DEBRECENI EGYETEM
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR
HUMÁNGENETIKAI TANSZÉK

ÁLTALÁNOS ÉS ORVOSI GENETIKA

Jegyzet a Debreceni Egyetem I. éves orvos, fogorvos, gyógyszerész és molekuláris biológus hallgatói számára

Szerkesztette: Schlammadinger József

DU press

DEBRECENI EGYETEM
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR
HUMÁNGENETIKAI TANSZÉK

ÁLTALÁNOS ÉS ORVOSI GENETIKA

Jegyzet a Debreceni Egyetem I. éves orvos, fogorvos, gyógyszerész és molekuláris biológus hallgatói számára

Második, bővített és javított kiadás

DUPress

Debreceni Egyetemi Kiadó
Debrecen University Press
2016

Általános és orvosi genetika
Egyetemi jegyzet, kézirat gyanánt
Első kiadás, 2012
Második, javított kiadás: 2014

Felelős kiadó:
Dr. Biró Sándor
egyetemi tanár, a DE ÁOK
Humángenetikai Tanszék igazgatója
Az átdolgozás kezdete: 2013

Lektorálta:
Prof. Dr. Péterfy Miklós (Los Angeles)

Felelős szerkesztő:
Schlammadinger József

Az egyes fejezetek szövegét írták és ábraanyagát összeállították a
DE ÁOK Humángenetikai Tanszék aktív és nyugalmazott munkatársai:
Birkó Zsuzsanna
Biró Sándor
Buglyó Gergely
Fehér Zsigmond
Keserű Judit
Penyige András
Schlammadinger József
Szirák Krisztina
Vargha György
Vitális Sándor

A szerkesztő hálás köszönetét fejezi ki *dr. Szeszák Ferenc*nek (nyugalmazott tudományos tanácsadó), a Genetika jegyzet előző kiadása összeállítójának a kézirat gondos átnézéséért és megfontolandó, jobbító szándékú tanácsaiért.

A szerkesztő kiemelt technikai segítője: *Keserű Judit*

ISBN 978 963 318 474 5

© Debreceni Egyetemi Kiadó Debrecen University Press,
beleértve az egyetemi hálózaton belüli elektronikus terjesztés jogát is

Kiadta a Debreceni Egyetemi Kiadó Debrecen University Press
www. dupress.hu
Felelős kiadó: Karácsony Gyöngyi
Készült a Debreceni Egyetem sokszorosító üzemében, 2016-ban

DUPress

Tartalom

1. *Az eukarióta genom szerveződése és az öröklődés kromoszomális alapjai* 9.
2. *Citogenetika* 35.
3. *A nemi kromoszómák és a nem meghatározásának genetikája* 67.
4. *Génszerkezet és génfunkció* 75.
   Bakteriális genetika 75.
   Az eukarióta genom 103.
5. *Mendeli (monolokuszos) jellegek öröklődési mintázata* 121.
6. *Komplex öröklődésű jellegek és gyakori betegségek* 171.
7. *Genetikai variációk egyedekben és populációkban: mutáció és polimorfizmus* 199.
8. *Emberi géntérképezés és betegség-gén azonosítás* 211.
9. *Génikus betegségek molekuláris mechanizmusai, molekuláris betegségek* 229.
10. *Öröklődő betegségek terápiája* 259.
11. *Rosszindulatú daganatok genetikai háttere* 275.
12. *Populációgenetika* 295.
13. *Farmakogenetika, farmakogenomika, ökogenetika és ökogenomika* 305.
14. *Személyes és etikai megfontolások az orvosi genetikában* 321.

DUPress

DUPress

Előszó

Tisztelt Olvasó!

Ön a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Általános Orvostudományi Kar, Humángenetikai Tanszéke oktatói által írott Általános és Orvosi Genetika jegyzetet tartja a kezében. A jegyzetet tananyagként elsősorban az orvos- és fogorvostanhallgatóknak szánjuk, de az hasznos kiegészítő a molekuláris biológus, és gyógyszerész hallgatók, valamint a Népegészségügyi és Természettudományi Karokon genetikát tanulók számára is, nemkülönben magasabb évfolyamokon ismétléshez.

A genetika, különösen más természet- és bölcseleti tudományokkal összehasonlítva nagyon fiatal tudomány. Kezdetét Gregor Mendel híres dolgozatának (Versuche über Pflanzen-Hybriden) közzétételéhez (Brünn, 1866., ma: Brno, Cseh Köztársaság) kötjük, bár Mendel tudományos eredményeinek elismerése és elfogadása csak a XX. század elején történt meg. Ugyancsak erre az időre tehető az első öröklődő emberi betegségek (alkaptonúria és más veleszületett anyagcsere betegségek) leírása, és annak felismerése, hogy Mendel eredményei, amelyeket ekkortól neveznek Mendel-szabályoknak, magyarázzák ezeknek a betegségeknek a családi halmozódását. Viszonylag rövid „története" ellenére azonban, különösen az utóbbi néhány évtized rendkívül gyors fejlődésének köszönhetően, mára a genetika az orvostudomány egyik elismert alappillére a betegségek diagnózisának felállításában és egyre inkább a megelőzésében és gyógykezelésében is. Különösen igaz ez a Humán Genom Projekt befejezése (2003.) óta, amely lehetővé tette az összes emberi gén azonosítását, az egyes gének populációkon belüli és a különböző populációkban mutatott változatosságának, és a gének kifejeződésének vizsgálatát, és mindezek alapján a géneknek az egyes emberi tulajdonságok vagy betegségek kialakításában feltételezett szerepe tanulmányozását. A genom-szekvenálásokkal párhuzamosan kialakuló genomika tudományának módszertana pedig lehetővé teszi, hogy az emberi genomot, mint egységes egészet tanulmányozzuk, azaz nem csak egyedi gének, hanem a teljes génállomány kifejeződését egyidejűleg vizsgáljuk. Ez pedig a gének egymással és a környezettel való kölcsönhatásába, kifejeződésük szabályozásába, s ezzel a génműködés jobb megértésébe enged betekintést.

A gyors fejlődés eredményeként mára rendkívül szerteágazó és nagyméretű ismeretanyag halmozódott fel. Ennek teljes körű tárgyalása egy féléves egyetemi kurzus során természetesen nem lehetséges, de nem is lehet célja az orvosképzés első évfolyamán általunk oktatott Általános- és Orvosi Genetika tárgynak. Így nem tárgyaljuk az inkább a molekuláris genetika tárgykörébe tartozó módszereket, de azokat ismertnek tételezzük fel. Orvoskari jegyzetről lévén szó, az általános genetikai ismereteket, amennyiben az lehetséges, orvosi példákkal mutatjuk be, ugyanakkor ezek a példák semmiképpen nem kívánnak klinikai genetikai igénnyel fellépni, hiszen ez a jegyzet első éves hallgatók számára íródott. Ha részletesebben

tárgyalunk egy örökletes kórképet, az nem jelent olyan elvárást, hogy annak klinikai ismeretét is kérnénk a Hallgatótól. Ám az mindenki számára evidens lehet, hogy csupán szindróma-nevekre sem építhető a humángenetika jelentőségének és hasznának megértése. Mindazonáltal reméljük, hogy ezen írásunk a klasszikus-, molekuláris- és populációgenetikai alapok elsajátítása mellett, a genetikai szemlélet kialakítását, a genetikai érdeklődés felkeltését is szolgálja, s a hallgatóság ezen ismeretek és szemlélet birtokában nyitott lesz az elkövetkező években bizonyosra vehető további gyors fejlődés követésére, befogadására.

Ha jegyzetünk a fenti elvárásainknak legalább részben megfelel, erőfeszítésünk nem volt hiábavaló.

A fentebb is említett gyors fejlődés eredményeinek előadásokon való érdemi közvetítésére, valamint a hallgatóság észrevételeire, kritikájára, javaslataira is számítva, és azt is figyelembe véve a jövőben a jegyzet további bővítését és módosítását tervezzük.

A szerzőtársak nevében is

Dr. Biró Sándor
tanszékvezető egyetemi tanár

Debrecen, 2012. október.

DUPress

Előszó

az Általános és Orvosi Genetika jegyzet második kiadásához

Tisztelt Olvasó!

Ön a Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar, Humángenetikai Tanszéke oktatói által írott Általános és Orvosi Genetika jegyzet második, részben javított, részben bővített kiadását tartja a kezében.

Mint azt az első kiadás előszavában is jeleztük, tekintettel a genetika tudományának gyors fejlődésére, másrészt a jegyzetben szinte elkerülhetetlenül előforduló hibákra, az általunk is észlelt hiányosságokra, az előadások és az írott jegyzet harmonizálását is szem előtt tartva, valamint a hallgatóság kritikai észrevételeire, javaslataira is reflektálva, természetes dolognak tartottuk és terveztük a jegyzet rendszeres javítását, kiegészítését.

A második kiadásba a bakteriális genetika alapjainak tárgyalása került új fejezetként, amelyben hangsúlyosan bemutatjuk azokat a mechanizmusokat, amelyekkel a baktériumok egymás között szinte korlátozás nélkül (nemcsak adott fajon belül!) képesek genetikai információ (többek között antibiotikum rezisztencia gének) átadására, melynek az orvosképzésben való jelentőségét nem kell indokolni.

Azt a hallgatói kritikát, hogy jegyzetünkben sok a betűszó, ami a tanulást nehezíti, s ezek egy része ráadásul angol elnevezések rövidítése, sajnos nem tudjuk orvosolni, mivel ezek mindenholi teljes kiírása jelentősen növelné az oldalszámot, másrészt pedig ezek a nemzetközi szakirodalomban, és a napi orvosi gyakorlatban is használatosak.

Abban a reményben bocsátjuk útjára ezt a második kiadást, hogy talán valamelyest jobban szolgálja az első kiadás előszavában megfogalmazott célokat.

A szerzőtársak nevében is

Dr. Biró Sándor
tanszékvezető egyetemi tanár

Debrecen, 2014. május

DUPress

A szerkesztő néhány megjegyzése

A figyelmes olvasónak minden bizonnyal fel fog tűnni, hogy „ezt már valahol olvastam, erről már valahol hallottam". Igen, igaza van. Egyrészt a genetika mára már beépült a művelt ember ismeretanyagába, középiskolás fokon. Óvunk azonban attól, hogy bárki is az internetről, főleg pedig az ott olvasható reklámokból szerezze információit. Ezek, még ha esetleg autentikus forrásból származnak is eredetileg, hiányos vagy hiányzó ismeretekkel rendelkező laikusok átiratában (fordításában/ferdítésében) jelennek meg ott. (Tisztelet a kivételnek…)

Másrészt és főleg: a jegyzetünk fejezetei között vannak átfedések. Amint azt a címek is elárulják, a genetikán belül ugyanannak a ténynek különböző megközelítései lehetségesek, ill. precízebben szólva: vannak, és ezek egy adott logikai rendszerbe foglalva kaphatják meg értelmüket, értelmezésüket. Több szerző esetén ez a jelenség különösen érvényesül, és szerkesztő legyen a talpán, aki úgy tud átfedéseket kigyomlálni, hogy érdemben nem nyúl bele a szerzői munkába. Minden bizonnyal csökkentene valamit az oldalszámon, ha, mondjuk, a több helyen is febukkanó kórképek – amilyen pl. a *Huntington chorea* is, hogy csak erre az egyre hivatkozzunk – egyszer jelennének meg, minden aspektusukban. Ám nem biztos, hogy az általános megértést szolgálná, ha a mendeli genetika szempontjai (domináns öröklődésű kórkép) és a molekuláris megközelítés (a triplet expanziós mutáció leírása) stb. egy bekezdésbe kerülnének. A tudás integrált megjelenítése nem feltétlenül és kizárólag egy jegyzet szerkesztésében kell megvalósuljon, hanem a rendszerezés és a rendszer-szemléletű megőrzésben a hallgatói corticalis szürke állományra is merjünk (és merünk!) támaszkodni. A majdani mindennapi munkában arra lesz ugyanis szükség, nem pedig bemagolt anyag recitálására.

A fent idézőjelben szereplő gondolat második fele pedig arról szól, hogy bizonyos ismeretek átfednek e jegyzetben olvashatók és az előadásokon, szemináriumokon, gyakorlatokon hallhatók és láthatók között. Egy annyira gyorsan fejlődő és a medicinális gyakorlatban évente új ismeretekkel jelentkező olyan tudományban, mint a genetika és genomika, szükségszerű, hogy a nyomtatott tananyag már a születése közben avulni kezd. A naprakész ismeretek bővebb tárházát az említett szóbeli források jelentik. És ezekhez csatlakozhatnak olyan színes ábrák, amelyek sokkal informatívabbak, mint a fekete-fehérek, de megjelentetésük e jegyzetben megfizethetetlenné tenné a kiadványt.

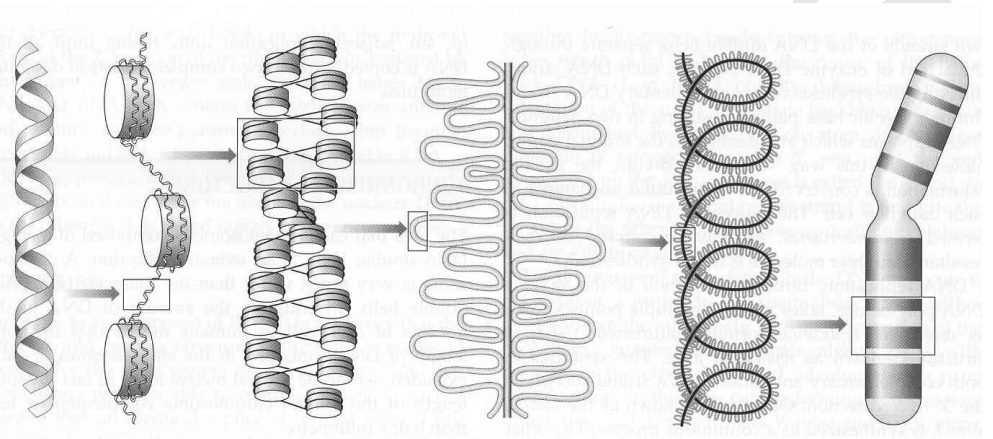
Fontos, de az első éves genetika vizsga sikeres abszolválásához nem feltétlenül szükséges ismereteket apró betűs szedéssel különítettünk el a teljes anyagon belül.

Rövid fogalmi magyarázatokkal lábjegyzetekben kívánjuk segíteni az Olvasót.

Helyesírás. A magyar szaknyelvi orthographia (ortográfia?) megoldatlan problémája a nagyszámú idegen (eredetű) szó magyaros, latinos/görögös, vagy angol helyesírása. Ebben a vonatkozásban, sajnálatosan és önkritikusan, nem tarthatjuk úttörőnek és példamutatónak e jegyzet szövegét. Ha még meg nem magyarosodott(nak gondolt) szóról van szó, azt – legalábbis első megjelenésében – dőlt betűvel írjuk.

1. fejezet

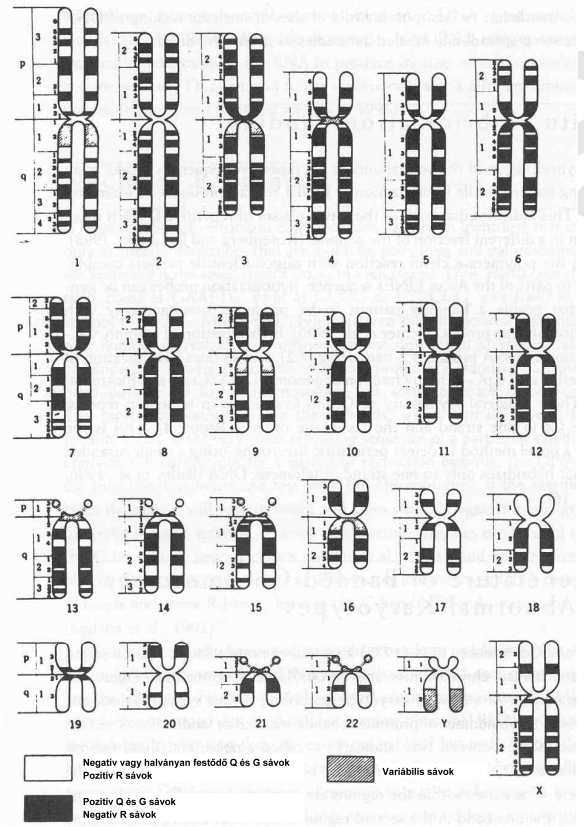
Az eukarióta genom szerveződése és az öröklődés kromoszomális alapjai



1-1. ábra
A DNS szerveződése a „csupasz” kettős hélixtől
a metafázis kromoszómáig

A genetika szerepe az utóbbi két-három évtizedben felértékelődött a modern biológiában és különösen az orvostudományban (l. pl. a Humán Genom Program közvetlen és közvetett eredményeit). Egyre szükségszerűbbé válik – nem csak az orvosok, hanem mindannyiónk számára – az örökítő anyag természetének és a **genom** szerveződésének ismerete, továbbá az örökletes információ sejtről sejtre, nemzedékről nemzedékre való továbbadásának megértése is. Az eukarióta genomot DNS (dezoxiribonukleinsav) építi fel. Elmondhatjuk, hogy alapvetően a DNS szerkezet, a nukleotid sorrend hordozza az embriogenezis, a fejlődés, a növekedés, az anyagcsere és a szaporodás pontos meghatározásához szükséges genetikai információkat – azaz lényegében minden információt, amitől egy élőlény, nevezetesen egy ember működőképes szervezetté válhat – nem feledve azt, hogy a kialakuló egyed fejlődését a környezetből jövő hatások is (az epigenetikus tényezőkön keresztül) jelentős mértékben befolyásolhatják. Az emberi test minden, sejtmaggal bíró, diploid sejtje rendelkezik két saját humán genom kópiával, amelyekből egy a legfrissebb becslések szerint ≈25 000 **gén**t tartalmaz. Tekintsük itt a gént egyszerűen a genetikai információt hordozó egységnek. A géneket tartalmazó nukleáris DNS

molekulák a sejtmagban **kromoszómák** felépítésében vesznek részt, amelyek a sejtosztódás folyamán pálcikaszerű sejtalkotókként válnak fénymikroszkóppal láthatóvá (1-1. ábra). Egy DNS molekula egy kromoszómát alkot, vagy – megfordítva a fogalmazást – egy kromoszómában egy (lineáris) DNS helyezkedik el (1-1. ábra). A génikus betegségek kialakulásának lehetősége mélyrehatóan éppúgy a genomi DNS által kódolt információban gyökerezik, mint az egészséges test kialakulása. A génekről és a humán genomról szerzett ismereteinknek az utóbbi néhány évtizedben tapasztalt exponenciális növekedését a teljes humán genom szekvenciájának, azaz „betűinek" megismerése koronázta 2003-ban. Ami nyilvánvalóan nem jelenti azt, hogy meg is értettük a „szöveg teljes jelentését". Ez még sok időt és munkát igényel a jövőben is.

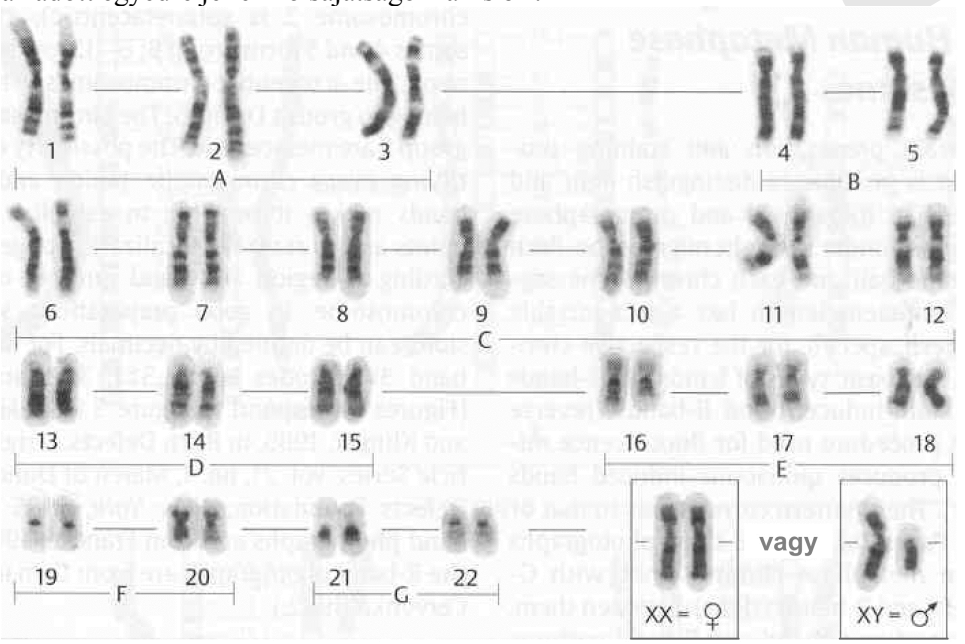


1-2. ábra

A *Homo sapiens* sávidiogramja

Az autoszómákat – csökkenő nagyság szerinti sorba állítva – 1-től 22-ig számozzák, a nemi kromoszómák az X és Y jelzést kapták. A centromer rövid (jele p) és hosszú (jele q) karra osztja a kromoszómát, ezen belül (a centromertől kiindulóan) régiókat és azokban sávokat különböztetnek meg. Pl. 2q12 = a 2-es kromoszóma hosszú karján az 1. régió 2. sávja.

Minden faj egy saját, jellegzetes számú és morfológiájú kromoszóma-készlettel rendelkezik. Ennek diagrammatikus megjelenítését nevezzük **idiogram**nak (1-2. ábra). Az egyedek saját kromoszómaállománya (kariotípusa) kis mértékben különböző lehet az idiogramtól. A kariotípust az egyedben levő összes sejt kromoszóma készlete együttesen határozza meg. Az egyes sejtek kromoszóma összetételét a speciális szabályok alapján rendezett **kariogram** ábrázolja (1-3. ábra). A kromoszómán lineáris rendben sorakoznak a gének. Egy gén vagy más fontos szekvencia kromoszómán elfoglalt helyét **lokusz**nak (*locus* [lat] = hely) nevezzük. A **géntérkép** mutatja meg, hol található egy adott gén lokusza valamelyik kromoszómán (a sávidiogramben meghatározható helyen), azaz tisztázza az egyes gének egymáshoz viszonyított helyét is. Minden fajnak speciálisan rá jellemző géntérképe van, amely az adott egyedre jellemző sajátságokkal is bír.



1-3. ábra

Rendezett humán kariogram. G-sávok

22 autoszóma-pár és mindkét nem szexkromoszómái: XX, ill. XY.

A ***citogenetika*** a kromoszómákat, azok számát, szerkezetét és öröklődését tanulmányozza. A modern humán citogenetika tudományáról 1956-tól beszélünk, amikor is felfedezték, hogy a **normális emberi diploid kromoszómaszám 2n = 46**. Azóta jelentősen bővültek ismereteink az emberi kromoszómák szerkezetéről, molekuláris összetételéről, az általuk tartalmazott gének elhelyezkedéséről és nem utolsó sorban a különféle rendellenességeikről is (l. 2. és 3. fejezet). Szemben sok más biológiai tudományággal, ezen belül a genetika számos fejezetével, amelyekről származó tudásunk forrásai túlnyomorészt kísérleti állatok vagy növények, ill

prokarióták, az eukarióta kromoszómákra vonatkozó ismereteink elsősorban humán vizsgálatokból származnak.

Fontos diagnosztikai eljárássá vált a klinikai gyakorlatban a kromoszómák és a genom analízise. A hozzájuk köthető megközelítési módok a további fejezetekben találhatók, itt csak néhányat említünk meg ízelítőként, röviden:

Klinikai diagnózis. Sok betegség – számos közülük relatíve gyakori, mint például a **Down szindróma** – fénymikroszkóppal is jól látható strukturális vagy számbeli kromoszóma rendellenességgel hozható összefüggésbe, ezért a diagnózisához a kromoszóma vagy genom analízise elengedhetetlen, továbbá genetikai tanácsadásra is szükség van (l. a 3. és a 4. fejezetben).

Géntérképezés és azonosítás. Az egyes gének kromoszómákra való térképezése és ezen gének betegségekben illetve az egészséges szervezet működésében betöltött szerepének tisztázása napjaink orvosi genetikájának kiemelt céljává vált. (Ez a témakör még többször visszatér, részleteiben a 8. fejezet tárgyalja.)

Daganatok citogenetikája. Számos daganattípus kialakulása és továbbfejlődése a testi sejtek genomjának (alkalmasint kariotípusának) valamilyen megváltozásával hozható összefüggésbe (l. a 11. fejezetben).

Prenatális diagnosztika. A születés előtti diagnosztikában – az embrió, illetve a magzat egészségi állapotának feltárásában – a kromoszómák és a genom vizsgálata nélkülözhetetlenné vált (l. a 2. fejezetben).

A születési rendellenességtől, mentális retardációtól, szexuális fejlődési rendellenességtől vagy valamely daganattípustól szenvedő betegekkel foglalkozó orvosnak és egészségügyi dolgozónak elengedhetetlenül szükséges, hogy értelmezni tudja a kromoszómák vizsgálataiból származó eredményeket, és ehhez még rendelkeznie kell némi módszertani ismerettel (beleértve a módszerek felhasználhatóságának és korlátainak ismeretét is).

A humán genom és a kromoszómák

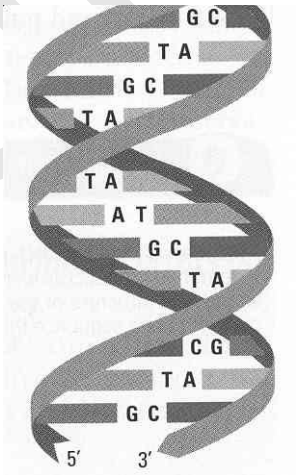
A gamétákká differenciálódó sejtek (ivari sejtvonal) kivételével minden, a testet felépítő sejt szomatikus (σωμα, szoma [gör] = test) vagy testi sejt. Ezek sejtmagja 46 darab = 23 pár kromoszómát, azaz két genomnyi (2n) mennyiséget tartalmaz. A 23 párból 22 pár egyforma a nőkben és a férfiakban is, ezek az **autoszóma**k, amelyeket a legnagyobbtól kezdődően a legkisebb felé haladva számoztak meg 1-től 22-ig. A fennmaradó kromoszómapár **szex-kromoszóma**kból áll: két **X** kromoszómából nőkben, **X** és **Y** kromoszómából férfiakban (1-3. ábra). A 24 féle kromoszóma mindegyike más-más géneket tartalmazó lineáris génsorozatot hordoz a DNS-én. A kromoszómapárok tagjai (a **homológ kromoszómák** vagy **homológok**) egymásnak megfeleltethető genetikai információval rendelkeznek, azaz azonos fenotípusos jellegekre vonatkozó géneket azonos sorrendben tartalmaznak. A homológ kromoszómapár tagjain bármely lokuszt tekintve lehetnek egymással teljesen azonos, identikus DNS-szekvenciájú gének, de előfordulhat az is, hogy két különböző, egymástól csak egy kicsit eltérő szekvenciájú formát találunk. Ezeket nevezzük **allél**eknek, azaz **génváltozat**oknak. Minden kromoszómapár egyik tagját

az apától, másikat az anyától örökli az utód. Normális esetben, hagyományos festési technikával az autoszóma párok tagjai egymástól fénymikroszkóppal nem különbözethetők meg. Nőkben a szex-kromoszómák – a **két X kromoszóma** – szintén nagyon hasonló fénymikroszkópos képet mutat. Férfiakban különbözőek az ivari kromoszómák. A nagyobb a nők X kromoszómájával azonos, az anyjától örökli a fiú, a kisebb az **Y kromoszóma**, amely apáról fiúra öröklődik.

A sejtmagban található mellett egy kicsiny, de fontos része a teljes humán genomnak a sejtplazmában lévő mitokondriumok DNS-e. A mitokondriális kromoszómát néhány sajátságos tulajdonsága megkülönbözteti a humán genom többi részétől, ezt bővebben még áttekintjük alább, ebben a fejezetben.

A DNS szerkezete: rövid áttekintés

A genom és a kromoszómák szerveződésének részletes tárgyalása előtt egy lényeges alkotóelemükkel, a dezoxiribonukleinsavval kell foglalkoznunk. (1-4. ábra.) A **DNS makromolekula**, a fehérjékhez hasonlóan **sorrendspecifikus biopolimer**. Alapvető építőkövei a **nukleotid**ok, melyeket háromféle alegység alkot: egy **nitrogéntartalmú szerves bázis**, egy **pentóz** és egy **foszfát csoport**. Az öt szénatomos cukor a dezoxiribóz, amelynek 2. C atomján -H van (az RNS ribózának -OH csoportja helyett). A bázisok két csoportra oszthatók, **pirimidin**ekre és **purin**okra. A DNS-ben kétféle purin bázis van, az **adenin** (A) és a **guanin** (G), és kétféle pirimidin, a **timin** (T) és a **citozin** (C). A bázisok szerint négyféle nukleotidból hosszú **polinukleotid lánc**ok polimerizálódnak (polikondenzálódnak) azáltal, hogy 3′-5′ foszfodiészter kötések jönnek létre két egymást követő dezoxiribóz között, így a molekula gerincét alternáló pentóz- és foszfátcsoportok képezik. Egy emberi DNS molekula hosszúsága a legkisebb, 21-es kromoszómában ~48 millió bázispár (48 Mbp) és ~250 millió bázispár (250 Mbp) az 1-es, tehát a legnagyobb kromoszóma esetén.



1-4. ábra
A DNS szerkezete. Részletes leírását l. a szövegben.

DUPLICATE

A DNS – közismert – szerkezetében találjuk meg a választ arra, hogy a kémiai információ hogyan teheti lehetővé a genetikai információ pontos átadását az utódsejtnek, ill. az utódnak. A 4. fejezetben kiderül, hogyan határozza meg a DNS elsődleges szerkezete a fehérjék polipeptidláncának aminosav szekvenciáját. A natív DNS másodlagos szerkezetét James Watson és Francis Crick kettős hélix modellje tette érthetővé 1953-ban. A helikális struktúra egy jobbkezes csigalépcsőhöz hasonlít, amelyben két, ellentétes irányba futó, **antiparallel** polinukleotid láncot a bázispárok tagjai közötti H-kötések tartanak össze. Az egyik lánc A-ja a másik T-jével, egy G pedig egy C-vel alkot párt. A humán genomban mind a kromoszómákon, mind a mitokondriumok kromoszómáin a genetikai információt a kettős hélix két szálán, az A, C, G, T nukleotidok sorrendje kódolja. Ha csak az egyik szál nukleotid szekvenciáját ismerjük, akkor a DNS dupla hélix két szálának **komplementer** volta miatt a másik szál szekvenciáját is meg tudjuk mondani. A kettős hélix szerkezet miatt valósulhat meg a DNS precíz replikációja a két szál szétválasztásával, majd az eredeti szálak szekvenciájával összhangban levő két új komplementer szál szintézisével. A bázispárok komplementaritása a sérült vagy hibásan szintetizált DNS molekulák hatékony és pontos javítását is lehetővé teszi.

