

Genetikai hajlamossító tényezők az asthma pathogenezisében

dr. Raskó István

MTA Szegedi Biológiai Központ, Szeged

Korunk orvostudománya néhány éve még hihetetlennek tűnő lehetőséget kapott a molekuláris genetika, rekombináns géntechnológia eredményei révén. Az antibiotikumok felfedezése és alkalmazása óta nem volt még olyan általános jelentőségű és nagy horderejű felfedezés, amely hasonló forradalmi változást és perspektívát jelentett volna. Valódi paradigmaváltás zajlik le, átformálódik a feltett kérdések köre és mélysége, felgyorsul az alkalmazás lehetősége. Új típusú diagnosztikai megközelítések, új terápiás targetek megismerése, új, oki, gyógyítási módok, a personalizált medicina megjelenése azok a jellegzetességek, amelyek a 21. századi trendeket megiszabják.

A genetika egyik klasszikus paradigmája a "veleszületett metabolizmus hibái" fogalma. Alapja a mutációt szenvedett gén által termelt "hibás" termék, amely végül a betegség tüneteit okozza. A környezet ugyan van valamilyen hatással a tünetekre, de a génhiba az elsődleges és elégséges kiváltó ok. Ez az oki összefüggés alkalmazható a születések 1.25%-ra, ahol olyan klasszikus mendeli rendellenesség fordul elő, mint a cysticus fibrózis, Duchenne izomsorvadás, vagy a sarlósejtes anaemia. Ezek a betegségek azonban még sikeres gyógyításuk esetén is csak minimális kihatással vannak a népesség egészségére. A legtöbb gyakori betegség aetiológiájában, mint a diabetes, asthma, hipertensió, szív-érrendszeri betegségek, pszichiátriai kórképek, genetikai komponens is szerepel. Ez azt is jelenti, hogy az emberiség kb 60-65%-a **részben genetikai eredetű** betegségben hal meg. A "veleszületett metabolizmus hibái" paradigma ezekre a betegségekre nem alkalmazható. Itt a betegség kialakulása a környezet és a génműködés interakciójának az eredménye.

Ahhoz, hogy ezt az új koncepciót megvilágítsuk, óhatatlanul vissza kell tekintenünk a genetikai kutatás két fő ágának kialakulási történetére. A **kvantitatív genetika** és a **molekuláris genetika** a biológia történetének két meghatározó eseményéből eredeztethető.

1859-ben Darwinnak a *Fajok eredete* c. műve inspirálta unokaöccsét, Francis Galtont, hogy az emberi viselkedés tanulmányozásában vegye figyelembe az öröklődést is. Ez vezette el Galtont a kvantitatív genetikai módszerek, a családi hasonlóság statisztikai értékelése, az ikervizsgálatok alkalmazásához. (Darwinnak és Galtonnak egyébként fogalmuk sem volt arról, hogy az öröklődésnek mik a szabályai, mert bár Darwin megkapta egy különös morva szerzetes kéziratát, aki 1866-ban a kolostor kertjében borsóval végzett kísérletei eredményét írta le, azonban azt soha sem olvasta el).

A mendeli öröklődés törvényei közlése volt a második fő esemény. Ezek a törvények kiválóan alkalmazhatók voltak a monogénes betegségek öröklődési sajátságainak meghatározására. A századfordulón, amikor a mendeli törvények újrafelfedezése megtörtént, a mendeliánusok helytelenül, egyetlen hibás gén öröklődési patternjét próbálták a komplex betegségekre is alkalmazni. Ezzel szemben, a galtoniánusok szerint az öröklődés egyszerű szabályai nem jellemezhetik az emberi tulajdonságok komplexitását, amelyek kvantitatíve oszlanak meg. A mendeliánusoknak igazuk volt abban, hogy a mendeli "elemek", amelyeket 1909-ben neveztek először géneknek, pontosan meghatározzák az öröklődés folyamatát, de tévedtek abban, hogy a

komplex tulajdonságok egyetlen génnel meghatározhatók. A galtoniánusok hibáztak a mendeli öröklődés törvényeinek a negligálásában, de igazuk volt, hogy egyetlen gén nem határozhatja meg a komplex tulajdonságokat. Fisher szerint a gének a Mendel által leírt módon öröklődnek, de ha több gén határoz meg egyetlen tulajdonságot, akkor kvantitatív megoszlás várható.

