

İnsan Genomu Projesi ve İnfeksiyon Hastalıkları

HUMAN GENOME PROJECT AND INFECTIOUS DISEASES

Pınar ZARAKOLU, Serhat ÜNAL

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı İnfeksiyon Hastalıkları Ünitesi

ÖZET

İnfeksiyon hastalıklarının meydana gelişinde mikroorganizmanın virülansı yanı sıra bireyin savunma sisteminin gücü rol oynamaktadır. Gen çalışmaları etkenin virülans faktörlerinin (adheziner, ekzotoksinler, enzimler) tanımlanması ve onun yok edilmesini sağlayan konak cevabının (komplemen kaskadı, spesifik klonlarla programlanmış lenfositler) anlaşılmasına hizmet etmektedir. İnsan genomu projesi ile elde edilecek veriler gerek insan gerekse mikroorganizma gen dizimlerinin bilinmesi ve fonksiyonlarının anlaşılması ile insanların enfeksiyon hastalıklarna yatkınlıklarının ve duyarlılıklarının anlaşılması, yeni tanı ve tedavi metodlarının ve aşılarn geliştirilmesine olanak sağlayacaktır.

Anahtar sözcükler: İnsan genomu projesi, enfeksiyon, tanı, tedavi, aşı

SUMMARY

Virulence factors of the invading microorganisms and the immun status of the host play the major role in the pathogenesis of infectious diseases. The study of the genes enables to understand the identification of these virulence factors (adhesins, exotoxins, enzymes) and the host immun response (complement cascade, clonally derived lymphocytes) that leads to the elimination of the microorganisms. The information obtained by the sequence and the functions of the genomes in the human genome project will provide not only to understand the susceptibility of the human being to the infectious diseases but to develop new diagnostic tools, therapy strategies and new vaccines.

Key words: Human genome project, infection, diagnosis, therapy, vaccine

Pınar ZARAKOLU
Serhat ÜNAL
Hacettepe Üniversitesi
Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı
ANKARA

Hekimlerin hastayla iletişimlerinin ve birçok hastalığa yaklaşımlarının ilk basamağını hastanın kendisine ve hastalığına ait aldıkları aile öyküsü oluşturmaktadır. Bunun nedeni kalıtımın; yaşam şekli, diet, çevresel koşullar gibi çeşitli ve birçok hastalığın meydana gelişinde oynadığı rolün kesin olarak bilinmesidir. Ancak tek bir genin yapısında oluşan basit bir değişiklik ile bazı hastalıkların (kistik fibrozis, orak hücreli anemi, Huntington hastalığı gibi) oluşumunu açıklayabilmek mümkün iken birçoğunda (diabetes mellitus, kalp hastalıkları, kanser gibi) yeterli olamamaktadır (1).

Günümüzde genetik bilimi aile öykülerine dayanan tıbbi süryevans çalışmalarına yol göstermenin veya gen

yapılarında meydana gelen değişiklikler sonucu gelişen nadir hastalıkların sınıflamasını yapmanın ilerisinde bir boyut kazanmıştır. Hücrenin temel yapısının ve moleküler komponentlerinin çalışma şekillerinin bilinmesi hastalık gelişiminde rol oynayan mekanizmaların anlaşılmasına ışık tutmaktadır (2).

Genetik çalışmalar 1900 yılında Mendel kanunlarının açıklanması ile bilimsel bir disiplin olarak yerini almış, aynı yüzyılın ortalarında Watson ve Crick DNA'nın çift sarmal yapısının keşfi ile kalıtımın kimyasal temelini ortaya koymuşlardır. Bundan sonraki 15 yılda ise araştırmacılar RNA'nın DNA'dan kopyalanan bir 'messanger' molekül olarak görev yaptığını ve pro-

tein sentezinden sorumlu olduğunu saptadılar. Rekombinan DNA teknolojisi ise 1970'li yıllarda gelişti. Bu teknolojinin sayesinde DNA parçacıkları saflaştırılmış halde hazırlanabiliyordu. 1980'lere yaklaşıken Sanger ve Gilbert isimli araştırmacılar DNA diziliminin yapılmasını sağlayan metodları geliştirdiler. Bundan sonraki 20 yılda da DNA diziliminde aynı metodlar kullanılmaya devam etti ancak sonuçların analizinde kullanılan otomatize sistemler geliştirildi. 1980'lerde genlerin hastalığa sebep olan varyantlarının haritalandırılması yapılmaya başlandı (1,2).

