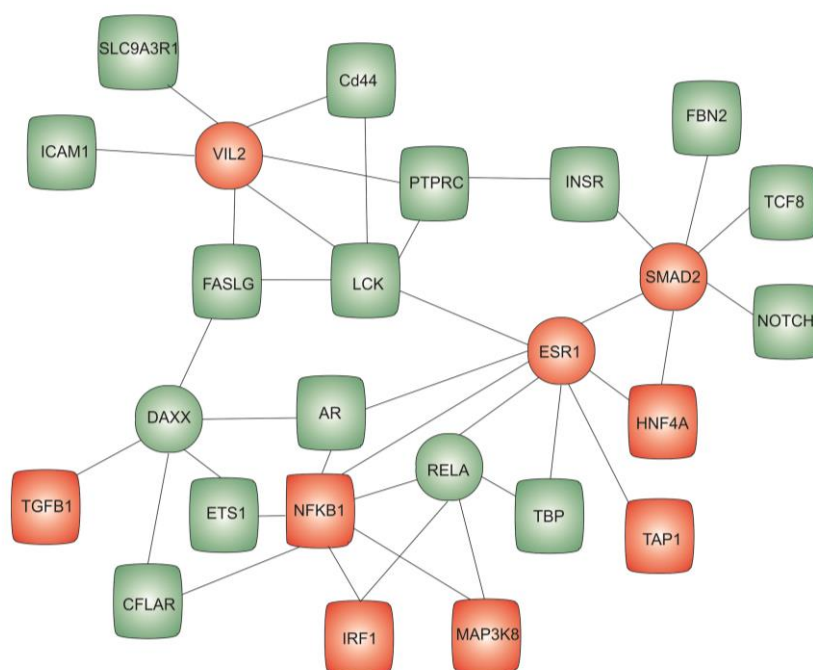
14.11. A rendszerbiológiai módszerek alkalmazása

Korábban említettük, hogy az eddig talált genetikai variációk csak az öröklődő hányad töredékét tudják magyarázni. Ennek a problémának a megoldására tett kísérletet az egyik vizsgálat, melyben **a korábban GWAS segítségével megismert, 1-es típusú cukorbetegséggel (type 1 diabetes mellitus = T1DM) asszociált gének által kódolt fehérjéknek megkeresték a velük interakcióban levő fehérjepartnereit**, és 68 új gént sikerült azonosítani. Ezután megvizsgálták, hogy az így talált gének tulajdonságai megfelelnek-e a betegségének. Az a megfigyelés, hogy a betegségénekre, több interakciójuk, központibb szerepük miatt, a publikációkban többször hivatkoznak. Ebben az esetben torzíthatja a képet az, hogy mivel ismert T1DM génekkel vannak kölcsönhatásban, emiatt hivatkoznak rájuk többször. Amikor Gao és munkatársai [15] kizárták a publikációkból a T1DM-cikkeket a PubMed publikációs adatbázisban, azt találták, hogy a

68 prediktált gén közül 13-ra (20%) **szignifikánsan többet hivatkoztak**, mint amit a random eloszlás alapján várni lehet. Ha az összes humán fehérjénél a HPRD-ben (*Human Protein Reference Database*) nézzük ugyanezt, akkor ott csak 6,9% ez az érték. Ez a 68 gén szintén lényegesen **többször jelenik meg T1DM-mel kapcsolatos publikációkban**, mint az várható ($p < 10^{-7}$). Ez még akkor is igaz volt, ha az ismert T1DM génekkel való együttes citációkat eltávolították az analízisből. Ez azt mutatja, hogy valóban nagy a valószínűsége, hogy ezek a prediktált gének szerepet játszanak T1DM-ben. **A 68 génből 24 interakcióban van legalább két, és 12 legalább három ismert betegséggénnel.** Ez a betegségmodulok közötti kapcsolatokat is mutatja, és megerősíti, hogy az új gének valóban betegséggének.

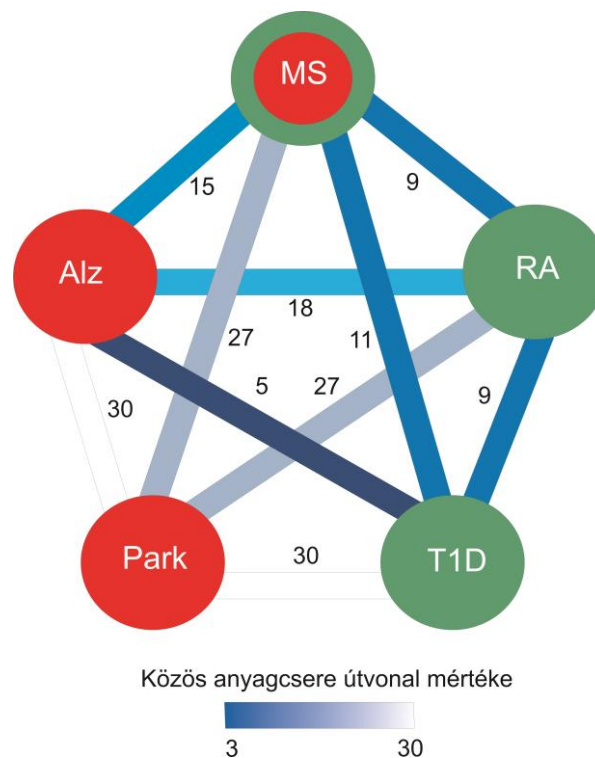
A 14.7. ábra mutatja annak az 5 fehérjének az interakciós hálózatát, amelyek a legtöbb közvetlen interakcióval rendelkeznek, és ez alapján a „top 5” fehérjének nevezhetjük őket. A legtöbb kapcsolattal, hattal, az **ESR1** (ösztrogénreceptor 1) és a **VIL2** (hivatalos génnev **EZR**, vagy ezrin) rendelkezik. Mindkettő a **legtöbbet citált gének** közé tartozik. Az ESR1 a PubMed adatbázisban 139 citációval (azaz 139 cikkben említik) rendelkezik (124-gyel, ha levonjuk a T1DM-es közleményeket), ami a 68 jelölt közül a legtöbb. A **VIL2** 30 citációval rendelkezik, ez nyolcadik a 68 jelölt közül. Mindkét gén fehérjéje rengeteg más fehérjével mutat kölcsönhatást. Az ESR1 168-cal, a **VIL2** 43-mal. Ezzel az összes ismert gén közül a felső 2%-ba tartoznak, és hub-ként is lehet tekinteni őket. Ez utóbbihoz hozzá kell tenni, hogy a betegséget nem ezek mutációi okozzák, tehát itt nem a betegséggének korábbi definícióját használjuk. De, ezek a gének fontos, központi, **hub szerepet töltenek** be a fehérje-interakciós hálózatban, és a betegségmodul részei.