Az eukarióta kromoszómák szerveződése

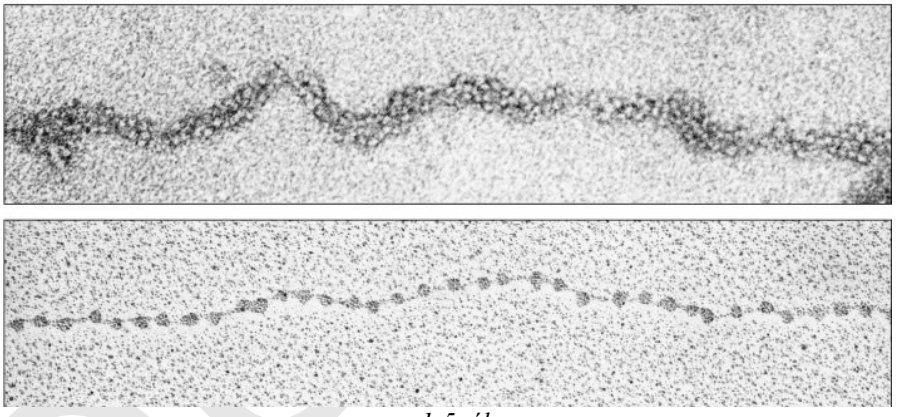
A humán genomban nem csak a gének, hanem a gének kifejeződését meghatározó információk is a sejtmagban levő 46 kromoszómán és a mitokondriális DNS-ben (16 569 bp) találhatók meg. A DNS megkettőződés előtt *a G1 fázisban levő sejtekben minden egyes emberi kromoszóma egy darab lineáris, kettős hélix szerkezetű DNS molekulát tartalmaz,* azaz a nem osztódó testi sejtekben a sejtmagi genomot összesen 46 DNS molekula alkotja, ami kb. 6 milliárd nukleotidpárt jelent.

Ha a kromoszómák pusztán DNS-ből épülnének fel, nehezen lenne elképzelhető a replikációjuk és az utódsejtekbe való továbbadásuk a hosszú láncmolekulák összegabalyodása és szétszakadása nélkül. A genomi DNS rövid szakaszai maradhatnak csak szabadon, egyébként a DNS a magfehérjék több osztályával komplex szupramolekuláris struktúrát alkot, azaz **kromatin** szerkezetbe szervezett. A sejtosztódás idejétől eltekintve a kromatin diffúzan szétoszlik a sejtmagban, emiatt viszonylag homogénnek tekinthető a fénymikroszkópos képe. Heterokromatikus rögöket lehet látni ezzel a technikával is, de elektromikroszkóppal sokkal jobban megkülönböztethetők egymástól a halványabban festődő, génikusan aktív eukromatinhoz tartozó és az erősebben festődő, génikusan inaktív heterokromatinhoz tartozó részek. Amikor a sejt osztódik, akkor a genom a fénymikroszkóp alatt is jól látható kromoszómákká tömörül (1-1. ábra). Habár a kromoszómák csak a sejtosztódás idején észlelhetők diszkrét, egymástól jól elkülönülő struktúrákként, a sejtosztódások között, az *interfázis*ban is megőrzik integritásukat, **kromoszóma territóriumo**kat alkotnak.

A kromoszómák DNS molekulája a bázikus hisztonokkal és a heterogén csoportot formáló nem-hiszton magfehérjékkel alkot kompakt szerkezetet. Az utóbbi

csoport tagjai közé tartoznak például a DNS és az RNS szintézisében résztvevő, vagy a génkifejeződés szabályozáshoz szükséges fehérjék.

A hisztonok 5 fő típusa lényeges szerepet játszik a kromatin megfelelő kondenzálódásában. Két-két molekula **H2A**, **H2B**, **H3** és **H4 hiszton** alkot egy **oktamer**t, ami körül a DNS dupla hélix 146 bázispárnyi szakasza – mint fonal az orsó köré – kétszer körültekeredik. A bázikus hisztonok pozitív töltése biztosít erős kötődést a negatív DNS-hez. A DNS-hiszton oktamer komplexet **nukleoszóma**nak nevezzük. Ez a kromatin szerkezeti alapegysége (1-1. és 1-5. ábra). A 46 emberi kromoszóma egyenként a több százezertől az egymilliós nagyságrendig terjedő számú nukleoszómát tartalmaz. Két nukleoszóma között egy rövid (szövetenként változó hosszúságú, kb. 10-80 bp) összekötő DNS szakasz helyezkedik el. A kétszer körbetekeredő DNS és az összekötő DNS szakasz hosszának összegéből adódóan a nukleoszómák mintegy 200 bázispáronként követik egymást, ami elekronmikroszkópos képen a kromatinnak gyöngyfűzér-szerű („beads on a string") megjelenést kölcsönöz. Az ötödik hiszton, a **H1** részben a DNS-en, részben hiszton oktameren kötődve összekapcsolja a nukleoszómákon feltekeredett DNS ki- és belépési pontjait, és a nukleoszómákat közel húzva egymáshoz egy magasabbrendű szerkezetté, **szolenoid**dá rendezi őket, ezzel újabb rövidülést, kondenzálódást eredményezve (1-1. és 1-5. ábra).



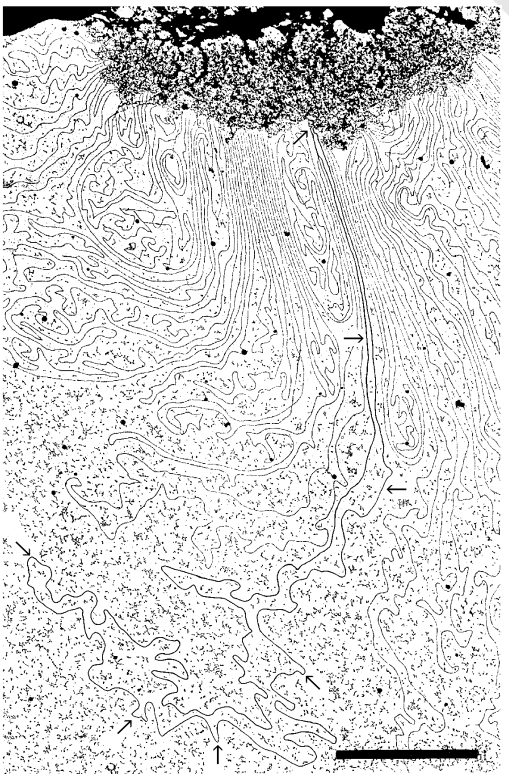
1-5. ábra

Fent: nukleoszómák szolenoid struktúrába szerveződése. (30 nm-es kromatin fonal.) Lent: Nukleoszómák „gyöngyfűzér" szerkezete az elemi (11 nm) kromatinszálban.

A kromatin egyes pontjain a H3 és H2A molekulákat számos speciális hiszton helyettesítheti, amelyek egyedi sajátosságokat kölcsönöznek az adott helyen a genomi DNS-nek. A hiszton oktamerekből a felépítő fehérjék N-terminális végei nyúlnak ki és kémiai modifikációk, az ún. poszttranszlációs módosítás (l. 4. fejezet) révén megváltozva – különösen a H3 és a H4 – befolyásolják az adott nukleoszóma és génterület tulajdonságait. A fő és a specializált hiszton típusok mintázatát és azok módosításait együttesen gyakran nevezik **hiszton kód**nak. A hiszton végeken történő módosítások elektrosztatikus töltésváltozást okoznak, ame-

lyek a hiszton-DNS kötődés erősségére hatva befolyásolják a kromatin szerkezetét és a DNS-nek a kötő fehérjékkel való kapcsolatát, szabályozzák a génexpressziós mintázatot és más genomi funkciókat.

A sejtciklus folyamán – mint ahogy azt alább még látni fogjuk – a kromoszómák kondenzálódnak, majd dekondendenzálódnak. Az osztódások közötti időszakban, a sejtciklus **interfázis**ában, a kromatinra a legkevésbé kondenzált állapot a jellemző. A hosszú gyöngyfűzér-szerű lánc (1-5. ábra) – más néven a 11 nm-es elemi kromatinszál – a natív, fehérje-mentes DNS hosszához képest már jelentős rövidülést eredményez. Az elemi kromatinszál olyan tömörebb, másodlagos helikális formát mutató kromatin szerkezetbe csavarodik fel, amely elektronmikroszkóppal vastag fonalnak látszik (körülbelül háromszor olyan vastag, mint a gyöngyfűzér szerkezetű fonal). Ez a hengeres „**szolenoid**" **fonal** (a görög *solenoides* cső alakút jelent) a 30 nm-es kromatinszál. Ezek a kromatinfonalak kb. 100 000 bázispáronként (tehát 100 kilobázispáronként [100 kbp], 1 kbp = 1000 bázispár) **hurkok**ba (hurkos doménekbe) rendeződnek (1-1. ábra) azáltal, hogy a nukleáris mátrix fehérjéihez illetve osztódás idején a *scaffold* (kromoszómaváz) fehérjéihez kapcsolódnak. Feltételezhetően a hurkok a DNS replikációnak vagy a gén transzkripciónak, vagy mindkettőnek működésbeli egységei, és a letapadási helyek rögzítettek az egész sejtciklus alatt. A génexpresszió szabályozásának egyik szintjén a gének kondenzáltságának foka, végső soron a DNS és a tömörebb szerkezetbe pakolásában részt vevő kromatinfehérjék közötti kapcsolódás milyensége fontos szerepet játszik.



1-6. ábra
Részlet egy kiterített, hisztonmentesített emberi metafázis kromoszómából

Fent a kromoszómaváz maradványa. A nyilak egy DNS hurokra mutatnak. (A vonal 1 μm.)

A maximálisan tömörödött kromoszóma hossza kb. 1/10000-ed része a teljesen kitekeredett DNS hosszának. Ha az osztódó sejt kromoszómájából óvatosan eltávolítják a hisztonokat (1-6. ábra), visszamarad egy, a kromoszóma alakját többé-kevésbé megőrző **kromoszómaváz**, a ***scaffold*,** amely körül a kiterült DNS hosszú hurkai egy nagy udvart alkotnak.

Mitokondriális kromoszómák

Ahogy azt fentebb már említettük, egy kicsi, de fontos részhalmaza a humán genomban kódolt géneknek a citoplazmában lévő mitokondriumokban található. A mitokondriális gének kizárólag maternális öröklődést mutatnak (l. 5. fejezet). Az emlős sejtekben több száz, sőt akár több ezer mitokondrium is lehet. Mindegyikben több kópiában is jelen van a kicsi, 16 kbp-nyi, cirkuláris, kromatinba nem szervezett DNS molekula, azaz a mitokondriális kromoszóma. A kevés számú (37 db) mitokondriális gén terméke mind ebben a sejtorganellumban működik. Az egyéb itt található fehérjéket a sejtmagban lévő gének kódolják. Számos maternálisan öröklődő betegség kialakulásában bizonyult oki tényezőnek valamely mitokondriális génben történt mutáció (bővebben l. az 5. fejezetben).

A humán genom szerveződése

Az eukarióta sejt kromoszómái a különböző típusú géneknek és más DNS szekvenciáknak nem véletlenszerű gyűjteményei, hanem a hasonló módon szerveződő, replikálódó és expresszálódó DNS szakaszok régióit csoportokba rendeződve találhatjuk meg bennük. A funkció és szerkezet közötti eme párhuzam feltárásához hozzájárultak a kromoszómák analíziséhez használt laboratóriumi módszerek is (amelyek részben más szaktárgyakból ismertek, részben még említésre kerülnek e fejezetben, másrészt a következő és a 4. fejezetben foglalkozunk velük).

Egyes kromoszóma régiók vagy akár egy egész kromoszóma is lehet gazdagabb génekben, más régiók pedig lehetnek génszegények (pl. az Y kromoszóma, a kromoszómák telomerjei stb.). A génekben gazdag kromoszómák vagy kromoszomális régiók rendellenességei általában sokkal súlyosabb klinikai következményekkel járnak, mint a hasonló nagyságú, de génszegény genomi régiót érintő rendellenességek.

A Humán Genom Projekt segítségével szerzett tudás alapján úgy tűnik, hogy a DNS szerveződése az emberi genomban sokkal változatosabb annál, mint ahogy azt egykor gondoltuk. Az egy genomnyi DNS ~3 milliárd bázispárjának valójában kevesebb, mint 1,5%-a kódol fehérjéket, és csak kb. 5%-áról gondoljuk, hogy az egyedfejlődés folyamán a különböző szövetekben kialakuló génexpressziós mintázat meghatározásában jelentős regulátor elemeket tartalmaz. Megközelítőleg a teljes genom felét teszik ki a **nem-ismétlődő szekvenciák**, amelyek csak egyszer (vagy legfeljebb kevés számban) vannak jelen az egész genomban. A genom másik felét az **ismétlődő szekvenciák** különféle osztályai adják. Ezek azonos formában vagy némi eltéréssel több százszor vagy akár milliószor is megtalálhatók egy genomban. A becslések szerinti kb. 25 000 génünk túlnyomó többsége egyedi szekvenciaként van jelen. Az ismétlődő szekvenciák többek között a kromoszóma szerkezetének kialakításához és fenntartásához járulnak hozzá, és fontos forrásai az egyedekben fellelhető különféle szekvencia-variációknak; amelyek például hajlamosíthatnak arra, hogy valamilyen kóros esemény következhessen be a genomban.

Nem-ismétlődő DNS-szekvenciák. Bár a genom felét a nem-ismétlődő („*single-copy*") szekvenciák alkotják, csak egy kicsiny részüknek – a fehérjét kódoló szekvenciáknak (más néven fehérjét kódoló géneknek, melyek szerkezetét és működését a 4. fejezetben tárgyaljuk) ismerjük a szerepét, nagy többségük funkciója még rejtély. A legtöbb nem-ismétlődő szekvencia rövid terjedelmű (néhány kilobázispárnyi vagy kisebb), és a genomban elszórtan, különféle ismétlődő szekvencia családokkal tarkítva vannak jelen.

Ismétlődő DNS-szekvenciák. Számos különböző kategóriájukat ismerjük. Az ún. nagy gyakorisággal ismétlődő szekvenciák két típusát az alapján különítjük el, hogy egy csoportban, azaz egy vagy kevés számú helyen találhatók a genomban, vagy a nem-ismétlődő szekvenciákkal összekeveredve, szétszórtan helyezkednek el. Becslések alapján a genom kb. 10-15%-át a csoportba tömörülő, ún. **tandem ismétlődő szekvenciák** teszik ki, amelyek azonos orientációban, közvetlenül egymás után helyezkednek el. Ezeket **apród DNS**-nek vagy szatellitáknak is nevezzük, mivel biokémiai módszerekkel csak a genom fő tömegétől különálló („*satellite*" = csatlós) DNS frakcióként tudták elkülöníteni őket. Az ismétlődő szekvencia hossza alapján különböző osztályokat különítenek el (mikroszatellita, miniszatellita). Az ismétlődések száma is különböző lehet.

Számos tandem ismétlődő szekvencia jelenléte a genomban viszonylag könnyen kimutatható, és ez forradalmasította a klinikai citogenetikai analízist (l. a 2. fejezetben). Néhány emberi tandem ismétlődő szekvencia esetén egy rövid szakasz, pl. egy pentanukleotid (néhány variációja) ismétlődik hosszú sorozatokat alkotva. Ilyeneket találtak az 1-es, a 9-es és a 16-os kromoszómán a génikusan inaktív régiókban, és effélék teszik ki az Y kromoszómának több mint a felét is. Más tandem ismétlődő szekvencia-családok némileg hosszabb szakaszok ismétlődésén alapulnak. Például az α-szatellita család tandem ismétlődő sorozata – amely minden humán kromoszóma **centromer** régiójában megtalálható – egy kb. 171 bázispárnyi szekvenciának a kissé eltérő másolataiból tevődik össze. A centromerek a sejtosztódás idején a kinetokorok fehérjéinek közreműködésével a kromoszómáknak a húzófonalak mikrotubulusaihoz való tapadásában fontosak. Az α-szatellita család tehát jelentős szerepet kap – a centromer által – a kromoszómák megfelelő különválásának biztosításában a meiózisban és a mitózisban, amelyekről ebben a fejezetben alább még szó esik.

Az ismétlődő DNS-szekvenciák másik fő típusa a genomban szabálytalanul **szétszórt ismétlődő szekvenciák** osztálya. Noha sok kis DNS szekvencia család beleillik ebbe a csoportba, csak kettőt tárgyalunk részletesen. Egyrészt, mert e kettő együtt jelentős hányadát adja a genomnak, másrészt azért, mert ezek genetikai rendellenességekkel is kapcsolatban állnak. A rövid szétszórt szekvenciák (*Short INterspersed Elements* [ang] = SINE) családjának legjobban tanulmányozott és legjelentősebb képviselői az **Alu szekvenciák**. Tagjai kb. 300 bp hosszúságúak és – bár DNS-szekvenciájuk nem azonos – felismerhetően hasonlítanak egymásra. Összesen több mint egymilló Alu szekvencia van a genomban, ezek adják a humán genom ~10%-át. Eloszlásuk egyenetlen, a genom néhány területén (pl. a telome-

rikus régiókban) gyakoribbak. Bár passzív résztvevői a **transzpozíció**nak (l. 2. fejezetben), sejtjeinkben jelenleg is megvannak a további szóródásukhoz szükséges feltételek. A második legfőbb szétszórt ismétlődő DNS szekvencia családba (*Long INterspersed Elements* [ang] = LINE) hosszabb szekvenciák tartoznak. Legjellegzetesebb képviselői az **L1 szekvenciák**. 6 kbp-ig terjedhet a hosszuk, kb. 850 ezer a kópiaszámuk, így hozzávetőleg a genom 20%-át teszik ki. Bőségesen megtalálhatók pl. a centromer közelében, míg máshol viszonylag gyérebben fordulnak elő. Az L1 szekvenciák retrotranszpozonok (l. a 4. fejezetben), ezért kópiaszámuk folyamatosan növekedik.

Az ismétlődő szekvenciák kapcsolata betegségekkel. A genomban szétszóródott ismétlődő szekvenciák orvosi jelentősége többek között abból fakad, hogy mutációk létrejöttében lehet szerepük. Az Alu és LINE szekvenciákról létrejövő másolatok új helyre ékelődnek be a genomba, ezáltal alkalmanként orvosilag fontos génekben okoznak **inszerciós inaktivációt**. Az efféle genetikai rendellenességeket okozó események pontos gyakorisága jelenleg nem ismert, de valószínűleg 500 mutációnként egyet ezek okozhatnak. A különböző LINE vagy Alu ismétlődések közötti illegitim rekombinációs események is mutációk bekövetkeztét vonják maguk után. Találkozunk még e jegyzetben ilyen példákkal néhány génikus betegség kapcsán.

A **szegmentális duplikációk**nak vagy **alacsony kópiaszámú ismétlődések**nek nevezett DNS-szekvencia osztály tagjai nagyon hűen megőrzik az eredeti szekvenciát, amikor duplikálódnak. A megkettőződő szakaszok kiterjedése akár több száz kilobázispárra (10-300 kbp) rúghat, néha jelentős kromoszomális régiókat érintve. Ezek az ismétlődő szekvenciák a genom minimum 5%-át alkotják. Megfigyelték, hogy az ismétlődő szekvenciák miatti genomi átrendeződések folytán az ilyen elemek között található nagyobb kromoszóma régiók is gyakrabban megkettőződhetnek vagy teljesen ki is eshetnek delécióval. A fontos géneket érintő deléciók betegségekhez vezetnek. Az efféle átrendeződések jelentős forrásai az egyes személyek közötti **kópiaszám variáció**knak.

A sejtosztódás és szabályozása

Magasabbrendű eukarióta élőlényekben kétféle sejtosztódás létezik: a mitózis és a meiózis. A **mitózis** a testi (szomatikus) sejtekre jellemző. Szükséges a test növekedéséshez, a differenciálódáshoz és a szöveti regenerálódáshoz is. A mitotikus sejtosztódás két utódsejtet eredményez. Mindkettő a szülősejtével azonos kromoszómákat és géneket tartalmaz. Egy testi sejtvonalban több tucat vagy akár több száz egymást követő mitózis történhet. Ezzel ellentétben a **meiózis** csak a reproduktív ivarsejtek (**gaméták**) kialakulásáért felelős. Az ember gamétái mind csak 23 kromoszómát tartalmaznak – minden autoszóma pár egyik tagját, emellett pedig vagy egy X-et vagy egy Y-t. A testi sejtek **diploid**ok (*diploos* [gör] = dupla) azaz **2n a kromoszómakészletük** (ember esetén 46), a gaméták **haploid**ok (*haploos*

[gör] = egyszeres) azaz **n** kromoszómaszámúak (emberi gaméta esetén ez 23 kromoszómát takar).

A testi sejtvonal vagy az ivari sejtvonal sejtosztódásai alatt bekövetkező hibák jelentős számbeli vagy szerkezetbeli kromoszóma rendellenességeket okozhatnak.

A sejtciklus

Az emlősök, így az emberi lények is, megtermékenyített petesejtként (**zigóta**ként) kezdik életüket. A zigóta diploid sejt, amelyből a leendő test összes sejtje (kb. 100 billióra, azaz 10^{14} darabra becsülik a számukat) származik több tucatnyi vagy több száz egymást követő mitózis révén. Ez nyilvánvalóan fontos a növekedéshez és a differenciálódáshoz, de csak kis részét teszi ki egy sejt életciklusának. Két egymást követő mitózis közötti szakasz az **interfázis**. Ez az az állapot, amelyben a sejtek életük legnagyobb részét töltik.

Rögtön az osztódás után a sejt a G_1 fázisba lép, amelyben nincs DNS szintézis. (1-7. ábra.) Vannak olyan sejtek, amelyek órák alatt átmennek ezen az állapoton; más sejtek hosszú időt – napokat vagy éveket – töltenek a G_1-ben. Valójában néhány sejttípus, mint például a neuronok felnőttekben, egyáltalán nem osztódnak. Az ilyen teljesen differenciálódott sejtek sejtciklusa folyamatosan gátlás alatt van a G_1-ben. Ezt az állapotot ezért egy különálló nyugalmi, nem osztódó fázisnak, a G_0-nak nevezzük. Más sejtek – mint például a májsejtek – beléphetnek G_0-ba, de ha a szerv károsodik, akkor visszatérnek a G_1-be és folytatják a sejtciklust, majd osztódnak.

A sejtciklus szabályozásának bonyolult molekuláris hátterét még nem teljesen derítették fel. **Ellenőrzőpontok** szabályozzák az egész ciklust és benne a mitózis minden lépésének időzítését is. Ezek az „érzékelők” kontrollálják például a DNS épségét, a DNS-szintézis pontosságát és folyamatának lezárulását, a kromoszómák mozgását elősegítő mikrotubulusok bonyolult rendszerének összeszerelődését és a kromoszómákhoz erősítését. A sejtciklus zavartalan lezajlását akadályozza a DNS szerkezetének megsérülése. A szabályozásban résztvevő elemek mindaddig nem engedik a sejtet tovább lépni, amíg – a károsodás mértékétől függően – vagy javító mechanizmusok újra éppé nem teszik a DNS struktúráját és így a sejt folytathatja a sejtciklust, vagy amíg be nem indul – a DNS túlzott károsodása esetén – a génikusan előre programozott sejthalál: az **apoptózis** folyamata.

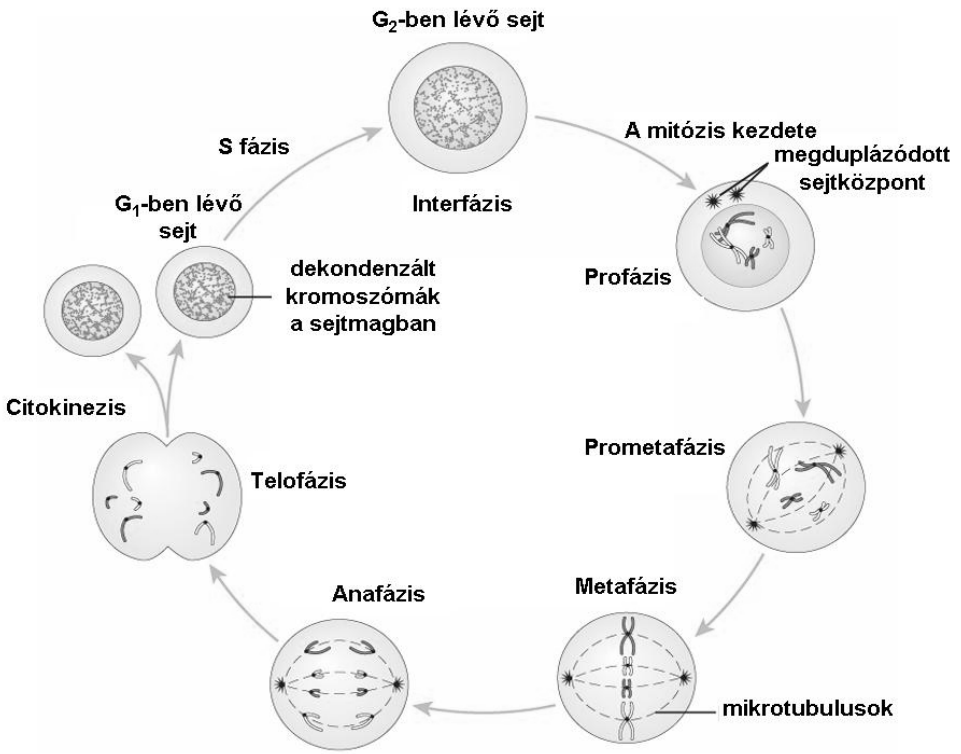
A G_1 fázisban minden testi sejt egyetlen kópia diploid genommal rendelkezik, minden kromoszóma egyetlen DNS molekulát tartalmaz. A G_1-et követő **S** (szintézis) **fázis**ban minden DNS molekula replikálódik és két **testvérkromatid**ot tartalmazó kromoszómává válik. Minden kromoszóma (kétkromatidosnál a testvérkromatidok) végén a speciális ismétlődő szekvenciákból álló **telomer** biztosítja a kromoszóma védelmét az egész sejtciklus alatt. Egy RNS-tartalmú enzim, a **telomeráz** – az RNS-ével templátot szolgáltatva a kromoszómák legeslegvége replikációjához – biztosítja a telomerek hosszának megőrzését. Telomeráz hiányában a kromoszó-

DUPRES

mák minden ciklussal egyre rövidebbekké válnak, ami végső soron a sejt halálához vezet.

Jelentős szerepet tulajdonítanak – a fentiek értelmében – a telomer–telomeráz rendszernek a sejtek öregedésében, ill. „halhatatlanná” válásában. Az utóbbi vonatkozásban, a daganatos elfajulást illetően l. még a 11. fejezetet.

A két testvérkromatid azonos szekvenciájú DNS molekuláit a **centromer** régióhoz kötődő fehérjék tartják össze. A centromerhez kapcsolódó bonyolult szerkezetű kinetokor fehérjéi pedig segítenek a kromoszómának az oszlási orsó mikrotubulusaihoz való kapcsolódásban, ami a kromoszóma mozgatásához elengedhetetlen a mitózis folyamán.



1-7. ábra.
Mitózis és sejtciklus

Az ábra a valóságosnál sokkal rövidebbnek mutatja az interfázist, benne a G_1, S és G_2 szakaszokkal. A jobb áttekinthetőség kedvéért a mitózis fázisait megnyújtottuk.

Az S fázis 6-8 órás időtartama alatt egy kromoszóma több száz vagy akár több ezer pontján is elkezdődhet a DNS-szintézis. Ezeket a kezdőpontokat **DNS replikációs origó**knak nevezzük. Egyes kromoszóma szakaszok előbb, mások később

kerülnek sorra, és az egyedi szegmentumoknak rájuk jellemző replikációs idejük (sorrendjük) van. Az S fázis végére a sejt egész DNS állománya megkettőződik, tehát minden sejt két kópiányi diploid genomot tartalmaz (2C → 4C). Ezután egy rövid szakasz, a G_2 következik. A G_1+S+G_2 együtt az interfázis, amely alatt folyamatosan szintetizálódnak ribonukleinsavak és fehérjék, a sejt pedig fokozatosan gyarapszik, teljes tömegét kétszeresére növelve a következő mitózis előtt. Akkor ér véget a G_2, amikor a testvérkromatidok elkezdenek kondenzálódni és vékony, hosszabb fonalak/szálak/ként – megfelelő preparálás és festés után – fénymikroszkóppal is láthatóvá válnak, azaz kezdetét veszi a mitózis (fonalas sejtosztódás), amelynek menetét részletesebben kifejtjük a következő szakaszban.

Az interfázis a sejtciklusnak mintegy 80-90%-át teszi ki, ami jellemzően nagyjából 16-24 órát jelent egy osztódó emberi sejt esetében. A mitózis csak 1-2 óráig tart. A sejtciklus hossza nagy változatosságot mutat. A gyorsan osztódó sejtek – mint például általában a korai embrióban, felnőttben a bőrben lévő epidermisz sejtek vagy a bélhámsejtek – esetében néhány órás, míg más sejttípusoknál hónapokat is igénybe vehet.



1-8. ábra

Politén kromoszóma részlete

A kép alján (a puff alatt) látható méretjelző vonal 20 µm-t jelöl.

Óriási kromoszómák kialakulásához vezet, ha egy sejt az interfázis S fázisát többször is megismétli anélkül, hogy osztódna. Leginkább az ecetmuslicák (*Drosophila melanogaster*) lárváinak nyálmirigyében lévő sejtekben ismerjük ezeket az ún. politén kromoszómákat, amelyek legalább 10, egymást követő replikáció eredményeként több mint 1000 DNS molekulát, a centromerjüknél mindvégig együtt

DUPress

maradó testvérkromatidot tartalmaznak. Ezeken a hatalmas, fénymikroszkóppal jól vizsgálható kromoszómákon az aktív génátíródást, az intenzív RNS szintézist a fellazult kromatinszerveződés miatt puffoknak nevezett megvastagodások jelzik. A megsokszorozott génmennyiség jelentősen elősegíti a gyors és nagy mennyiségű fehérjetermelést, ami egy mirigyszövetben igen előnyös.

A mitózis

Kromoszóma szegregációnak nevezzük a sejtciklus mitózis fázisában a kromoszómák testvérkromatidáinak szétválását és elkülönülését a két utódsejtbe (1-7. ábra). Ha ez a folyamat hibásan zajlik, akkor az utódsejtek genetikailag instabillá válnak, mint például tumorsejtek esetén.

A mitózis folyamata megszakítás nélküli és 5 szakaszra osztható: profázis, prometafázis, metafázis, anafázis és telofázis.

Profázis: A mitózis kezdeti szakaszában a sejtmagban lévő kromatinállomány fokozatosan fénymikroszkóppal látható kromoszómákba tömörül. A citoplazmában a megkettőződött sejtközpont (centroszóma) a sejt két ellentétes pólusára vándorol, miközben formálódik az **oszlási orsó**.

Prometafázis: Szétesik a magboríték, a kétkromatidás kromoszómák kinetokorjaihoz mikrotubulusok kapcsolódnak. A kapcsolódás csak akkor stabilizálódik, ha egyik testvérkromatid kinetokorjához az egyik pólushoz, a másikhoz a másik pólushoz tartozó húzófonalak kötődnek. Ez a mechanizmus akadályozza meg, hogy mindkét testvérkromatid ugyanabba az utódsejtbe jusson, miközben a másikba nem kerülne az adott kromoszóma egyetlen példánya sem. A kromoszómák az oszlási orsó egyenlítői síkja felé mozognak, közben kondenzálódásuk folymatosan zajlik.

Metafázis: Miközben a kromoszómák elérik a maximális tömörséget, (a két pólus irányában elkötelezett, de még egymáshoz tapadó testvérkromatidokkal) az orsó egyenlítői síkjába rendeződnek azáltal, hogy a sejtközpontból kibocsátott mikrotubulusok egyenlő erővel hatnak rájuk mindkét oldalról. Ez az osztódási szakasz a legrövidebb, a felsorakozás megtörténtével véget is ér. Az osztódó emlős sejtek kromoszómáit a mitózis prometafázisában vagy a metafázisban lehet legkönnyebben tanulmányozni. (Technikailag a metafázis sejtek előállítása könnyebb.)

Anafázis: Az anafázis akkor kezdődik, amikor a már csak centromerjüknél egymáshoz kapcsolt testvérkromatidok összetapadása megszűnik és hirtelen szétválnak. Az egymástól függetlenné vált testvérkromatidok **utódkromoszómák**ká válnak, amelyeket a kinetokorjukhoz kapcsolt húzófonalak a sejt két ellentétes pólusára húznak (1-7. ábra).