Bütün bu araştırmalar 1990'da İnsan Genomu Projesi'nin başlaması için temel oluşturmuştur. Bu proje Amerika Birleşik Devletleri başta olmak üzere İngiltere, Fransa, Almanya, Japonya, Çin ve Kanada gibi ülkelerin katılımıyla uluslararası bir organizasyon halini almıştır. Artık insan genomunda dizilimin %99.9 oranında aynı olduğu, hastalıkların gelişiminde %0.1 oranında gelişen varyasyonların rol oynadığı tespit edilmiştir. Bu projede insan ve hayvan genomunun yanısıra bakteri, mantar ya da parazit gibi mikroorganizmalarında gen yapılarının dizilimi ve haritalandırılması amaçlanmaktadır (2).

İlk kez 1995 yılında insan patojenleri içinde *Haemophilus influenzae*'nin gen dizilimi elde edilmiştir. Ocak 2001'e gelindiğinde ise yaklaşık 50 mikroorganizmanın gen diziliminin saptandığı, önümüzdeki 2-4 yıl içinde de 100 mikroorganizmaya ait bilginin tamamlanacağı bildirilmektedir. Gen dizilimi bilinen önemli insan patojeni mikroorganizmaların listesi Tablo I'de verilmiştir (1).

Gen dizilimi ve analizlerini yapmak yeni geliştirilen tekniklerin sayesinde mümkün olmuştur. Bunlar içinde özellikle 'shotgun' dizilim tekniği *H. influenzae*'nin tam gen dizilimini sağladığı gibi ardından yeni gelişmelere ışık tutmuştur. Gen dizilimi saptanan mikroorganizmaların yaklaşık yarısının fonksiyonları belirlenebilmiştir. Diğer yarısının da gen fonksiyonları belirlendiğinde tıbbın her alanında önemli gelişmelere temel oluşturacağına inanılmaktadır. Bu durum insan, mikroorganizma ve ikisi arasındaki etkileşimle ilgilenen bir bilim dalı olan infeksiyon hastalıkları için de önem-

lidir. Gen diziliminin yapılması ve genlerin fonksiyonlarının anlaşılmasından önce belli fenotipik özellikler ile genetik polimorfizm arasında ilişki kurulmaya çalışılıyordu ancak bu yöntem yetersiz kalmaktaydı (1,2).

Tablo I. Gen dizilimi bilinen insan patojeni önemli mikroorganizmaların listesi

Patojen	Tanımlanma yılı
<i>Haemophilus influenzae</i>	1995
<i>Mycoplasma species</i>	1995,1996
<i>Helicobacter pylori</i>	1997,1999
<i>Borrelia burgdorferi</i>	1997,2000
<i>Treponema pallidum</i>	1998
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1998
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1998
<i>Plasmodium falciparum</i> (kromozom 2)	1998,1999
<i>Leishmania major</i> (kromozom 1)	1999
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1999,2000
<i>Campylobacter jejuni</i>	2000
<i>Neisseria meningitidis</i>	2000
<i>Vibrio cholerae</i>	2000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2000

Çalışmaların gen yapısının gösterdiği polimorfizm ve konak-mikroorganizma ilişkisinde oynadığı rol üzerinde de yoğunlaştığı gözlenmektedir. Tek bir nükleotid polimorfizmi bile konağın savunma sistemini etkilemekte ve belli bazı mikroorganizmalara karşı birey ya da toplum düzeyinde daha duyarlı olunmasına neden olmaktadır. Bu arada insan genomunun ilgili varyasyonları gösterip göstermediğinin yeni geliştirilen gen çipleri ile taranabileceği ifade edilmektedir (1,2).