Ha az ábrán látható hálózat egyéb prediktált génjeit megvizsgáljuk (**SMAD2**, **RELA**, **DAXX**), mindegyiknél igazolható, hogy az **átlagosnál lényegesen több kapcsolattal rendelkeznek**, illetve a **T1DM patomechanizmusához köthető anyagcsere-útvonalon találhatóak** [15].



14.7. ábra. Fehérje-fehérje interakciós hálózat a T1DM-ben azonosított, új 68 gén terméke közül az első 5 prediktált fehérjére. A prediktált fehérjéket körrel jelöltük. A közvetlen interakciós partnereket lekerekített négyzettel. Piros színnel vannak jelölve azok a gének, amelyek T1DM-mel kapcsolatos közleményekkel jelentős citációval rendelkeznek [15]

Új eredményeket hozott az a rendszerbiológiai vizsgálat is, amelyben 5 multifaktoriális betegség GWAS-eredményei alapján létrehozott interakciós hálózatát tárták fel [16]. Az 5 betegség közül két neurodegeneratív betegség (Alzheimer- és Parkinson-kór), és három autoimmun betegség (szklerózis multiplex [amely egyben neurodegeneratív is], rheumatoid arthritis és T1DM) volt. Először az 5 betegségre a GWAS-eredmények alapján, adatbázisok segítségével (pl. [KEGG](#)) egyenként **anyagcsereút-vonal-feldúsítást** (*pathway enrichment*) végeztek. Majd páronként a közös útvonalakkal rendelkező betegségeket összekötötték. Az élekhez 3 és 30 között számokat rendeltek, ahol a kisebb szám jelölte a több közös anyagcsere-út-vonalat. A 8. ábrán látható hálózatból látszik, hogy mindegyik betegségnek vannak közös anyagcsere-út-vonalai. Érdekes és kissé váratlan módon **a legerősebb kapcsolat az Alzheimer-kór és a T1DM között volt**. Az eredmények több, eddig nem ismert kapcsolatot, illetve betegséghez kapcsolható út-vonalat tártak fel. Ezek közül csak egyet említünk. A vártak megfelelően a B-sejt és a T-sejt aktivációs út-vonalak minden autoimmun betegségben szerepeltek, azonban meglepő módon Alzheimer-kórban is. Eddig az adaptív immunrendszer szerepe a betegségben nem volt ismert, bár volt néhány vizsgálat, amelyben megváltozott T-sejt-választ tapasztaltak a betegekben. Illetve ismert volt, hogy a gyulladáscsökkentők rendszeres használata csökkenti a betegség kialakulásának kockázatát. Az is érdekes, hogy a Parkinson-kór valamilyen szorosabb kapcsolatban áll a rheumatoid arthritissel és a szklerózis multiplexszel, mint Alzheimer-kórral [16].



14.8. ábra. 5 betegség (Alzheimer-kór (Alz), Parkinson-kór (Park), szklerózis multiplex (MS), rheumatoid arthritis (RA) és T1DM (T1D) interakciós hálózata. A betegségeket összekötő élek színei, illetve a melléjük írt számok a közös anyagcsere-út-vonalak mértékének rangsorát jelzik. A 3-as érték jelöli a legerősebb, míg a 30-as a legalacsonyabb szintű rokonságot [16]

A rendszerbiológia eszközeit a **gyógyszerkutatásban** is fel lehet használni. Olyan gyógyszerek, amelyek egy meghatározott célponttal rendelkeznek, sokszor javíthatják ugyan a betegség néhány hibáját, de más szomszédos, kapcsolt hálózatokat is megzavarhatnak, ami mellékhatásokhoz vezethet. A gyógyszerhatás hálózatszemplétű megközelítése alapján a legtöbb betegséget nem lehet egy mágikus lövedékkel (*magic bullet*) meggyógyítani, azaz olyan gyógyszerrel, amely egyetlen csomópontra hat. Erre példa a daganatok vagy az AIDS terápiájában használt kombinált kezelések hatékonysága.

Szintén fontosak a gyógyszer-célpont-hálózatok, amelyek a forgalomban vagy kísérleti fázisban levő gyógyszerek fehérjecélpontjait ábrázolják. Ennek elemzése alapján túlsúlyban vannak a **pallitativ gyógyszerek**, amelyek nem közvetlenül a betegséget okozó fehérjére hatnak, hanem a **hálózati szomszédjára** [2].

Egy következő példát a rendszerbiológiai megközelítés fontosságára betegségek kezelésében a **kardiovaszkuláris betegségek (CAD)** kapcsán lehet említeni. A kísérleti adatok korábban azt mutatták, hogy az **IL-5-nek védőhatása van CAD-ban**, hiszen magasabb szintje kisebb karotid intima vastagsággal asszociált. A Th1/Th2 egyensúlyt vizsgálva ez azt jelenti, hogy a **CAD inkább Th1-es betegségnek tekinthető**, hiszen a Th2-es citokin (IL-5) emelkedett szintje itt véd (azaz a Th1-es túlsúly hajlamosíthat), szemben a **Th2-es asztmával, ahol az emelkedett IL-5 hajlamosít a betegségre**. Ez viszont rendszerbiológiai megközelítéssel azt jelenti, hogy ha ebben az interakciós hálózatban megzavarunk egy csomópontot (itt emeljük az IL-5 szintjét), akkor az okozhatja azt, hogy amellet, hogy **az egyik betegség (CAD) kockázatát csökkentjük, egy másikat (asztma) fokozhatjuk**, ami megfordítva is igaz lehet. Illetve ugyanaz a polimorfizmus (és kezelés) védhet az egyik betegséggel szemben, de hajlamosíthat egy másikra [17, 18].

A rendszerbiológiai megközelítés alapján a **racionális gyógyszerkutatásban fel kell tárnai az adott betegséghez tartozó betegséghálózatot**, és elég olyan hatóanyagokat keresni, amelyek ebben a **betegségmodulban okoznak detektálható változásokat**. Ez jelentősen leszűkítheti a keresési tért, és segíti a betegség diagnózisához használható biomarkerek detektálását is, hiszen a betegségmodul komponenseinek aktivitásának változásai mutathatják a legerősebb korrelációt a betegség progressziójával.