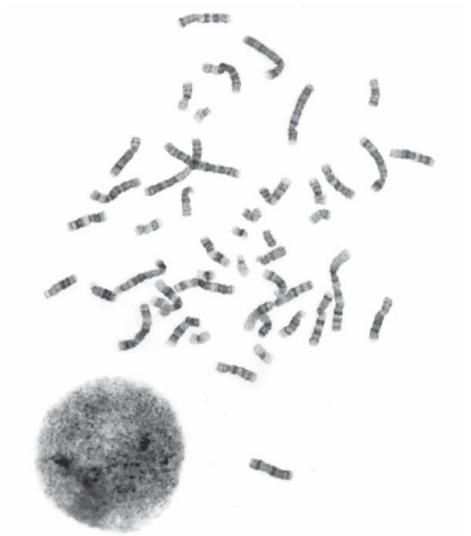
Telofázis: A kromoszómák elkezdenek dekondenzálódni, körülöttük újra összeszerelődik a magboríték. Mindkét sejtmag szerkezete fokozatosan kialakítja az interfázisos képet.

A sejtosztódás folyamatának befejezéseképpen a **citokinezis**ben – a metafázisos egyenlítői síknak megfelelő helyzetben – a sejtmembrán belső felszínéhez kapcsolódó kontraktilis gyűrű a membránt magával vonva összehúzódik és kettéfűzi a citoplazmát.

A mitótikus osztódás végeredménye az anyasejttel mindenben – az örökítő anyagban is – megegyező, egymással azonos két utódsejt. Egy fontos különbség van a mitózisba éppen belépő és a mitózist éppen befejező sejt között. A szülő sejtek kromoszómáinak G_2-ben két kromatidája van, míg az utódsejtek kromoszómái csak az örökítő anyag egy kópiáját tartalmazzák. A kromoszómák egykromatidások maradnak mindaddig, amíg a következő sejtciklusban a sejt el nem éri újra az S fázist, amikor minden kromoszóma kétkromatidossá válik. A mitózis egész folyamata a megkettőződött genom szabályos szétválását biztosítja az egymást követő sejtosztódásokban. Az egész eukarióta élővilágra általánosan jellemző, hogy mitózissal haploidból haploid, diploidból diploid sejtek jönnek létre.

A humán kariotípus

Az osztódó emberi (és más emlős) sejtek kromoszómáit a prometafázisban és a metafázisban lehet eredményesen vizsgálni. (Az utóbbi stádiumban a legtömörebbek, de ez nem feltétlenül kívánatos a sávtechnikák alkalmazása szempontjából.) A szokásos feldolgozási technikával nyert preparátumokban egy sejt kromoszómái elszórtan láthatók a mikroszkóp alatt. Ha ezt a képet valahogyan rögzítik (lefotózzák), akkor a sejt **rendezetlen kariogram**ját kapják (1-9. ábra). Minden kromoszóma kétkromatidás, de elég ritkán látható külön külön a két testvérkromatid, mivel nagyon szorosan egymás mellett vannak.



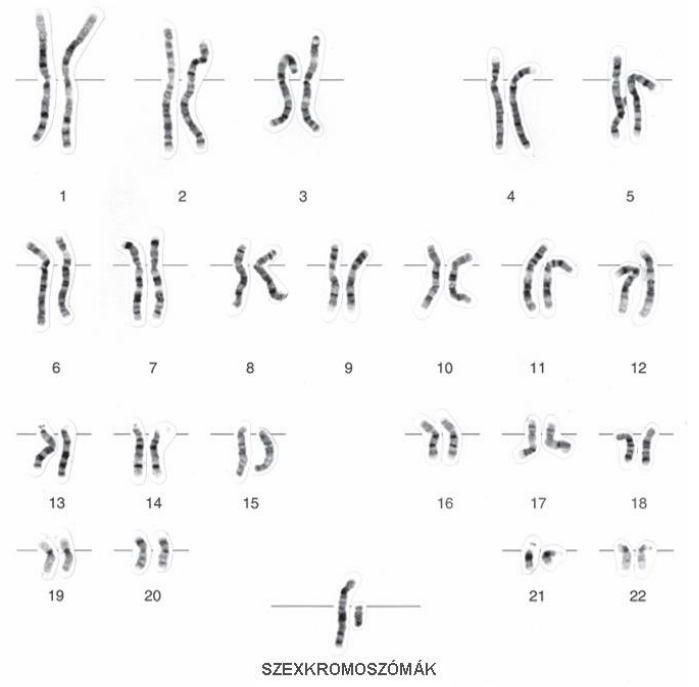
1-9. ábra

Egy interfázisos sejt magja és egy másik sejt rendezetlen kariogramja (G sávozás)

A legtöbb kromoszómát nem csak a hossza, hanem a centromer helyzete alapján is meg lehet különböztetni. A centromer **elsődleges befűződés**ként jelenik

meg. Ez a jól felismerhető citogenetikai tájékozódási pont két **kar**ra osztja a kromoszómákat. A rövid kart **p**-vel, a hosszú kart **q**-val jelölik (1-2. ábra). Mind a 24 féle kromoszóma (22 autoszóma, X és Y) egyedileg azonosítható különféle citogenetikai és molekuláris technikák közös használatával.

Az 1-10. ábrán prometafázisban lévő sejt Giemsa-festéses technikával (**G-sávozás**) kezelt kromoszómái láthatók. Ez a technika a legelterjedtebb a klinikai citogenetikai laboratóriumokban. Minden kromoszómapár a rá jellemző, sötét (G^+) és világos (G^-) sávok váltakozásából adódó mintázattal festődik. A festődés mértéke nagyjából összhangban van azzal, hogy milyen tulajdonságú DNS szekvencia található az adott sávban (például milyen bázisösszetételű, azaz hány százalékban van jelen GC vagy AT pár a szekvenciában, vagy az ismétlődő szekvenciák milyen arányban vesznek részt az adott szakasz felépítésében). A G-sávozással és más sávtechnikákkal minden kromoszóma egyedileg megkülönböztethető a többitől, ami megkönnyíti a szerkezeti vagy számbeli kromoszóma rendellenességek meghatározását (l. részletesebben a 2. fejezetben).



1-10. ábra

Rendezett kariogram, G sávtechnika. Normális férfi kariogram

Kariotípus: 46,XY. (A női kariotípus 46,XX, azaz abban két homológ X kromoszóma van.)

Általában digitálisan rögzítik a mikroszkópos képet, a rendezetlen kariogramot, és egy számítógépes program segítségével, standard osztályozási elvek szerint – a

fajra jellemző kromoszómakép, az **idiogram** (1-2. ábra) alapján – sorba rendezik a kromoszómákat, párosával. Így hozzák létre a **rendezett kariogram**ot (1-10. ábra)**.** Megfelelő számú sejttel megismételve az eljárást az egész egyedre jellemző kromoszómaösszetételt, a **kariotípus**t tudják meghatározni. Kariotipizálásként beszélünk arról a folyamatról, amelyben megállapítják az adott (pl. daganatos) sejtvonalra vagy az adott egyénre speciálisan jellemző kromoszómaszerelvény összetételét.

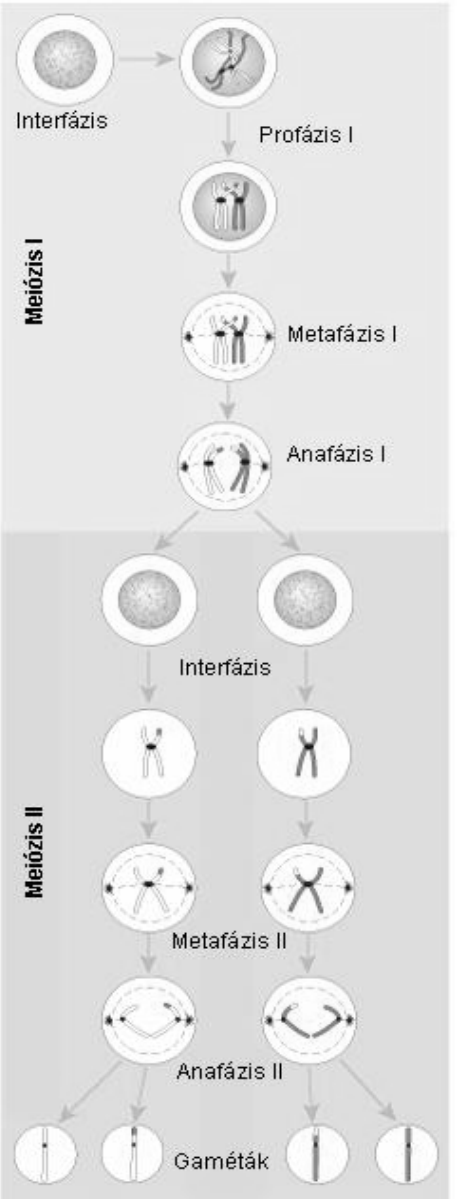
A meiózis számcsökkentő (redukciós) sejtosztódás. Az ivaros szaporodás lényege, hogy a gének keveredését és a diploid állapot megőrzését biztosítsa. **A diploid állapot teszi lehetővé, hogy a különböző génekben mutáns genomok egymás hibáit kompenzálják**. Gyakran a heterozigóta állapot a legkedvezőbb az egyed túlélése szempontjából. Az ivaros szaporodáshoz előbb a szülők diploid genomját két külön – de teljes, kihagyás és ismétlődés mentes – genommá kell szétválogatni a meiózissal. A két szülő haploid genomjának keveredése a zigótában azonban nem lenne elég a különböző allélváltozatok új kombinációinak létrejöttéhez. **A meiózis során tehát a diploid sejtek nem csupán haploid utódsejteket képeznek, hanem eközben még a saját genetikai állományukat is újrakombinálják**. A gamétákba egyrészt véletlenszerűen kerül be minden homológ pár eltérő eredetű tagjai közül az egyik, másrészt ezek már új allélösszetételű kromoszómák lesznek a meiózis legelején lejátszódó genetikai rekombináció miatt. Végeredményül – génállományukat tekintve – a létrehozott utódsejtek egyike sem lesz azonos bármelyik másikkal.

A két egymást követő meiotikus osztódási szakasz (meiózis I és meiózis II) közül csak az elsőt előzi meg a DNS replikációja. A **meiózis I-et redukciós sejtosztódásnak is nevezzük**, mert a kromoszómaszám felére csökken. A homológ kromoszómák a profázis I-ben egymás mellé rendeződnek és egyes szakaszaik kicserélődnek egymással (*crossing over* [ang]: átkereszteződés). Ezt **rekombináció**nak nevezzük. Majd a párok tagjai különböző sejtekbe kerülnek a meiózis I anafázisában. Az X és Y kromoszómák szigorúan véve nem alkotnak homológ párt, de bizonyos szakaszaik a rövid és a hosszú kar végén homológok egymással (pszeudoautoszomális régiók [PSAR]), és ezeken a szakaszokon részlegesen összekapcsolódhatnak a meiózis I-ben. A spermiogenezisben az X és Y elválnak egymástól.

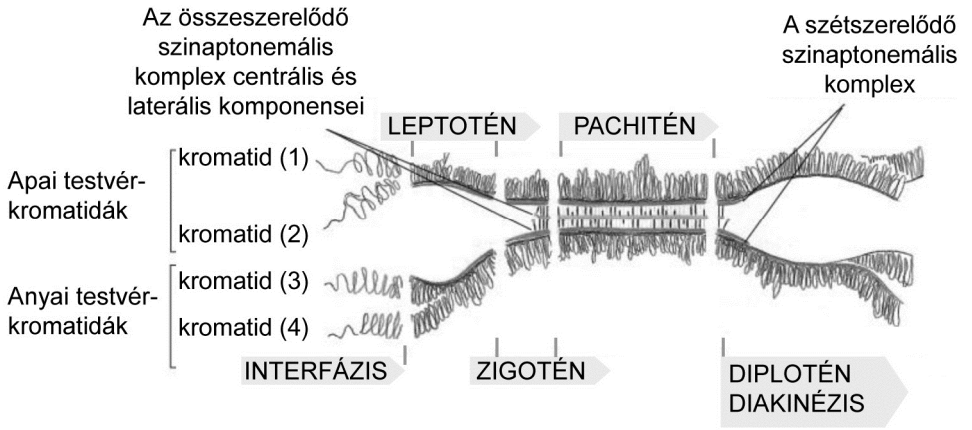
Az öröklődő betegségeket okozó génváltozatok térképezésében alapvető fontosságú a *crossing over*. A **rekombináció** akkor játszódhat le pontosan, ha a két homológ kromoszóma fizikai összefonódása megfelelő szekvenciák között jön létre (1-12. ábra). Ez a feltétele annak is, hogy a kromoszómák szétválása is pontosan menjen végbe. A helytelenül lezajló rekombináció a kromoszómák hibás szegregációját okozhatja a meiózis I-ben és ez gyakori oka kromoszóma-rendellenességeknek.

A **második meiotikus osztódás** eseményeit és azok sorrendjét tekintve érdemben egyezik a mitózissal. A meiózis I-től hosszabb-rövidebb szünet választja el. Ez a szünet nem felel meg a mitótikus ciklus interfázisának, mivel nem történik benne DNS duplázódás és nincs G_1, G_2 szakasz. A meiózis II-ben minden homológ

párból egy-egy példány van jelen, azaz n számú, két testvérkromatidos kromoszóma. Az anafázisban a testvérkromatidok elkülönülnek, és egykromatidos kromoszómákként a haploid utódsejtek új sejtmagjába kerülnek.



1-11. ábra
Meiózis



1-12. ábra

Homológ kromoszómák szinapszis-képzése a meiózis I-ben, balról jobb irányban az időbeli egymásutániság sorrendjében.

Az első meiotikus osztódás (Meiózis I). **Profázis I:** A mitózis profázisánál bonyolultabb, attól számos tekintetben eltérő, megnyúlt szakasz, amely öt részre tagolható. A kromoszómák mindvégig folyamatosan kondenzálódnak, egyre rövidebbekké és vastagabbakká válnak (1-11. ábra).

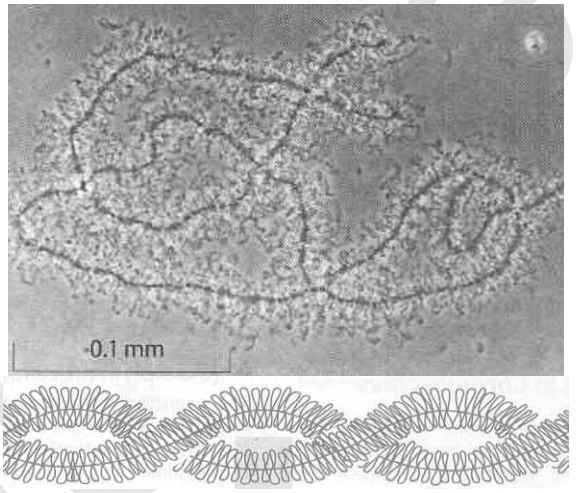
A meiózis I profázisának öt alszakaszában lejátszódó szinapszis-képzés:

Leptotén. Megkezdődik az S fázisban megduplázott kromoszómák kondenzációja. A két testvérkromatid egyetlen vékony fonal formájában fénymikroszkóppal észlelhetővé válik. A sejtmagot egymást átfedő, vékony fonalak töltik ki, ezek végei a magburok belső felszínén lévő nukleáris laminához tapadnak, a kapcsolódási pontok vándorolnak.

Zigotén. A magburoknál egymással találkozó homológ párok végei egy speciális szalagszerű fehérjeszerkezet, a **szinaptonemális komplex** segítségével összekapcsolódnak. A szinaptonemális komplex (1-12. ábra) tovább épül és a homológ párok között lokuszról lokuszra haladva precíz összekötetés jön létre, amelynek molekuláris alapja még nem teljesen tisztázott. (Mindenesetre bázispárról bázispárra pontos az illeszkedés.) Mintha egy cipzár záródna közöttük a magborítéktól a mag belseje felé haladva, teljes hosszukban egymáshoz igazodnak, ez a **szinapszis-képzés** folyamata. Mivel két-két testvérkromatid áll össze egyetlen látható fonallá, **tetrád**nak nevezik ezt a formációt. **Bivalens**nek is nevezik az így kialakult képleteket, mivel egymás mellett tartalmazzák a homológ pár anyai és apai eredetű tagját.

Pachitén.: A kromoszómák még szorosabban feltekeredned, vastag fonalak formájában láthatók. A szinapszis teljes. A szinaptonemális komplexben lévő **rekombinációs nodulus**okban található rekombinációs enzimek vesznek részt a **crossing over** (átkereszteződés) véghezvitelében (1-12. ábra), amelyhez a tökéletes szinapszisképzés előfeltétel. (A rekombinációs nodulusok nem látszanak az ábrán.)

Diplotén. A rekombinációt követően a szinaptonemális komplex elkezd lebomlani. A bivalens két komponense kissé távolodik egymástól, csak néhány ponton mutat – látszólagos – összeköttetést, ahol a kromatidák tagjai átkereszteződve maradtak. Ezeket a pontokat **kiazmák**nak nevezzük, a korábban lezajlott crossing overeket jelzik, de a tényleges helytől fokozatosan – disztális irányban – elvándorolnak, ahogy a kromatidák távolodnak egymástól. (A kiazmák becsült száma a humán spermatocita esetében kb. 50, vagyis bivalensenként egy vagy néhány.) A kromoszómák tovább tömörödésével láthatóvá válik a tetrádokban a négy kromatid. Az emberi petesejt ebben a stádiumban várakozik az embrionális kortól a tüsző éréséig (akár 50 évig is), ezalatt a kromatin dekondenzálódik kissé, azaz kromatinhurkok lógnak ki a kromatidokból és rajtuk RNS-szintézis folyik. Emlősökben, így az emberben ezt nem lehet fénymikroszkóppal jól megfigyelni, de kétéltűek oocitáiban fénymikroszkóppal is láthatók a kilógó hurkok, így jellegzetes alakjukról lámpakefe kromoszómáknak nevezik az említett állatokban ezeket a kromoszómákat. A lámpakefe kromoszómák a géntérképezésében, a genom szerveződésének megértésében és a hurkokban lévő gének kifejeződésének vizsgálatában is fontos szerepet játszanak.



1-13. ábra

Lámpakefe kromoszóma

Fent: fáziskontraszt mikroszkóppal készült felvétel. Lent: vázlat.

Diakinézis Ebben a stádiumban érik el a kromoszómák a maximális tömörséget, felvéve szokásos mikroszkópos alakjukat. A kromoszómavégek leválnak a nukleáris laminárról. Ellentétben a mitózissal, a kromoszómák centromerjein csak egy aktív kinetokor alakul ki, mivel a testvérkromatidok kinetokorjai összetapadnak, egy egységként működnek.

Metafázis I: A mitózis metafázisához hasonlóan akkor kezdődik, amikor a sejtmaghártya már teljesen szétdarabolódott. Az oszlási orsó kezd kialakulni, a párban lévő kromoszómák az oszlási orsó egyenlítői síkjába igazodnak.

Anafázis I: A homológ kromoszómapárok szétválnak, a húzófonalak a két ellentétes pólusra húzzák őket. Ez a folymat a **diszjunkció** (1-11. ábra). A meiózis I-ben tehát a kromoszómaszám feleződik, a *Homo sapiens* esetén 46-ról 23-ra, diploidról haploidra. Mivel az egyes bivalensek egymástól függetlenül válnak szét, ezért az apai és az anyai eredetű homológ kromoszómák véletlenszerűen kombinálódnak a két póluson = **neokombináció**. A 23 pár kromoszóma összes lehetséges variációjának száma így 2^{23} (több mint 8 millió). A rekombinációknak köszönhetően a szülőtől gyermekbe átadott genetikai anyag variációinak száma valójában lényegesen nagyobb ennél. A crossing overek eredményeként minden testvérkromatid mindkét szülői kromoszómából tartalmaz szakaszokat, például az 1-es – a legnagyobb – kromoszóma jellemzően kb. 3-5, felváltva apai és anyai eredetű szakaszból kombinálódik össze.

Sokféle hiba történhet a sejtosztódás során. Néhány leállítja a meiózist és a sejt elpusztul. Az anafázis I-ben bekövetkező más jellegű hibák a kromoszómák rendellenes szegregációjához vezetnek, például a homológ kromoszómapár mindkét tagja egy irányba vándorol ahelyett, hogy az ellenkező pólusra menne. Ezt folyamatot, a szét nem válást **nondiszjunkció**nak nevezzük. A nem megfelelően lezajló meiózis következményei közül néhánnyal a 2. és 3. fejezetben foglalkozunk.

Telofázis I: A két haploid kromoszómakészlet a sejt ellenkező pólusán csoportosul.

Citokinezis: A telofázis I után a sejt osztódik két haploid utódsejtre és egy közti fázisba jut. A spermatogenezisben a citoplazma többé-kevesbé egyenlően oszlik meg a két utódsejt között. Az oogenezisben az egyik utódsejt, a másodlagos oocita kapja jóformán az összes citoplazmát, a másik az első sarki testté válik. A mitózissal ellentétben ez a közti fázis rövid és **nem történik DNS szintézis**, azaz S fázis nélkül elkezdődik a meiózis II.

A második meiotikus sejtosztódás (Meiózis II). A második meiotikus sejtosztódás hasonlít a szokásos mitózishoz, azzal a különbséggel, hogy haploid sejtek osztódnak. **Végeredményben a kiindulásként szereplő egy diploid sejtből négy haploid utódsejt keletkezik** (a spermiogenezisben), amelyek mindegyike egy teljes sorozat, azaz 23 db egykromatidás kromoszómát tartalmaz. A meiózis I-ben történt átkereszteződések miatt az utódsejtek nem azonos kromoszómákat kapnak. A meiózisban nem csak a homológ kromoszómák szegregálódnak (a meiózis I-ben), hanem egy adott allélpár egymástól különböző apai és anyai eredetű tagjai is szétválnak az utódsejtekbe (l. az alábbi összefoglalást). Hogy ez mikor történik meg (a meiózis első vagy második szakaszában), az attól függ, hogy az allélpár részt vett-e crossing over-ben a meiózis I-ben.

PUBLISH

A meiózis genetikai következményei

– A kromoszómaszám diploidról haploidra csökken, ami nélkülözhetetlen lépés a gaméták kialakításában.
– Az allélek szegregálódnak – általában a meiózis I-ben vagy – ha crossing over játszódott le – a meiózis II-ben, összhangban a **gaméta tisztaság** törvényével (amit Mendel első törvényének is neveznek).
– A homológ kromoszómák párba rendeződését követően a véletlen szétválás eredményeképpen a genetikai anyag véletlenszerűen keveredik, összhangban a Mendel második törvényének tartott **független hasadás (öröklődés) szabályá**val.
– A genetikai állomány még nagyobb fokú keveredéséhez a rekombináció járul hozzá, ami a genetikai variabilitást megnövelő és normális kromoszóma szétválást biztosító mechanizmusként fejlődött ki az evolúció során.

A humán ivarsejtképződés és a megtermékenyítés

Az ontogenezis korai fázisában a fejlődő humán embrió kromoszomális nemétől függetlenül morfológiailag azonos folyamatok zajlanak. Az embrió fejlődésének igen korai stádiumában már elkülönülnek az ősivarsejtek és vándorlásba kezdenek. A 4. héten jól felismerhetők a szikzacskó falában, a 6. hét folyamán bevándorolnak a gonádok mezodermális eredetű szervtelepeibe és ott megtelepedve a testi sejtekkel együtt primitív gonádokat hoznak létre. Ezek a gonádredők hamarosan herékké vagy petefészkekké differenciálódnak attól függően, hogy milyen szexkromoszómákat hordoznak a sejtek. (Az Y-on levő *SRY* géné a fő szerep, ez indítja el a herefejlődést.) A 3. fejezetben bővebben tárgyaljuk ezt a témakört. A spermiogenezisben és az oogenezisben is meiózisra van szükség, de a meiotikus osztódás sem részleteiben, sem időzítésében nem azonos módon zajlik a két esetben. A „női meiózis" az magzati fejlődés korai stádiumában, csak korlátozott számú sejtben kezdődik el. A „férfi meiózis" viszont az ivarérett kor elérésétől fogva mitózissal szaporodó sejtekből a férfi egész életén át állandóan osztódó sejtpopuláció megszámlálhatatlanul sok sejtjében veszi kezdetét.

A humán meiózis közvetlen tanulmányozása igen bonyolult. A nőkben a meiózis szakaszosan (nagy szüneteket tartva) először a magzati ovariumban, majd közvetlenül az ovuláció előtt a petefészekben, legvégül a megtermékenyítés hatására a petevezetékben zajlik. A megtermékenyítést követő állapotokat *in vitro* is tanulmányozni lehet (l. IVF = *in vitro* fertilizáció, preimplantációs genetika, a következő fejezetben), azonban a korábbi állapotokhoz való hozzáférés eléggé korlátozott. A férfiakban zajló meiózis tanulmányozása kevésbé bonyolult, mivel here-biopsziát rutinszerűen végeznek, például meddőség vizsgálatakor. Sok felderítetlen biokémiai és molekuláris mechanizmus létezhet még, amelyek tisztázása a meiózis normális menetét vagy éppen a rendellenes lezajlását és az ebből fakadó következményeket segíthetne jobban megérteni.

A spermiogenezis: A herecsatornákban a **spermiumok** (avagy az **érett hímivarsejtek**) a fiúk nemi érésének beköszöntével kezdenek el folyamatosan termelődni. A herecsatornák alaphártyáján találhatók az **őscsírasejtekből** mitózisok hosszú láncolatán keresztül létrejött **spermatogoniumok**. Ezekből további mitózisok révén fokozatosan egyre differenciáltabb sejtek keletkeznek. Az így kialakuló **elsődleges spermatociták kezdenek a meiózisba**. A meiózis I végére két **másodlagos spermatocita** keletkezik, amelyek gyorsan befejezik a meiózis II-t, összesen négy spermatidát hozva létre. **A spermatidák további osztódás nélkül érett, farokkal rendelkező spermiumokká differenciálódnak**. A teljes folyamat 64 napot vesz igénybe.

Az oogenezis: A spermiogenezissel ellentétben a petesejtképződés, mint fentebb láttuk, már jóval a születés előtt elkezdődik. Az őscsírasejtekből kb. 20 mitózison keresztül kifejlődő oogoniumokból származik minden érett petesejt. **Az oogonium méretnövekedéssel, szikfelhalmozással kb. a harmadik terhességi hónapban tüszőhámsejtek által körülvett elsődleges oocitává fejlődik, amely elkezdi a meiózis I. profázisát**. Mivel a oogenezis nem szinkronizált folyamat, ezért eltérő stádiumban lévő sejtek együttesen vannak jelen a magzati petefészekben. A több millió oocita túlnyomó része a születés idejére már befejezte a meiózis I. profázisát. Azonban legtöbbjük degenerált, nem tökéletes sejt, ezért a pubertás idejétől induló termékeny életszakaszban összesen csupán kb. 400 oocita – havonta egy vagy kettő – folytatja a hosszú évekig (10-50 év!) késleltetett meiózist, általában a menstruációs ciklus kb. felénél kiszabadulva a tüszőből és egyben a petefészekből is (= ovuláció). A sejtorganellumok és a citoplazma túlnyomó részét a **másodlagos oocita** tartalmazza a meiózis I végén. A másik utódsejt – az elsődleges **sarki test** (polocita) – alig tartalmaz többet a kromoszómáknál és az embernél jellemzően nem fejezi be a meiózis II-t. Az ovulációkor a fejlődő petesejt már a meiózis II. metafázisánál tart, de majd csak a megtermékenyülése után fejezi be az osztódást.

A megtermékenyítés. Ez rendszerint a petevezetékben történik, általában az ovuláció napján. Az először célba ért spermium és a petesejt membránjának fúziója egy sor biokémiai eseményt indít el a többiek bejutásának megakadályozása érdekében és azonnal a meiózis II. befejezésére készteti a másodlagos oocitát. A petesejt újonnan kialakult sejtmagjából (pronukleusz) és a hímivarsejt magjából létrejövő kétmagvú sejt mitózisba kezd, azaz a két magburok felaprózódása lehetővé teszi a szülői kromoszómák összekeveredését és a mitotikus mikrotubulosokhoz csatlakozását. A zigóta első mitózisa – ami már az embriogenezis folyamatának kezdetét jelenti – két diploid utódsejtet eredményez, amelyek további mitotikus osztódásokon mennek majd keresztül.

Mindezen folyamatok és az ezt követők részleteit illetően a fejlődéstani tanulmányokra utalunk.

A mitózis és a meiózis orvosi vonatkozásai.

Mindkét sejtosztódási típus a teljes genom egyik sejtről a másikra (mitózis), ill. egyik nemzedékről a másikra (meiózis) való hiánytalan továbböröklését, ezáltal a fajra jellemző kromoszómaszám változatlanságát biztosítja. A hibásan lezajló sejtosztódásoknak kóroki jelentősége van, hiszen az így keletkező utódsejtek (pontosabban: sejtvonalak, vagy maga az egész utódszervezet) egyes kromoszómákból vagy akár a teljes kromoszómakészletből rendellenes mennyiséget fog tartalmazni. A 2. fejezetben foglalkozunk részletesen azzal a mechanizmussal – a meiotikus nondiszjunkcióval – amely leggyakrabban okoz kromoszóma mutációt fajunkban. Különösen a petesejtképzés érintett. Ez a hibaforrás okolható sok magzat kromoszomális rendellenesség miatti, méhen belüli elhalásáért. A kihordott terhességek esetében a kromoszómák számbeli és szerkezetbeli eltérései fejlődési rendellenességekért, mentális retardációért lehetnek felelősek és az újszülött elégtelen gyarapodását is okozhatják.

A genetikai rendellenességek létrejöttében a mitotikus nondiszjunkció szintén fontos tényező lehet. A megtermékenyítést követő néhány sejtosztódás alatt, vagy a fejlődő embrióban, vagy az embrión kívüli szövetekben (pl. a placenta sejtjeiben) bekövetkező nondiszjunkció kromoszomális mozaicizmushoz vezet. Ez történik pl. egyes Down-szindrómás betegek esetében. A gyorsan osztódó szövetek sejtjeiben (mint pl. a vastagbél hámsejtjeiben) a rendellenes kromoszóma szegregáció gyakran egy (újabb) lépést jelent tumor kialakulásához vezető úton. Számos daganatos megbetegedés esetében diagnosztikus és prognosztikus fontosságú a kromoszómák vizsgálata és a genom instabilitásának megállapítása (11. fejezet).

DUPLICATE

DUPress

2. fejezet

Citogenetika

A citogenetika a kromoszómák, a kromoszómák szerkezete és öröklődése, nemkülönben – szám- és alakbeli – rendellenességei, valamint az ezekhez társuló fejlődési hibák és kórképek tanulmányozásával foglalkozik. Ennek alapját részben már áttekintettük a megelőző fejezetben. A modern medicina fontos ága a citogenetika. Manapság a kromoszóma-analízisnek (a citológiai és genom szinten egyaránt hatalmas léptekkel fejlődő felbontási technikák és a pontosság növekedésének következtében) egyre nagyobb jelentősége van az orvostudomány számos ágában a diagnosztika területén. (Sőt, speciális esetekben a terápia eredményességének megítélésében is.)

Ebben a fejezetben főleg az emberi autoszómákkal foglalkozunk, de felhívjuk a figyelmet arra, hogy a nemi kromoszómák rendellenességei ugyanazokat a formákat mutatják, ugyanazokat a molekuláris mechanizmusokat követik, mint az 1-től 22-ig számozottak. Az X és Y bizonyos különlegességei azonban indokolják, hogy ezek külön, a következő fejezetben szerepeljenek.

