

GENOMİKS VE İNFEKSİYON HASTALIKLARI

Beyazıt ÇIRAKOĞLU

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İSTANBUL ve TÜBİTAK Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma Enstitüsü, GEBZE

ÖZET

İnfeksiyon hastalıkları, toplumda önemli sağlık sorunlarının başında gelmektedir. Bireylerin infeksiyon hastalıklarından etkilenme düzeyindeki farklılıklar, bu hastalıklara yatkınlık veya dirençte genetiğin önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir. Bu doğrultuda yapılan çalışmalar malarya, tüberküloz gibi hastalıklarda prognoz, yatkınlık ve dirençle hastanın genetik özellikleri arasında bağlantılar olduğunu göstermiştir. İnsan Genomu Projesi ve Genomiks araştırmaları bu çalışmaları daha ileriye taşıyarak insan ve patojen genetik yapısının prognoz ve tedavi üzerindeki etkilerini daha da aydınlatmaktadır.

Anahtar sözcükler: gen polimorfizmi, genomiks, infeksiyon hastalıkları

SUMMARY

Genomics and Infectious Diseases

Infectious diseases are among the leading health problems of the society. The variability of the effect of these diseases on the individuals indicates the important role of the genetics in the susceptibility and resistance to infections. The researches have shown the relation between the prognosis, susceptibility and resistance with the genetic structure of the patient. Human Genome Project and Genomics researchs contribute to the illumination of the effect of the human and bacterial genetics on the prognosis and therapy of infectious diseases.

Key words: gene polymorphism, genomics, infectious diseases

Tarih boyunca insan ölüm ana nedeni infeksiyon hastalıkları olmuştur. Günümüzde de infeksiyon hastalıkları ölüm nedenleri arasında ikinci, işgücü kaybına neden olanlar arasında ilk sırada bulunmaktadır⁽⁶⁾. Bu tür hastalıkların kontrolsüz şekilde yayılmasıyla ortaya çıkan salgınlar kitle ölümlerine neden olmuşlardır. Bu salgınlara son örnek 20. yüzyıl başlarında 20,000,000 insan kaybına neden olan İspanyol gribi salgınıdır⁽¹⁵⁾. Bu salgınlarda aynı yerde ve aynı koşullarda yaşayan bireylerin hastalıktan etkilenme düzeylerindeki farklılıklar dikkati çekmiştir. Bu gözlemin bilimsel temellere oturtulması için akrabalar, tek ve çift yumurta ikizleri ve evlat edinilmiş kişilerle yürütülen araştırmalar polio, tüberküloz gibi hastalıklara direnç ve yatkınlıkta genetik unsurların rol aldığını düşündüren bulgulara ulaşılmasını sağlamıştır⁽¹⁰⁾.

1990'da başlayan ve tarihin en önemli projelerinden biri olan İnsan Genomu Projesinin temel amacı, tüm insan genomunun dizisini ve bütün genlerini belirleyerek bir başvuru kaynağı oluşturmaktır. Bunun yanı sıra diğer organizmaların da genom dizilerini belirleyerek insanınkiyle karşılaştırmak, bunun gerçekleştirilmesi için yeni teknikler geliştirmek ve elde edilecek bilgileri tarım, sağlık, çevre, enerji gibi alanlarda değerlendirmek diğer amaçlardır.

İnsan Genomu Projesinin Nisan 2003'te açıklanan

sonuçları⁽³⁾ insan genomunun 3,164,700,000 nükleotitten oluştuğunu, 30,000 kadar gen içerdiğini ve bu genetik yapının sadece %1.5'luk kısmının protein genlerinden meydana geldiğini ortaya koymuştur. En çok ilgi çeken verilerden biri de insanların % 99.9 oranında genom benzerliğine sahip olduğu ve % 0.1'lik farkın ise tek nükleotid değişikliklerinden (single nucleotide polymorphism-SNP) oluştuğu idi. Bugün yaklaşık 2,500,000 SNP tanımlanmış durumdadır.

Genom araştırmaları ya da bilimi (Genomiks) genlerin yapı ve işlevlerini inceleyen çalışmaları içermektedir. Genomiks kendi içinde yapısal, işlevsel, karşılaştırmalı genomiks gibi dallarda özelleşmekte ve aktif genlerden proteine geçişi sağlayan ana moleküller olan RNA'ları hedefleyen transkriptomiks ve genlerin kodlandıkları proteinleri inceleyen proteomiks çalışmalarına temel oluşturmaktadır.