14.12. Irodalom

1. Barabási AL, Gulbahce N, Loscalzo J. Network medicine: a network-based approach to human disease. *Nat Rev Genet.* 2011 Jan; 12(1):56–68.
2. Vidal M, Cusick ME, Barabási AL. Interactome networks and human disease. *Cell.* 2011 Mar 18; 144(6):986–98.
3. Barabasi AL, Albert R. Emergence of scaling in random networks. *Science.* 1999 Oct 15; 286(5439):509–12. PubMed PMID: 10521342.
4. Jeong H, Tombor B, Albert R, Oltvai ZN, Barabási AL. The large-scale organization of metabolic networks. *Nature.* 2000 Oct 5; 407(6804):651–4.
5. Albert R, Jeong H, Barabasi AL. Error and attack tolerance of complex networks. *Nature.* 2000 Jul 27; 406(6794):378–82.
6. Duarte NC, et al. Global reconstruction of the human metabolic network based on genomic and bibliomic data. *PNAS.* 2007; 104:1777–1782.
7. Ma H, et al. The Edinburgh human metabolic network reconstruction and its functional analysis. *Molecular Systems Biology.* 2007; 3:135.

8. Chen Y, et al. Variations in DNA elucidate molecular networks that cause disease. *Nature*. 2008 Mar 27; 452(7186):429–35.
9. Goh KI, Cusick ME, Valle D, Childs B, Vidal M, Barabási AL. The human disease network. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 May 22; 104(21):8685–90.
10. Lee D-S, et al. The implications of human metabolic network topology for disease comorbidity. *PNAS*. 2008; 105:9880–9885.
11. Lu M, et al. An Analysis of Human MicroRNA and Disease Associations. *Plos ONE*. 2008; 3:e3420.
12. Hidalgo C, et al. A Dynamic Network Approach for the Study of Human Phenotypes. *Plos Computational Biology*. 2009; 5 e1000353.
13. van Driel MA, et al. A text-mining analysis of the human phenome. *European Journal of Human Genetics*. 2006; 14:535–542.
14. Edwards YJ, et al. Identifying consensus disease pathways in Parkinson's disease using an integrative systems biology approach. *PLoS One*. 2011 Feb 22; 6(2):e16917.
15. Gao S, Wang X. Predicting Type 1 Diabetes Candidate Genes using Human Protein-Protein Interaction Networks. *J Comput Sci Syst Biol*. 2009 Apr 1; 2:133.
16. Menon R, Farina C. Shared molecular and functional frameworks among five complex human disorders: a comparative study on interactomes linked to susceptibility genes. *PLoS One*. 2011 Apr 21; 6(4):e18660.
17. Binder CJ, et al. (2004) IL-5 links adaptive and natural immunity specific for epitopes of oxidized LDL and protects from atherosclerosis. *J Clin Invest* 114: 427–437.
18. Taleb S, Tedgui A, Mallat Z (2010) Adaptive T cell immune responses and atherogenesis. *Curr Opin Pharmacol* 10: 197–202.)

14.13. A fejezethez tartozó kérdések

1. Mi az a rendszerbiológia?
2. Hogyan nevezzük angolul a rendszerbiológiát?
3. Milyen formában ábrázoljuk rendszerbiológiában a kölcsönhatásokat?
4. Milyen részei vannak egy interakciós hálózatnak?
5. Mondjon példát a csomópontokra és élekre egy biológiai hálózatban!
6. Kik a modern hálózatelméletek megalkotói?
7. Mit jelent az, hogy hálózat skálafüggetlen?
8. Milyen típusú hálózatok általában a biológiai hálózatok?
9. Hogyan hívjuk a hálózatok kiemelkedően sok kapcsolattal rendelkező csomópontjait?
10. Mik azok a metabolikus hálózatok?
11. Hálózatelméleti alapon mi jellemző a betegséggénekre?
12. Fehérjehálózatokban mi jellemző a hub fehérjéket kódoló génekre?
13. Melyik adatbázist használták fel a betegséggének hálózatának feltérképezésére?
14. Hálózatelméleti szempontból hogyan alakul ki egy betegség?
15. Milyen típusú perturbációkat ismer biológiai hálózatokban, és milyen következményei lehetnek?
16. Mi az a betegségtérkép, és mit tudhatunk meg belőle?
17. Milyen betegségeknek vannak nagyobb valószínűséggel közös génjeik?
18. Milyen következményei lehetnek, ha két betegségnek közös génjei vannak?
19. Mi az a fenotípus betegséghálózat és milyen következményeket lehet levonni belőle?

20. Például melyik adatbázis segítségével lehet anyagcsereútvonal-feldúsítást (*pathway enrichment*) végezni?
21. Hogyan találtak rendszerbiológiai módszerrel új T1DM géneket, és hogyan mutatták ki, hogy ezek nagy valószínűséggel betegséggének?
22. A vizsgált betegségek közül melyik betegségnek volt a legerősebb kapcsolata Alzheimer-kórral 5 betegség GWAS-eredményeinek elemzésénél?
23. Mi jellemző a palliatív gyógyszerekre?
24. Milyen kapcsolatot tártak fel az IL-5 szint, a CAD és az asztma között, és ebből milyen következtetést lehet levonni?
25. Milyen stratégiát lehet követni a racionális gyógyszerkutatásban?

15. A genetikai kutatás bioetikai, kutatásetikai kérdései

A genetikai kutatások az elmúlt évtizedekben alapvető átalakuláson mentek keresztül. Ez az átalakulás maga után vonja valamennyi, vele összefüggő alkalmazási terület alapvető módosulását is. A genetikai kutatás nem pusztán megismerő, kognitív, vagy meghatározott szektorokat érintő tudományos-technológiai aktivitás, hanem társadalmat formáló „kulturális” tevékenység is.

Eredményessége, hatékonysága, kockázatai és perspektívái összefüggnek a társadalmi környezet értékeivel, normáival, kommunikációs képességeivel, műveltségével. Pragmatikus megközelítéssel ez szükségessé teszi azt, hogy tervszerűen foglalkozzunk a genetikai kutatáshoz és az eredmények gyakorlati alkalmazásához szükséges támogató és befogadó társadalmi és politikai környezet kialakításával és fenntartásával. Az átfogó, sokrétű, hosszú távú és előre nem látott hatások miatt azonban a pragmatikus megközelítést lényegesen meghaladó elemzésekre, társadalmi párbeszédre és a tanulságok következetes levonására is szükség van.