Citogenetikai analízisre kerülhet sor az alábbi esetekben:

– **A növekedésben és fejlődésben megjelenő problémák**. Azoknál a gyermekeknél, akiknél kromoszóma-rendellenesség mutatható ki, gyakran tapasztalható a megfelelő mértékű növekedés, fejlődés hiánya, különböző deformációk, alacsony termet, bizonytalan genitália (külső nemi szervek) és mentális retardáció. Meg kell azonban jegyezni, hogy ezek az eltérések nem csak erre a csoportra korlátozódnak. Megjelenésük különös figyelmet igényel újszülött korban.
– **Halvaszületett magzat, illetve újszülött korban bekövetkező elhalálozás.** A kromoszóma-rendellenességek aránya sokkal magasabb a halvaszületett magzatok (kb. 10%), mint az élve született csecsemők (kb. 0,7%) körében. Az újszülött korban elhalálozott csecsemők esetében ez az arány szintén emelkedést mutat (kb. 10%). Kiemelt jelentőséget tulajdoníthatunk a minor elváltozásoknak koraszülöttek (= kis súllyal születettek) körében.
– **Termékenységi problémák.** Kromoszómavizsgálat szükséges azoknál a nőknél, akiknél hiányzik a menstruáció, illetve azoknál a pároknál, akik termékenységi nehézségekkel küzdenek vagy sorozatos (habituális) vetélés problémája áll fenn. A termékenységi panaszok és ismétlődő vetélések hátterében az esetek kb. 3-6%-ban kromoszóma-rendellenesség mutatható ki.

– **A családban előforduló kromoszóma-rendellenesség.** Abban az esetben, ha az elsőfokú rokonságon belül valakinél bizonyított vagy feltételezett kromoszóma-rendellenesség áll fenn, bizonyos esetekben kromoszóma-analízis szükséges, nem csak magánál az érintettnél.
– **Neoplázia** (nem normális, rendezetlen sejtosztódás, tumor)**.** Gyakorlatilag minden daganat asszociált egy vagy több kromoszóma-abnormalitással, ún. marker kromoszómával (lásd 11. fejezet). A megfelelő szövetből származó kromoszóma- és genom analízisnek nagyon fontos diagnosztikai és prognosztikai jelentősége van.
– **Idősebb kori terhességek**. Ha fogamzás idején az anya 35 évnél idősebb, ez a magzatra emelkedett kromoszómaaberráció rizikót jelent.[1]

A kromoszomális rendellenességek a genetikai eredetű betegségek fő csoportját képezik. Citogenetikai rendellenesség mutatható ki az élve születettek 1%-ában, a prenatális vizsgálatokon részt vett 35 év feletti nők magzatainak 2%-ában és az első trimeszterben (az intrauterin fejlődés első harmadában) bekövetkezett spontán vetélések felében.

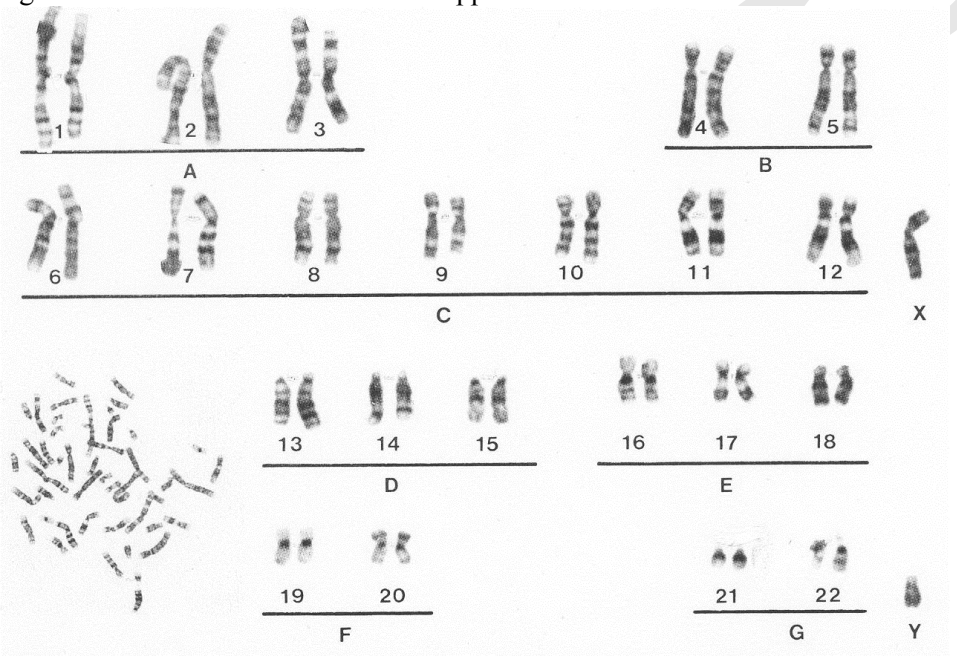
Ebben a fejezetben a citogenetika alapjairól és a humán kariotípusokban megfigyelhető számbeli és strukturális rendellenességekről lesz szó.

A kromoszómák vizsgálatához mindenekelőtt osztódó sejtekre van szükség. Ilyenek *in vivo* is léteznek és elérhetők, de az ehhez szükséges invazív beavatkozást csak kivételes esetekben tarthatjuk indokoltnak és megengedhetőnek. Jellegzetes példája az élőben rendkívül gyorsan szaporodó sejtpopulációnak a vörös csontvelő. Ebben könnyen találhatunk osztódó sejteket, de a kinyerésükhöz szükséges biopszia olyan megterhelést jelent, ami miatt ezt az eljárást csak akkor alkalmazzuk, ha csontvelői rendellenesség vagy ártalom kapcsán kívánunk citogenetikai vizsgálatot végezni. Ennek példái a leukémiás megbetegedések, amelyek meglehetősen nagy számban fordulnak elő a fiatalabb és idősebb korosztályban egyaránt. Minden egyéb esetben az *in vivo* proliferációs ráta elégtelen a megfelelő számú metafázisban lévő sejt biztosításához, ezért a vizsgálati minta sejtjeit *in vitro* kell tenyészteni, szaporítani. Például fehérvérsejtekből potenciálisan halhatatlan limfoblaszt sejtvonalak hozhatók létre, míg bőrbiopszia esetén fibroblasztok nőnek ki a tenyésztőedény aljára. Az így kapott sejtkultúrák alkalmasak a kromoszóma-vizsgálatok elvégzésére. Prenatális citogenetikai vizsgálatok céljára tenyészthetők *in vitro* az amnionfolyadékban lévő magzati sejtek, ill. chorionboholy sejtek is. Alább visszatérünk rá, de itt is megemlítjük az interfázisos citogenetikai vizsgálatok lehetőségét. Ne feledjük azonban: az ehhez szükséges célzott biopszia is invazív, s alkalmasint lehetetlen.

Manapság leggyakrabban a **T limfociták blasztos transzformáció**ját használják az elfogadhatóan gyors, elégséges vizsgálati anyagot szolgáltató, és az érintett személy számára minimális megterhelést és kockázatot jelentő eljárásként. Ennek

[1] Az apa előrehaladottabb kora is jelent genetikai kockázatot, ha elsősorban nem is kromoszomálist.

lényege, hogy a keringésben fellelhető és ott nem osztódó T sejtek egy növényi lektin, a *phytohaemagglutinin* (PHA) hatására a G_0-ból G_1 fázisba lépnek, a **T limfocitákból limfoblasztok** lesznek. A speciálisan erre a célra kifejlesztett *in vitro* tápoldatban létrehozott tenyészeteket általában három nap után dolgozzák fel. A tenyészethez **colchicin**t adva érhető el, hogy a vizsgálathoz elegendő számú metafázisos sejt legyen jelen. A colchicin, az őszi kikerics (*Colchicum autumnale*) alkaloidája, az oszlási orsó összeszerelődését akadályozza meg, így a testvérkromatidok nem tudnak elválni egymástól. (Az egyéb sejtfunkciók nem károsodnak.) A colchicinnel kezelt tenyészet sejtjeit hipotóniás közegbe helyezik, ahol azok megduzzadnak. Ezzel segítik elő, hogy a kromoszómák megfelelően szétterülve helyezkedjenek el a tárgylemezen, ahová alkalmas fixálási eljárás után cseppentik ki a sejtszuszpenziót. Ezt követően az alkalmazott diagnosztikai eljárástól függően a megfelelő festési technikával mikroszkóppal láthatóvá teszik a kromoszómákat.



2-1. ábra

Rendezett emberi kariogram. Kariotípus: 46,XY.

G sávtechnika. (Balra lent: a rendezetlen metafázis-kép, kis nagyításban.) Hagyományosan – amikor a besorolás egyes esetekben még kissé bizonytalan volt – a kromoszómákat csoportokba is rendezték, és alkalmasint csak így hivatkoztak rájuk (pl. G triszómia).

Egy metafázis készítményben az egy sejtből származó kromoszómák kis területen, de teljesen rendezetlenül helyezkednek el a tárgylemezen. Közvetlen mikroszkópos vizsgálatuk így a legtapasztaltabb szakember számára sem igen járható út. Hagyományosan ezért ezeket lefényképezték, és a negatívról nagyítást készítettek.

Ezt nevezzük **kariogram**nak. A mikroszkópra szerelt digitális kamera és megfelelő számítógépes program segítségével a képernyőn megjelenített kariogram automatikusan rendezhető, aminek eredménye a **rendezett kariogram**. Függetlenül az aktuálisan alkalmazott technikáktól, kell valamilyen rendező elv, amely szerint a kromoszómák sorba rakhatók. Erre a célra szolgál a fajra jellemző kromoszómaképet összefoglaló **idiogram**. Jelenleg a sávmintázatot is figyelembe vevő Párizsi Nómenklatúra van érvényben, az ún. **sáv-idiogram** szerint (1-2. ábra).

Az emberi kromoszómák

Kromoszómáink – a hagyományos megközelítésben – csak a mitózisban válnak jól láthatóvá és vizsgálhatóvá. A kromoszómák azonosítása szempontjából alapvető, hogy **a centromer a kromoszómán hol helyezkedik el**. Az X-alakú kromoszómákat, amelyekben a centromer középtájon helyezkedik el, **metacentrikus**nak nevezzük. Az **akrocentrikus** kromoszómákon a centromer a kromoszóma végéhez közel van. A legtöbb kromoszóma alakja e két szélső forma között képez átmenetet, ezek a **szubmetacentrikus** kromoszómák. (Pontos jellemzésükre használjuk a centromer-indexet, amely azt mondja meg, hogy a kromoszóma teljes hosszának hány százaléka esik a rövid karra. A kromoszómák negyedik típusa, a **telocentrikus** kromoszóma hiányzik a normál humán kariotípusból, de alkalomszerűen – kromoszóma-átrendeződés eredményeként – megfigyelhető. Ebben az esetben a centromer a kromoszóma karnak teljesen a végén van. Az egér [*Mus musculus*] kariotípusára viszont a telocentrikus kromoszómák jellemzők.) Az akrocentrikus kromoszómákon (13-as, 14-es, 15-ös, 21-es és 22-es) a centromeren, azaz az úgynevezett **elsődleges befűződés**en kívül **másodlagos befűződés** is található a rövid karon. Ezek az ún. **nukleolusz-szervező szakasz**ok (NOR, *nucleolus organizing region*) hozzák létre a sejtmagvacskát. Az akrocentrikus kromoszómák NOR régiói a riboszomális RNS-eket kódoló géneket több száz kópiában hordozzák. (Az 5S rRNS gének az 1-es kromoszómán találhatók.) E kromoszómáknak a NOR-októl disztálisan található végeit apródoknak (szatellita) nevezzük.

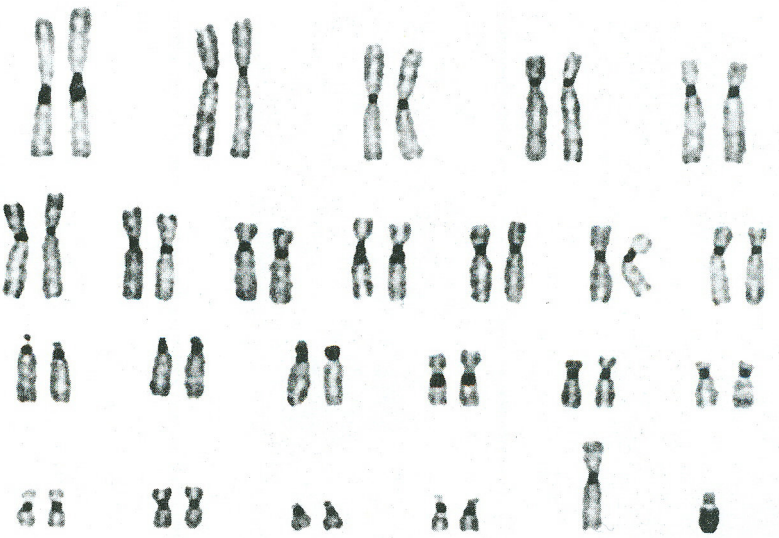
A számos rutin festési eljárás közül a ***G-sávozás*** terjedt el legjobban a klinikai laboratóriumokban, Giemsa festéssel (1-9. és 1-10. ábra.). Speciális esetekben egyéb, az alábbiakban ismertetett technikákat is alkalmaznak.

Q sávozás: A quinacrin elsősorban a DNS AT-gazdag szakaszaihoz kötődik, fluoreszkáló sávokat hoz létre, amelyek fluoreszcens mikroszkópban jól láthatók. Az élénken fluoreszkáló Q^+ sávok gyakorlatilag egybe esnek a sötéten festődő G^+-sávokkal. A Q sávozás meglehetősen hasznos lehet kromoszóma heteromorfizmus (variáció a kromoszóma morfológiájában, festődésében) detektálásában. Ezek az eltérések általában jóindulatúak és a szatellita DNS szekvenciák[2] mennyiségében vagy típusában mutatkozó különbségeket tükrözik vissza. (Az AT-gazdag szakaszok az *L1* típusú szekvenciák 51%-át adják.)

[2] Ezek nem azonosak a fent említett kromoszóma-szatellitákkal.

Reverz- *vagy* ***R-sávozás***: Ez szintén Giemsa festéssel történik, de ez előtt a kromoszómákat magas hőmérsékleten kezelik igen enyhén savanyú közegben (pH 6,8). A módszer a GC-gazdag DNS-szakaszokat festi meg. (A GC-gazdag szekvenciák alkotják az *Alu*-család 56%-át.) Azok a régiók, amelyek gyengén festődnek G vagy Q sávozás során, könnyebben analizálhatók R-sávozást követően.

C-sávozás: Egy további előkezelési eljárás (savas után lúgos kezelés) eltávolítja a kromoszómákból a DNS kb. 60%-át. Ezt követően a Giemsa csak azokat a régiókat fogja megfesteni, amelyekben maradt DNS. Az így létrejövő C-sávok a kromoszómák centromerjeinél és az Y-kromoszóma hosszú karja disztális végén helyezkednek el (2-2. ábra).



2-2. ábra

C-sávozás rendezett emberi kariogramon. Kariotípus: 46,XY.

Nagy felbontású sávozás: Ebben az esetben a mitózis korai szakaszában, prometafázisban történik a kromoszómák festése G- vagy R-sávtechnika alkalmazásával. A nagy felbontású sávtechnika alkalmazása különösen hasznos kisméretű strukturális abnormalitások felderítésében. Prometafázis kromoszómákon 550-850 sáv, míg metafázisban lévő kromoszómák esetén csak kb. 450 különböztethető meg egy haploid kromoszómaszerelvényre vonatkoztatva. A sávozási technikákkal kapcsolatban fontos megemlíteni, hogy a sávok a kromoszómáknak a géneknél sokkal nagyobb egységeit tüntetik fel.

A citogenetikusok egyelőre nem ismerik teljes mértékben a festődési reakciók kémiai hátterét, viszont sok mindent tudnak már a sávozottság és kromoszómaszerkezet közötti összefüggésekről. A metafázis kromoszómában a kromatin három fő formában létezik: a centroméreket közrefogó **konstitutív heterokromatin** (C-sávok), a **fakultatív heterokromatin** (sötét G-sávok, ill. erősebben fluoreszkáló Q-sávok) és **eukromatin** (R-sávok). A konstitutív heterokromatin az interfázisban is

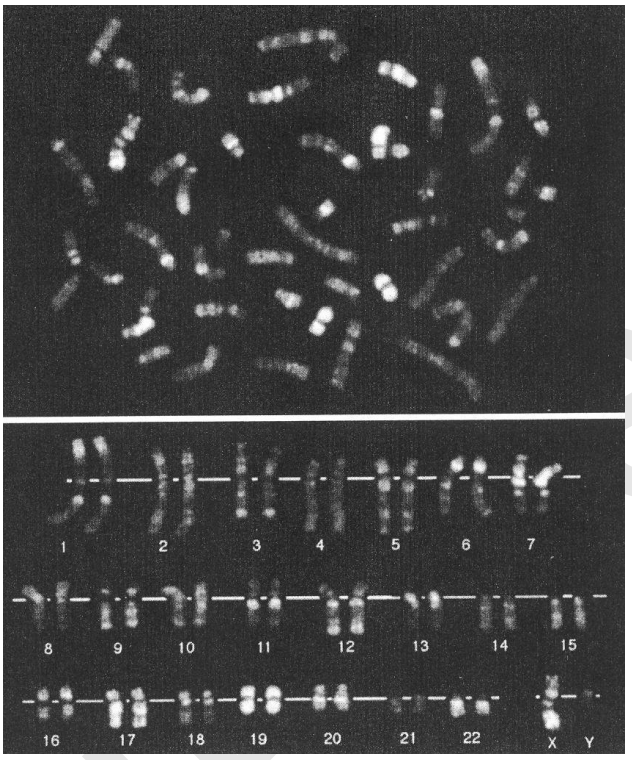
heterokromatikus: a centromérikus α-szatellita DNS sohasem íródik át, nincs kódoló funkciója. A fakultatív heterokromatin (pl. X kromoszóma) lehet átírható az interfázisban, vagy nem.

Molekuláris citogenetika

A ***fluoreszcens in situ hibridizáció*** (**FISH**) technikával a DNS hibridizáció tárgylemezen, metafázis kromoszómákon vagy interfázisos sejmagon történik. A hibridizáció során egy alkalmas komplementer szekvenciájú gén-próba – megfelelő fluoreszcens jelzéssel ellátva – hozzákötődik a kromoszómához vagy az interfázisos sejtmag kromatinjában levő DNS-hez, ha ott a keresett szekvencia megvan. Az egyedi kromoszómákra, kromoszóma régiókra vagy génekre specifikus, megfelelő fluoreszcens jelzéssel ellátott DNS szondák segítségével kromoszóma többletről, -hiányról, kromoszóma-átrendeződésekről, a keresett gén meglétéről, ill. lokalizációjáról kaphatunk értékes információkat. Repetitív DNS szondák segítségével szatellita DNS-t vagy más típusú ismétlődő DNS szekvenciákat tudunk detektálni például a centromer, telomer, vagy más heterokromatikus régiókban. Az α-szatellita DNS-sel komplementer, egy-egy kromoszóma centromer régiójára specifikus szondák alkalmazásával megállapítható, hogy az adott kromoszóma hány példányban van jelen – interfázisban levő sejtmag esetén is (= **interfázisos citogenetika**). Lehet a centromérikus heterokromatin kiterjedése (az ismétlődések számának nagy egyedi szórása miatt) észlelhetően eltérő a két homológ között. Ilyen esetekben ez a jelölés segíthet egy-egy homológ kromoszómapár anyai, ill. apai eredetű tagjának megkülönböztetésében. A **multicolor FISH** technika esetén, különböző szondák különféle színű fluorokrómok kombinációival való jelölése révén az individuális kromoszómák eltérő színnel világítanak metafázis készítményeken vagy interfázisos sejtmagban. A módszer további finomítása eredményezi a ***multicolor banding*** technikát.

Az ***összehasonlító genomi hibridizáció*** (**CGH**, *comparative genomic hybridization*) az átlagoshoz képest megváltozott kópiaszámú DNS-ről ad információt. Ennek az eljárásnak a kivitelezéséhez a vizsgálandó sejtekből készítenek teljes genomot magában foglaló DNS-mintát, és ezt egy megfelelő referencia-DNS-sel vetik össze *in situ* hibridizációban. A tesztelt DNS-t pl. zöld, a referenciát pl. vörös fluorokrómmal jelölik, és mindkettővel egyszerre hibridizálnak. Azokhoz a kromoszóma helyekhez, amelyekben nincs kópiaszám változás, egyenlő arányban kapcsolódik a zöld és vörös jelzés, és a kettő együtt sárgát ad. Ott, ahol a tesztelt DNS-ben egy adott szekvencia a vártnál nagyobb arányban képviselteti magát, ez nagyobb valószínűséggel kötődik, a fluoreszcencia színe a zöld felé tolódva jelzi a megváltozott arányt. Ellenkező esetben, ha a referencia-DNS túlsúlya áll fenn, vörös felé tolódik az adott kromoszómaterület színe. Ez digitális képfeldolgozással kvantifikálható. Különösen elterjedten használják az eljárást tumorsejtek megváltozott DNS-állományának vizsgálatára. Például, ha egy beteg kemoterápiában részesül, de a daganat idővel ellenállóvá válik az adott citosztatikummal szemben, ennek

oka gyakran rezisztencia-gének felszaporodásában található meg. Ezek megsokszorozódása CGH-val detektálható.



2-3 ábra

FISH technika, multicolor banding

(sajnos a színeket nem tudjuk e jegyzetben reprodukálni, e helyen az előadásokon és szemináriumokon bemutatott ábrákra kell utalnunk)

Kromoszóma-rendellenességek

Számbeli kromoszóma-rendellenességek

Triploidia, tetraploidia. Az ember normális kromoszómaszáma – hasonlóan egyéb, magasbbrendű élőlényekéhez –, diploid kromoszóma-garnitúrája a haploid szortimentum (n) kétszerese. Ez a *Homo sapiens*ben 2n = 46. (Ugyanez egyéb emlős fajok esetén: pl. csimpánznál és gorillánál [*Pan trogloydes*, ill. *Gorilla gorilla*] 2n = 48, *Mus musculus* [egér] 2n = 40, macska [*Felis catus*], oroszlán [*Panthera leo*], és tigris [*Panthera tigris*] egyaránt 2n = 38, kutya és farkas [*Canis familiaris*, ill. *Canis lupus*] 2n = 78 és így tovább. Mindez nem jelent érdemi változást a DNS egy sejtmagban található mennyiségében és kódolási kapacitásában.) Ha egy egyed sejtmagjában található kromoszómák n egész számú többszörösét adják, akkor

euploidiáról beszélünk. Euploidia ennek megfelelően a 3n (**triploid**), 4n (**tetraploid**) kromoszómaszám is[3], azaz általában a **poliploidia**. Ember esetén már a triploid állapot is összeegyeztethetetlen az élettel, triploidiát vagy tetraploidiát spontán vetélésből származó abortumokban vagy – sokkal ritkábban – halva született magzatokban írtak le. (Ha mégis élőben, mozaicizmusról van szó.) Triploidia legtöbb esetben akkor alakul ki, ha egy petesejtet két hímivarsejt termékenyít meg, de triploidiához vezet az is, ha a meiózis szenved zavart, aminek eredményeképpen diploid petesejt vagy hímivarsejt keletkezik. (Tetraploidia esetén az abortumokban megfigyelhető kariotípus mindig 92,XXXX vagy 92,XXYY. A 92,XXXY vagy 92,XYYY kariotípus hiánya arra utal, hogy zavar a zigóta korai mitotikus osztódásai során törénik.)

Magasabbrendű állatokban a poliploidia – az emberhez hasonlóan – az élettel összeegyeztethetetlen. Egyes növényfajokban alkalmasint nem csak tolerált, de bizonyos kedvező tulajdonságok hordozója is.

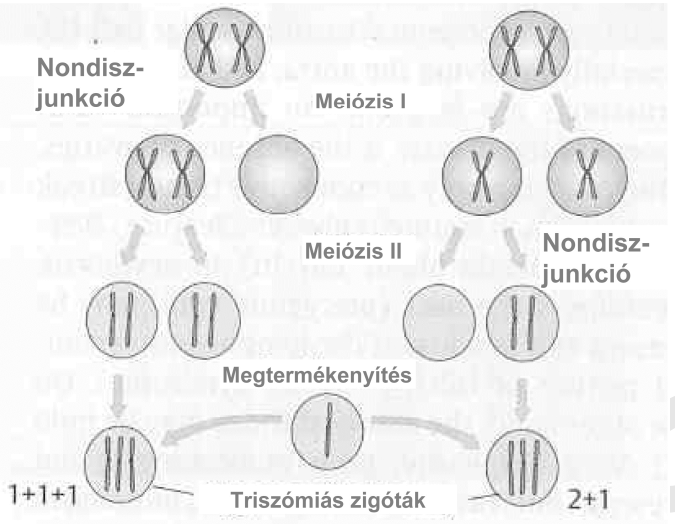
Aneuploidia a *Homo sapiens*ben

Aneuploidiáról beszélünk, ha nem **n** egész számú többszöröse észlelhető az érintett egyén kariotípusában, hanem kromoszómagarnitúrája 2n+1-nek vagy 2n-1-nek felel meg. Az aneuploidiákat feloszthatjuk tehát **hiper-** és **hipodiploidiá**kra, aszerint, hogy 46-nál több, vagy kevesebb kromoszóma található egy-egy sejtmagban. Egy bizonyos kromoszómából a szokásos homológ pár mellett megjelenő számfeletti példány esetén az illető kromoszóma **triszómiá**járól beszélünk. Az autoszómák esetén csak a 21-es, 18-as és 13-as kromoszómák triszómiája egyeztethető össze az élettel, az utóbbi kettő esetén csak ideig-óráig – l. alább. Megjegyzendő, hogy a három említett kromoszómán található a legkevesebb gén a többi autoszómához viszonyítva. **Monoszómia** esetén a homológ párnak csak az egyik tagja van meg, ami az X kromoszómát kivéve az élettel tiszta formában összeegyeztethetetlen. Bizonyos mozaik állapotok és daganatos kromoszóma-rendellenességek esetén szintén detektálható monoszómia.

Hogyan jöhetnek létre a kromoszómák számbeli eltérései? A legegyszerűbb lehetséges mechanizmus a **kromoszóma késés**. Ez azt jelenti, hogy egy kromoszóma mozgása akadályozott a sejtosztódás anafázisában, és a telofázisban lekési a sejtmag újraszerveződését, kívül marad a magborítékon és a citoplazmában lebomlik, aminek a következménye monoszómia. A kromoszóma késést csak a Turner szindróma (45,X), valamint bizonyos mozaik állapotok és daganatos kromoszóma-rendellenességek kialakulásának okaként tételezhetjük fel. Mind a kromoszóma többlet, mind pedig a -hiány létrejöttét megmagyarázhatja a szét-nem-válás, a **nondiszjunkció** jelensége. Lehetséges következményeit illetően élesen el kell különítenünk egymástól a **mitotikus** és a **meiotikus nondiszjunkció**t. Az előbbi ese-

[3] Ebben az esetben az eu- előtag használata megtévesztő lehet, az ugyanis „jó", „helyes" értelemben szokásos, amiről itt – a fenotípus vonatkozásában – nem beszélhetünk.

tén egy sejt és annak leszármazottjai mutatják a rendellenességet (l. a mozaicizmust alább), az utóbbi a teljes szervezetet érinti.



2-4. ábra

Meiotikus nondiszjunkció

(A rendellenesség mindkét meiótikus osztódásban létrejöhet.)

Ha az ivarsejtek érési oszlása során lép fel a hiba, kromoszóma-hiányos (nulliszómiás) és -többletes (diszómiás) spermium vagy petesejt egyaránt keletkezhet. Abban az esetben, ha a nondiszjunkció a meiózis I-ben következik be, amely fázisban normális körülmények között a homológ kromoszómapárok szétválása történik, a diszómiás gaméták az adott kromoszóma apai és anyai kópiáját egyaránt tartalmazzák. A meiózis II-ben bekövetkező nondiszjunkció – a testvérkromatidok szét-nem-válása – viszont olyan gamétákat eredményezhet, amelyekben a két kópiában jelenlévő kromoszóma mindkét tagja vagy apai vagy pedig anyai eredetű. A nondiszjunkció valószínűségét növelheti, ha az adott kromoszómapár két tagja között túl kevés helyen történik vagy nincs rekombináció a meiózis I-ben, illetve a rekombinációk helye egyenetlenül oszlik el a kromoszóma mentén, a centromer vagy pedig a telomer környékére összpontosulva. Nagyon ritkán előfordulhat, hogy nondiszjunkció következik be meiózis I- és meiózis II-ben is a gaméta képződése során, vagy pedig a petesejtben és az azt megtermékenyítő hímivarsejtben egyaránt. Ilyen esetekben az adott kromoszóma akár 4-5 példányban is jelen lehet a zigótában, ami csak a nemi kromoszómák esetén egyeztethető össze az élettel.

Az utóbbiak rendellenességeit a következő fejezetben említjük meg.

Néhány humán példa az autoszomális aneuploidiákra

Ezek közül a ***Down szindróma*** a legismertebb és az élettel hosszabb távon is összeegyeztethető triszómia: 47,XX,+21, ill. 47,XY,+21 (2-5. ábra). Tünettana gazdag, ebből csak néhány jellemző szimptómát emelünk itt ki. Már megszületéskor feltűnik a kerek, lapos arc, benne az egymástól távol álló mongoloid vágású szemek, epikanthus redővel a felső szemhéjon. A nyelv nagy, nem fér el rendesen a szájban, harántbarázdák vannak rajta. Az izmok hipotóniások, az izületek lazák. Mind a testi, mind az értelmi fejlődés visszamaradott. (De az nem igaz, amit korábban véltek, hogy a Down szindrómások idióták. Imbecillisek, és amint a fejlesztési/oktatási módszerek egyre jobbak, a családba, ill. társadalomba való beilleszthetőségük is javul.) Gyakori náluk a szívfejlődési rendellenesség (pitvarsövény, ill. kamra válaszfal defektus), amit ha sebészileg időben megoldanak, testi és szellemi fejlődésük csakúgy mint életkilátásaik is javulnak. Esendőbbek a fertőzések, ill. leukémiák vonatkozásában. A Down kóros férfiak sterilek, a nők reprodukcióra képesek, nagyjából 1:1 arányban hoznak világra euploid és aneuploid gyermeket.

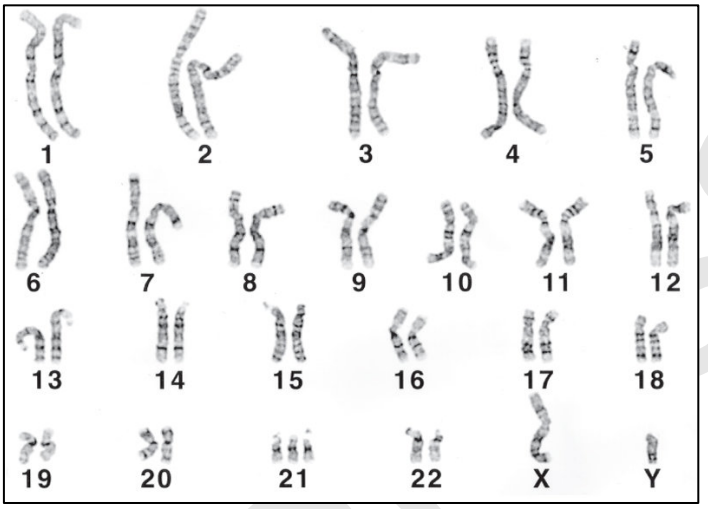
Fiatal korukban a Down szindrómás gyermekek nagyon ragaszkodók, szeretetéhesek és sok szeretetet adni képesek. Olvasni, írni, számolni nem tanulnak meg, teljesen önálló életvezetésre nem alkalmasak, de bizonyos készségek (tisztálkodás, öltözködés stb.) jól kialakíthatók bennük, lakhelyük környékén tudnak tájékozódni. Szívesen játszanak, zenélnek, mondanak verset és vesznek részt csoportos foglalkozásokban. Felnőtt (idősebb) korukra zárkózottabbá, visszavonulókká válnak.