İnfeksiyon hastalıklarıyla genomiks ilişkisi başlıca iki yönde kurulmaktadır: İnfeksiyöz ajanın genetik yapısını ve özelliklerini araştıran bakteri genomu araştırmaları (bacterial genomics) ve insanların infeksiyonlara karşı direnç veya duyarlılıklarının genetik açıdan irdelenmesi (human genomics). İnfeksiyon hastalıklarının moleküler ve genetik temellerinin araştırılmasında da yukarıda belirtilen alanlarda yapılan çalışmalar önemli katkılar sağlamaktadırlar. BLAST ve benzeri

bilgisayar programlarıyla gen dizileri karşılaştırılarak virülans faktörlerinin tanımlanması gerçekleştirilmekte, patojenik ajanların konakçı organizma ile ilişki modaliteleri incelenmekte ve evrimleri hakkında bilgi sahibi olunmaktadır⁽¹¹⁾.

Ancak bir enfeksiyon hastalığı patogenezinin aydınlatılması için ajanın virülans faktörlerinin bilinmesinin yanı sıra, konakçının enfeksiyona yanıt ve yok etme unsurlarının da bilinmesi önem taşımaktadır. Bu alanda genomik araştırmalarının önemli katkılar sağladığı görülmektedir.

İnsan Genomu Projesine paralel yürütülen projelerden biri olan Bakteri Genomik bakterilerin genom dizilerinin belirlenmesi, genetik incelemelerle patogenezinin anlaşılması gibi amaçlar taşımaktadır. Bu doğrultuda faz varyasyonuna gidebilecek genler tanımlanmakta, virulan genler iyi tanımlanmış bakterilerin virülans faktörlerinin genleriyle dizi karşılaştırmaları yapılarak belirlenmektedir. Protein düzeyinde glikozillenmeler belirlenmekte ve virulan-nonvirulan türler arası dizi farklılıkları karşılaştırılmaktadır. Patogenez çalışmalarında klonlama, dizi analizi gibi yöntemlerin yanı sıra son yıllarda hızla gelişen mikrodemet metodu kullanılmaktadır⁽²⁾. Bu metodla patojen bakterilerin gen ifadesi profilleri saptanmakta ve sadece enfeksiyon sırasında ifade edilen genlerle karşılaştırılarak birlikte düzenlenen virulan genler tanımlanmaktadır.

Mikrodemet metodu anti-mikrobiyal ilaçların tanımlanmasında, aşı geliştirmede ve tanı amaçlı gen ifade profili elde etmede kullanılmaktadır.

Mikrodemet metodundan konakçının normal ve patojen enfeksiyonu koşullarındaki global gen ifadelerinin karşılaştırılmasında yararlanılmaktadır.

Bakterilerde yürütülen genomik çalışmalarının en önemli çıktısı enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde yeni ilaç hedeflerinin bulunması olmaktadır.

Yakın geçmişe kadar antibiyotiklerin sınırlı sayıda kimyasal gruptan üretilmeleri ve dolayısıyla sınırlı sayıda moleküler hedefe yönelik olmaları önemli tedavi sorunlarına yol açmaktaydı. Hızlı proliferasyon genom plastisitesine sahip bakteriler bu tedavi ajanlarına karşı hızla direnç geliştirmekteydiler.

Bakteri genomik araştırmaları yeni antibakteriyel ilaçların geliştirilmesinde büyük yarar sağlamaktadırlar. Bakteride kimyasal genomik çalışmalarında genomda yer alan genlerin ifadeleri mikrodemet metodlarıyla izlenmekte ve genomda türemiş yeni hedefler saptanmaktadır. Bu yeni hedefin yepyeni ve farklı yapıda bir kimyasal ile eşleştirilmesi yeni ilaçların geliştirilmesine yol açmaktadır⁽⁷⁾. Bu doğrultuda “hedef” adayı proteinleri kodlayan genler belirlendikten sonra proteinin işlevi ve önemi “gen susturma” çalışmalarıyla açıklığa kavuşturulmakta ve üç boyutlu yapılarında kritik bölgelere bağlanacak moleküller geliştirilmektedir.

İnfeksiyon hastalıklarında konakçı konumundaki insanın enfeksiyona yanıt ve direnç unsurlarının bilinmesi konusunda genomik araştırmaları önemli katkılar sağlamaktadır. Bağışıklık sistemiyle ilgili genlerin yanı sıra bazı enfeksiyon ajanlarına direnç veya yakınlık sağlayan genetik faktörlerin

tanımlanması, haritalanması⁽¹²⁾, diğer memelilere ait benzer genlerle karşılaştırmaları yoğun şekilde devam etmektedir. Bu alanda etkin yaklaşımlardan biri de farede yapılan modelleme çalışmalarıdır. Bunun için istenen geni kendi genomunda taşıyan transgenik farelerin geliştirilmesi gerekmektedir⁽¹⁶⁾.

Transgenik hayvanların geliştirilmesi için yaygın olarak kullanılan yöntem “mikroenjeksiyon”dur.