15.1. Előzmények

Az elmúlt évtizedekben rohamosan bővültek genetikai ismereteink. Ezt elsődlegesen a korszerű orvosbiológia fejlődése hozta magával, amit azonban jelentősen felgyorsított az USA és a brit kormányzat támogatása, amit a „*Human Genome Project*” és kapcsolódó programjai működtetéséhez nyújt. A program az eredetileg tervezettnél sokkal gyorsabban teljesítette első szakaszának fő célkitűzését, nevezetesen az emberi génállomány – genom – molekuláris szintű leírását. Ez több tényezőnek volt köszönhető:

1. A program vezetőinek sikerült folyamatosan fenntartani a program közpolitikai és közigazgatási támogatását, és a média segítségével a társadalmi támogatását is. A fel-fellángoló viták ellenére a többség nem vonta kétségbe, hogy helyes elsőbbséget adni ennek a programnak, mert hosszú távon ebből származhat a legtöbb előny a legtöbb ember számára, s mindez elfogadható, kezelhető kockázatokkal jár.
2. A fenti támogatással a program vezetőinek sikerült az érintett valamennyi szakterület kiváló és motivált művelőit, kutatócsoportokat és fejlesztőteameket, megfelelő intézményi háttérrel, jól szervezeten, fokozatosan kibővülő nemzetközi együttműködés kialakításával hatékonyan működtetni.
3. A program előre nem látott hasadása és az üzleti nyereséget eredményező, hasznosítást előtérbe helyező „kihívó” fellépése, végső soron nemhogy veszélyeztette volna az eredetileg kitűzött célok elérését, hanem a kiváltott versengéssel egyértelműen felgyorsította a programot. Ez a közérdekű mellé beillesztette a magán-

érdekű megközelítéssel járó sajátosságokat, ami jelentős magánforrások bevonásával és további szereplők, célok, távlatok megjelenésével járt.

4. Az emberi civilizáció jelen állapota különösen kedvez az orvosbiológiai és a technológiai megközelítések összekapcsolódásának. A biotechnológia, az információs technológia és más új technológiák (pl. nanotechnológia) szinergikus működése az orvosbiológiai kutatási módszertan és eszköztár óriási fejlődését indította el, és tartja fenn.

A genetikai kutatásokra épülő alkalmazások elterjesztése mára minden olyan ország számára kiemelt jelentőségű, amely lakosságának elfogadható életminőséget törekszik biztosítani és saját gazdaságot, kulturális szférát fenntarthatóan kíván működtetni. Nagy feladat azonban a gyakorlati alkalmazások nemkívánatos velejáróinak kiküszöbölése, ami mindenekelőtt az etikai elfogadhatóság biztosítását jelenti. Ennek eszközei lehetnek például az általános és a szakmai oktatás, képzés, a szakmai, etikai és jogi szabályozás és betartásuk ösztönzése, az etikai bizottságok, a hatósági tevékenység (engedélyezés, ellenőrzés), a szakmai szervezetek autonóm szerepvállalása és a társadalmi párbeszéd.

A jelenleg jellemző helyzet várhatóan még jó ideig érvényes marad. Ezt a tudományfejlődés mellett a társadalmi szükségletek és elvárások, a meghatározó geopolitikai folyamatok, gazdasági, politikai és kulturális trendek is előrevetítik. Mindezt különféle – politikai, gazdasági, társadalmi – válságok átmenetileg megzavarhatják, de meg nem hiúsítják.

A genetikai kutatás eredményeinek egyik elsődleges alkalmazási területe az emberi kórismezés és gyógyítás. A bekövetkezett fejlődés hatására megváltozik a klinikai orvosi szemlélet és gyakorlat. Ennek súlypontja a tünetekkel jelentkező beteg kezeléséről fokozatosan a tünetmentes állapot idején folytatott diagnosztikai tevékenységre alapozott megelőzésre és a személyre szabottan tervezett és végrehajtott orvosi beavatkozásokra helyeződik át.

15.2. A genetikai kutatás etikai kihívást hordozó területei, a „határok” kérdése

A tudományban nagyon fontosak a határok ismerete. Sőt egy tudományt az tesz tudománnyá, hogy ismeri a határait. Nem akar olyan következtetéseket levonni, amire nincs feljogosítva. A lét és a nemlét kérdésére másként válaszol a filozófia, a teológia és másként a biológia. Az élet keletkezésének csodájára mai ismereteink szerint nincsen kielégítő tudományos válasz. Vannak hipotézisek, feltételezések, de nincsenek mindent eldöntő bizonyítékok. A materiával foglalkozó tudós, legyen az az agy, az elme, a DNS szakértője, nem adhat választ az élet „miért”-jének a kérdésére. Akármilyen elmélyült a saját szakmájában, senki nem állíthatja, hogy a DNS a világ ura, és mindent a DNS vakvéletlene dönt el. Ezt a sorok írói vulgármaterialista „határsértésként” értelmezik. (A másik határsértés a „vulgárteológia”, amely fundamentalista módon értelmezve a hitvallások iratait – pl. a Bibliát –, annak szavait kéri számon, az amúgy teljesen más kérdésre válaszoló kinyilatkoztatás állításain és modelljein.)

A genomikai, proteomikai, metabolomikai és bioinformatikai megközelítést is integráló rendszerbiológiai szemléletű humángenetikai kutatás, kezdve hagyományos terepén, a mendeli öröklésmentű betegségek kutatásán, magában foglalja a gyakori betegségek kockázati tényezőinek kutatását, a személyre szabott diagnosztikát és terápiát

célzó farmakogenomikát, s vállalkozik a nagy populációkban kimutatható normál és kóros genetikai variációk vizsgálatára és feltérképezésére is.

A genetikai kutatás, a biotechnológia és a (bio)informatika párhuzamos fejlődése óriási mennyiségű adat gyűjtését, rögzítését, raktározását, feldolgozását, elemzését teszi, tette lehetővé. Nagy értéket jelentenek a különféle forrásokból származó genetikai információk, amelyek elérhetősége, minősége, hozzáférési és felhasználási lehetősége nélkülözhetetlen a továbblépéshez. Nagyon sokféle genetikai adatbank, biobank jött létre az elmúlt évtizedekben. Mind a kutatásnak, mind a társadalomnak az az érdeke, hogy ezt a hatalmas információs potenciált optimálisan ki lehessen használni a kutatásra és az alkalmazások kifejlesztésére, egészségfejlesztési, klinikai és gazdasági hasznosítására.

Máris óriási fejlődés tapasztalható az öröklődő monogénes eredetű megbetegedések kimutatására szolgáló, könnyen alkalmazható, viszonylag olcsó tesztek kifejlesztésében és alkalmazhatóvá tételében, a kapcsolódó morbiditás és mortalitás valószínűségének előre jelzésében. Ugyanakkor nem következett be áttörés e betegségek kezelésében, amit a génterápiás eljárások fejlődésétől vártunk. Ez a helyzet nagyon komoly etikai problémákat vet fel, amit tovább bonyolít az, hogy az internetes kereskedelmi forgalomban bárki számára, személyes döntése függvényében, könnyen elérhetőek a géndiagnosztikai tesztek. Ennek kapcsán fontos feladat a társadalom legszélesebb rétegeinek egészségügyi és ezen belül a genetikai ismereteinek a növelése és a genetikai tanácsadás elérhetőségének a biztosítása.