A **nondiszjunkciós 21-es triszómia gyakorisága** meglehetősen nagy fokban függ a fogantatáskori anyai életkortól, nevezetesen: a 35. anyai életév fölött szinte exponenciális növekedést mutat (2-6. ábra). Kisebb mértékben igaz ez az egyéb aneuploidiákra is. Ez a jelenség kötelezővé teszi a teljes egészségügyi személyzet (nem csak orvosok és védőnők!) számára az ebbe a korcsoportba tartozó várandósok terhestanácsadásra irányítását[4], ha még nem keresték fel azt, a megfelelő prenatális vizsgálatok elvégeztetésére (l. alább).

Bár a jelenség magyarázata nem ismert, jó okunk van azt hinni, hogy minél hosszabb idő telik el a petesejt meiózisba lépése (az embrionális korban), és a meiózis befejeződése (azaz a megtermékenyítés) között, annál nagyobb a rizikója a meiotikus oszlási apparátusban valamilyen hiba felléptének. Különösen közrejátszhatnak ebben az anyai szervezetet érő káros hatások. (Stresszállapotok, szennyezett levegő, dohányzás, drogok, alkoholfogyasztás stb.) Ezek magzati következményeit szokás **anyai hatás**ként emlegetni, ami **nem tévesztendő össze az anyai öröklődés**sel – l. az alábbiakban.) Manapság tanúi vagyunk bizonyos népességcsoportokban a szülések későbbi életkorra tolódásának. Ez különösen hangsúlyossá teszi az említett követelmény betartását, aminek elmulasztása már az orvosi műhiba kate-

[4] NB! Magyarországon a terhestanácsadáson való megjelenés minden várandós nő számára kötelező, de az ott hozzáférhető feltételek nem mindig és nem mindenütt merítik ki a maximálisan javallt és minimálisan szükséges lehetőségeket. Pontosabb diagnosztika érdekében a megfelelő központok felkeresése, ottani konzultáció javallt.

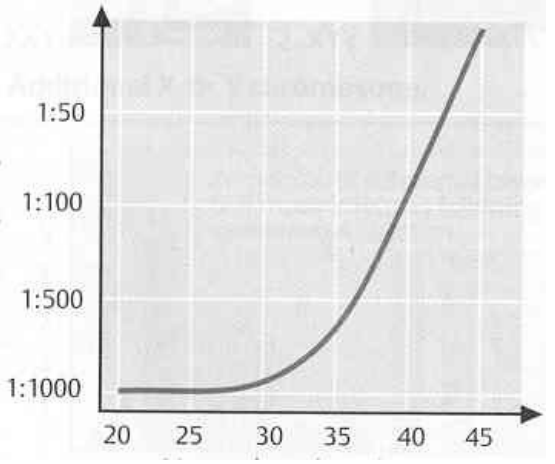
góriájába tartozik, és nem csak az orvos végzettségűek körében. Ugyanakkor ez nem jelenti azt, hogy a 21-es triszómiások többsége ne fiatal anyáktól születne: 30 éves anyai kor alatt lényegesen több Down-kóros gyermek látja meg a napvilágot, mint e fölött, egyszerűen a demográfiai mutatóknak megfelelően. A rendelkezésre álló nem invazív prenatalis diagnosztikus módszereket minden korosztály esetén alkalmazni kell a kötelező terhestanácsadás keretében.



2-5. ábra

Down-kóros férfi kariogramja. Kariotípus: 47,XY,+21.

A 13-as és 18-as triszómia (**Patau**[5], ill. **Edwards szindróma**) olyan súlyos fejlődési rendellenességekkel járnak, amelyek a szülés után – ha egyáltalán élve születik meg a magzat – csak rövid idejű túlélést tesznek lehetővé.



2-6. ábra

Down-kóros (21-es triszómiás) születések gyakoriságának (y tengely) függése a fogamzáskori anyai életkortól (vízszintes tengely)

Mozaicizmus

A testvérkromatidok szétválásának elmaradása mitózisban

[5] A szerző nevének eredeti írásmódja Klaus Pätau, de az umlaut az angolban ismeretlen.

csak az ebből származó két leánysejtben, valamint ezek utódsejtjeiben eredményez aneuploidiát, az egyén többi sejtje euploid marad. Genetikában azt a jelenséget, hogy egyetlen egyedben eltérő kromoszóma-össze-tételű – nem daganatos! – sejtek találhatók, **mozaicizmus**nak nevezzük. Ilyenkor mindig **egyetlen petesejt egyetlen spermium általi megtermékenyítéséből származó zigótáról**, pontosabban az abból fejlődő egyed sejtjeiről van szó. Ha ez citogenetikai rendellenességként jelentkezik, **kromoszóma mozaik**ról beszélünk. Elvileg ilyen esetekben három: egy euploid, egy hiper- és egy hipodiploid sejtvonal létével kellene számolnunk, a gyakorlatban azonban ez utóbbi általában életképtelennek bizonyul, és ezért 2n/2n+1 képletű kariotípus észlelhető. Attól függően, hogy az osztódási zavar az egyedfejlődés mely stádiumában és milyen elkötelezettségű sejtben következett be, lehet az egyén több vagy kevesebb sejtje aneuploid egyrészt, másrészt érinthet a rendellenesség több vagy kevesebb, ill. más-más szövetet, szervet. Ez a változatosság megnyilvánul például a fenotípusos tünetek súlyosságában, eloszlásában. Mozaik formában számos olyan kromoszóma számbeli anomália is előfordul, aminek az egész szervezetre kiterjedő megjelenése élőben sohasem észlelhető. **A kromoszóma mozaicizmus meglehetősen ritka elváltozás, diagnosztikus megközelítése komoly gondot okozhat.** Ha a gyanú felmerül, több szervből, szövetből kell mintát venni. Az **interfázisos kariotipizálás** megjelenése óta a mozaicizmus diagnózisának felállítása valamivel egyszerűbbé vált. A kórisme pontos felállítása elemi érdeke az érintett betegnek és családjának.[6]

2n/2n+1 mozaik létrejöhet úgy is, hogy az eredeti zigóta aneuploid (2n+1), és mitotikus nondiszjunkcióval pont a számfeletti kromoszóma vész el egy sejtből. A 2n kromoszómagarnitúrájú sejt és utódai szelekciós előnyt élveznek a 2n+1 képletű sejtekkel szemben, így a zigóta fejlődésének korai szakaszában bekövetkezett „korrekció" eredményezheti azt is, hogy az egyed sejtjeinek többsége euploid lesz. A szét-nem-válás alapján létrejövő 2n+2 hiperdiploid sejt igen nagy valószínűséggel életképtelen.

A citogenetikusok számára kihívást jelent a valódi mozaicizmus és a pszeudomozaicizmus közötti különbségtétel. A pszeudomozaicizmus jelenségével a vizsgálandó egyénektől származó sejtek tenyésztése során találkozhatunk, amikoris a sejtek osztódása során spontán nondiszjunkció történhet. Ez a jelenség viszonylag gyakori chorionboholyból származó sejtkultúrák esetén, ami az egyik fő problémát jelenti a prenatális kromoszóma-diagnózis felállításában.

Kimérizmus

A mozaicizmushoz hasonló állapotot jelent, de elvileg különbözik a kimérizmus. **Ebben is különböző geno- ill. kariotípusú sejtek lelhetők fel egyetlen**

[6] E jegyzet szerkesztője látott egyszer egy villamoson utazó, megjelenésében tipikusan Down-kóros fiatalembert, aki buzgón jegyzetelt valamit egy füzetben. Úgy figyelt fel rá, hogy az illető az íráshoz optimális ülőhelyet keresett magának. Feltehetően olyan mozaikról lehet szó, akinek az arckoponyája triszómiás sejtekből fejlődött, de a központi idegrendszere normális, euploid kariotípusú.

egyénben, de ezek két különböző zigótából származnak és egyik sejtvonalnak sem kell aneuploidnak lennie. **Kiméra kialakulásához vezethet** pl. a kétpetéjű ikrek közötti föto-fötális transzfúzió, aminek a lehetőségét a közös méhlepény teremti meg. Ezen keresztül vérképző őssejtek kerülhetnek át az ikertestvérbe (egy- vagy kétirányúan), és ott megtelepedve saját klónt hoznak létre. Ennek eredménye lehet génszintű kimérizmus, pl. egy egyénben eltérő AB0 fenotípusú vörösvérsejtek jelenléte, de leány-fiú pár esetén 46,XX/46,XY kiméra kariotípus is előfordulhat a csontvelői és onnan származó sejtekben.

Lehetséges lehet azonban két zigóta összeolvadása is. Ilyen esetekben kettős megtermékenyítés eredménye a kiméra. Két petesejtet, vagy ami sokkal valószínűbb, egy petesejtet és egy polocitát termékenyít meg két különböző spermium. Ez utóbbi elvileg nem életképes, de maradhat olyan szoros kapcsolatban a valódi zigótával és az abból származó sejtekkel, hogy az egyed tulajdonképpen a két megtermékenyített sejtből egyesült embriókezdeményből fejlődik ki. Ez génszintű különbséget minden esetben jelent, feltünő következménye általában viszont csak a 46,XX/46,XY kiméra kialakulása esetén észlelhető: a nemi fejlődés zavaraiban, különféle hermafroditákban írtak le ilyen kariotípust. Megjegyzendő, hogy jatrogén kimérizmus a következménye a manapság egyre szélesebb körben alkalmazott transzplantációknak, őssejt transzfúziónak. (Pl. eltérő nemű donor és recipiens.)

A kromoszómák tanulmányozása meiózis során

A spermiumok és petesejtek kromoszóma-összetételének tanulmányozására két megközelítési módot alkalmaznak. Az egyik eljárás során az abnormálisan lejátszódó meiózist analizálják visszamenőleg DNS polimorfizmus (lásd 8. fejezet) segítségével vagy pedig citogenetikai heteromorfizmus vizsgálatával azt próbálják kideríteni, hogy aneuploid magzat, ill. újszülött esetén az apában vagy az anyában történt-e nondiszjunkció. 1000 ilyen esetet tanulmányozva arra az eredményre jutottak, hogy különböző citogenetikai abnormalitások esetén a nondiszjunkció apai, ill. anyai eredete eltérő lehet. Például a 21-es kromoszóma triszómiája esetén 90%-ban, a 16-os kromoszóma triszómiája (letális állapot) esetén 100%-ban, 47,XXY kromoszóma összetétel esetén kb. 50%-ban, míg 45,X kariotípus esetén csak 20-30%-ban történik az anyában a nondiszjunkció. A másik eljárás során a spermiumok, ill. petesejtek kromoszómáinak direkt analízise történik a meiózis során FISH technikát alkalmazva, kromoszóma-specifikus próbák segítségével. A spermiumokat tanulmányozva megállapították, hogy 1000-2000 spermium közül egy mutat aneuploidiát. Ezen belül a nemi kromoszómákat nagyságrendekkel gyakrabban érinti a nondiszjunkció, mint az autoszómákat. Számos tanulmány azt a feltevést támasztja alá, hogy a kromoszóma abnorrmalitást hordozó spermium nem képes megtermékenyíteni a petesejtet. Ennek további vizsgálata különösen fontos, mert az egyik alkalmazott mesterséges megtermékenyítési eljárás során (*intracytoplasmic sperm injection*, ICSI) a petesejt citoplazmájába beinjektálják a spermiumot. Az összegyűjtött adatok szerint az ilyen mesterséges megtermékenyí-

téssel létrejött terhességek esetén szignifikánsan megnőtt a különböző kromoszóma aberrációkat, vagy imprinting defektet mutató magzatok, ill. újszülöttek száma.

A FISH segítségével azt is lehet tanulmányozni a spermiumokban, hogy milyen arányban hordoznak kiegyensúlyozott, ill. kiegyensúlyozatlan transzlokációt vagy inverziót. Nagyon fontos megjegyezni, hogy a megállapított arányok nem azonosak az újszülötteknél megfigyelt arányokkal. Például, ha a spermiumok kb. fele kiegyensúlyozatlan transzlokációt hordoz, az újszülött utódok nagyon kis százaléka fogja mutatni ezt a rendellenességet, minden bizonnyal prekoncepcionális (megtermékenyítés előtti) vagy zigotikus szelekció következtében.

A kromoszómák láthatóvá tétele az oogenezisben sokkal nehezebb, mint a spermatogenezis során. Az *in vitro* fertilizációs (IVF) technikának köszönhetően viszont az ovulációt követően az oocitákat eltávolítják a női szervezetből, majd *in vitro* érlelik és így lehet a meiózist FISH-sel vagy CGH-val tanulmányozni. Ezek segítségével megállapítható a nondiszjunkció gyakorisága az oogenezis során, bepillantás nyerhető a maternális nondiszjunkció mechanizmusába, megállapítható az anyai életkor és a nondiszjunkció gyakorisága közötti összefüggés, ill. a rekombinációs események gyakorisága.

Szerkezeti kromoszóma-rendellenességek

Ugyanúgy, ahogy a számbeli anomáliák, a strukturális kromoszóma-aberrációk is lehetnek öröklöttek vagy *de novo* (újonnan) létrejöttek, meiotikus vagy mitotikus eredetűek. Ha egy érett ivarsejtben van jelen rendellenes kromoszóma, az ebből származó egyén minden egyes testi sejtjében megtalálható lesz ugyanez és természetesen bekerülhet annak ivarsejtjeibe is. Az embrió valamelyik sejtjében létrejött rendellenes alak viszont csak ennek a sejtnek az utódaiban jelentkezik, azaz mozaikos formában detektálható. Számbeli rendellenességben egy adott kromoszóma teljes génállománya feleslegben van jelen, vagy pedig hiányzik. Szerkezeti aberrációk esetén a genomnak csak egy kis hányada hiányzik, vagy van meg fölös mennyiségben, de az is lehet, hogy sem hiány, sem többlet nem mutatható ki, hanem a gének átrendeződése vezet különböző elváltozásokhoz vagy akár fatális kóros következményekhez. Mindezek vizsgálata akkor vált először lehetségessé, amikor az 1970-es évek elején elterjedtek a különböző sávtechnikák. Nem szabad elfeledkeznünk arról, hogy egy kromoszóma sávban legalább 50 gén lehet jelen. Egy ekkora terület hiánya vagy éppen megduplázódása tehát sok lokuszt érint. Nem véletlen ennek megfelelően, hogy a szerkezeti hibák tünettana szinte kimeríthetetlen bőségű. A napjainkig részletesebben leírt szerkezeti kromoszóma-rendellenességek száma meghaladja a 2000-et, ezek között alig 100 van, ami szindrómaként azonosítható, a többi rendkívül heterogén csoportot képez, általában a fejlődési rendellenességek közé besorolható körben. Abnormális kromoszóma struktúra kb. 375 újszülöttből 1 esetben mutatható ki.

Kromoszóma átrendeződések kis gyakorisággal spontán módon keletkezhetnek, továbbá valamilyen „kromoszómatörő” ún. *clastogen* ártalom, mint például

ionizáló sugárzás, néhány vírusfertőzés és nagyon sok kemikália szintén strukturális változásokat indukál.

A szerkezeti átrendeződés lehet kiegyensúlyozott, ebben az esetben a génállományban nincs mennyiségi változás, csak az elhelyezkedésben észlelhető átrendeződés, és lehet kiegyensúlyozatlan, amikoris géntöbblet vagy -hiány lép fel. Az átrendeződések lehetnek stabilak és instabilak, ami attól függ, hogy a szerkezeti rendellenességet mutató kromoszóma rendelkezik-e centromer és két telomer régióval. Ha igen, ez adja a stabilitás alapját.

***Deléció*k.** Egy vagy több kromoszómarészlet elvesztése. A diploid sejtek a kiesett genetikai információra vonatkozóan monoszómiásak. Klinikai következménye függ a hiányzó szegment méretétől, az érintett gének számától és funkciójától. Elveszhetnek természetesen nem csak polipeptidek struktúrgénjei, hanem szabályozó szekvenciák is. A hagyományos citogenetikai módszerrel kimutatható deléció, ami azt jelenti, hogy legalább néhány millió bázispár érintettségéről van szó, kb. 7000 élve született újszülött közül egyben észlelhető. Az élettel összeegyeztethetőnek az eddigi megfigyelések szerint a nagyobb részletek közül a 4p, 5p, 9p, 11p, 11q, 13q, 18p, 18q, 21p és 21q elvesztése bizonyult, azaz többségében rövid kar deléciók, ill. kisebb kromoszómák hosszú karja (egy részének) elvesztése. Diszmorfiás (anatómiai elváltozás, rendellenesség) betegek citogenetikai vizsgálata során, ill. a prenatális diagnosztikában azonosított deléciók vizsgálata, az érintett gének funkciójának, fenotípusban megnyilvánuló hatásának megállapítása kiemelkedő jelentőségű, ezt az ismeretanyagot nagymértékben gazdagították a Humán Genom Projekt-ből származó eredmények.

Az elhelyezkedés szerint beszélünk terminális és intersticiális delécióról. Érdemben az első körbe sorolandó a gyűrűkromoszóma is: a rövid és a hosszú kar vége egyaránt elvész és a terminális törvégek összeforrnak. Delécióval járhatnak az egyéb strukturális rendellenességek, bonyolultabb, kiegyensúlyozatlan átrendeződések is: például transzlokáció során a résztvevő partnerek valamelyikének egy része eltűnhet, ill. duplikációk járhatnak együtt deléciókkal. Az ún. acentrikus (centromert nem tartalmazó) fragmenteknek nincs fennmaradási esélyük, legkésőbb a soron következő sejtosztódás során elvesznek.

***Duplikáció*k.** Egy kromoszómarészlet megkettőződése. Lehet tandem (a másodpéldány szakasz közvetlenül követi az eredeti szekvenciát) duplikáció inekvális crossing over következtében, mikoris a homológ kromoszómapár tagjai egymás mellett hossztengelyük mentén elcsúszva, nem a megfelelő pozicióban képeznek párt egymással. Ez azokon a szakaszokon gyakori, ahol ismétlődő szekvenciák vagy nagyfokú szekvencia egyezést mutató gének találhatók egymást követően. (Ez utóbbira példa a vörös-zöld érzékelésért felelős gének egymásutánisága az X kromoszómán – l. az 5. fejezetben. Tovább l. a jelentőségét az evolúcióban, pl. a globin géncsaládok eredetét illetően – bővebben a 4. fejezetben.) Transzlokáció is eredményezhet duplikációt (és a duplikációhoz hasonlóan a másik kromoszómán pedig deléciót), ha az áthelyezett darabot hordozó kromoszóma és annak ép homológja kerül egy ivarsejtbe.

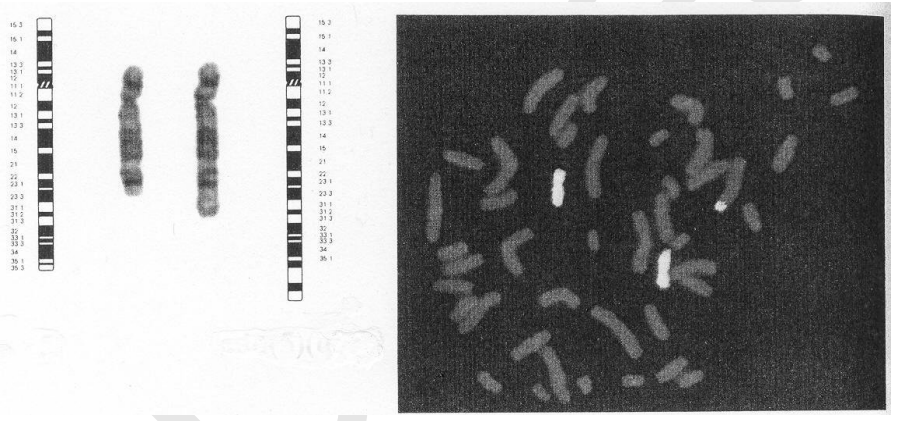
Értelemszerűen a kis duplikációk kevésbé súlyos fenotípusos következményekkel járnak, mint a velük összevethető nagyságú deléciók, de a nagyobb kiterjedésűek, amelyek részleges triszómiaként értékelhetők, súlyos fejlődési rendellenességet okozhatnak. Mindez függ természetesen az érintett szakasz nagyságától, elhelyezkedésétől, és az oda lokalizált gének milyenségétől.

Izokromoszóma. Két hosszú vagy két rövid kart tartalmaz az adott kromoszómából. Létrejöttét úgy magyarázzák, hogy nem a testvérkromatidok válnak el egymástól, a metafázis→anafázis szétválás nem a kromoszóma hossztengelye mentén, hanem arra merőlegesen történik. Másik lehetséges magyarázat: rekombináció a centromerikus területen. Akármelyik mechanizmust fogadjuk is el, az eredmény egy, a rövid kart kétszer, és egy másik, a hosszú kart két példányban tartalmazó kromoszóma. Ezek különböző sejtekbe kerülnek, így az egyik utódsejtben (mitózis után), ill. egy zigótában (meiózisban bekövetkezett rendellenesség esetén) az adott kar három példányban, a másik csak egyben lesz jelen, a másik utódsejtben éppen fordítva. Mitózisban bekövetkezett rendellenes szétválás mozaicizmushoz vezet, de ha ősivarsejteket is érint, tiszta formában adódhat tovább a rendellenesség az utódokba, azaz ezek minden sejtje hordozza a hibás kromoszóma-összetételt csakúgy, mint ha a hiba meiótikus oszlásban alakul ki. Legismertebb az X hosszú kar izokromoszóma: i(Xq), amit Turner szindrómás betegekben írtak le. Kariotípusa ebben az esetben a tipikus 45,X monoszómiától eltérően 46,X,i(Xq), ami Xp monoszómiát és Xq triszómiát jelent. (Az ilyen formákban a hosszú kar izokromoszóma Barr-testet képez.) Számos autoszóma esetén is találtak már izokromoszómát, mint pl. 46,18,i(18p) vagy 46,12,i(12p), ami mindkét esetben rövid kar izokromoszómát jelent. Ezen túlmenően gyakran fordulnak elő izokromoszómák malignus elváltozások esetén is.

Inverziók. Egy kromoszómarészlet eredeti helyén való megfordulása. **Pericentrikus inverzió**ról beszélünk, ha a megfordult darabban benne van a centromer is, azaz az abnormalitás kialakulásához szükséges két kromatid-törés a centromer két átellenes oldalán jött létre. A **paracentrikus inverzió** egy kromoszómakaron belüli részlet megfordulását jelenti. Az inverzió nem jár feltétlenül fenotípusos következményekkel a hordozójában, de ha a törés fontos kódoló szekvenciákban történt, ezek elvesztésének tünete(i) lép(nek) fel. Úgyszintén okozhat valamilyen szabályozási hibát is az átrendeződés. Legnagyobb veszélye azonban a meiózis megzavarásában van. A homológ kromoszómák meiózis I-ben való szinapszisképzése mindig a homológ szakaszok egymás mellé illesztésén alapszik. Ha ezek egy szakaszon belül egymáshoz képest fordítottan helyezkednek el, akkor vagy létrejön a szinapszis-képzés, egészen különleges meiotikus alakzatok kialakulásával, vagy elmarad. Ha megvalósul és a párosodott szakaszon crossing over játszódik le, az tovább ronthatja most már mindkét partner strukturális szervezettségét. Duplikáció és deléció lehet a következmény, dicentrikus és acentrikus utódkromoszómák alakulhatnak ki. Mindebből komoly fertilitási zavarok és/vagy az utódba kiegyensúlyozatlan génállomány átadása következhet. Paracentrikus inverzió következtében a képződő gaméták fele kiegyensúlyozatlan átrendeződést mutató

rekombináns kromoszómát tartalmaz, melyek tipikusan acentrikusak vagy dicentrikusak. Az acentrikus, ill. dicentrikus kromoszómát hordozó zigóták életképtelenek, így annak az esélye, hogy egy kiegyensúlyozott paracentrikus inverziót hordozó, normális fenotípusú egyénnek abnormális kariotípusú gyereke szülessék, nagyon csekély. Pericentrikus inverzió esetében, a hordozó egyén gamétáinak fele szintén kiegyensúlyozatlan kromoszómaátrendeződést hordoz, ami ebben az esetben a duplikáció és deléció együttes előfordulását jelenti a rekombináns kromoszómákon. Annak a valószínűsége, hogy egy pericentrikus inverziót hordozó egyénnek kiegyensúlyozatlan kariotípusú gyermeke szülessék 5-10% között van. Minél nagyobb a pericentrikus inverzió mértéke, annál kisebb a duplikálódott, ill. deletálódott fragment mérete, így nagyobb a valószínűsége annak is, hogy a kiegyensúlyozatlan kariotípust mutató zigóta életképes lesz.

A citogenetikailag kimutatható inverziók mellett – a technikai lehetőségek fejlődésa nyomán – egyre nagyobb számban detektálhatók kisebb inverziók a genomika eszközeivel. Nagyon fontos megállapítani, hogy hol van a törés, génben vagy nem kódoló területben. A legtöbbnek ez utóbbiak közül klinikai jelentősége nincs, nem befolyásolja az egyén reprodukciós képességét.



2-7. ábra

Transzlokáció kimutatása nagyfeloldású Giemsa-sáv-, ill. FISH technikával

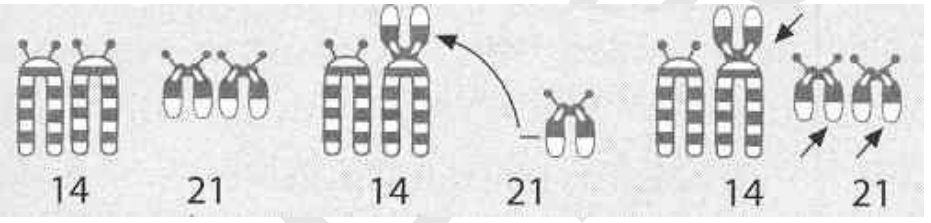
(Az utóbbi azt is jól jelzi, honnan származik az áthelyeződött darab.)

Transzlokáció*k. *Reciprok transzlokáció: szakaszok kicserélődése nem homológ kromoszómák között. Mivel reciprok kicserélődésről van szó a kromoszómaállományban számbeli változás nem történik és a génállományban sincs mennyiségi változás. A reciprok transzlokáció kiegyensúlyozott, ennek megfelelően ez a rendellenesség lehet teljesen tünetmentes, de bekövetkezhet olyan átszerveződés is, ami génszekvenciát szakít meg, vagy egy adott gént a számára fiziológiás szabályozási környezetből olyanba helyez át, ahol vagy nem funkcionál, vagy épp ellenkezőleg: túlműködik. A reciprok transzlokáció előfordulása viszonylag gyakori: kb. 600 újszülöttből egyben detektálható. Általánosságban elmondható, hogy az intézeti

ellátásra szoruló mentálisan retardált egyének körében gyakrabban fordul elő ez a rendellenesség, mint az átlagpopulációban.

Kiegyensúlyozott és tünetmentes transzlokáció-hordozók is átadhatják azonban a rendellenességet kiegyensúlyozatlan transzlokáció formájában, ami súlyos fenotípusos elváltozásokkal járhat duplikáció, deléció vagy egyidejűleg mindkettő következtében. Fennáll a veszélye annak is, hogy jóllehet önmagában a kiegyensúlyozott transzlokáció észlelhető kóros fenotípust, fejlődési rendellenességet nem okoz hordozójának, de lehetetlenné teszi a meiózis normális lefolyását. Ebben az esetben előfordulhat, hogy részben vagy kizárólag csak kiegyensúlyozatlan kromoszóma-garnitúrájú ivarsejtek képződnek, mely utóbbiak inkább vezetnek korai vetéléshez, mintsem rendellenességgel sújtott utód születéséhez, vagy egyáltalán nem is jön létre terhesség (a zigóta életképtelen a kromoszóma-rendellenesség miatt), és a kiegyensúlyozott hordozónak meddőségi panaszai vannak.

Mivel a meiózis I. profázisában mindig a homológ szakaszok párosodnak, a transzlokáció különleges, kereszt alakú meiotikus képződményeket hoz létre. Ezek szétválásának különböző lehetőségei vannak, kiegyensúlyozott és kiegyensúlyozatlan kromoszóma-összetételű ivarsejtek egyaránt létrejöhetnek.



2-8. ábra

Robertson-féle transzlokáció = centrikus fúzió

Balra: normál diploid állapot: két 14-es és két 21-es kromoszóma. Középen: kiegyensúlyozott transzlokáció. Az egyik 21-es kromoszóma hosszú karja átkerült az egyik 14-es rövid karja helyére. Jobbra: ugyanaz a transzlokációs állapot, mint a megelőző formában, de két 21-es kromoszóma jelenlétében, azaz kiegyensúlyozatlan, Down-kórhoz vezető transzlokációs kromoszóma-képlet.

Robertson-féle transzlokáció: **centrikus fúzió** (2-8. ábra). Ez két akrocentrikus kromoszóma centromer régiója között lejátszódó átrendeződés következménye, úgy, hogy az egyik partner rövid karja helyére a másik hosszú karja lép. A vizsgált, egészséges (kiegyensúlyozott hordozó) személy kariotípusában csak 45 kromoszóma figyelhető meg, amelyek közül a Robertson-féle transzlokációt hordozó, a két érintett kromoszóma hosszú karjának centromerikus fúzójával jött létre. A transzlokáció eredményeképpen a két résztvevő kromoszóma rövid karja elvész, ami viszont nem okoz problémát hordozójában, hiszen 5 pár akrocentrikus kromoszómánk van. Az akrocentrikus kromoszómák rövid karján található nukleolusz organizátor régió (NOR) nagyon sok példányban hordoz rRNS-t kódoló gént, így

az akrocentrikus kromoszómák közül kettő rövid karjánk elvesztése esetén is az adott gének még kellő számú példányban maradnak jelen a genomban ahhoz, hogy elegendő mennyiségű rRNS keletkezzék.

Bár Robertson-féle transzlokációt az akrocentrikus kromoszómák esetén mindenféle kombinációban megfigyeltek már, a leggyakoribb mégis a 13-as és 14-es t(13q;14q), ill. a 14-es és 21-es t(14q;21q) kromoszómák hosszú karjának centromerikus fúziója. Az adott strukturális átrendeződés hordozójában tehát fenotípusos elváltozást nem okoz, de az utódjába kiegyensúlyozatlan formában átörökítheti. Így létrejöhet Patau szindrómás gyermek, bár ennek a kórnak a transzlokációs előfordulási gyakorisága igen ritka. Az átrendeződésben résztvevő kromoszómákon túl a hordozó szülő neme is befolyásolja a transzlokáció kiegyensúlyozatlan formában történő átadásának valószínűségét. Általánosságban elmondható, hogy hordozó nő esetén ennek az esélye nagyobb, mint hordozó férfi esetén. A folyamat legismertebb, klinikai jelentőséggel bíró következménye a **transzlokációs Down szindróma** kialakulása. A szülő kariotípusa ebben az esetben, pl. női hordozó esetén: 45,XX,-14,-21,t(14;21)(14q;21q). A beteg gyerek sejtjeiben 46 kromoszóma van, de a génállomány lényegében a 21-es triszómiáéval azonos. (Tulajdonképpen 21-es hosszú kar triszómia.) A kariotípus leggyakrabban 46,XY,-14,t(14;21)(14q;21q) – férfi beteg esetén.