A genetika két irányvonalának szétválása az 1980-as évekig folytatódott. A molekuláris biológiai vizsgáló módszerek fejlődésével lehetőség nyílt a monogénes betegségeket kiváltó hibás működésű gének rutin izolálására, genetikai térképhelyének meghatározására. Mivel nyilvánvaló, hogy ezek a génhibák a populáció szintjén kis jelentőséggel bírnak, a molekuláris genetikusok az új módszereket a komplex betegségek genetikai hátterének a megfejtésében kezdték alkalmazni. A kvantitatív irányzat hívei pedig gyorsan realizálták, hogy az új technológia hasznosítható a kvantitatív tulajdonságokban mindig jelenlévő genetikai komponens meghatározására. Így, a két irányzat a komplex betegségek megértésében mára közelít egymáshoz.

Az egyszerű génhibák pörölycspásként is elpusztíthatják a normális fejlődést, de egyre többen elfogadják, hogy a normális egyedfejlődés igen nagyszámú gén együttes szabályozott működésének az eredménye. Míg előzőleg a kvantitatív genetika hívei úgy gondolták, hogy a komplex tulajdonságokat annyiféle igen kis egyedi hatást kifejtő gén határoz meg, hogy azonosításuk lehetetlen, addig ma már ismert, hogy ezeket különböző befolyással bíró géncsoportok határozzák meg, amelyek közül a nagyobb hatásúak azonosíthatóak. Ezeket a géneket összefoglalóan QTL-nek hívjuk az angol *quantitativ trait loci* rövidítéseként. Az állatmodellek vezettek el olyan komplex betegségeket, mint a diabetes, a hipertensio és a viselkedési abnormalitásokban szerepet játszó QTL-ek egy részének azonosításához. Humán vonatkozásban ugyanis nem, vagy csak igen szerencsés esetekben alkalmazható a genetikában rutinszerűen használt nagy pedigrek kapcsoltsági vizsgálata, amely segítségével a betegségekben szerepet játszó kromoszómális régiók azonosíthatóak lennének. Ezen felül a tradicionális kapcsoltsági analízisek feltételezik, hogy a rendellenességek valóban rendellenességek és a családokban hibás működésű gének öröklődésének a következményeként jelennek meg.

Egy másik irányzat a komplex betegségek esetében nem a hibás gének egy családon belüli öröklődését, hanem a populáció szintjén a betegségekhez kapcsolható alléleket határozza meg. Ezek olyan, a DNS szekvenciákban meglévő karakterisztikus változatok, amelyek öröklődése a mendeli szabályoknak megfelelően nyomon követhető és meglétük, vagy hiányuk molekuláris genetikai módszerekkel bizonyítható.

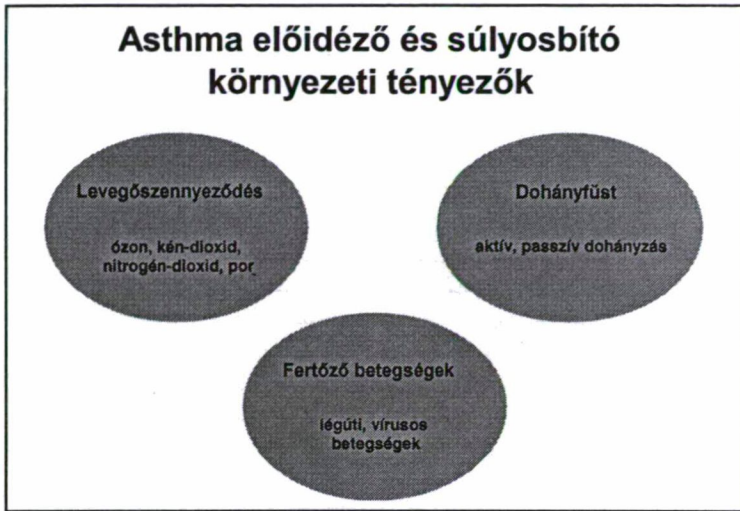
A komplex betegségek analizálásában különböző szintek alakultak ki. A klinikusok a betegségek tünetei alapján dignosztizálják azokat, a molekuláris genetikusok a géneket és termékeiket sejtszinten jellemzik, a klinikai genetikusok család- és allélasszociációs vizsgálatokkal a meghatározó géneket kromoszómákra térképezik, betegségekre hajlamosító allélkombinációkat keresnek, és végül a klinikusok a labordiagnózis alapján az érintetteknek preventív tanácsokat adnak.