Egyes genetikai adottságok öröklődése nemcsak családi, hanem etnikai, raciólis összefüggéssel is rendelkezik, amit a halmazódásuk jelez a meghatározott társadalmi csoportokban. Ez együtt járhat a társadalmi stigmatizáció, a diszkrimináció, a kirekesztés jelenségeivel.

Fontos genetikai kutatási irány a gyakori, nem fertőző krónikus betegségek – magas vérnyomás, rákok, diabétesz, neuropszichiátriai megbetegedések stb. – vizsgálata. Ez nagyon komplex feladat, mivel többségükben a genetikai tényező mellett környezeti, társadalmi, gazdasági, kulturális és egyéb más tényezők kölcsönhatása eredményezi a kórképet. Kutatásuk komoly kutatásetikai problémát jelent, hiszen az előrelépéshez interdiszciplináris együttműködésre van szükség, amiben meg kell haladni a hagyományos orvosbiológiai kutatási paradigma kereteit, tiszteletben tartva az emberen végzett kutatás etikai elveit és normáit.

A farmakogenomikai kutatások célja a genetikai változatok (polimorfizmusok) szerepének tisztázása a gyógyszeres kezelésekre adott válaszok (pl. toxicitás, hatásosság, adagolás) egyéni eltéréseiben és a genetikai változatosság feltárásával különböző nagyságú populációk jellemzése epidemiológiai vizsgálatok segítségével.

A sokat ígérő populációgenetikai kutatások is számos etikai kihívást hordoznak. Számos, populáción belüli genetikai variációkat feltérképező vizsgálat van, ami nem irányul meghatározott orvosbiológiai adat, információ megszerzésére, hanem fő célja kódolt, kétszeresen kódolt vagy anonimizált DNS-minták és a hozzá kapcsolható adatok felhasználása.

A korszerű molekuláris biológia, genetika, illetve mindinkább a genomikai tudomány három, alapvetően kapcsolt, de megkülönböztetendő területen jelentett áttörést a biológiában (így az orvosi biológiában is). Ezek a biotechnológia, a géndiagnosztika illetve a génterápia. Mindhárom aspektusa a molekuláris biológiának jelentős etikai kérdéseket vet fel.

A **biotechnológia** új vegyületek, hatóanyagok, gyógyszerek létrehozását jelenti. Ezzel egyrészt eddig igen drága, illetve nem elégséges hatású gyógyszerek válnak olcsób-

bá és hatékonyabbá. Ugyanakkor tudnunk kell, hogy ezzel egyidejűleg – hiszen nagyon hasonló a technológia – a kábítószeres előállítás is könnyebbé és sajnos elérhetőbbé válik. A növényi és állati biotechnológia alkalmas genetikailag módosított szervezetek (GMO = *Genetically Modified Organisms*) létrehozására, amely egyrészt segíthet az élelmiszer-termelés mennyiségi és minőségi javításában, másrészt viszont azt felelőtlenül, kontrollálatlanul használva, és elmulasztva a konszenzuson és a nyilvánosságon alapuló nemzetközi ellenőrzést, egészségügyi és ökológiai (akár a bioszférát is károsan befolyásoló) károkat is okozhat. Szomorú, hogy az elüzletiesedett világ megtalálja mindkét oldalon a maga hasznát. Egyértelmű, hogy a biotechnológia sem vonhatja ki magát a közgazdasági törvényszerűségek alól, tehát a kérdés megközelítése komplex áttekintést igényel.

A **géndiagnosztika** fejlődése is lenyűgöző. Napjaink génamplifikációs (génsokszorozó) technikái, akár egyetlen hajszálból (aminek végén néhány száz sejtből álló hajhagyma van) teljes genetikai identifikációt, azonosítást képesek elvégezni. Az egyre kifinomultabb technikák (gén-chipek, mikrogyöngyök, automata DNS-szekvenátorok) gyorsan és nagy pontossággal képesek genetikai kérdésekre válaszolni. Ezzel genetikai eredetű betegségek, fertőzések (ez utóbbi pl. a vérátömlesztésnél döntő jelentőségű) azonosítása és ellenőrzése lehetséges. A kriminalisztika és az igazságügy egyéb ágazatai (pl. apasági ügyek) is hasznot húznak ezekből a tudományos eljárásokból. Ma már, a genomika korszakában, egyre több génváltozat, illetve génkifejeződési mintázat egyidejű birtokában a géndiagnosztika még pontosabb és árnyaltabb lehet. Sokat jelent egy új tudomány, a bioinformatika is. A számítógépek hálózata „*in silicio*” munkát tesz lehetővé: a biológus, mint egy levéltárban, a DNS-adatbankokban kutatva, a számítógép képernyőjén is végezhet korszerű, hasznos kutatást. Azt mondhatjuk, hogy az „egyes hangszerek szólamai” (azaz az egyes gének) mellett már „nagy zenekarok összhangzata” (= akár több ezer gén mintázata, biológiai útvonalak információtartalma) is értékelhető lesz. Egyre több a valós lehetőség prediktív, előremutató genetikai „jóslatokra”, egyes betegségek kimenetelére (pl. a daganat áttételének lehetőségét illetően), gyógyszerek mellékhatásának előre történő felmérésében. Ez utóbbi lehetőség hatalmas haszonnal (nem vagy nemcsak anyagi, hanem a kezelési „vargabetűket” kikerülő egészségügyi haszonnal) jár. Új, személyre szabott védőoltások kifejlesztése indult el az immun-genomika területén. Nyilvánvaló azonban, hogy az egyre gyorsabb, teljesebb genetikai diagnosztika sosem látott új jogi (munkajog, biztosítás), etikai („tulajdonságok”, a szó soros értelmében: „előítéletek”) sokaságával szembeállítja a szakembert és a géndiagnosztika alanyát.