***Inszerció*:** egyirányú, nem reciprok transzlokáció, egy kromoszómarészlet áthelyeződése egy másik kromoszómára. Inszercióról tehát akkor beszélünk, ha egy kromoszómán létrejött törésbe egy másikból származó darab illeszkedik be azonos vagy fordított orientációban, és a törvégek összeforrnak. Mivel létrejöttéhez három kromoszomatörés együttes jelenléte szükséges, az inszerció meglehetősen ritka strukturális rendellenesség. Az inszerció hordozójának születhet az áthelyeződött fragmentet duplikált, deletált, vagy kiegyensúlyozott formában hordozó, ill. normál kariotípusú utódja. Azonban annak az esélye, hogy a rendellenességet kiegyensúlyozatlan formában adja tovább az utódjának kb. 50%, ami szükségessé teszi a prenatális diagnózis felállítását.

***Kromoszómatörés*.** Nem valódi törés, hanem a kifejezés itt a metafázis kromoszóma esetében a testvérkromatidokon azonos helyen látható folytonossági hiányra (elvékonyodásra) utal, amitől disztálisan folytatódik a kromatinállomány. Mindenképpen figyelmeztető jel lehet atekintetben, hogy valamilyen clastogen (kromoszómatörő) ártalom érte az egyént. Kémiai és fizikai mutagén hatások jelentősen fokozhatják gyakoriságát, olyannyira, hogy ennek kimutatását szűrővizsgálati eljárásként szokták alkalmazni olyan személyek terhelésének ellenőrzésére, akik ilyen veszélyeknek kitett munkahelyeken dolgoznak. (Pl. atomerőművek dolgozói, radiológus orvosok, asszisztensek stb.)

Nem tartozik szorosan ide, de meg kell említenünk a ***testvérkromatid kicserélődés*t (SCE** = *sister chromatid exchange*). Ez a meiótikus crossing overrel állítható párhuzamba, de mivel testvérkromatidok között történik mitotikus sejtciklusban, így tökéletesen azonos DNS szakaszok kicserélését jelenti, tehát genetikai következményei nincsenek (kivéve, ha a két testvérkromatid egymáshoz képest elcsúsz-

va vesz részt az eseményben). Megfelelő technikákkal a mitotikus testvérkromatid kicserélődés jól kimutatható, és egy bizonyos gyakoriságig ez teljesen normálisnak mondható. Kóros viszont, ha egy egyénben megnő az SCE-k száma. Ez egyfelől lehet clastogen ártalom következménye, mint a fent említett kromoszómatörés, és ezért szűrővizsgálati célból szintén használható a kimutatása (manapság elterjedtebben alkalmazzák a szűrővizsgálatok során, mint a kromoszómatörés detektálását), másrészt olyan örökletes betegségekhez társul, mint pl. Bloom szindróma, Fanconi anémia, *xeroderma pigmentosum*, amelyekben génikus hiba miatt zavart a DNS javító mechanizmus.

Strukturális kromoszóma-rendellenességek és hozzájuk csatlakozó kórképek

Mint a fentiekből kiderült, számtalan nagyobb és kisebb (minor) szerkezeti rendellenesség sújthatja a kromoszómákat, amelyek túlnyomó többségéhez nem rendelhető olyan fenotípusos elváltozás, ami egyértelmű szindróma-képet adna, jóllehet, mint a fentiekben arról esett szó, egy hagyományos sávtechnikával kimutatható szerkezeti elváltozás mindig sok, nagyjából általában 50 génre terjed ki.

Kiemelt érdeklődésre tarthat számot a **Robertson-féle transzlokációs Down-kór**. Ennek ismétlődési kockázata nem függ az anyai életkortól, annál inkább a – bármelyik – szülő kiegyensúlyozott, tünetekkel nem járó rendellenességétől, ha ilyen van, amint ezt a fentiekben már említettük. A rendellenesség lehet *de novo* kialakult, azaz előzmények nélküli újdonság a családban. Kiegyensúlyozott hordozó(k) esetén észrevétlen maradhat, és közeli rokonokban is jelen lehet. A kiegyensúlyozatlan formában való továbbadás elméleti esélye 1/3, azonban szerencsére ilyen nőknél nagyjából 1/10, férfiaknál 1/20 (10%, ill. 5%) ez a kockázati tényező a gyakorlatban. Ez az érték azonban semmiképpen sem elhanyagolható, az 1/20 valószínűség is magas genetikai kockázatnak számít.

Az összes Down-kóros születés között a Robertson-transzlokációs forma nem haladja meg a 4%-ot. A tünetek tökéletesen azonosak a nondiszjunkciós 21-es triszómiáéval. Ez indokolja a **születés után azonnali kromoszómavizsgálat**ot (akár már a köldökzsinórvérből is), ha a klinikai kép Down-kórra utal, ugyanis az ismétlődési kockázat megítélése csakis a típus meghatározása után lehetséges, másrészt a transzlokációs forma kiegyensúlyozottan meglehet az érintett szülőpár egyik tagjának a testvérében (és egyéb közeli rokonában) is, amit ki kell vizsgálni, és veszélyeztetettség fennállása esetén az érintettet állapotáról informálni kell.

Ez utóbbi két „kell” kapcsán itt is utalhatunk a genetikai vizsgálatok és diagnózisok etikai problémáira. Orvosszakmailag jogos a „kell”, de vajon lehet-e, lehetséges-e, szabad-e – az érintettek személyiségi jogait meg nem sértve (!) – kiadni egy információt akárha a legközelebbi, vélhetően érintett rokonnak is? Itt is, mint a genetikában sok esetben, az orvosnak szakmai és morális kérdéseket kell egy „mérleg” két serpenyőjébe tenni. L. még a 14. fejezetben.

Bár a transzlokációs Down-kór leginkább a 14/21 formában fordul elő, nem szabad megfeledkeznünk az egyéb (a fentiekben is említett) állapotokról. Ezek közül itt a 21/21-es transzlokációt emeljük ki. A kiegyensúlyozott hordozó, ha ezt a

centrikus fúziós kromoszómát örökíti utódjára, az mindenképpen Down szindrómás lesz, a másik szülőtől kapott 21-essel. Ha a 21/21-es kromoszóma nem kerül be az ivarsejtbe, a monoszómiás zigóta életképtelensége nyilvánul meg.

Cri du chat szindróma (macskanyávogás betegség). Deléciós kromoszóma-rendellenesség, az egyik 5-ös kromoszóma rövid karjából vész el egy darab. Kariotípus pl.: 46,XX,5p-, vagy másképpen 46,XX,del(5)(p13). (Az 5p után írt mínusz jel arra utal, hogy a rövid karból egy darab, nem pedig az egész veszett el.) A név onnan származik, hogy az e rendellenességgel született csecsemők kezdetben olyan hangot hallatnak síráskor, mintha egy kismacska nyávogna valahol a szobában. A gégefejlődési rendellenességből adódó elváltozás a kor előrehaladtával megszűnik, azonban a kórkép rendkívül súlyos mentális defektussal jár, ezek a betegek teljes körű ellátásra és ápolásra szorulnak.

2-1. táblázat

Kromoszóma-rendellenességek gyakorisága

Kariotípus	Sp. vetélés	Élveszületés	Kariotípus	Sp. vetélés	Élveszületés
Normál	7 500	84 450	47,XYY	4	46
Triszómia 1	0	0	47,XXY	4	44
2	159	0	45,X	1 350	8
3	53	0	47,XXX	21	44
4	95	0			
5	0	0	Transzlokációk,		
6 - 12	561	0	kiegyensúlyozott	14	164
13	128	17	kiegyensúlyozatlan	225	52
14	275	0			
15	318	0	Triploidia	1 275	0
16	1 229	0	Tetraploidia	450	0
17	10	0			
18	223	13	Egyebek	280	49
19 - 20	52	0			
21	350	11 3	Összes kromoszóma-		
22	424	0	rendellenesség	7 500	550
– (13, 18 és 21)	3 176	0	Mindösszesen	15 000	85 000

Kromoszóma-anomáliák előfordulásának gyakorisága

Nagyobb populációs felmérések szerint a legtöbb kromoszóma-rendellenesség spontán vetélésekben fordul elő, amint azt a 2-1. táblázatban összefoglalt adatok is mutatják. A spontán vetélések legalább 40-50%-áért valamilyen kromoszóma-rendellenesség felelős. Ezek között egyaránt van számbeli és strukturális hiba. A leggyakrabban előforduló rendellenesség, az X kromoszóma monoszómiája (45,X), ami a spontán abortumok 20%-ában, míg az élve születetteknek kevesebb, mint 1%-ában mutatható ki. A legkevésbé sem elhanyagolható azonban az élve születettek körében észlelhető kromoszómaaberrációk száma (85 000 újszülött közül 550 volt érintett). Más statisztikák, amelyek csakis az élve születettek adataira támaszkodnak, magasabb arányban mutatják ki e rendellenességeket. Ez alapján 160 újszülött közül egyben (0,7%) mutatható ki kromoszóma-abnormalitás. A legtöbb autoszómális kromoszóma-rendellenesség már születéskor diagnosztizálható, míg az X kromoszóma esetén, a Turner szindróma kivételével, a tünetek csak a pubertás

kor körül jelentkeznek. A kiegyensúlyozott kromoszóma-átrendeződés klinikailag ritkán azonosítható, kivételt azok az esetek képeznek, melyekben a hordozó szülő a rendellenességet kiegyensúlyozatlan formában adja át utódjának. Ebben az esetben a szülő genetikai vizsgálata indokolttá válik.

Megjegyzendő, hogy létezik zigotikus (már az első mitózis sem játszódik le) és beágyazódás előtti preembrionális szelekció is, vagy a beágyazódás idejében bekövetkező elhalás, mely esetekben terhesség egyáltalán nem is jön létre. A legsúlyosabb rendellenességek minden valószínűség szerint pont ezekben az esetekben volnának megfigyelhetők (vélhetően pl. 1-es és 5-ös triszómia), ha valamilyen vizsgálati módszer számára elérhetők lennének. Így a 2-1. táblázat adatai torzítottaknak tekinthetők.

Vegyük észre a táblázatban! A 21-es triszómia esetén 113 élveszüléssel 350 spontán vetélés áll szemben (pedig a Down-kórról azt szoktuk mondani, hogy az élettel jól összeegyeztethető), míg az X monoszómiánál 8 élveszülöttre 1350 spontán abortusz jutott. A 47,XYY és a 47,XXY érdemben nem növeli a spontán vetélések arányát, a 47,XXX viszont, ha csekélyebb mértékben is, igen. A statisztika 100 000 egymást követő, egy intézetben (azonos körülmények között észlelt) válogatatlan terhesség adatait tartalmazza. Terhesség és nem fogantatás!

Prenatális genetikai diagnosztika

Hogyan és miért kerül ez a fejezet a kromoszóma-rendellenességeket tárgyaló részbe? Történeti okokból kifolyólag. Amikor a technikai lehetőségek fejlődése már megengedte, hogy az anyaméhben növekvő magzatból sejtmintát vegyenek és azt citogenetikai vizsgálatnak vessék alá, a legégetőbb probléma a Down-kóros gyermekek születésének megelőzése volt a >35 éves anyák esetén. Ez, ebben az esetben, bár vannak gyanújelként értékelhető szűrővizsgálati leletek, végső soron csakis a magzat (vagy embrió) kariotipizálásával verifikálható. Mára már számos olyan eljárást is ismerünk, amelyek akár monogénes genetikai betegségek megelőzésében is haszonnal alkalmazhatók, de az említett történeti okból és gyakorlati szempontból is, itt és most az elsőbbséget a kariotipizálásnak adjuk.

Megkülönböztetünk **szűrő- és diagnosztikus vizsgálatok**at (l. 14. fejezet). Az előbbiek nagyobb populációk, akár a teljes érintett népesség gyanújelek iránti átvizsgálása, pl. a terhestanácsadás kapcsán. A második egy konkrét rizikófaktorral rendelkező személy részletes vizsgálata a vélt rendellenesség fennállásának igazolására vagy elvetésére.

Bármilyen célú legyen is a vizsgálat, az alapos, megbízható családi és egyéni anamnézis felvétele elengedhetetlen.

A jelentős módszertani fejlődés mellett és ellenére a prenatalis genetikai diagnosztika mind a mai napig – és még nyilván sokáig –, ellentmondásos fejezete marad az orvosi és klinikai genetikának. Miért? Mert nem csak szakmai problémákat vet fel, hanem társadalmi ellentmondások középpontjában is áll. Az orvosnak mindig tekintettel kell lennie az érintett páciensek hozzáállására csakúgy, mint az adott

ország törvényeire, valamint annak a közegnek, amelyben dolgozik, az erkölcsi, vallási, vagy egyéb hagyományokon alapuló megengedő avagy elutasító véleményére is. Gondoljunk pl. arra, hogy egy, a terhesség eléggé korai szakaszában diagnosztizálható, súlyos, és semmiképpen sem korrigálható genetikai rendellenesség *in utero* diagnózisából egyetlen következtetés adódhat: a terhesség megszakítása orvosi indokból. De számos olyan országot ismerünk, ahol ez a beavatkozás szigorúan tilos. És ahol legális, ott is lehetnek olyan vallási (vagy egyéb) csoportok, amelyek ezt elutasítják, tagjaik akkor sem vethetik alá magukat ilyen beavatkozásnak, ha az az anya életének megmentését célozza. Családi, etnikai és etikai hagyományok is motiválhatnak egy nőt, hogy a terhességmegszakítást elutasítsa, akkor is, ha súlyosan károsodott magzatot hord a szíve alatt. És ha így, akkor mi értelme lenne bármiféle prenatalis genetikai diagnózisnak? A vonatkozó erkölcsi kérdésekre az utolsó (14.) fejezetben még visszatérünk.

Ám ne felejtsük! Nő azoknak az *in utero* diagnosztizálható rendellenességeknek a száma, amelyek eredményesen kezelhetők (vagy kifejlődésük megelőzhető) a megszületés előtt, alkalmasint az anyaméhben. (Pl. Rh-inkompatibilitás: Rh^- anya Rh^+ magzata.)

Ugyanakkor a probléma keletkezésében szerepet játszott Down-kórt nem mindenki tartja olyan súlyos defektusnak, hogy egy ilyen gyermek születését mindenképpen megelőzendőnek vélje. Az ezzel sújtott gyermekek általában vidámak, szeretetéhesek és sok szeretetet tudnak adni. A legújabb nevelési–tanítási módszerek mellett elég jól be tudnak illeszkedni a családba, sőt a környező közösségbe is, és meglehetősen sok hasznos tevékenységre is képesek.

A társadalmi problémák körében nem térhetünk ki annak megállapítása elől, hogy ezek a vizsgálatok – általában – drágák. Különös tekintettel arra is, hogy leggyakrabban nem egyetlen, hanem több, egymással kapcsolódó eljárásról van szó. Tehát a prenatalis genetikai diagnosztika biztosítási, finanszírozási probléma is.

Orvosszakmailag nézve a ma alkalmazott kromoszóma diagnosztikus módszerek invazívak, azaz a beavatkozás maga is lehet a terhesség megszakadásának oka. Ezt ugyan nem tudjuk elkülöníteni a spontán vetéléstől, de statisztikai analízisek erre utalnak. Ezért választották pl. az anyai kor indikációs határát a 35. életévre: ilyenkor az alkalmasint előforduló „spontán" vetélés gyakoriságát már meghaladja a Down-kóros (vagy egyéb kromoszóma-rendellenességgel sújtott) magzat születésének rizikója.

A legmodernebb diagnosztikus megközelítések között pedig megjelentek a nem invazívak is. Ezek közül több már szerves része a terhesgondozásnak, szűrővizsgálat jelleggel. Alkalmazásukhoz anyai vérvételre és ultrahang vizsgálatra van szükség, amelyek nem minősülnek invazív beavatkozásnak. Az anyai vérből meghatározható *α-foetoprotein* (AFP), mint neve is mutatja, magzati eredetű. A prenatalis genetikai diagnosztikában magasabb vérszintje a nyitott gerinc fennállásának indikátoraként szerepel már meglehetősen hosszú ideje. Majd kiderült, hogy az átlagosnál alacsonyabb szintje a 21-es triszómia jelzője lehet. Mindkét irányú eltérést a

magzati ultrahang vizsgálat feltétlen indikációjának ekintették. Újabban azonban sokan vitatták az AFP-szint meghatározásának hasznát sok álpozitív lelet miatt, és végülis ezt – legújabban – kivették a kötelező terhestanácsadás eljárásai közül.[7]

(Ikerterhességben is lehet magasabb az AFP szint, de ultraszonográfiával könnyen eldönthető: egy vagy két magzat fejlődik-e az anyaméhben.)

A várandósság idejét három trimeszterre szokás felosztani. Már az első végén (nagyjából a 12. terhességi héten) az ultrahangos képalkotás révén láthatóvá váló tarkótáji redő erőteljesen utal Down-kór lehetőségére. Ennek fennállása esetén (néhány további genetikai és szívrendellenességgel együtt) a normálisnál jóval több folyadék halmozódik fel a magzat érintett régiójában, jól észlelhető ödéma alakul ki. A tarkótáji képlet vastagságára az angol *Nuchal Translucency* (NT) kifejezés utal és mm-ben adják meg. 3 mm fölött tekintik kórjelzőnek. Ha ugyanakkor az orrcsontok kezdeményei hiányoznak, ez növeli a 21-es triszómia fennállásának valószínűségét. A végső szót minden ilyen esetben csakis a kromoszomális diagnózis mondhatja ki. Ha azonban sem az ultrahangos vizsgálat, sem az anyai vérből végezhető biokémiai analízisek nem szolgálnak ilyen irányú gyanújellel, megkímélhetik az anyát és magzatát egy invazív beavatkozás kockázataitól.

Az utóbbi mondat szerint az anyai vérből elvégezhető egyéb biokémiai vizsgálatok is csatlakoztak a prenatális protokollhoz, amelyek segítik a kockázat megítélését, az invazív beavatkozás javallatát vagy elvetésének lehetőségét helyezve az előtérbe. Ne feledjük viszont, hogy az érzékenység növelése itt is, mint annyi más laboratóriumi vizsgálat esetén, emelheti az álpozitív eredmények gyakoriságát.

A legmodernebb technika az anyai vérből magzati DNS kinyerése diagnosztikus célból. A 12-14. terhességi héten már eredményes lehet. Nem invazív módszer! Szükség esetén ismétlésének csak az ára lehet korlátja. (Sajnos nem csak drága, hanem meglehetősen időigényes vizsgálati módszer, már pedig a magzat gyorsan fejlődik, a pontos diagnózis nem várathat sokat magára.) A megfelelő DNS-szondák birtokában, hibridizációs technikával a számfeletti kromoszóma pontosan azonosítható. Transzlokációs Down kór is diagnosztizálható és a magzat neme is meghatározható. Ez utóbbival kapcsolatban fontos megjegyeznünk, hogy hazánkban – és általában a világon – a kívánt nemű gyermek választása (és a nem kívánt nemű magzat eliminálása) szigorúan tilos. Ugyanakkor egy olyan családban, ahol nemhez kötött öröklődésű súlyos kórkép fordult elő, pl. DMD, a leendő gyermekben ennek elkerülésére a nőnemű utód választása elfogadható.

Mint minden genetikai vizsgálat esetében, itt is fel kell világosítani a szülőpárt, esetleg közeli rokonokat is (ha az érintettek ebbe beleegyeznek), hogy milyen célt szolgál és milyen eredményt adhat, illetve milyet nem a vizsgálat. Pl. ha sikerül kizárni a 21-es triszómia lehetőségét, nem szabad a szülőpárnak azt mondani, teljesen egészséges gyermek születését várhatják. Egy súlyos monogénes ártalom lehet nagyobb teher és tragédia, mint egy Down-kóros gyermek. A megítélés azonban

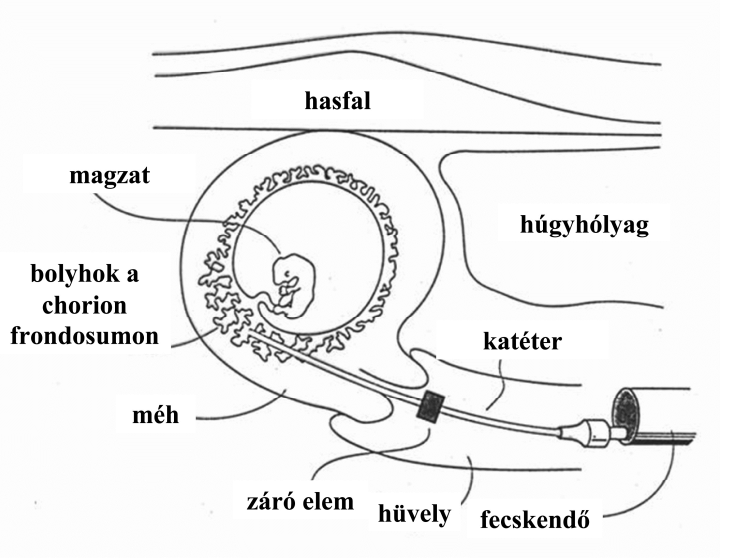
[7] Ez más megközelítésben azt jelenti, hogy elvégezhető, ha a kismama kéri és megfizeti.

mindig függ az orvostudomány aktuális állásától. Például: ma már a hemofília meglehetősen jól és biztonságosan kezelhető örökletes ártalom.

A jelenlegi rutin szerint prenatalis kromoszómavizsgálatra három helyről tudnak meglehetősen nagy biztonsággal embrionális, ill. magzati sejteket nyerni: *(i)* chorionbolyhokból (CVS = *chorionic villus sampling*), *(ii) amniocentesis*ből, és *(iii)* magzati vérből. Mindhárom módszernek megvannak az előnyei és hátrányai. (És ne feledkezzünk meg a fent említett magzati DNS-vizsgálatról sem, ami minden bizonnyal egyre inkább elérhetővé = megfizethetővé válik.)

A chorion, mint magzatburok kialakulására, morfológiájára és megközelíthetőségére vonatkozóan a fejlődéstani tanulmányokra utalunk. Itt azt kell hangsúlyozzuk, hogy extraembrionális függelékről van szó, ami ugyanabból a zigótából származik, de amelynek sejtjei nem vesznek részt a leendő élőlény kialakításában, hanem csak a méhlepényében, annak is a magzati részében (*placenta foetalis*).

CVS. Chorionbolyhokból (*chorion frondosum*) mintavétel optimálisan a 9-11. terhességi héten történhet, alkalmas eszközzel *transabdominalis* vagy – inkább – *transcervicalis* behatolással (2-9. ábra), nagy feloldású ultrahang leképezés védelme mellett. A nyert sejtek *in vitro* tenyésztésre alkalmasak, ill. belőlük interfázisos citogenetikai vizsgálat végezhető, valamint DNS izolálható.



2-9. ábra

Chorionboholy mintavétel (CVS) vázlata, hüvelyi behatolással

Előnye: korai diagnózis lehetősége. Az említett időtartamon belül (esetleg egy kicsit később is) ismételhető. Bizonytalanság esetén még mindig rendelkezésre áll a későbbi amniocentesis. Ha az első trimeszterben kapott eredmény kromoszóma-rendellenességet mutat ki, és az anya ennek nyomán meg kívánja szakíttatni terhességét, az egy olyan időpontban végezhető el, amikor művi vetélés – ahol egyáltalán

legális – még általában engedélyezett. A várandósság élménye, megélése ilyenkorra még nem, vagy csak nagyon kezdetlegesen alakul ki.

Hátránya: előfordulhat mozaikosság (l. fentebb), amely nem érinti az embriót, hanem csak a trophoblast sejteket, amelyek működése összességükben nem szenved zavart, de a megszületendő egyedre vonatkoztatva álpozitivitást, hibás diagnózist és ebből téves indikációjú beavatkozást okozhat. Tehát a CVS-en alapuló kariotipizálás sokkal nagyobb figyelmet, pontosságot igényel, mint az amniocentesisből végzett, mert nem magzati, hanem embriófüggelék sejtekkel dolgozik.

Hátrány továbbá, hogy az ilyen irányú ultrahangos vizsgálat legkorábban a 12. héten lehet esedékes, azaz nehezen állítható közvetlen párhuzamba a két módszer.

***Genetikai amniocentesis*.** Transabdominalis behatolásból (gondos ultrahangos ellenőrzés mellett) vesznek mintát igen vékony tűvel az amnionüregben levő magzatvízből (2-10. ábra). Az ebben található sejtek garantáltan magzati eredetűek (általában külső [és belső szervi] levált hámsejtek).

Előnye: Nem jelentkezhet a megelőzőekben említett mozaikosság. Ha ilyen mutatkozna, az magában a magzatban meglévő rendellenességre utalna. Az amnionűrből származó sejtek *in vitro* tenyészthetők, interfázisos citogenetikai vizsgálatra is alkalmasak, belőlük DNS nyerhető ki, az izolált sejtekből és magából az amnionfolyadékból pedig sokféle biokémiai vizsgálat is kivitelezhető. Ismételhető.

Hátránya: késői elvégezhetősége. Ritka eset, hogy annyi folyadék gyűljön fel, ami már a 15. héten elegendő a biztonságos mintavételhez, a magzat megsértése nélkül. Leginkább csak a 16. héten jut a terhesség abba a stádiumba, amelyben az amniocentesis valóban szóba jöhet. A „klasszikus" sejttenyésztéses módszer ebben az esetben lassú, néha csak három heti várakozás után szolgáltat elegendő sejtet a kariotipizáláshoz, amikor a terhesség már a 19., a diagnózis felállításakor esetleg már a 20. hetében jár. Ha valamely technikai hiba miatt ismételni kell, és a kariotípus vizsgálati lelete terhességmegszakítást indokolna, az tulajdonképpen koraszülés indukció lenne, nem pedig abortusz. Erre a stádiumra már teljes egészében kiépült az anyában a várandósság tudata, észleli a magzatmozgásokat, illetve általában a környezete is értesült már állapotáról. Egy esetleges súlyos kromoszóma-rendellenesség kimutatása ennyire megkésetten nem lehet kívánatos.

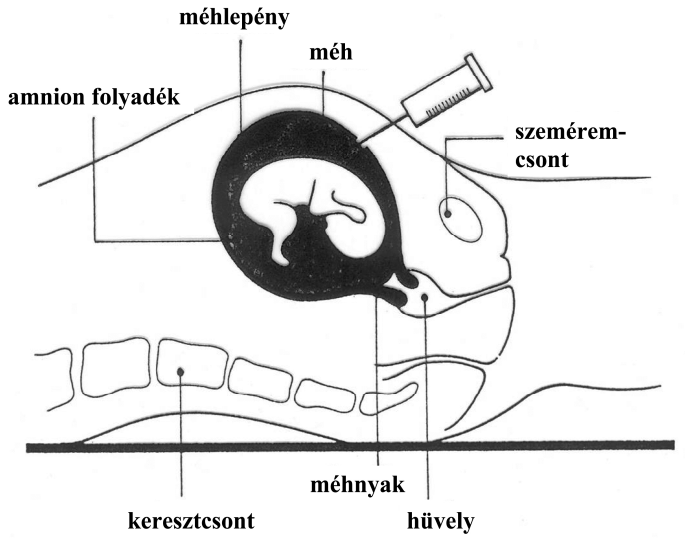
Az időfaktor tekintetében a helyzet az utóbbi években gyökeresen átalakult, egyre kevésbé van szükség hosszadalmas amnionsejt tenyésztésre. **Interfázisos citogenetikai vizsgálat**tal a mintavétel másnapján születhet diagnózis. DNS szekvencia- vagy genomikai vizsgálatok nemcsak kromoszomális, hanem mono- vagy poligénes ártalmakat is jelezhetnek. Megfelelően felvett és értékelt családi molekuláris anamnesztikus adatok mellett célzott PCR[8] végezhető.

A szekvencia-meghatározások egyik modern eljárása a **DNS-chip** technika, a legkevésbé sem a prenatális diagnosztikára korlátozódóan, hanem általános geno-

[8] ***Polymerase chain reaction***: a DNS egy adott (nem túl hosszú) szakaszának megsokszorozása, felszaporítása. L. a gyakorlatok anyagában.

mikai vizsgálatokban. Igen nagy számú, ismert bázissorrendű, különböző génekre (-szakaszokra) vagy kromoszómarészletre jellemző oligonukleotidot visznek fel egy alkalmas hordozóra (*microarray*), amelyek elhelyezkedését számítógépes program „tudja". FISH technikát, ill. annak valamely változatát használva, a vizsgálandó DNS-t hibridizálják a hordozón levő oligonukleotidokhoz. A leolvasott mintázatot a fluoreszcens mikroszkóphoz CCD kamerával illesztett számítógép értékeli. Az eljárás nem csak egy fontos DNS szakasz megléte vagy hiánya, ill. hibája kimutatására, hanem mennyiségi meghatározására is alkalmas, hasonlóan a fent említett CGH módszerhez. De alkalmas a technika mRNS-ek minőségi és mennyiségi meghatározására is, azaz a génexpresszió vizsgálatára. (L. a 11. fejezetben.)

A Humán Genom Program egyik technikai „melléktermékeként" a közvetlen DNS szekvenálás automatizált formában rendelkezésre áll.



2-10. ábra.

Amniocentesis vázlata

Magzati vérvétel a köldökzsinór vénából történhet (*chordocentesis*), ultrahangos képalkotással vezérelve, a második trimeszterben. Értelemszerűen ez is invazív, a magzatnak nagy kockázatot jelentő vizsgálat, de számos monogénes rendellenesség esetén az egyedül szóba jövő eljárás.

Preimplantációs genetikai diagnosztika (PGD)

Az ***in vitro*** **fertilizáció**val (IVF) létrehozott előembriók megteremtették annak lehetőségét, hogy ha a családi anamnézisben súlyos genetikai kockázat lehetősége tárul fel, ami a leendő utódot fenyegeti, csak az e kockázattól mentes zigótából származót ültessék be az anyaméhbe. Emlékeztetőül: ha van rá mód, az IVF révén 6-8 előembriót hoznak létre, s ezek közül választják ki a beültetendőket (kettőt

vagy hármat). A legegyszerűbb példa: egy Duchenne típusú izomdisztrófiában (DMD) szenvedő fiú esetén a szülők másodikként kislányt szeretnének, aki örökölheti (és tovább örökítheti) ugyan az anyai heterozigótaságot, de maga beteg nem lesz. A példatár egyre nagyobb körben és egyre megbízhatóbban terjeszthető ki mendeli öröklődésű és poligénes ártalmak, ill. rizikóállapotok diagnosztizálására, egy (két) sejtből PCR után végzett DNS szekvencia meghatározás segítségével.

A 8-12 sejtes embriókezdeményből egy – vagy inkább két – sejt eltávolítható úgy, hogy az a további fejlődésben, az anyaméhbe való beültetés után nem okoz zavart. A kérdés ma inkább az: milyen gyorsan sikerül elvégezni a felmerülő vizsgálato(ka)t, és milyen kiterjedésben. Egy (vagy akár két) sejt DNS-e igencsak véges mennyiség, és még végesebb az az idő, amit az előembrió a tenyésztő edényben tölthet. Az említett példát illetően ma már elmondhatjuk, hogy a DMD elkerüléséhez nem feltétlenül csak nemi szelekció útján lehet eljutni: 46,XY kariotípus mellett is megtartható az embrió, ha a dystrophin génje ép. Nagyobb gondot jelenthet, ha a tesztelendő génnek igen nagyszámú variánsa van, különböző helyeken jelentkező SNP-k vagy mutáns helyek révén. (Sajnos ilyen a DMD génje is.) Ebben az esetben a rendkívül gondos anamnézisfelvétel és felvilágosítás mellett az előzetes, igen precíz, DNS szintű anyai génmeghatározás szükséges mindkét allélre: azt és csak azt a hibát keressék, amit ha örökölt, defektes lesz a gyermek.

Terjed a **sarkitestből való géndiagnózis** módszere is. IVF esetén a vizsgáló mikroszkóppal megfigyelhetik a másodrendű polocita kialakulását és el is különíthetik azt.