İnfeksiyonlara genetik yatkınlığın ortaya konması

İnfeksiyon hastalıklarının meydana gelişinde mikroorganizmanın virülansı yanı sıra bireylerin yapısal olarak duyarlı olmalarının da rol oynadığı bilinmektedir. Eldeki gen problemleri ile yapılan çalışmalarda belli hastalıklarda alta yatan genetik yatkınlık olasılığını destekleyici nitelikte veriler elde edilmiştir. Farklı genlerde mutasyon sonucu meydana gelen hastalıklara bazı örnekler şunlardır: Tümör nekrozis faktör (TNF) yapısında görülen varyasyonlar meningokokal menenjit, lepramatöz lepra ve trahoma karşı kişilerin daha duyarlı olmasına neden olmaktadır. Kompleman aktivas-

yonunda rol oynayan mannoz-bağlayan protein (MBP) seviyesinde düşüş bakteriyel ve fungal infeksiyonlara karşı yatkınlığa sebep olmaktadır. Hepatit B virüsü (HBV) ile infekte olan bireylerin %5-20'sinde meydana gelen kronik taşıyıcılık durumu insan lenfosit antijenleri (HLA)'nın yapılarındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Leishmaniazis ve filariazis olgularında da HLA-DR ilişkisi saptanmıştır. Leishmaniazis ve malaria olgularında kan TNF düzeyi yüksek bulunmuştur. *Schistosoma mansoni* infeksiyonlarında interlökin-4 (IL-4) ve savunmada rol oynayan diğer immünolojik mediatörlerin yapısını kodlayan kromozom üzerinde yerleşen *SM1* geni ile ilişki tespit edilmiştir (2,3).

Çeşitli hastalıklarda saptanan immünojenetik ilişkiler ve etkiledikleri popülasyonlara bazı örnekler şunlardır (Tablo II): Kemokin reseptör 5 geni (*CCR5*) yapısında meydana gelen 32 bp delesyonu Human immunodeficiency virus (HIV) infeksiyonlarına karşı dirençli olunmasına sebep olmaktadır. Bu alel genin, hastalık prevalansının oldukça yüksek olduğu Sahra-altı Afrika'da yaşayan kişilerde olmadığı gözlenmiştir. Bu veriler ışığında tedavide *CCR5* reseptör blokörlerinin kullanılması ile HIV invazyonunun ve hastalık progresyonunun ilerlemesinin önlenebileceği düşünülmektedir. Yine Afrikalılarda 'natural-resistance-associated-macrophage-protein 1 (*NRAMP1*)' geninin varyantları ile tüberküloz hastalığı arasında bir ilişki belirlenmiştir (3-5).

Mikroorganizmalardaki genetik değişikliklerin saptanması

Mikroorganizmaların genetik yapılarını kolaylıkla değiştirerek konağın savunma mekanizmalarına ya da antimikrobiyal ajanlara karşı dirençli hale gelmesi uzun zamandır bilinen bir durumdur. Bazı mikroorganizmaların mutasyona uğrama olasılığı yüksek olan genleri mevcuttur ve bu genler adhezinler, invazinler gibi konakçı ile ilişki içinde olan yüzey moleküllerini kodlamaktadır. Yine mikroorganizmalarda görülen mutasyon oranını arttıran 'mutator allel' genler mevcuttur. Bu tür genetik mekanizmaların bakterilerde görülen antibiyotik direnci ya da virülans gibi özelliklerin anlaşılmasında önemi vardır. Infeksiyon hastalıkları

alanında etkili kontrol ve tedavinin yapılabilmesi için bu araştırmaların sonucunda elde edilen verilere ihtiyaç vardır (1,6).

Biyoterörizmde rolü

21.yüzyılın başında gündeme gelen biyoterörizm tehditleri de genom projelerinin önemini bir kez daha ortaya koymuştur. Bu durumda saldırıda kullanılan mikroorganizmanın gen diziliminin bilinmesi hızlı tanıma son derece önem taşımaktadır. Bu amaçla kullanılması olası olan ajanların gen chiplerinin geliştirilmesinin duyarlı ve hızlı yöntemler olarak kesin tanıyı sağlayacağı düşünülmektedir. Bu amaçla kullanılması planlanan bakterilerin antimikrobiyal direnç durumlarının genetik olarak modifiye edilmesi çok büyük bir olasılıkla beklenmektedir. Dirençte rol oynayan genetik mekanizmaların anlaşılması alternatif tedavi yollarının seçilip uygulanmasına ışık tutacaktır. Aynı şekilde biyoterörizmden korunmada yeni ve etkili aşı geliştirme çalışmalarının da önemli bir yeri vardır (1).