Különösen nehézé vált az orvos helyzete abban, hogy mikor és mit mondjon el betegének. Hiába hangsúlyozza az orvos, és kell is hangsúlyoznia tudásunk esetlegességét, ha a beteg ember vagy annak hozzátartozója követeli, hogy a tudomány aznapi állása szerint tudjon a veszélyekről és az esélyekről. Nő a rendelkezésre álló adattömeg, a nemzetközi adatbankok hozzáférhetősége exponenciálisan javul. Ennek jó oldalai mellett látni kell a nem megfelelően értelmezett „génhírek” hordalékának veszélyét. A legfontosabb a biológiai tudományokra való nevelés, tanítás korszerűsítése lenne, illetve a józan, becsületes, őszinte ismeretterjesztés, ám erre az egyre piacközpontúbb tájékoztatóipar egyre inkább szűkülő teret enged, bár nagyon biztató tendenciák is érzékelhetők (pl. „Mindentudás Egyeteme”). A genetikus szemlétének egyik legalapvetőbb tulajdonsága az, hogy a genetika mindig valószínűséget jelent, erre utal. Mégis, ezt tudva és hangsúlyozva is, napról napra új, és etikailag néha nagyon nehéz helyzetek állnak elő.

Talán még több gondot vet fel a **génterápia**, a gének manipulációjának kérdése. Génterápián különböző szervezetekben vagy emberi sejtekben történő génátvitelt (DNS-

szakasz) értünk, amelynek hatására valamely betegség megelőzhető vagy gyógyítható. Bár még több kudarc van ezen a téren, mint jól igazolható siker, mégis a gyógyítás csábító ígérete újra és újra háttérbe szorítja a jogos, óvatosságra és józan mértéktartásra intő tudományos szkepticizmust. Bár az is igaz, hogy egyre több sikeres génjavító technika létezik (ebben a genomika, az emberi géntérkép egyre pontosabb ismerete is sok segítséget nyújt), mégis még mindig távol vagyunk a géngyógyítás igazi sikereitől. Elég sokat ront a reális kép megrajzolásán a tömegmédiá kommersz szenzációkeresése, az írott és elektronikus „bulvárszience”, a „szappantudományosság”. Remélhetően a vonzó, tartalmas ismeretterjesztés új teret nyer ezen a területen is.

Reálisan tekintve ma szinte teljes az egyetértés abban, hogy amennyiben technikai akadály nincs, gyógyítani lehet és szabad (talán ide tartozik a betegségmegelőzés is) a genetika eszközeivel, de képességeket javítani nem. Meg kell azonban jegyezni, hogy a két fogalom közötti határok világos elválasztása (és elválaszthatósága) számos problémát vet fel. Mindenesetre, talán szerencsére, a tudományos redukcionizmus túlzásai ellenére ma már elég világosan látszik, hogy genetikai módszerekkel az agyi-pszichikus-érzelmi intelligencia folyamatait nem lehet magyarázni és nem lehet azokba beleszólni (illetve nem jobban, mint egy-egy kémiai-farmakológiai hatással).

15.3. A biobankok

A **biobankok** az élőlények testéből eltávolított biológia minták (szerv, szövet, sejt, DNS stb.) összegyűjtését, megfelelő körülmények közötti tárolásának, megőrzésének és adatvédelmének feladatait látják el. A biobank általános értelmű szó. Az egyes biobankok megkülönböztethetők egymástól aszerint, hogy milyen élőlényből (ember-, kutya-, búza-, élesztő-biobank stb.) vagy az adott élőlény szövetéből (emberivér-, embe- rivedaganat-, emberi-DNS-biobank stb.) származó mintákat tárolnak.

A DNS-biobankok (genetikai-biobank) olyan gyűjtemények, amelyek nem szerveket, szöveteket, hanem az adott élőlény genetikai információját (genomi DNS-ét) tárolják.

A biobankok azonban többek egyszerű gyűjteménynél. Minden egyes tárolt biológiai mintához tartozik egy adathalmaz, amely a biológiai mintát adó élőlényt jellemzi. Külön jogszabályok vonatkoznak az eltérő élőlényekből származó, biológiai mintát gyűjtő biobankokra. Érthetően leginkább az emberi biobankokat szabályozzák.

Az emberi biobankoknál minden egyes biológiai mintáról lehet tudni, hogy kié. Az emberi biobankok részletes klinikai (orvosi) adatokat tartalmaznak, ha az illető személyhez betegség is tartozik vagy tartozott. A biológiai mintát adó személynek minden esetben alá kell írnia egy tájékoztató (a biobankról, a biológiai mintavétel módjáról, az esetleges mintavétellel járó mellékhatásokról információt adó lap) és egy beleegyező nyilatkozatot. A biológiai mintát adó ember személyi adatait és esetleges klinikai adatait papíralapon vagy elektronikus formában adatvédelmi szempontból, törvény által kodifikált módon, biztonságosan tárolják a biobankban.

Az emberi biobankokban szigorúan anonim módon tárolják a biológiai mintákat. Minden egyes személyből származó biológiai minta kap egy nyilvántartási számot, amely alapján rendszerezik őket. A biológiai minta tartóján nem lehet feltüntetni olyan adatot (név, születési év vagy lakcím), amelyből egyszerűen ki lehetne következtetni a személyazonosságot. A biológiai mintákhoz tartozó nyilvántartási számok, valamint a személyi és klinikai adatok elektronikus formában kerülnek összerendezésre. Az elektronikus adattárolás szigorúan szabályozott, megfelelő védelmi sávokkal rendelkezik annak érdekében, hogy az adatok ne kerüljenek illetéktelen kezekbe. Egyes esetek-

ben az anonimizálás végleges (pl. nagy populációk genetikai jellemzése esetén), tehát soha senki nem lesz képes már a biológiai mintát egy donor individuumához kötni. Gyakoribb azonban a pszeudomizálás, ahol kóddal, esetleg többszörös kóddal védett a donor személyazonossága, és azt csakis a hippokrátészi eskü hatálya alatt álló orvos ismerheti meg, akkor is csak a gyógyítás érdekében.

A betegségek és sok egyéb biológiai folyamat tudományos tanulmányozásához elengedhetetlen a nagyszámú biológiai minta (pl. ritka, de nagy hatású allélok vizsgálata esetén). Ha a kutatások elindulásakor kezdődik csak a biológiai minta gyűjtése (a betegek behívása, biobankok felépítése stb.), akkor a kutatás lelassul, mert hónapok, évek szükségesek a megfelelő számú (néhány száz vagy ezer) minta összegyűjtéséhez. A gondosan létrehozott, gyakran nemzetközi biobankok felgyorsítják a kutatásokat, mert a vizsgálat kezdetekor rendelkezésre áll a megfelelő számú, megfelelő háttéradattal (pl. klinikai adatokkal) ellátott biológiai minta.

A tudományos kutatásokhoz csak külön etikai engedéllyel rendelkező biobankokat lehet használni. Ebben az esetben ugyanis a biológiai mintákon tervezett vizsgálatok nem tartoznak a szorosan vett gyógyítási célú vizsgálatok közé.