Daganatok és kromoszóma-rendellenességek

Amióta ismert a sejtek malignus elfajulásának molekuláris genetikai alapja, kiderült, hogy vannak **tumorspecifikus kromoszómaeltérések**, amelyeknek oki szerepük van daganat keletkezésében, és így elsődlegesnek is nevezhetők. A **szekunder kromoszómaeltérések** a daganatsejtek szaporodása során, a daganatfejlődés egy későbbi szakaszában jelennek meg. L. bővebben a 11. fejezetben.

Ezzel kapcsolatban hangsúlyoznunk kell, hogy **bármiféle daganatban leírt kromoszóma-rendellenesség csakis az adott tumorra, alkalmasint annak sem minden sejtjére, és nem pedig a beteg kariotípusára jellemző**. A daganatosan elfajult sejtekben a már létrejött kromoszómaaberrációt gyakran követi egy második, harmadik stb., így a daganatok szövettani mintáiban azok bizarr kombinációi figyelhetők meg. Ezt a jelenséget **kromoszóma instabilitás** néven említik, mivel azonban ez általánosabban jellemző egyes gének szintjén is (akár kromoszómaelváltozás nélkül) helyesebb a **genomikus instabilitás** kifejezést használni. Az(oka)t a kromoszómá(ka)t, amely(ek) jellemző(ek) egy adott daganat sejtjeire, **marker kromoszómá**(k)nak nevezik. Marker kromoszóma lehet egy számfeletti csakúgy, mint egy strukturális aberrációt mutató; nem ritka a számfeletti és egyben szerkezeti hibát is hordozó példány. Az első olyan kromoszóma-rendellenességet amely egy daganatos megbetegedésben nagy szabályszerűséggel fordul elő, 1960-

ban írták le. Ez volt a krónikus myleoid leukémiában (CML) észlelhető Philadelphia (Ph) kromoszóma (l. 11-12. ábra). Ebben az esetben reciprok transzlokációról van szó: t(9;22)(q34;q11.2). Ennek az átrendeződésnek az eredményeként alakul ki a *bcr-abl* fúziós gén, aminek oki szerepet tulajdonítanak a daganat keletkezésében. A Ph kromoszóma általában kimutatható a CML-es betegek malignusan transzformált csontvelői sejtjeiben. Nem ritkán észlelhető a keringésbe kikerült leukémiás sejtekben is. A *bcr-abl*-hez hasonló fúziós géneket, melyek többségükben tirozin kináz[9] fehérjéket kódolnak, az utóbbi években igen nagy számban fedeztek fel. Úgy tűnik, hogy ezek nem véletlenszerű összetételben keletkeznek, hanem valamilyen rendszer szerint alakulnak ki. Sokan ezt arra vezetik vissza, hogy a kialakulásukban szereplő kromoszómáknak az interfázisban egymáshoz viszonyított térbeli helyzete, elrendeződése meghatározott. Így bizonyos szegmensek között gyakrabban játszódik le a transzlokáció. Az is ismertté vált, hogy míg pl. a kötőszöveti és limfoid szövetekben jelentkező daganatokra általában jellemző a fúziós gén, mint kóroki tényező, a hám eredetű karcinómákra nem.

Imprinting és uniparentális diszómia

Genomi imprinting. Bizonyos rendellenességek esetén a kialakuló betegség fenotípusos megjelenése attól függ, hogy a mutáns allél vagy az abnormalitást mutató kromoszóma az apától vagy az anyától származik-e. Az apától, ill. anyától örökölt allél közötti génexpresszióbeli különbség a **genomi imprinting** következménye. Ez egy meghatározott kromatin-szakaszon a génkifejeződés tartós (szomatikus sejtgenerációk hosszú során át megőrzött) represszióját jelenti. Ennek eredményeképpen tehát vannak olyan gének, amelyeknek csak az apai, vagy csak az anyai példánya fejeződik ki emberben, és ez független ezen allélek domináns vagy recesszív voltától. A géncsendesítésben fontos szerepet játszik a citozin metilálása 5-metil-citozinná, ill. egyes hiszton fehérjék N-terminális végének módosítása (lásd hiszton kód, 1. fejezet). Fontos megjegyezni, hogy **az imprinting a gén expresszióját változtatja meg és nem a DNS szekvenciáját**, tehát a génexpresszió hiánya nem mutáció, hanem ún. **epigenetikai szabályozás** következménye. Az epigenetikának mind a humán, mind pedig az orvosi genetikában egyre növekvő jelentősége van. **Az epigenetikus szabályozás a DNS szekvenciájának változtatása nélkül, különböző kovalens módosítások segítségével jelentős mértékben befolyásolja a gén expresszióját és a fenotípust**, mind egészséges, mind pedig különböző rendellenességeket (citogenetikai abnormalitás, egy gént érintő defekt, daganat) mutató személyek esetén. (Az epigenetikus szabályozásnak egyéb formái is ismertek, pl. RNS-szinten megvalósulók.)

[9] A **kinázok foszforiláló enzimek**. Tárgyunk szempontjából a fehérjék foszforilálása érdekes (általában szerin vagy tirozin oldalláncon), különböző szabályozó rendszerekben. Egyes proteinek foszforilált állapotukban aktívak, mások inaktívak, ill. fordítva. A foszforilált állapot foszfatázok által megszüntethető, azaz ez a poszttranszlációs módosítás reverzibilis.

Az imprinting a gamétaképzés idején történik, bizonyos apai vagy anyai géneket megjelölve. A megtermékenyítést követően az adott gén apai vagy anyai példánya a testi sejtekben minden egyes sejtosztódás során megőrzi az adott mintázatot, tehát csak az apai vagy csak az anyai allélről történhet átíródás. Az imprinting, mint epigenetikai szabályozás viszont megfordítható folyamat. Ez azt jelenti, hogy a gamétaképzés során a nők majdani csírasejtjeiben az apai homológ kromoszómán az érintett génekre vonatkoztatva az apai bevéződési mintázat megszűnik és a homológ kromoszómapár mindkét tagján az anyai bevéződési mintázat, ill. kovalens módosítás alakul ki, amit az utódjainak átörökít. A férfiak esetében a gametogenezis során ugyanez a folyamat játszódik le, csak ott a homológ kromoszómapár anyai tagján lévő, az érintett génekre jellemző kovalens módosítás szűnik meg és váltja fel az apai bevéződési mintázat.

Egyes becslések szerint néhány tucat, míg más tanulmányok szerint néhány száz gén expressziója szabályozódik genomi imprinting által. Bizonyos kromoszomális régiókban csak egyetlen, míg más területeken, amelyek nagysága akár több mint 1 Mbp is lehet, gén klaszterek (csoportok) regulációja történik ily módon. Ismétlésképpen: tehát vannak olyan gének, amelyeknek csak az apai, vagy csak az anyai példánya fejeződik ki az emberben, és ez független ezen allélek domináns vagy recesszív voltától, azaz az öröklésmenet eltér a mendelitől.

Az ***uniparentális diszómia*** (**UPD**) felismerését a modern molekuláris citogenetikai eljárások hozták magukkal, amelyek által lehetővé vált egy-egy homológ kromoszomapár egyik vagy másik tagja anyai vagy apai eredetének az azonosítása. Ebben a rendellenességben a kromoszóma garnitúra diploid (2n), de valamelyik pár mindkét példánya csak az egyik szülőtől származik. **Uniparentális izodiszómia** esetén elvben két azonos példányról van szó, azaz az ezt hordozó személy ezen kromoszóma minden lokuszára nézve homozigóta, eltekintve a crossing over által létrehozott rekombinációs változatosságtól. Uniparentális izodiszómia esetében a nondiszjunkció leggyakrabban az anya második meiotikus osztódásában következik be, amikor a testvérkromatidok szétválása elmarad és ugyanabba a petesejtbe kerülnek be. Uniparentális heterodiszómiában az utód szintén csak az egyik szülőtől kapja a homológ kromoszómapár mindkét tagját, de ebben az esetben a nondiszjunkció (szintén az anyában a leggyakrabban) az első meiotikus osztódásban történik. Ez azt jelenti, hogy a homológ kromoszómapár apai és anyai tagja nem válik el egymástól, így a petesejtbe kerülő kromoszóma két kópiája nem homozigóta minden lokuszára nézve.

A kialakulásáról azt tartják, hogy diszómiás (n+1) petesejt termékenyül meg, ennek megfelelően triszómiás (2n+1) zigóta keletkezik, és ebből elvész az egyik számfeletti kromoszóma. Az esetek 2/3-ban ez a diszómiás szülői kromoszómapár egyike, és ilyenkor az ivarsejtben volt rendellenességet már nem észlejük. A maradék 1/3-ban viszont a monoszómiás ivarsejtből kapott példány vész el, s kompenzációs mechanizmus eredményeként előáll az UPD esete.

Az uniparentális diszómiát legelőször egy cisztás fibrózisban (autoszómális recesszív állapot) szenvedő gyermekben ismerték fel, akinek apja nem, csak az anyja volt heterozi-

góta a betegségre nézve. A *CFTR* gén a 7-es kromoszómán lokalizálódik, ennek megfelelően ez az állapot UPD7(mat). A fent ismertetett állapot általánosságban véve uniparentális izodiszómián alapul. Írtak le viszont heterodiszómiás eseteket is, amelyekben a recesszív allél két példánya rekombináció révén került az UPD-t mutató utódba, a két anyai eredetű homológnak csak egy szakasza volt azonos egymással.

Előfordul, hogy az uniparentális diszómia csak a magzatfüggelékben jelentkezik, ami placentára korlátozott mozaikosságot jelent. Ez chorion boholy mintavétellel (CVS) végzett kromoszómavizsgálatnál jelenthet diagnosztikus nehézséget, hibalehetőséget. A trophoblaszt rendellenesség felismerését követően az esetek mintegy 1/3-ában bizonyult utóbb a magzat is UPD-snek. Különös jelentősége van az UPD-nek olyan kórformák kialakulásában, amelyekben genomi imprinting is szerepet játszik.

Prader-Willi szindróma, amelynek tünetei között jellemzően előfordul az elhízás, kis méretű kéz és láb, alacsony növés, kisméretű gonád (hypogonadizmus) és mentális retardáció. Az esetek kb. 70%-ban az apai 15-ös kromoszóma hosszú karjának egy rövid szakasza (15q11-q13) deletálódik. Az érintett személy az adott kromoszomális régióra vonatkozóan genetikai információt csak az anyai homológ kromoszómán hordoz. **Angelman szindróma** esetén viszont, aminek jellemző tünetei a szokatlan arcberendezés, alacsony növés, súlyos mentális retardáció, görcsös végtagmerevség és akaratlan rángások, a deléció a 15-ös kromoszóma ugyanazon régiójában van, de ebben az esetben a homológ kromoszómapár anyai tagján.

Prader-Willi szindrómások kb. 30%-ban nem deléció áll a rendellenesség hátterében, hanem uniparentális diszómia, amelyben a beteg mindkét 15-ös kromoszómáját az anyától kapta. Angelman szindrómásoknál ez az arány kb. 3-5%, de ebben az esetben az érintett személy a 15-ös homológ kromoszómapár mindkét példányát az apától kapja. Tovább színesíti a képet, hogy mindkét szindróma hátterében néhány esetben az imprinting centrum defektje is állhat. Az imprinting centrum azért felelős, hogy spermatogenezis, ill. oogenezis során az érintett gének esetében az adott nemre jellemző bevéződési mintázat alakuljon ki.

DUPress

DUPress

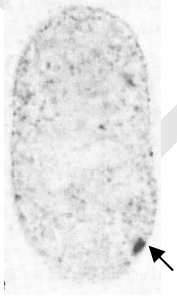
3. fejezet

A nemi kromoszómák és a nem meghatározásának genetikája

A megelőzőkben láttuk, hogy az emberi kromoszómakészlet 22 pár homológ autoszómából (1-től 22-ig számozva) és egy pár nemi kromoszómából áll. Ez utóbbiakat X-szel és Y-nal jelöljük. Szembetűnő méretbeli különbségük és a rajtuk lévő gének száma és minősége miatt nem tekintjük őket homológoknak, de szétválásuk a férfi meiózisban ugyanúgy történik, mint az autoszómáké, és a rajtuk lévő pszeudoautoszomális régiók (PSAR) között géncsere is létrejöhet.

A besorolás alapja nem csupán az, hogy ezek a kromoszómák megjelenésükben részei ivari kétalakúságunknak, hanem ez utóbbi kialakításában jelentős szerepet is játszanak. Az X kromoszómán nagyjából 1300 gén foglal helyet, míg az Y mintegy 300-at hordoz. A spermiogenezisben a magasabb fejlettségű emlős fajokban alapvetően kétféle haploid gaméta keletkezik: az autoszómák mellett vagy X-et, vagy Y-t hordozó. (A hímeket ennek alapján **heterogamétás nem**ként említik.)

A gének számában mutatkozó nagy differenciából elvileg következő különböző eltéréseket a természet úgy küszöböli ki – Mary Lyon többszörösen is igazolt hipotézise szerint –, hogy a női nemben a két X kromoszóma közül az egyik (és vele a rajta levő génkészlet, mintegy 30 gén kivételével) inaktiválódik, és heterokromatikus Barr-testként tapad az interfázisban a magboríték belső felszínéhez (3-1. ábra). Hogy az anyai és apai X kromoszómák közül melyik, az – mai ismereteink szerint – teljesen a véletlen műve, de ha az embrionális fejlődés korai szakaszában bekövetkezett esemény nyomán ez megtörténik, akkortól fogva minden utódsejtben ugyanaz az X válik Barr-testté. Kivétel: ha az egyik X rendellenes, mert akkor az inaktiválódik. (L. még a megelőzőekben [pl. i(Xq)] és az alább következőkben is.)



3-1. ábra

Barr-test emberi fibroblaszt sejtmagjában

A nem kialakításáért az Y felel, a normális nemi fejlődésben mind az X, mind az Y szerepet játszik, de feladatot kap ebben számos autoszomális gén is. Alapvetően ugyanez igaz a többi emlős fajra is, kisebb-nagyobb eltérésekkel vagy variációs lehetőségekkel. (A madarak esetén a heterogamétás nem a nőstény, nemi kromo-

szóma-képlete ZW, a hímek a homogamétások: ZZ. Egyes hüllőfajokban a tojások kikelésének idején uralkodó környezeti hőmérséklet befolyásolja a nem kialakulását.)

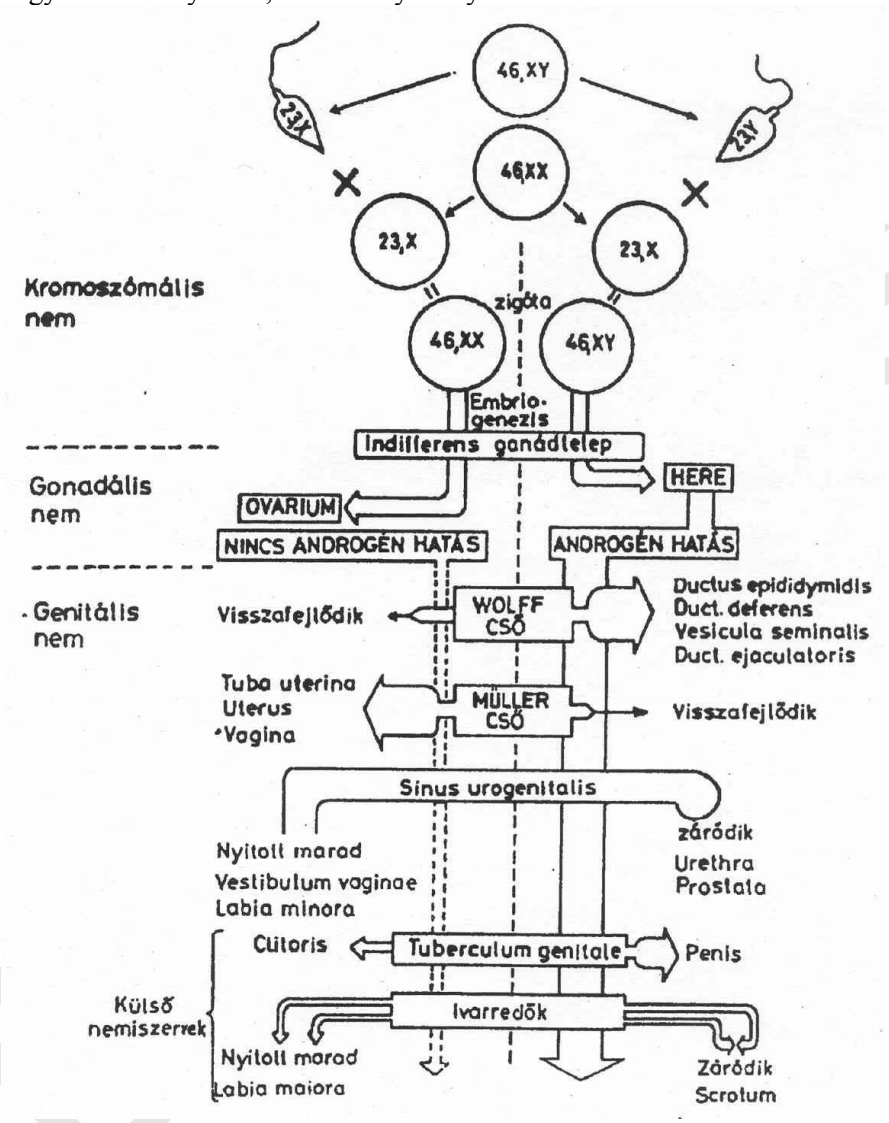
Az emberi nemi fejlődésben különböző, egymásra épülő szinteket és ezek molekuláris folyamatait tartjuk nyilván. Elsődleges a **kromoszomális nem** meghatározása. Ez a fertilizáció, a zigóta kialakulásának pillanatában dől el. Ha X-et hozó spermium termékenyíti meg a petesejtet, nőnemű utód fogan, ha Y, fiú lesz – várhatóan – az utód, a dolgok szokásos menete szerint.

Az Y-on az első számú nemi determináns az ***SRY*** (*sex-determining region Y*) gén. Ez egy transzkripciós faktort határoz meg és különlegessége az intronmentesség. A SOX géncsaládba tartozik. A ma **TDF**-ként emlegetett géntermék testis determináló faktort jelent: ez volt a gén korábbi, első megnevezése. A differenciálatlan ősgonád sejtjei az embrionális fejlődés első heteiben még nem elkötelezettek. Kb. a 7. héten az *SRY* hatására (és az általa a TDF-en keresztül befolyásolt egyéb gének működése révén) megtörténik a hím irányú váltás, azaz a herévé fejlődés. Ha az *SRY* hatása elmarad, mert nincs is ilyen gén a genotípusban (46,XX kariotípus, vagy deléció következtében), ill. mutált, az ősgonád sejtjei női irányban fejlődnek. Ez azt jelenti, hogy míg a hím irányú differenciálódáshoz aktív génikus hatás szükséges az embrionális-magzati herék kialakulásához, az ovarium determinációja spontán történik, legalábbis az itt említett rendszertől függetlenül. (A részleteket illetően a fejlődéstani tanulmányokra utalunk.)

Az *SRY* jelentőségére mutat, hogy ha ez a gén áthelyeződik az X kromoszómára, és 46,XX kariotípusú egyén alakul ki, férfias fejlődési utat fog bejárni, bár ez – a két X jelenlétében – nem lesz zavartalan (Klinefelter szindróma). Hogyan kerülhet az *SRY* a helyéről egy X-re? Mind az Y, mind az X kromoszóma rövid karja végén található egy nyolc génre kiterjedő pszeudoautoszomális (PSAR) régió. Ezen a területen a két kromoszóma homológja egymásnak, itt szinapszis képzés és átkereszteződés lehetséges. Az *SRY* közvetlenül a PSAR régió alatt helyezkedik el (ha az irányt a centromer fele haladva értjük). Hibás rekombinációs esemény áthelyezheti az *SRY*-t az X kromoszómára.

A normális fejlődés következő szintje a **gonadalis nem** kialakulása. Ebben is a hím irányú differenciálódás vezető szerepét figyelhetjük meg. A magzati here fejlődésének igen korai szakaszában már androgén hormont, dihidro-tesztoszteront termel, ami a további szervfejlődésben meghatározó jelentőségű. Ha tesztoszteron hatás nincs, elmarad a férfias fejlődés is, a szervezet automatikusan a női utat követi. De mikor marad el az androgén hatás? Említettük: alapesetben 46,XX kariotípus mellett. Aztán az *SRY* mutációja vagy delációja nyomán, 46,XY kariotípussal. Nemkülönben egyéb gének defektje esetén, amelyek szükségesek a magzati here kifejlődéséhez, ill. ennek hormontermeléséhez. Ám kiemelten vegyük figyelembe, hogy bármely hormon (és egyéb szignál molekula) hatásosságához szükséges az ahhoz tartozó receptor megléte és működése.

A **genitális nem** szerinti besorolás újszülött korban történik, a külső nemi szervek megtekintése nyomán. Ebből adják meg a csecsemő **jogi nem**ét, azaz kap leány vagy fiú személynevet, amivel anyakönyvezik.



3-2. ábra

Az emberi nemi fejlődés egyszerűsített vázlata (részletek a fejlődéstanban)

A pubertás ideje a **másodlagos nemi jellegek kifejlődésé**nek szakasza. Ez párhuzamosan zajlik a **pszihoszomatikus nem** felépülésével, ill. ez utóbbi kissé előbb is kezdődik, mert a nemi azonosság tudata – elsőbben környezeti hatásokra – tulajdonképpen már óvodás korban megjelenik. Más ruhákat kap a kislány és a kisfiú, más játékokat, más irodalmi élményeket stb. Női és férfi szerepek, magatartásmin-

ták elkülönülése/elkülönítése a társadalmi közgondolkodásban és az ezeknek való megfelelés késztetése a nevelés során.

A nemi fejlődés egyértelműen azonosítható, nem kromoszomális, hanem génikus zavarai közül csak néhány tanulságos példával illusztráljuk mondandónkat. Az alapvető megállapításunk itt is az, hogy elvileg mindkét nem fejlődési potenciálja benne van az embrionális és magzati korban. A Müller- és a Wolff cső nem vagylagosan jelentkezik, hanem párhuzamosan, majd ezt követően az egyik – gének és a bennük kódolt fehérjék által szabályozottan – elsorvad, az ebből származható szervek és szerkezetek nem jelennek meg.

Androgen insensitivity (AIS) szindróma. (Korábban **testicularis feminisatio**ként említették, ez a megjelölés máig fennmaradt.) A *TFM* gén androgén receptort határoz meg és az X kromoszómán található. Delációja vagy mutációja következtében a magzati tesztoszteron nem tudja kifejteni hatását a célsejtekre, a fejlődés nőies irányt vesz. A gonadalis nem az XY kariotípusnak megfelelő: petefészek nincs, a hasüregben helyezkednek el a herék. (Daganatos elfajulásra hajlamosak!) A külsődleges fenotípus kifejezetten nőies lehet, de a hüvely vakon végződik, nincs uterus, amihez csatlakozhatna. A pszihoszexuális fejlődés és a szexuális aktivitás a női fenotípusnak megfelelő, de – természetesen – nincs nemzőképesség. Az AIS komplett formáját Morris-, az inkomplettet Reifenstein szindrómaként említik.

Fontos lépés fiú magzatban a Müller cső, leányban a Wolff cső visszafejlődése, amint ez a 3-2. ábrából értelmezhető. Az előbbi hormonális kontrollja az Amh révén valósul meg (*Anti-mullerian hormone*, más néven MIF, *Mullerian Inhibiting Factor*). A herében a Sertoli sejtek termelik. Ugyanott a Leydig sejtek terméke a tesztoszteron, ami a Wolff cső differenciálódásához kell. Az Amh hatás érvényesüléséhez annak receptora, az Amhr szükséges. A *persistent mullerian duct syndrome* (PMDS, pl. uterus kialakulása férfiben) két formája ismert: I-es típus, az *AMH* gén defektje, II-es típus, az *AMHR* gén működésképtelensége. (Az R utal a receptorra.) Egyébként az AMH gén a pubertás után elnémul. Ezek a gének autoszómákon vannak.

A **nemi fejlődés rendellenességei**t

előidézhetik kromoszóma számbeli és strukturális anomáliák, valamint génhibák. E jegyzet igényeihez képest az utóbbiakról elegendő információ van a fent összefoglaltakban.

Ha végiggondoljuk az AIS formáit, és nem feledjük, hogy sem az Amh, sem az Amhr esetén nem csak a teljes hiány lehetséges, hanem számos, csökkent értékű/aktivitású variáns is létezhet, beláthatjuk, hogy a nemi fejlődés zavarai igen gazdag oksági háttérrel rendelkeznek, amelyek felsorolásától ezen a helyen eltekintünk. Pedig pl. a **hermafroditizmus** különböző alakjai komoly gondokat okoztak és okoznak ma is a genitális nem megállapításánál. A nemi fejlődés alapvető meghatározó génjei a nemi kromoszómákon helyezkednek el, de számukat tekintve többen vannak az autoszómákon levők, amelyek ismertetésétől – az említett *AMH* és *AMHR* kivételével – itt úgyszintén megkíméljük e jegyzet használóit.

A nemi azonosulás/önmeghatározás problémáinak génikus alapjai – ha vannak – még a legkevésbé sem tisztázottak, így ezeket meg sem próbáljuk itt érinteni.

Turner szindróma, 45,X.[10] (L. a megelőző fejezetben is.) Egyetlen, az élettel tartósan összeegyeztethető monoszómia. Barr-test nincs. A fenotípusra jellemző a szexuális infantilizmus, az alacsony növés és néhány egyéb testi tünet, amelyek közül itt a *pterygium colli*-t kell megemlítenünk, ami a tarkóról a nyakra, vállra lehúzódó bőrredő. A szexuális infantilizmus alapja a petefészek helyén megjelenő csíkgonád, ami kötőszöveti sejtekből áll, benne petesejt érés és nemi hormon termelés nincs. Sterilitás (infertilitás) jellemző. Nincs ovulációs és menstruációs ciklus, a másodlagos nemi jellegek (ide értve a testszőrzet megjelenését is) nem fejlődnek ki. Az agyalapi mirigy ovarium-stimuláló gonadotrop hormonjai (FSH, LH) túltermelődnek a negatív visszacsatolás hiányában. Mindezen tünetek következtében a Turner szindrómában szenvedők társadalmi beilleszkedése alapvetően rossz.

Mivel kromoszóma rendellenességről van szó, az állapot gyógyíthatatlan. De vajon van-e bizonyos kompenzációs kezelés? Az említett pterygium colli egy lymphoedemás köteg formájában jól észlelhető az újszülött tarkóján-nyakán. E mellett lábháti (és kisebb mértékben kézháti) *oedema* (vizenyő) veti fel a Turner szindróma gyanúját. A végső szót csakis a kromoszóma-diagnózis mondhatja ki, de a vizsgálat célszerűen elvégezhető ilyen esetben már a köldökvérből. Ha a kariotípus valóban 45,X, növekedési hormon terápia kezdhető már igen fiatal korban, s a sikeresen kezelt beteg beilleszkedése a környezetébe (család, iskola stb.) jobb lesz. Tovább javítja ezt a pubertás átlagos megjelenési idejétől alkalmazott ösztrogén–progeszteron kezelés a menstruációs ciklus utánzására, kicsit segítve a másodlagos nemi jellegek kifejeződését. Mindezek együtt gondoskodhatnak arról, hogy a Turner szindrómás „kissé jobban érezze magát a bőrében", és ha az orvosi kezeléshez sikeresen járul hozzá a család (és alkalmasint a pedagógusok) a pszichés fejlődés célirányos előmozdításában, nem a 45,X kariotípus jelenti a számbeli kromoszóma anomáliák között a legnagyobb gondot.

Bár az élettel összeegyeztethetőnek neveztük a fentiekben a Turner szindrómát, meg kell jegyezzük – amint az a megelőző fejezetben láttuk –, hogy a spontán abortumok között kiemelkedő gyakorisággal fordul elő a 45,X kariotípus. (L. 2-1. táblázat.)

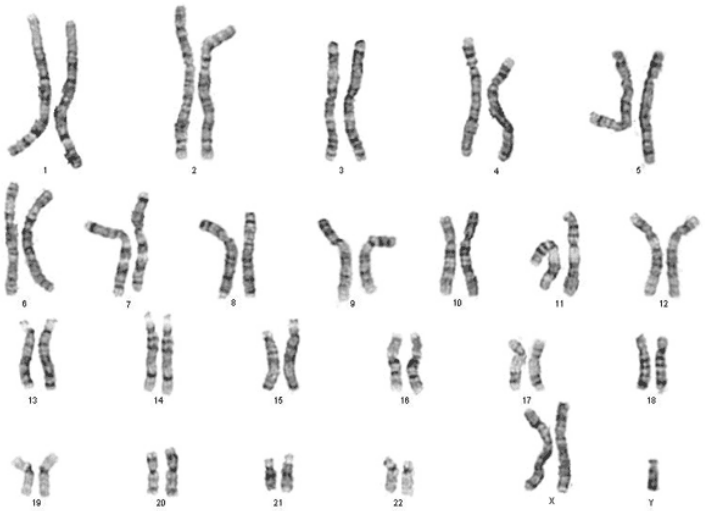
Triplo-X állapot, X kromoszóma triszómia, 47,XXX. Nem jár olyan tünetekkel, amelyeket egy szindróma név alatt foglalhatnánk össze. A sejtmagokban két Barr-test figyelhető meg. Normál női fenotípus (esetleg némi menstruációs rendellenességekkel), a triplo-X gyakorlatilag érdektelen melléktünet. Egy szempontból érdemel figyelmet: két X kromoszómás petesejteket képezhet, amelyek vagy triplo-X állapot, vagy Klinefelter szindróma (47,XXY) alapját jelenthetik gyermekeiben. Ez

[10] Szokás a kariotípus 45,X0 formában való leírása is, hangsúlyozva az X monoszómiát, de ez helytelen. Viszont ha izokromoszóma áll a rendellenesség hátterében [46,X,i(Xq)], ennek jelzése a kariotípusban kötelező. Ilyen esetben mindig a rendellenes X inaktiválódik Barr-test formájában. Ebből – is – következik, hogy a Turner szindróma diagnózisa nem alapozható Barr-test vizsgálatra, ahhoz mindig kromoszóma-diagnosztika szükséges.

utóbbi gyakorisága szerencsére lényegesen ritkább, mint azt elméletileg várnánk, de az odafigyelést megérdemli.

X kromoszóma tetraszómia (48,XXXX) és pentaszómia (49,XXXXX). Három, ill. négy Barr-test a sejtmagokban. Az X-inaktiválódás eme látható formája ellenére mindkét állapot értelmi visszamaradással jár, a pentaszómia a súlyosabb fokú.

Klinefelter szindróma, 47,XXY. Eunuchoid férfias fenotípus, *gynecomastiá*val (melltáji zsírszövet-szaporulat), nőies testszőrzettel, a szakáll-növés elmaradásával vagy igen gyenge voltával és egy Barr-testtel a sejtmagokban. Külső nemiszervek csökevényesek. A tünetekért a hereszövet működésképtelensége felelős, mind a spermiumképzés hiánya , mind az androgén hormontermelésre való képtelenség szempontjából. (Az utóbbi következménye a gonadotrop hormonszint megemelkedettsége, hasonlóan a negatív visszacsatolás elmaradásával, amint azt a Turner szindróma esetén láttuk.) A közösülés lehetősége általában megvan, de a spermiogenezis hiányában termékenyítőképesség nincs. (A főleg ebből adódó kisebbrendűségi érzések leküzdésében, a psychés támogatásban sokat segíthetnek a több országban is létrehozott Klinefelter egyesületek.)



3-3. ábra

Klinefelter szindróma kariogramja. Kariotípus: 47,XXY.