Az új millennium hajnalán úgy gondoljuk, hogy tudjuk, a hiba a génjeinkben van. A múltban a genetika keveset tudott az orvostudomány fő vonulataihoz adni. Most, a biotechnológia és a **Humán Genom Project** eredményei alapján az orvosgenetikusok hosszútávon megérthetik a leggyakoribb felnőtt korban kezdődő betegségek diagnózisát és gyógyítását. Legkésőbb 2001-re a teljes emberi genom, a kb. 100 000 gén szekvenciája ismert lesz. Eddig több mint 8000 gént katalogizáltak (Online Mendelian Inheritance in

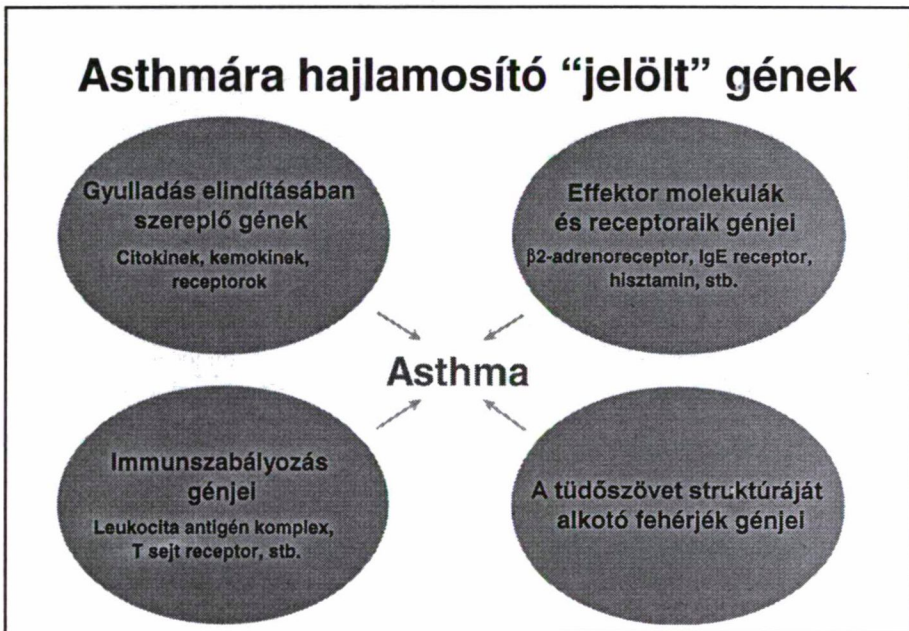
Man, OMIM, 1997) Az eddig azonosított gének nemcsak ritka metabolikus rendellenességekkel, speciális malformációkkal kapcsolatosak, hanem olyan géneket is azonosítottak, amelyek gyakori megbetegedésekre hajlamosítanak. Amint ezek a környezettel (ami magában foglalja a kémiai, fizikai, szociális, pszichológiai, táplálkozási faktorokat, a fertőző ágenseket) interakcióba lépnek, a rizikó olyan mértékben növekszik, hogy krónikus, gyakori kórképek alakulnak ki, mint pl. az asthma, a rákos megbetegedések, a cardiovascularis betegségek, vagy mint az Alzheimer- kór.