A biobankok speciális típusai a vérbankok, ahol az önkéntesek (donorok) által adományozott vért gyűjtik, és műtéteknél használják fel őket; a szövetbankok, amelyeket szövetátültetésnél használnak fel (pl. szaruhártyabankok szaruhártya-átültetésekhez). Ezekre a biobankokra jellemző, hogy viszonylag rövid ideig tárolják a szöveteket, mert a sejtek életképessége véges. A laboratóriumi diagnosztikai vizsgálatokhoz vett biológiai mintákat is biobankokban tárolják, ahol a vizsgálat elvégzése után (diagnózis felállítása után) meg kell semmisíteni a tanulmányozott mintát, amely törvényileg szintén szigorúan szabályozott.

15.4. Néhány általános etikai vonatkozású kérdés

Mint általában, a genetikai kutatásban részt vevő kutatók is igénylik a megismerés, a kutatás szabadságát, amit csak indokolt esetben és átláthatóan, kiszámíthatóan korlátoznak szabályok, intézmények. A kutatóközösség általában elfogadja azokat a korlátozásokat, amelyek az emberi élet értékével, a kutatási alanyok emberi méltóságával függenek össze. Érzékeny területet jelent azonban azoknak a területeknek a kezelése, ahol nem érhető el társadalmi konszenzus, mint például az emberi élet kezdete, az embrió és a magzat etikai státusza és az ebből fakadó kutatási lehetőségek, mint például az embriókutatás, az őssejtek nyerése, és kutatási célú felhasználása, de éles viták lehetnek az állatkísérletekkel kapcsolatban is. Mind a kutatók, mind a társadalom megosztottak ezekben a kérdésekben, amit nagyon nehéz áthidalni. A szükséges közbizalom biztosításának eszköze ilyenkor a meg-megújuló társadalmi párbeszéd, és a kutatóknak vállalniuk kell a nyilvánossággal járó terheket.

A másik általános etikai vonatkozású probléma a kutatási terület és a kutatási témák kiválasztása. Közismert, hogy a kutatásra szánt források elsődlegesen a fejlett országokra jellemző problémák megoldására koncentrálnak, és a Föld lakosságának túlnyomó többségét kitevő, fejlődésben elmaradt országok prioritásaira jóval kevesebb forrás és kutatói figyelem irányul. Ugyanakkor előfordul az is, hogy a fejlett országokban etikai okokból nem folytatható kutatásokat engedékenyebb és anyagilag rászorultabb országokban valósítják meg.

A különféle genetikai kutatási területek, az alkalmazott módszerek sok hagyományos kutatásetikai kérdést vetnek fel. Ezeket a második világháborút követően fokozatosan

kialakult kutatásetikai normák (pl. Nürnbergi Kódex, Helsinki Deklaráció, Belmont Report, CIOMS, ENSZ, UNESCO, Európa Tanács dokumentumai, nemzeti és nemzetközi jog) alapján, az alkalmazásukra szolgáló intézmények (kutatóhelyek, etikai bizottságok, tudományos tanácsok, nemzeti és nemzetközi szakmai és politikai szervezetek, hatóságok, ügynökségek) jól tudnak kezelni.

15.5. A genetikai kutatásokra specifikus bioetikai és kutatásetikai kérdések

A genetikai kutatásokkal összefüggésben számos etikai kérdés újszerűen, korábban nem ismert összefüggésben jelentkezik, amelyeket nem lehet a „hagyományos” módon megválaszolni.

Az egyik ilyen kiemelt kérdéskör az előzetes tájékoztatáson alapuló beleegyezés. Ez egy sereg megoldandó elvi és gyakorlati problémát vet fel a **biobankok, biokönyvtárak, genetikai információ forrásául szolgáló mintagyűjtemények** nyújtotta lehetőségek tudományos célú kiaknázása kapcsán.

A másik fontos kérdéskör a genetikai információk tulajdonjoga, a velük kapcsolatos rendelkezési jog és a kereskedelmi forgalmazás hasznából való részesedés.

15.6. A genetikai eredetű információk kereskedelmi hasznosításának etikai kérdései

A nem humán biotechnológiai felfedezések kapcsán korábban már kialakult a bioinnovációs eredmények szellemi tulajdonként kezelése, a szabadalmi védettség nyújtotta előnyök, a gazdasági és kereskedelmi lehetőségek kiaknázása, kialakult az élő anyag piaca. Mindez önmagában is nagyon komoly etikai kérdéseket vetett fel és máig tartó vitákat gerjesztett. Különösen nagy kihívást jelentenek ezek a kérdések az emberi génállománnyal összefüggésben.

Széles körben elfogadott az az elv, amit a vonatkozó nemzetközi jog is alátámaszt, hogy az emberi genom az emberiség közös öröksége, tulajdona, és a genetikai kutatások eredményei tudományos bizonyítékát adják a ma élő emberek közös eredetének, összetartozásának. Ennek alapján csak közös érdeket szolgáló, közhasznú célra lehetne kiaknázni a kutatási eredményeket, és a hozzáférést is korlátlanul biztosítani kell hozzájuk. Nagyon nehéz azonban ezeknek a nemes elveknek az átültetése a gyakorlatba. Olyan rendszert kell kialakítani, ami ezeken a közös értékeken alapul és közös érdekeket szolgál, de biztosítja azokat az előnyöket is, amit a személyes motivációk (tudományos megismerés, ambíció) és a gazdasági eredményesség (megtérülés, hatékonyság) révén lehet elérni. Ugyancsak nagyon fontos, hogy a rendszer igazságos legyen: mindenki részesüljön az eredményekből és a hasznokból, aki azokhoz hozzájárult.

A bioinnovációs rendszert mindenekelőtt a normái határozzák meg, amelyek a gyakorlat hatására értékekből elvek segítségével vezethetők le. Mindezek mélyen gyökereznek abban a társadalomban, kultúrában, amelynek politikai és szakmai intézményrendszere megalkotja őket.

15.7. A genetikai kutatás, a biobankok, adatok kezelésének etikai és jogi szabályozása

A genetikai kutatás és az alkalmazások előzőekben bemutatott fejlődése magával hozta a szakmai-etikai szabályozás iránti igényt. Különböző normák, nyilatkozatok, irányelvek, szabályok, s hamarosan nemzeti és nemzetközi jogi dokumentumok, szerződések születtek. Az elmúlt húsz évben nagyon sok ilyen normaszöveg látott napvilágot. Komoly problémát jelent a normák sokféle forrása, gazdája, és az is, hogy nem egységes a nomenklatúrájuk, fogalomkészletük. A cél mindenképpen – a kulturális különbségek figyelembevételével – a globálisan egységes és konzekvens szakmai-etikai szabályozás kialakítása és annak közös karbantartása, érvényesítése. Az is elkedvetlenítő tapasztalat, hogy a konszenzussal megszülető szabályok túl általánosak ahhoz, hogy alkalmazhatóak legyenek. A gyakorlatias normák sok fontos kérdésben csak tervezetek maradnak, mert nem érhető el egyetértés velük kapcsolatban.