Yeni aşılarda ve tedavi yöntemlerinin bulunması

Yeni milenyumda da infeksiyon hastalıkları insan sağlığını tehdit etmeye devam etmektedir. Bu durum sadece gelişmekte olan ülkeler için söz konusu değildir. Infeksiyon hastalıkları ABD'de ölüm nedenleri arasında 3. sırada yer almaktadır. Hastalıkların önlenmesi ve sağlık harcamalarının kontrol altına alınmasında elimizdeki en etkili yöntemlerden biri aşılardır. Ancak günümüzde aşısı üretilmemiş birçok insan (Örneğin: HIV, HCV, human papilloma virus, *Helicobacter pylori*, *Streptococcus pyogenes*, *Plasmodium*, *Leishmania*) ve hayvan patojeni mevcuttur. Kullanılmakta olan aşılarda kalitesinin son derece yüksek olması beklenen bir özelliktir. Bu nedenle yeni aşılarda bulunmasına veya kullanılmakta olan aşılarda kalitesinin artırılmasına yönelik çalışmalar hızla devam etmektedir. Aşı üretiminde eskiden beri detoksifikasyon metodları ve hücre kültür sistemleri kullanılmaktadır. Son yıllarda aşı çalışmaları rekombinan DNA teknolojisinin gelişiminden çok etkilenmiştir. 21. yüzyılda canlı atenuüe veya cansız aşılarda yanı sıra rekombinan proteinler, konjuge aşılarda, psödovirionlar, replikonlar, 'naked'DNA aşılarda, mikrokapsüllü aşılarda ve yenilebilir aşılarda geliştirilmiştir (7).

Tablo II. Çeşitli hastalıklarda saptanan immünogenetik ilişkiler

Hastalık	Etkilediği toplum	Yerleşim	Alel/ Varyant	İlişki
HCV* persistansı	Avrupalılar	HLA-DRB1	1101	Viral temizlenme
HIV infeksiyonu	Beyazlar	CCR5	32 bp delesyonu	Direnç
Malarya	Afrikalılar	HLA-B	5301	Direnç
Tüberküloz	Afrikalılar	NRAMP1	Çeşitli	Duyarlı

*Hepatit C virüsü

Aşı geliştirilmesinde temel olarak 4 aşama mevcuttur: 1) tüm genomdan antijenleri kodlayan belirli bir grup genin seçilmesi 2) klonlama ve seçilmiş grup genin ekspresyonu 3) rekombinan proteinlerin saflaştırılması 4) in vivo ve iv vitro ölçümler. Yüzey proteinlerinin ve virülans faktörlerinin tanımlanması aşamasında gen teknolojisi oldukça başarılıdır. Ancak bazı protein yapılarının ekspresyonunda (birden fazla ana dizilime sahip olanlar, kolaylıkla agregre olarak inklüzyon cisimcikleri oluşturanlar), saflaştırılmasında (parazitik antijenler) ve in vivo/ in vitro ölçümlerde sorunlar yaşanmaktadır (2,7).

Gen çalışmalarının ışığında yeni ve güncel bir tedavi stratejisi viral infeksiyonların iyileştirilmesinde gündeme gelmiştir. Örneğin HIV/AIDS infeksiyonunun tedavisinde viral transkripsiyonun ekspresyonunu engellemek, viral RNA'yı inaktive etmek üzere virüs RNA'sının fosfodiester yapısına bağlanarak etki gösteren, katalitik aktiviteye sahip RNA ya da ribozim molekülleri sentezlenmiştir. Bunlar virüs RNA'sı üzerinde belli bölgelere bağlanma kapasitesinde olan enzimatik anti-sense yapılarıdır (8,9). Sense-antisense etkileşime dayanan bu yeni tedavi yöntemi diğer pek çok infeksiyon hastalıkları tedavisinde de umut vadetmektedir.