A komplex, genetikai komponensű kórképek esetében a családi halmozódás nem mindig egyértelmű és a hajlamosító allél megléte még nem jelenti a betegség manifesztációját. Ebben a vonatkozásban az I. típusú diabetes mellitus a jó modell. Itt kimutatható, hogy a fő hisztokompatibilitási komplex (HLA) génjei közül, ha két allél (az egyikben a HLA α -lánc 52-es pozíciójában arginin, a másikban a HLA β -lánc 57-es pozíciójában asparagin helyett más aminosav található) homozygota formában jelen van, akkor a betegség korai gyermekkorban jelentkezik és lefolyása súlyosabb. A betegség súlyossága a hajlamosító allélek számával korrelációba hozható. A betegség komplex formáját támasztja alá az a tény, hogy a legutóbbi vizsgálatok szerint még számos gén vehet részt a predispozíció kialakításában, azonban egyiknek sincs olyan nagy hatása, mint a HLA komplex alléljeinek.

Az asthma a komplex betegségek egyik modelljeként is tekinthető, ugyanis eddig jórészt ismeretlen gének és a környezeti tényezők interakciója eredményeként alakul ki. Általában a gyermekek 10%-a asthmás, nagyrészt az athopiás szindróma részeként, amely az allergia, asthma, szénanátha és ekcéma tünetegyüttest foglalja magába. Az asthma az esetek egy részében családi halmozódást mutat, előfordulási gyakorisága az utóbbi évtizedekben jelentősen megnőtt különösen a nyugati világban. A környezeti tényezők és a genetikai faktorok kölcsönhatása komplex módon megy végbe, amely a betegségre való fogékonysághoz, majd a betegség kialakulásához vezet. Érdekes módon a környezeti tényezők közül a környezeti szennyezésnek kevesebb szerepe van az asthma kialakulásában, mint gondolnánk, hiszen a leggyakrabban az Egyesült Királyságban, Ausztráliában, Új-Zélandon az Ír Köztársaságban fordul elő és legalacsonyabb az előfordulási aránya Kelet-Európában és Kínában. Jelenleg az a feltételezés, hogy a genetikailag hajlamos egyének külső allergénekkal történt szenzitivizáció után fejlesztik ki a betegséget. Ezek közül az allergének közül vezető helyen említik a háztartási akta vagy a csótányok elporladt maradványait. A környezeti allergén expozíció szintje befolyásolja a szenzitivizálás mértékét és az asthma súlyosságát. Az asthmát előidéző és súlyosbító környezeti tényezőket mutatja be az 1. ábra.

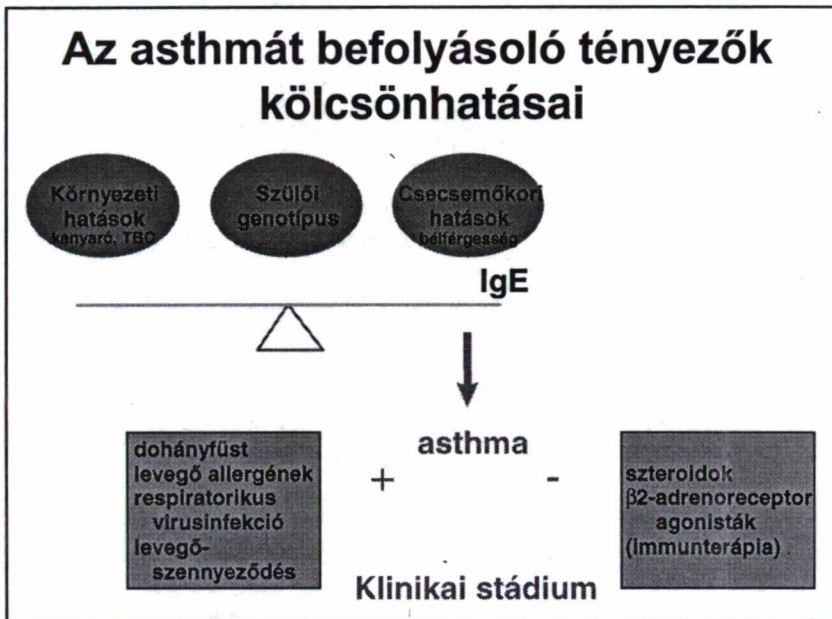


Ami az asthmát hajlamosító genetikai faktorokat illeti, itt négy géncsalád egyedi génjei játszanak szerepet a genetikai hajlam kialakításában. Ezt a négy géncsaládot mutatja a 2. ábra.