Jelentős szakmai alátámasztást adott a normaalkotásnak a *Human Genome Project* ELSI Programja (<http://www.genome.gov/10001618>), amely komoly programokat finanszírozott az etikai, jogi és társadalmi vonatkozások vizsgálatához. Később az Európai Unió is indított hasonló programokat.

A genetikai kutatás etikai elveit részben a Nürnbergi Kódexből, a Helsinki Nyilatkozatból (1964) és ismételt módosításaiból, a *Council for International Organisation of Medical Sciences* (CIOMS) irányelveiből lehet levezetni (<http://www.cioms.ch/>). Számos aspektust vizsgált meg az egészségügyi és élettudományi kérdésekben illetékes Francia Nemzeti Etikai Konzultatív Tanács és az USA Nemzeti Bioetikai Tanácsadó Bizottsága. Állásfoglalásaik fontos útmutatásokat jelentenek, máskor vitákat gerjesztenek. Fontos normaegyeztető fórumot jelentenek a nemzeti bioetikai bizottságok globális csúcstalálkozói.

A nemzetközi etikai és jogi normaalkotás különleges példája az Európai Egyezmény a Biomedicináról és az Emberi Jogokról (Oviedo Egyezmény, 1997), ami minden tartózkodás ellenére megtestesíti az európai konszenzust a genetikai kutatás és az eredmények gyakorlati alkalmazásának alapelveit illetően is. Kiegészítő Jegyzőkönyve tiltja az emberi lények klónozását reprodukciós céllal. A politika is megnyilatkozott, amikor az Európa Parlament 2007. szeptember 7-én határozott a humán embrió terápia, klónozási célú létrehozásának tiltásáról. De számos ország, köztük Magyarország is, ezt korábban már törvényben is megtiltotta.

Az UNESCO Egyetemes Nyilatkozata az Emberi Génállományról és az Emberi Jogokról (1997) ünnepélyes, de csekély gyakorlati segítséget nyújt, de elvezethet a globális konszenzus kialakításáig, hogy a kutatásetikai normákat világszerte tiszteletben tartásuk. Az UNESCO Nemzetközi Nyilatkozatot adott ki az emberi genetikai adatok felhasználásával és védelmével kapcsolatban is. Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) 1998 óta számos határozatot, nemzetközi irányelvtervezetet, jelentést és ajánlást adott közre. Közülük talán a legjelentősebb a genetikai adatbázisokról szóló (2003).

A humán genetikai innováció eredményeinek hasznosításával kapcsolatosan etikai normákat is tartalmaz az Európai Irányelv a Biotechnológiai Találmányok Jogvédelméről (1998) és az Európai Szabadalmi Egyezmény is.

A HUGO állásfoglalása a DNS-mintákról 1998-ban úttörő dokumentum volt, amit a DNS-bankokról szóló Egyesült Királysági *Royal College of Physicians* Etikai Bizottsága ajánlása (2000) követte. Mérföldkövet jelentett a Német Nemzeti Etikai Tanács biobankok a kutatásban című véleménye (2004), illetve az ezt megelőzően kiadott Francia

és Német Nemzeti Etikai Bizottsági közös állásfoglalás a biobankok szabályozásáról (2003). Fontos dokumentum az Európai Humán-genetikai Társaság ajánlása az adattárolásról és a DNS-bankolásról (2001) és az Európa Tanács javaslata a humánbiológiai anyagok orvosi biológiai célú archiválásának szabályozásáról (2003).

A genetikai kutatás, biobank, adatvédelem témában úttörő az ausztrál, a szingapúri, az USA-beli, a francia, a kanadai (Quebec) nemzeti jogalkotás. A magyar humán-genetikai törvény is komoly szakmai közreműködéssel született meg 2008-ban. Külön ki kell emelni az ausztrál és a kanadai jogi reformbizottság nemzeti kereteiket jóval meghaladó hatást kiváltó tevékenységét ezekben a témákban. Jelentős a holland, a német, a francia és az amerikai elnöki etikai bizottság nemzeti és nemzetközi jogalkotást segítő, szorgalmazó tevékenysége is.

A jövő szempontjából különleges szakmai-etikai problémát jelentenek a nemzeti genomikai programok, így az első izlandi egészségügyi adatbázis (az izlandi állam és a deCode nevű gazdasági társaság együttműködésében), az Északi Genom Projekt és Tonga lakossági adatbázisa.

A genetika korszakalkotó jelentőségét a világpolitika is felismerte és tükrözi: az ENSZ Millenniumi Nyilatkozatban (2000) foglalkozik vele, és a G8 csúcstalálkozó is ismételt állást foglalt a témában.

15.8. Konklúzió

Nyilvánvaló, és a genetika, a genomika korszakában tudnunk kell, hogy az emberi tudás sohasem választható el a társadalom egészének szellemi és fizikai történéseitől. Megújulásra és megerősödésként törekvő nemzetünk számos szférájában (gazdaság, jog, etika, hitélet) kell alkalmazkodni tudásunk fejlődésének következményeire. A világosság felé kell haladnunk a tudománytalan sötétséggel szemben. Ez egyértelmű prioritásokat, értékrendet és elkötelezettséget, valamint a személyes felelősség pontos kijelölését is szolgálja.

15.9. Irodalom

- Bernice Elger, Nikola Biller-Andorno, Alexandre Maunon and Alexander M. Capron (ed.): Ethical Issues in Governing Biobanks – Global Perspectives; Ashgate (2008)
- Ferencz Antal, Kosztolányi György, Falus András, Kellermayer Miklós, Somfai Béla, Jelenits István, Hámori Antal: Biogenetika és etika (Sapientia füzetek 4.); Vigília Kiadó (2005)
- The Advisory Committee on Health Research: Genomics and World Health; World Health Organization (2002) Jan Helge Solbakk, Soren Holm, Bjorn Hofmann: The Ethics of Research Biobanking; Springer (2009)

15.10. Fejezethez tartozó kérdések

1. Mik a biobankok működésének alapelvei?
2. Mi a kutatási, egyéni és közösségi jogok összeegyeztethetőségének lehetősége?
3. Miért különleges a genetikai adat?
4. Milyen fokozatai vannak az anonimitásnak a genetikai vizsgálatokban?
5. Mi a GMO-vita lényege?