Bu yöntemde:

- Erkek farelerle çiftleştikten kısa süre sonra, dişi farelerin döllenmiş yumurta hücreleri alınarak,
- Bu hücrelerde yaşamın ilk hücre (zigotu) oluşturmak üzere henüz bir araya gelmemiş dişi veya erkek ön çekirdeklerden (pronukleus) birine, 1 mikron çaplı bir mikoenjektörle 1 pikolit (1 mililitrenin milyonda biri) hacim içinde, istenen genden 200-400 kopya aktarılmakta,
- Bu genetik değişikliğe uğratılmış hücreler, ilk grupta aynı zamanda steril (kısır) erkek farelerle çiftleştirilmiş ve yumurta hücresi döllenmediği halde hamile özellikleri göstermeye başlayan psödopregnant (sahte hamile) dişi farelerin (taşıyıcı annelere) rahimlerine küçük bir operasyonla yerleştirilmekte,
- 21 gün sonra dünyaya gelen yavruların aktarılan geni taşıyıp taşımadıkları, kuyruklarından alınan kan örneklerinde yapılan testlerle saptanmakta ve
- Gen taşıyan yavrular kendi aralarında çiftleştirilerek, yabancı geni her iki kromozomu üzerinde taşıyan (homozigot) fareler elde edilmektedir.

Bu yöntem bazı değişikliklerle balıktan tavuğa, koyundan sığıra kadar birçok hayvanda uygulanmaktadır. Genetik yapıları insanla benzerlik taşıyan farelerde yapılan çalışmaların, genellikle tıbbi araştırma amaçlı hastalık modellemeye (hastalık yapıcı mutant genler aktarmaya) veya bir genin işlevini veya gen üzerindeki SNP’lerin etkilerini anlamaya yönelik olduğu görülmektedir.

İşlevsel genomik, karşılaştırmalı genomik ve hastalık modelleme çalışmaları bir çok genin enfeksiyonlara yakınlık veya dirençte rol oynadıklarını göstermiştir.

Birçok enfeksiyona yakınlık veya direncin temelinde bağışıklık sistemiyle ilgili genler bulunmaktadır. Özellikle HLA tiplerinin bir çok enfeksiyona yakınlık sağladığı görülmektedir. Örneğin Asya ülkelerinde yürütülen araştırmalar HLA-DR 15 alt tipinin lepranın tüberküloid ve lepramatoz formlarıyla ilişkisini ortaya çıkartmıştır⁽⁸⁾. Başka araştırmalar mikrobiyal hastalıklara direnç veya yakınlıkta MHC dışında tümör nekroz faktörü, collectin, vitamin D reseptörü, γ -interferon reseptörü gibi bir çok genin de etkilerinin olduğunu ortaya koymuştur⁽¹⁴⁾.

Afrika’da yapılan araştırmalar HLA-B53’ün serebral malarya ve ağır malarya anemisine direnç sağladığını göstermiştir^(8,13). Ancak malaryaya dirençte etkin bir gen de ilginç şekilde orak hücre anemisi polimorfizmini taşıyan β -globin genidir. Bu gendeki bir tek nükleotid polimorfizmine (single nucleotide polymorphism-SNP) (A→T) bağlı olarak

ortaya çıkan orak hücre anemisi homozigot bireylerde fatal bir klinik tabloya neden olmaktadır. Bu mutasyon aynı zamanda *P. falciparum*'a karşı direnç sağlamaktadır⁽¹⁷⁾. GGPD genindeki mutasyonlar da benzer bir etkiye sahiptirler^(1,16). Malaryaya dirençle ilgili genler tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1: Malarya direnç-yatkınlık genleri.

Gen	Kromozon	Direnç/Yatkınlık
HLA-B53	6p21-3	D
Orak hücre anemisi	11p15.5	D
α -talasemi	16pter-p13.3	D
β -talasemi	11p15-5	D
Hücre içi adezyon molekülü	19p13.3-13.2	Y
ICAM-1 rinovirüs reseptörü		
G6PD eksikliği	Xq28	D

Hücrede farklı işlevlere sahip bir çok genin de tüberküloz, AIDS yatkınlık ve prognozuyla ilişkileri belirlenmiştir (Tablo 2).

Tablo 2: Tüberküloz ve AIDS ile ilişkili genler.

Hastalık	Gen	Kromozon	Direnç/Yatkınlık
Tüberküloz	HLA-DR2	6q21.3	Y
Tüberküloz	Vitamin D reseptörü	12q12-q14	Y
Tüberküloz	NRAMP-1	2q35	Y
Tüberküloz	IFN- γ reseptörü	6q23-q24	Y
AIDS	CCRS	3p21	D
AIDS	CX3CR1 I-249/M-280haplotipi	3pter-p21	Y
AIDS	TSP-NY	-	D
AIDS	POLE3	9q33	D (aşı)

Bunların dışında aspergilloz ve sitomegalovirüs infeksiyonlarından TNF'nü, interlökinleri (IL-4, IL-8, IL-10, IL-12, IL-15, IL-18), kemokin ve kemokin reseptörlerini (MIP-1, MCP, HCC) kodlayan genlerde veya promotor bölgelerindeki SNP'lerin etkin olduklarına ilişkin bulgular elde edilmektedir⁽⁵⁾.