SONUÇ

İnfeksiyon hastalıkları yüzyıllardır insanoğlunun en önemli mücadele nedenlerinden biri olmuştur. Dünya tarihinde zaman zaman meydana gelen salgınlar toplu ölümlere yol açmıştır. Bu hastalıklara karşı verilen mücadele yıllar içinde mikropların tanınması, temizlik ve aşı gibi kavramların geliştirilmesi ve ardından 1940'lı

yıllarda penisilin keşfi ile bir zafere dönüşmüştür. Ancak zaman içerisinde antibiyotik mucizesi hemen hemen bilinen tüm antibiyotiklere karşı direnç geliştirebilen 'super bugs' ile yukalmıştır. Antibiyotiklere direnç ve dirençli mikroorganizmaların neden olduğu infeksiyon hastalıkları günümüzün önemli sorunları arasında yer almaktadır. Bunun ötesinde HIV ve Hanta virus infeksiyonları, Ebola hemorajik ateşi, Lyme hastalığı gibi yeni infeksiyon hastalıklarının ortaya çıkması, HBV (karaciğer kanseri), Epstein-Barr virus (lenfoma), *H.pylori* (mide kanseri) gibi bazı infeksiyon hastalıkları etkenlerinin kanser ile ilişkisinin gösterilmesi ve peptik ülser, Lyme artriti, Whipple hastalığı gibi bazı hastalıkların da infeksiyon etkenleri nedeniyle meydana geldiğinin saptanması 21. yüzyılda da infeksiyon hastalıkları ile mücadelenin devam etmesinin gerektiğini açık bir şekilde göstermektedir (1,2).

İnfeksiyon hastalıklarının patogeneğinde iki önemli unsurun gücü rol oynamaktadır: Mikroorganizmanın virülansı ve konağın savunma sistemi. Gen çalışmaları etkenin virülans faktörlerinin (adhezinler, ekzotoksinler, enzimler) tanımlanması ve onun yok edilmesini sağlayan konak cevabının (komplemen kaskadı, spesifik klonlarla programlanmış lenfositler) anlaşılmasına hizmet etmektedir. İnsan genom projesi ile elde edilecek veriler gerek insan gerekse mikroorganizma gen dizilimlerinin bilinmesi ve fonksiyonlarının anlaşılması ile insanların infeksiyon hastalıklarına yatkınlıklarının ve duyarlılıklarının anlaşılması, yeni tanı ve tedavi metodlarının ve aşıların geliştirilmesine olanak sağlayacaktır (2,3).

İnsan Genom Projesi çalışmaları desteğiyle;

1. İnsanlarda hastalık yapan mikroorganizmaların genetik yapıları ortaya çıkarıldıkça nasıl hastalık yaptıkları daha iyi anlaşılabilir böylece hastalıklardan korunmada etkin önlemler geliştirilebilir.
2. İnsan genetik yapısı daha iyi ortaya kondukça mikroorganizmaların hastalık yapma yeteneklerine karşı mücadele gücü daha iyi açıklanabilir böylece bu hastalıkların önlenmesi ve daha başarılı tedavi yöntemleri geliştirilmesi mümkün olacaktır.
3. İnfeksiyon hastalıkları ile mücadele de önemli bir yöntem olan immün korunma ve özellikle aşılarda büyük gelişmeler kaydedilecektir.

KAYNAKLAR

1. Fauci AS. Infectious diseases: considerations for the 21st century. *CID* 2001;32: 675-685.
2. Hill AVS. Immunogenetics and genomics. *Lancet* 2001;357:2037-2041.
3. Weatherall D, Clegg J, Kwiatkowski D. The rôle of genomics in studying genetic susceptibility to infectious disease. *Genome Research* 1997;7:967-973.
4. Hill AV. Genetics and genomics of infectious disease susceptibility. *Br Med Bull* 1999;55:401-413.
5. Cummings CA, Relman DA. Using DNA microarrays to study host-microbe interactions. *Emerging Infectious Diseases* 2000; 6:513-23.
6. Qureshi ST, Skamene E, Danielle M. Comparative genomics and host resistance against infectious diseases. *EID* 1999; 5:1-11.
7. Grandi G. Antibacterial vaccine design using genomics and proteomics. *Trends in Biotechnology* 2001;19:181-188.
8. Elkins D, Zait JA, Sullivan S, et al. Ribozymes as anti-HIV-1 therapeutic agents: principles, applications, and problems. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1992; 8:183-189.
9. Stein CA, Tonkinson JL, Yakubov L. Phosphorothioate oligodeoxynucleotides-anti-sense inhibitors of gene expression *Pharmacol Ther* 1991;52: 365-384.