Különösen fontos két géncsalád szerepe, amelyek közül az egyik a gyulladások kialakításában, a másik pedig az immunszabályozás befolyásolásában játszik szerepet.

Végül a 3. ábra szemlélteti azt a bonyolult interakciót, ami a betegség súlyosságát kialakítja.



Az ábrán látható libikóka közepét foglalják el a szülőktől örökölt haplotípusok, amelyek a libikókát vagy az asthma irányában hajlamosító génekként, vagy az asthma előfordulását csökkentő, védő génekként szerepelnek. Környezeti hatások, ahogy mondtuk az előzőekben, mind súlyosbító tényezőként szerepelhetnek, de lehetnek olyan környezeti hatások, amelyek csökkentik az asthma előfordulási gyakoriságot. Így például megfigyelték azt, hogy a korai életkorban elszenvedett fertőzések (TBC, Hepatitisz A, Kanyaró) csökkenthetik az allergia kifejlődésének rizikóját. Más faktorok növelhetik ezt a rizikót, mint például respiratorikus vírus fertőzések vagy a bélférgesség, amelyek mind megnövekedett immunglobulin E szérumszintet eredményeznek. Amennyiben az asthma kialakul, úgy vannak faktorok amelyek a betegség exacerbációját okozzák, amelyeket az ábra pozitív nyíl jelöl és természetesen a különböző terápiás beavatkozások a betegség tüneteit visszazoríthatják.

Az asthma pathogenezisében szerepet játszó valamennyi gént és azok interakcióját valószínűleg egy teljesen új diagnosztikus módszer, a DNS chip technológia fogja megoldani. A 21. századi molekuláris genetikai vizsgálatok egyik legígéretesebb módszere a **DNS chip technológia**, amely forradalmasítani fogja mind az alkalmazott, mind az alapkutatókat. Gyökeres változást hozott a bevezetése, amelyre 1996-tól került sor. A DNS chip a mikroelektronikában használatos fotolitográfiai módszerrel készített elrendezett oligonukleotidok rendszere, a mikroelektronikában használatos chipnél alig nagyobb felületen. Segítségükkel teljes genomok összehasonlítására, genetikai betegségeket okozó

mutációk pontos természetének megállapítására, komplex betegségek (így az asthma) pathomechanizmusában szerepet játszó gének azonosítására, a carcinogenezis molekuláris alapjainak diagnosztikájára, egyazon sejt különböző génkifejeződési állapotának összehasonlítására, egyes mikrobiális fertőzések fertőző ágensei kimutatására, speciális DNS szakaszokhoz kötődő, a génműködés szabályozásában résztvevő proteinek és azok DNS kötő helyeinek azonosítására nyílik mód, hogy csak néhányat említsünk a lehetséges alkalmazási területek közül.

A technológia alapja a DNS chipre hibridizált fluorokrómmal jelzett vizsgálandó DNS molekulák szekvenciaazonossággal arányos fluoreszcencia intenzitásának scannelése egy CCD kamerához kapcsolt megfelelő tartományban gerjeszhető argon lézer scannerrel, amely olyan komputerhez csatlakozik, amelynek memóriája "tudja", hogy mely ponton milyen bázissorrendű DNS darab található. Egy egy analízis a chipetől függően akár 12 perc alatt is elvégezhető, ahogy azt mitokondriumok szekvenciáinak vizsgálatánál közölték. Az eljárással egyidejűleg óriási számú vizsgálat végezhető el, és az értékelés során a számítógép minden előnye (pl. hálózati adatbázisok) kihasználható.

A DNS mikrochipek alkalmazása elősegíti az asthma kifejlődésének genetikai predikcióját és betegség megelőzés stratégiája szempontjából fontos egyénre szabott therápia alkalmazását. Bizonyos genetikai polimorfizmusok jelenléte fontos lehet a betegség klinikai lefolyásának megjósolásában és a therápiára adott egyéni válaszok megtalálásában.

Ezeknek a molekuláris genetikai megközelítéseknek nemcsak az a céljuk, hogy a vizsgálatokat végzők "impact faktorokat gyártsanak" belőlük, hanem az, hogy az eredmények minél előbb a betegágnál kamatozhassanak, ahogy erre a nyugati országokban egyre több példát látunk.