İlaçların hedefleri olan hücre moleküllerini kodlayan genleri inceleyerek polimorfizmlere göre tedavi yaklaşımlarını araştıran farmakogenomiks, infeksiyon hastalıklarının önlenmesi, tanı ve tedavisinde yeni ve etkin uygulamaların başlamasına yol açmıştır⁽¹³⁾. Farmakogenomikte infeksiyon ajanı ve konakçının gen analizleriyle patojeni, patojenin antijenlerini, antibiyotiklere direncini, konakçının infeksiyona yatkınlığını, tedaviye yanıt düzeyini tanımlayabilmektedirler.

Buna bir örnek olarak şarbon verilebilir. Farelerde *Bacillus anthracis* infeksiyonuna yatkınlıkta veya dirençte 11. kromozom üzerindeki Kif1C geninin etkili olduğu gösterilmiştir⁽⁴⁾. Kif1C, işlevi veziküler ve organeller transport olan bir kinezin motor proteinini kodlamaktadır. Bu genin etkin düzeyde protein üretimi, makrofajların *Bacillus anthracis*'in öldürücü toksinine (LeTx) karşı dirençli hale gelmesine yol açmaktadır.

Bu çalışmanın en önemli açılımı toplumları bir biyolojik silah olan şarbonun öldürücü etkisinden korumak olacağı düşünülmektedir.

Genomiks araştırmalarının sonuçları bilimsel ve sağlık dışında başka amaçlar doğrultusunda da değerlendirilmektedir. Bu bilgilerin yeni biyolojik silahların ve savunma sistemlerinin geliştirilmesinde kullanıldığı bilinmektedir⁽⁹⁾. Antibiyotiklere yüksek düzeyde dirençli bakteriler, tümüyle sentetik yeni virüslerin yakın geleceğin yeni silahları veya biyoterörizm araçları olacağından endişe duyulmaktadır. Ancak buna paralel olarak yeni savunma yöntemlerinin de yine Genomiks'ten destek alarak geliştirileceğini de kaydetmek gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Allen SJ, O'Donnell A, Alexander N D: Alpha-thalassemia protects children against disease caused by other infection as well as malaria, PNAS 1997;94:14736-41.
- Butte A: The use and analysis of microarray data, Nature Rev 2002; 1:951-60.
- Collins FS, Green ED, Guttacher AE, Guyer MS: A vision for the future of genomics research, Nature 2003;422:835-47.
- Dietrich WF: Genetic analysis of susceptibility to infectious disease, 2002; www.hhmi.org/research/investigators/dietr.html.
- Einsele H: Tübingen www.ngfn.de/nefn_en/inf_tueb.html.
- Fauci AS: Infectious diseases : Considerations for the 21st century, Clin Infect Dis 2001;32:675-85.
- Hayney MS: Pharmacogenomics and infectious diseases, Am J Health-Syst Pharm 2002;59:1626-31.
- Hill AVS: Genetics and genomics of infectious disease susceptibility, Brit Med Bull 1999;55:401-13.
- Ho MW: G.M. and bio-weapons in the post-genomics era, ISIS Report 30.4.2002.
- Human Genome News 2002;12 (1-2):19-20.
- Katoh M: Genome-wide search of human genes implicated in WNT signalling pathway using bioinformatics, Genome Informatics 2002; 13:367-8.
- Kole C, Williams PH, Rimmer SR, Osborn TC: Linkage mapping of genes controlling resistance to white rust (*Albugo candida*) in Brassica rapa and comparative mapping to Brassica napus and Arabidopsis thaliana, Genome 2002;45:22-7.
- Loferer H, Jacobi A, Posch A et al: Drug Discovery Today 2000;5: 107-14.
- Qureshi ST, Skamene E, Malo D: Comparative genomics and host resistance against infectious diseases, Emerg Infect Dis 1999;5:36-47.
- Reid AH, Fanning TG, Hultin JV, Taubenberger ÖK: Original evaluation of the 1918 "Spanish" influenza virus hemagglutinin gene, PNAS 1999; 96:1651-6.
- Ryding ADS, Sharp MGF, Mullins JJ: Conditional transgenic technologies, J Endocrinol 2001;171:1-14.
- Willcox M, Björman A, Brohult J, Pehrson PO et al: A case-control study in northern Liberia of Plasmodium falciparum malaria in hemoglobin S and beta thalassemia traits, Ann Trop Med Parasitol 1983;77:239-246.