Klinefelter szindrómát hoznak létre mindazon aneuploidiák, amelyekben az Y mellett több X kromoszóma szerepel, függetlenül attól, hogy az X-inaktiváció ezekben is érvényesül. Így pl. a 48,XXYY, 48,XXXY, 49,XXXXY, 50,XXXXXY. Míg a 47,XXY kariotípusú Klinefelter szindrómások értelmi fejlődése általában a normál határok között mozog, a nagyobb számú X mellett mentális retardáció figyelhető meg.

Mint fentebb említettük, Klinefelter szindrómával jár az *SRY* gén áthelyeződése az egyik X kromoszómára, 46,XX kariotípus mellett.

A nemi kromoszómák aneuploidiái mellett egy strukturális rendellenességet is meg kell említenünk, mint ami szintén Turner szindrómához vezet, az **X hosszú kar izokromoszómá**t: 46,X,i(Xq). Fenotípusosan a fent leírt képhez hasonló, de van Barr-test, ami mindig az izokromoszómából származik. Ha valaki a Barr-test vizsgálatból akarja megállapítani az X kromoszómák számát egy páciensben, ebben az esetben tévútra juthat, ha kizárja a Turner szindróma lehetőségét. (L. a lábjegyzetet fentebb.)

Különleges helyet foglal el az X strukturális rendellenességei között a **fragilis X** szindróma. A megjelölés onnan ered, hogy – bizonyos módosított *in vitro* sejttenyésztési eljárás nyomán kapott metafázis preparátumban – fénymikroszkóppal úgy tűnik, mintha az X hosszú karok a végükhöz közel el lennének törve. A valóság viszont az, hogy a szóban forgó helyen csak jelentősen elvékonyodottak (9-9. ábra). Az elváltozás lényege azonban nem ez, hanem az FMR (familiáris mentális retardáció), mint X-hez kötött rendellenesség. Az *FMR1* gén ugyanitt található: Xq27.3. Az *FMR1* gén tipikus mutációja triplet expanzió, l. az 5. és 9. fejezetben.

DUPress

DUPress

4. fejezet

Génszerkezet és génfunkció

1/ Bakteriális genetika

Nem szükséges külön hangsúlyoznunk a baktériumok és vírusok fontosságát nem csak az emberi, hanem az állati és növényi patológiában sem. A prokariótáknak, és a baktériumok vírusainak, a bakteriofágoknak (vagy röviden fágoknak) a genetikai tanulmányozása az 1940-es években kezdődött. Ezen belül is a kutatások egyetlen mikroorganizmus, az *Escherichia coli* és fágjainak a tanulmányozására koncentrálódtak, s végül is ezek a kutatások alapozták meg a molekuláris genetikát. Az *E. coli* ugyanis a genetikai kutatások szempontjából néhány előnyös tulajdonsággal rendelkezik. Az egyik ilyen a viszonylagos egyszerűsége, hiszen mindössze kb. 4400 génnel rendelkezik, szemben például az ember mintegy 25 000 génjével. Egy másik ilyen tulajdonság, hogy teljes életciklusa során – mint minden prokarióta – haploid, azaz minden mutáció azonnal megjelenik, szemben a diploid sejtekkel, ahol a recesszív mutációk akár több generáción keresztül is rejtve maradhatnak. További rendkívüli előnye a gyors szaporodása. Ideális tenyésztési körülmények esetén 20 percenként osztódik. Ez azt jelenti, hogy egyetlen sejt egy éjszaka alatt több millió sejtet tartalmazó látható telepet hoz létre szilárd táptalaj felszínén. A genetikai kísérletek *E. coli*val így egyetlen napot igényelnek, szemben például a kukoricával, amellyel egyetlen kísérlet több hónapig tart.

A baktériumok genomja egyetlen körré zárt DNS molekula, melyet **baktérium kromoszómának** is neveznek (ami funkcionális és nem morfológiai megjelölés). Ezen kívül gyakran találhatók a baktériumokban a kromoszómánál lényegesen kisebb, önállóan replikálódó cirkuláris DNS molekulák. Ezeket **plazmid**oknak hívjuk (és nem értelmezhetők a haploid állapot tagadásaként). A baktériumokban előforduló harmadik genetikai elemként szerepelnek a **bakteriofág**ok.

A baktériumoknál hiányzik az ivaros szaporodásnak az eukariótáknál megszokott formája. Nincs meiózis és nincs az ivarsejtek teljes összeolvadásához hasonlító megtermékenyítés. Azaz hiányzik a rekombináció meiózissal együtt járó formája is, így baktériumoknál nincs meg az eukarióta szexuális folyamatokra jellemző, a kromoszómák szabad kombinálódásából és a véletlenszerű megtermékenyítésből adódó genetikai variabilitás sem.

A rekombináció eltérő, sajátos formákban megy végbe: a sejtek más egyedből származó idegen DNS-t vesznek fel (rendszerint jóval kisebb molekulát, mint a genom), s az kerül kölcsönhatásba kromoszómájuk egy homológ régiójával. Ennek során a genom kisebb-nagyobb szakasza kicserélődik.

Baktériumokban a sejtek közötti génátvitelnek és a genomok közötti génkicserélődésnek három különböző módja lehetséges. Ezek: a **transzformáció**, **konjugáció** és **transzdukció**. Mindhárom esetben igaz az, hogy a génátadás egyirányú, donor-recipiens viszony áll fenn, s a befogadó (cél-)sejtek teljes genetikai állománya és a donor sejt genomjának egy része között jön létre a rekombináció. Amennyiben a bejutott idegen DNS lineáris (transzformáció, konjugáció), a recipiens kromoszóma és a lineáris DNS között két crossing overnek kell végbemennie. Amennyiben a bejutott idegen DNS cirkuláris (transzformáció, transzdukció), egyetlen rekombinációs esemény is elég az idegen DNS-nek a baktérium cirkuláris kromoszómájába való integrálásához.

A prokarióta genom változásának legkésőbb felfedezett módja egy olyan mechanizmus, amely biztosítja, hogy bizonyos gének, szekvenciák a genom egyik részéből a másikba, vagy egy plazmidról a kromoszómába helyeződjenek át. Ez a **transzpozíció** jelensége.

A transzformáció

Ez a genetikai rekombinációnak az a formája, melynek során a sejt környezetéből idegen DNS-t vesz fel és az azon elhelyezkedő gént v. géneket beépíti saját genetikai anyagába. A sejt az így szerzett új jelleget tovább örökíti.

Tudománytörténeti mérföldkő volt, mikor a *Streptococcus pneumoniae* transzformációjáról Avery és munkatársai tisztázták, hogy az anyag, mely az öröklődő tulajdonságot átviszi, a DNS-sel azonos.

Transzformáció során a baktériumok aktív, energiaigényes mechanizmussal veszik fel környezetükből a DNS-t. A DNS felvétel molekuláris mechanizmusának részleteiben eltérések vannak az egyes baktériumfajok között. Legrészletesebben a Gram pozitív *S. pneumoniae* és *Bacillus subtilis*, valamint a Gram negatív *Haemophilus influenzae* transzformációs rendszerét tanulmányozták. (*E. coli*-ban nincs ilyen rendszer.) Kiderült, hogy nem minden sejt képes DNS-t felvenni, csak az ún. **kompetens sejt**ek. A **kompetencia-állapot** a sejtnek azt a fiziológiai állapotát jelöli, melyben képes DNS felvételére.

Ha két gén egymáshoz közel helyezkedik el a kromoszómán, előfordulhat, hogy a transzformáló DNS-ben is egy fragmentumon lesznek. Ha a DNS szakaszt felveszi a sejt és az integrálódik is, kettős transzformánsok v. **kotranszformáns**ok keletkezhetnek. Ha két gén közel helyezkedik el egymáshoz, a kotranszformánsok gyakorisága megközelítheti az egyetlen genetikai markerrel (génnel) vizsgált transzformáció gyakoriságát. Ezért két gén kotranszformációjának gyakoriságát fel lehet használni a közöttük levő távolság becslésére.

Vannak olyan prokarióták is, melyek természetes körülmények között nem transzformálhatók, mint pl. az *E. coli* és a *Streptomyces*ek. Ahhoz, hogy ezek

transzformálhatók legyenek, speciális kémiai és/vagy enzimatikus kezeléssel a sejthatárt permeábilissé kell tenni a DNS számára. Ilyenkor **mesterségesen kialakított kompetenciá**ról beszélünk.

A génsebészeti technikák kifejlesztésében nagy szerepe volt az *E. coli* transzformáció kidolgozásának (részleteit l. a gyakorlatokon). Ca^{2+} ionok és hősokk (42 °C) hatására az *E. coli* sejthatár lipopoliszaharid rétege változásokat szenved. Ezek csatornák, pórusok kialakulását eredményezik, elsősorban a külső és belső membrán találkozásának megfelelő területeken. Idegen eredetű DNS felvételével szemben a rendszer nem diszkriminál, ami a génklónozásban való felhasználhatóság szempontjából előnyt jelent.

Az ***E. coli* transzformációja** a többi bakteriális transzformációs rendszerrel összehasonlítva tulajdonképpen speciális eset, amennyiben a bevitt plazmidok önálló replikációra képesek, ez biztosítja fennmaradásukat, ill. osztódáskor az utódsejtekbe való átkerülést, és nincs szükség a kromoszómába való integrációra. Néhányszor tíz példányban vannak jelen egy sejtben, de kloramfenikollal gátolva a kromoszomális DNS replikációját[11] a plazmidok felszaporíthatók, példányszámuk elérheti az ezret sejtenként. A transzformánsok szelekciója azon alapszik, hogy a plazmid DNS-t felvett sejtek a plazmidon kódolt szelektálható markert, pl. antibiotikum-rezisztencia gént tartalmaznak, ezért képesek növekedni antibiotikum tartalmú táptalajon is, ahol a plazmidot nem tartalmazó, nem transzformált sejtek elpusztulnak.

Konjugáció: Egyirányú génátvitel a baktériumok között és a plazmidok

A konjugáció baktériumok közötti, plazmidok által mediált génátvitel. A plazmidokat méretük, funkciójuk és konjugációra való képességük alapján szokás csoportosítani, melynek tárgyalása meghaladja jelen kompendium kereteit, s itt csak a mondanivalónk megértése szempontjából leglényegesebbekre szorítkozunk.

Lederberg és Tatum 1946-ban fedezték fel, hogy *E. coli* sejtek között is van genetikai rekombináció. Két hiánymutánssal végezték a kísérleteket. Ezen **auxotróf**ok közül az egyik genotípusa $thr^- bio^+$ a másiké $thr^+ bio^-$ volt. (A thr^- nem tud treonint, a bio^- nem tud biotint szintetizálni és csak akkor nőnek, szaporodnak, ha ezeket a hiányzó anyagokat készen kapják a tápközegükben. A + jel felső indexként azt jelenti, hogy a jelzett anyagot a törzs szintetizálni tudja, azaz erre nézve vad típusú.) Ha összekeverve próbálták ezeket minimál táptalajon tenyészteni (azaz olyan médiumon, mely C-forrásként cukrot, N-forrásként szervetlen N-vegyületet és ásványi sókat tartalmazott, és sem treonin, sem biotin nem volt benne), rendszeresen olyan nagy gyakorisággal találtak $thr^+ bio^+$ genotípusú **prototróf**okat, ami lényegesen felülmúlta a mutá-

[11] Ebben a funkcióban ez az antibiotikum tulajdonképpen a DNS replikációhoz szükséges fehérjék szintézisét gátolja. Érdemben a transzláció általános gátlószere.

ciók gyakoriságát. Legegyszerűbb magyarázatként a két mutáns genetikai rekombinációját kellett feltételezni.

Elektronmikroszkóppal vizsgálva az összekevert mutánsokat az volt látható, hogy két baktérium között a baktérium flagellumaihoz („csilló"ihoz, „ostor"aihoz) hasonló, de azoknál valamivel vastagabb és hosszabb szálak mintegy hidat képeztek. Feltételezték, hogy a rekombináció ezeken a hidakon keresztül történik. Az összeköttetést biztosító speciális függelékeket **szex-pilus**nak nevezik (*pilus* = szőrszál, szálszerű nyúlvány). Kiderült, hogy ilyen szex-pilusa csak az egyik partnernek van, a másiknak nincs.

A továbbiakban igen sokféle *E. coli* törzs és változat viselkedését tanulmányozták keresztezési kísérletekben. Tisztázták, hogy az *E. coli* törzseknek két típusa van: az egyiknek van szex-pilusa és képes genetikai információt átadni. Ezt F^+-nak („fertilitás pozitív") nevezték el. A másik típusnak nincs szex-pilusa és nem képes genetikai információt konjugációban átadni. Ezt F^--nak mondják. Genetikai információt tehát mindig az F^+ baktérium ad át F^--nak. Nincs genetikai rekombináció sem $F^+ \times F^+$, sem $F^- \times F^-$ keresztezési próbálkozásokban. A partnerek szerepe ebből a szempontból nagyon emlékeztet a nemek szerepére váltivarú élőlények ivaros szaporodásában. Analógiák alapján – de érdemben és tényszerűen nem megalapozottan – az F^+ baktériumot hímnek, az F^--t nősténynek mondták. A konjugációt, melynek során a szex-piluson (más elnevezés szerint: F-piluson) keresztül a „hím" baktérium DNS-t ad át a „nő" baktériumnak, szokás szexuális folyamatnak is nevezni. *Látnunk kell azonban, hogy a hasonlóságok mellett alapvető különbségek is vannak az E. coli konjugációja és a valódi ivaros szaporodás között. A konjugáció nem szaporodás!* A rekombináció is a genomnak viszonylag kisebb részét érinti egy-egy eseményben.

Tisztázódott, hogy a F^+ jellegért egy sajátos plazmid, az ún. **F-plazmid** a felelős. Szabad állapotban ez 100 kilobázispár (kbp) hosszúságú körré zárt DNS molekula (kb. 40-szer kisebb, mint az *E. coli* kromoszómája). Önálló replikon. Replikációja szigorúan szabályozott: a baktérium kromoszómájával szinkronban indul (közös jel indítja mindkettőt) és mivel kisebb a molekula, hamarabb fejeződik be. Minden utódsejtben csak egy F-plazmid kerül egy baktériumgenom mellé.

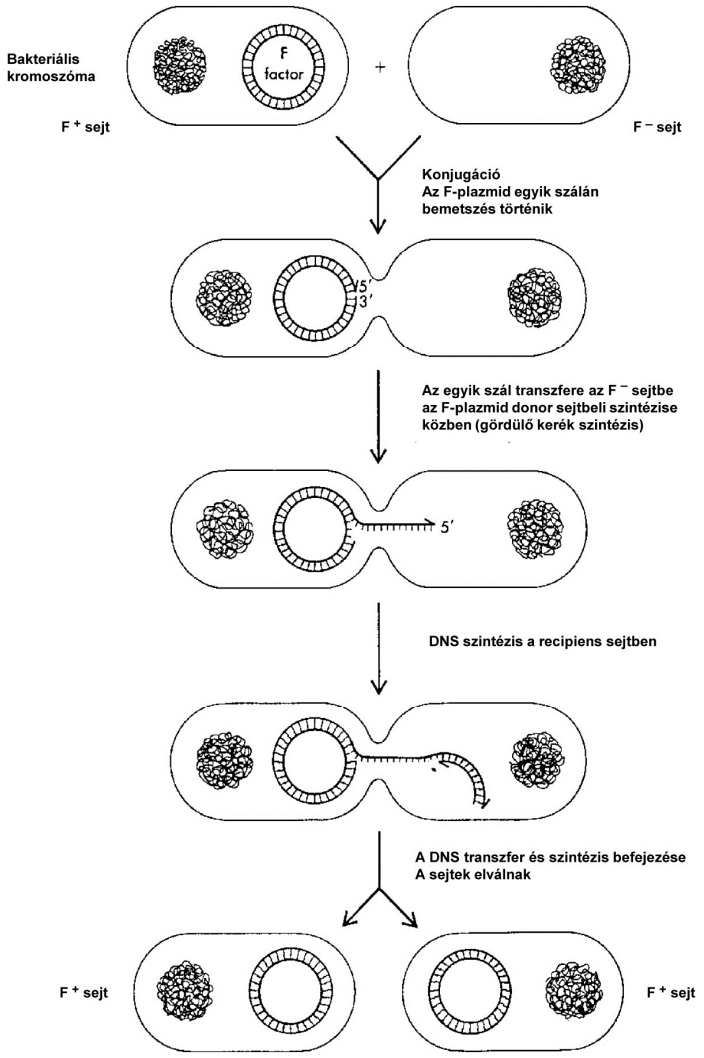
Az F-plazmid a konjugáció megvalósításához szükséges fehérjéket kódol. Egyik ezek közül az F-pilust építi fel (F-pilin), mások a membránba beépülve megakadályozzák a konjugációt két F^+ partner között. Igen fontos lépés a DNS mobilizálása. Az ehhez szükséges fehérjéket is az F-plazmid kódolja. Van a plazmidon egy kitüntetett DNS-szakasz, mellyel konjugációkor a molekula egyik szálának átvitele indul. (Ez nem azonos a szemikonzervatív replikáció origójával.) A DNS átvitele a gördülő kerék mechanizmussal történő replikációra emlékeztet (4-1. ábra). Egy specifikus enzim egy meghatározott ponton bemetszi a plazmid DNS egyik szálát. (Működéséből következtetve endonukleáz, mely egy rövid, meghatározott DNS-szakaszt ismer fel.) A bemetszett szál

5'-végével kezdődően letekeredik és egyszálas formában áthalad az F-piluson keresztül a befogadó baktériumba. (Az F-pilus fehérjéi egymáshoz kapcsolódva csőszerű képletet hoznak létre, amelybe a kettős hélix már nem fér bele.) A letekeredéssel szabaddá váló templáton DNS-szintézis folyik, így a kétszálúság megmarad a donor sejtben. A letekert szál csak átjutás után egészül ki duplaszálassá és záródik körré a befogadó sejtben. (Mivel az 5'-vég halad elől, a komplementer lánc szintézise diszkontinuusan kell történjen.) Ha a donorban szabadon, önálló replikonként van jelen az F-plazmid, a folyamat végén mindkét partnerben lesz belőle egy-egy példány. Azaz ilyenkor a konjugáció következtében a recipiens baktérium is F-pozitívvé válik (4-1. ábra).

Az eddig leírtakból nem érthető, hogy a baktérium-kromoszómán lévő gének hogyan kerülhetnek át a donorból a recipiensbe. A vizsgálatok során felfedezték, hogy az F^+ baktériumok is kétféleképpen viselkednek. Egyik típus az F^+ jelleget adja át a konjugáció során, a másik csaknem kizárólag kromoszómán lévő géneket és csak ritka kivételként az F^+ jelleget. A kromoszomális géneket átadó törzseket, mivel ezek esetében a két partner közötti rekombináció nagyságrendekkel gyakoribb, mint a másik típussal végzett keresztezésekben, **Hfr törzs**eknek (*high frequency of recombination* = nagy gyakoriságú rekombináció) nevezik. A Hfr törzsekben az F-plazmid nem önálló replikon formájában, hanem a baktérium kromoszómájába integrálva van jelen. Az integráció ún. IS-szekvenciák[12] közötti rekombinációval jön létre, mely a **RecA** protein közreműködésével történik (4-2. ábra). Az F-plazmidon több ilyen, kapcsolódásra alkalmas szakasz van, az egyik az átvitel kezdőpontja közelében helyezkedik el, s egyike a legkorábban átvitt szakaszoknak. Az F-plazmidon levő gének akkor is kifejeződnek, ha a plazmid kromoszómába integrálódik. Ennek következtében a konjugáció lezajlása hasonló az előzőekben már leírt folyamathoz. A különbséget az jelenti, hogy a letekeredő és recipiensbe átlépő szál az F-plazmidnak egy igen kis szakasza után az IS-szekvenciát, majd a szomszédos kromoszomális géneket viszi magával.

A baktérium-kromoszóma egészének átjutásához viszonylag hosszú idő (100 perc) szükséges. (Ezért jellemezhetik a gének elhelyezkedését az *E. coli* kromoszómában percadattal.) A konjugáció rendszerint előbb félbeszakad. Az átvitel kezdőpontjának sajátos elhelyezkedése miatt az F-plazmid DNS-ének átvitelére csak akkor kerülhet sor, ha a teljes kromoszóma már átjutott. Az elmondottakból érthető, hogy a Hfr törzsek nagyon-nagyon ritkán adják át az F^+ jelleget (rendszerint ki sem mutatható ennek bekövetkezése szokásos kísérleti feltételek között). A donor törzs természetesen Hfr marad, mivel az átvitellel egyidejűleg a visszamaradt lánc kiegészül a komplementerével (vagyis replikálódik).

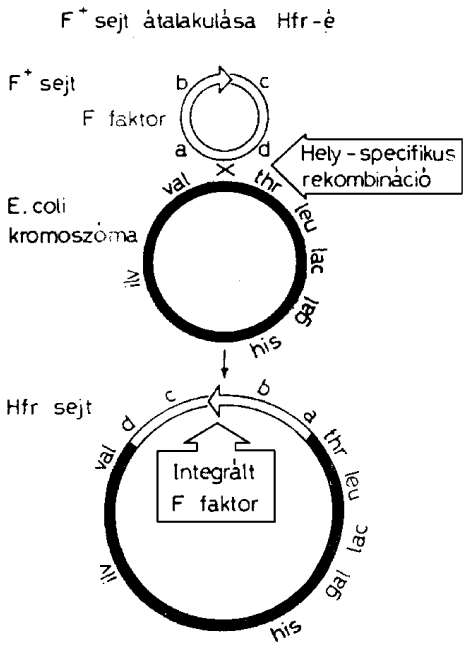
[12] Inszerciós szekvencia, áthelyeződésre, transzpozícióra képes mobilis genetikai elem.



4-1. ábra.

A DNS-transzfer mechanizmusa konjugációban

Az F-plazmid egy kitüntetett szakaszán a DNS-molekula egyik szálát egy enzim (specifikus endonukleáz) bemetszi. A gördülő kerék mechanizmussal történő replikáció során a bemetszett szál a szabad 5'-véggel indulva letekeredik a „kerék" forgása közben. A leváló szál a donorban egyszálas marad és az F-pilus csatornáján keresztül a letekeréssel párhuzamosan átmegy a recipiens (befogadó) sejtbe, ahol kétszálassá egészül ki a komplementer lánc szintézisével. A 3'-véghez a letekeredéssel párhuzamosan szintetizálódik a leválót pótló, azzal teljesen azonos szál. Ha az egész F-plazmid átjutott a befogadó sejtbe és kétszálassá egészült ki, körré záródik.



4-2. ábra

Az F-plazmid integrációja az E. coli kromoszómába

Az F-plazmid helyspecifikus rekombináció révén kovalensen beépül az *E. coli* kromoszómába. A plazmidon feltüntetett a, b, c és d jelek arra szolgálnak, hogy integráció utáni sorrendjük követhető legyen. A baktérium kromoszómán bejelölt operonok aminosavak bioszintéziséért felelősek, kivéve a *lac* és a *gal*, melyek a laktóz, ill. a galaktóz hasznosításáért. Az F-plazmid DNS-re rajzolt nyíl a DNS-átvitel kezdőpontját jelképezi, iránya az átvitel irányát jelzi. A folyamat fordított irányban való lejátszódása a Hfr állapot megszűnését, autonóm F-plazmid kihasadását okozza.

A konjugáció során átadott kromoszomális DNS-szakasz csak akkor változtatja meg a recipiens baktérium genotípusát, ha rekombinálódva annak kromoszómájával beépül az abban eredetileg jelen volt gének helyére. A crossing over az általános rekombinációs mechanizmussal történik egymással homológ szakaszok között. Az a felvett DNS, mely nem épül be a recipiens kromoszómájába (ill. nem záródik autonóm F-plazmiddá), viszonylag rövid idő alatt elvész, lebomlik. Konjugációs kísérletekkel nagyon jól lehetett tanulmányozni a gének vonalmenti elhelyezkedését az *E. coli* kromoszómáján. (Ezekből a kísérletekből nyerték a legmeggyőzőbb bizonyítékokat erre vonatkozóan.) A gének átvitelének sorrendjét különböző Hfr-törzsekkel tanulmányozva ismerték fel azt is, hogy a baktérium kromoszómája zárt körként viselkedik, illetve ezzel a módszerrel készültek az első bakteriális géntérképek is.

Előfordul, hogy az integrált F-plazmid kivágása során „törvénytelen” módon megy végbe a rekombináció. Ilyenkor vagy az történik, hogy a plazmid egyik végdarabja benne marad a kromoszómában és helyette egy kb. ugyanakkora kromoszóma-darab kerül a plazmidba és így ennek a mérete nem változik, csak az összetétele. Az is megesik, hogy a plazmid mindkét végén magával visz egy-két gént a kromoszómából. Ilyenkor mérete megnövekszik. Ezeket a képződményeket **F'-plazmid**oknak nevezzük és a névben feltüntetjük azt is, milyen kromoszomális géneket visz magával. F'-plazmidok segítségével **részleges diploid állapot hozható létre** *E. coli*ban a plazmid által hordozott génre nézve

BioPress

(= **merodiploid**ia). Ez a jelenség ad lehetőséget annak eldöntésére, hogy egy-egy mutáns baktérium-gén domináns-e vagy recesszív a vad típusú alléljével szemben.

Az E. coli ban előforduló plazmidokat annak alapján szokás két típusba sorolni, hogy hordozzák-e (és képesek-e kifejeződésre juttatni) a konjugációval történő génátadáshoz szükséges fehérjéket kódoló géneket, azaz képesek-e konjugációval történő génátadás feltételeit biztosítani, vagy nem. Ennek alapján megkülönböztetünk **konjugatív** és **nem-konjugatív plazmid**okat.

A **konjugatív plazmid**ok közül különös jelentősége van az ún. **R-plazmid**oknak vagy más néven **rezisztencia-faktor**oknak. Ezek összetett plazmidok. A konjugációért és a DNS-átvitelért felelős **RTF**-szakaszhoz IS (inszerciós) szekvenciák segítségével kapcsolódhat egy vagy több, antibiotikummal szemben ellenálló képességet kölcsönző gént hordozó ún. **R-determináns** szakasz (ennek terméke rendszerint olyan enzim, mely a kérdéses antibiotikumot kémiailag átalakítja hatástalan vegyületté). Az RTF-komponens által kódolt egyik fehérje majdnem teljesen azonos az F-pilinnel és ugyanolyan pilust is hoz létre. Más fehérjéi a DNS mobilizálását és átvitelét biztosítják. R-faktor hatására a konjugáció sokkal (legalább két nagyságrenddel) ritkábban következik be, mint F-plazmiddal. (A konjugációért felelős gének expressziója ugyanis többnyire represszálva van.) Jelentőssé az teszi az R-faktor hatását, hogy segítségével az **egyes antibiotikumokkal szembeni rezisztencia, ha egyszer mutációval létrejött, baktériumról baktériumra viszonylag gyorsan elterjedhet**. **Az átadás nem korlátozódik azonos fajú baktériumokra**: a vastagbélben élő ártalmatlan *E. coli*ból átadódhat a vele többé-kevésbé rokonságot mutató kórokozó bélbaktériumokba, így pl. a hastífusz kórokozójába, a *Salmonella typhi*-be is. Az átvett rezisztencia-gén ellenállóvá teszi a kórokozót a gyógyszerként használt antibiotikummal szemben. Igen gyakran ez az oka a gyógykezelés hatástalanságának. R-plazmid átadás nem rokon baktériumfajok között is viszonylag gyakran bekövetkezik. Pl. szennyvizekben élő szaprofita baktériumok képesek átadni rezisztenciájukat a környezetükbe kerülő kórokozóknak. Így azok antibiotikumok egész sorával szemben ellenállókká (polirezisztenssé) válnak, még mielőtt egy embert (vagy állatot) megfertőznének.

Evolúciós szempontból kiemelésre érdemes, hogy a konjugatív plazmidok géneket visznek egyik baktériumtörzsből a másikba, egyik fajból vagy nagyobb rendszertani egységből a másikba, tehát lehetőséget nyújtanak arra, hogy az egyszer már bevált mutáns gének széles körben elterjedjenek a különböző prokarióták között. Szerepük van a génállomány „elkeveredésében" (ebben hasonlíthatók az eukarióták ivaros szaporodásához).

A plazmidok között vannak viszonylag kis méretűek (rendszerint 10 millió daltonnál, vagy ami ezzel egyértelmű, 15 000 bázispárnál ill. 5 μm-nél kisebbek). Legismertebb képviselőik az ún. **colicinogén faktor**ok (*ColE1*, *ColE2* stb.), melyek egy másik, irántuk érzékeny *E. coli* sejtet elpusztító fehérjét kódolnak. Ezeknek a kis plazmidoknak szaporodásukhoz nincs szükségük arra az

iniciáló rendszerre, mely a kromoszóma és a nagy plazmidok replikációját indítja. Ha gátolt a gazdasejt szaporodása, ill. fehérjeszintézise, több ezer példányig felszaporodhat sejtenkénti mennyiségük. A génmanipulációs munkákban széles körben használják ezek módosított vagy akár teljesen mesterségesen szintetizált származékait (**vektor plazmid**ok) egy-egy beléjük épített gén elszaporítására.

Bakteriofágok életciklusa és a transzdukció

A transzdukció a génátvitelnek az a módja, amelyben az egyik baktériumsejtből a másikba bakteriofágok segítségével jut át genetikai információ. Két típusa, a **generalizált** és a **specializált transzdukció** a fágok kétféle életciklusához (litikus ciklus és lizogén ciklus) köthető és csak azok ismeretében érthető meg.

A **litikus ciklus** során a fág nukleinsava – mely egy olyan lineáris DNS molekula, melynek két végén egyszálú, egymással komplementer DNS szakaszok vannak, amit *cos* (*cohesive*) régiónak neveznek – bejutva a gazdasejtbe cirkularizálódik, s korai génjeinek kifejezésével leállítja annak nukleinsav- és fehérjeszintézisét, majd pedig a baktériumsejt a fág DNS (gördülő kerék mechanizmus szerinti) és fágfehérjék szintézisét végzi. Az így nagy mennyiségben megszintetizált fágalkotókból nagyszámú, akár több száz fertőzőképes fág szerelődik össze, melyek a baktériumsejt lízisét követően kiszabadulnak, s újabb fertőzési ciklusban vehetnek részt (4-3. ábra. 1-5 lépések).

Minden fágnak van litikus ciklusa. Azokat a fágokat, amelyeknek csak litikus életciklusa van **virulens fág**oknak nevezzük.

Egy másik lehetséges alternatív életciklus az úgynevezett **lizogén ciklus**, amikor is a baktériumsejtbe bejutott fággenom ahelyett, hogy sok száz példányban fágrészecskék szintézisét irányítaná, helyspecifikus rekombinációval integrálódik a baktérium kromoszómába, s generációkon keresztül mintegy rejtve marad. Sejtosztódás alkalmával a baktérium genommal együtt replikálódik s jut át minden egyes utódsejtbe (4-3. ábra A-B lépések). A kromoszómájában integrálódott fággenomot tartalmazó baktériumot **lizogén**nek, a baktériumot lizogenizáló fágot pedig **temperált fág**nak nevezzük. Bizonyos indukciós hatásokra a lizogén állapot megszűnik, a fággenom a kromoszómából kivágódik, s a fág életciklusa átmegy litikus ciklusba (4-3. ábra C lépés).

A **generalizált transzdukció** a fágok litikus ciklusához kötődik. A litikus ciklusban a fág-DNS-nek a már összeszerelődött fágfejbe való bepakolásával (melynek során a lineáris konkatamer[13] fág-DNS-t a *cos* régióknál a bepakolást végző enzim feldarabolja) párhuzamosan zajlik a gazdasejt genomjának fragmentálódása és lízise. Ez véletlenszerűen a genom bármely részéből produkálhat a fággenom méretével megegyező nagyságú kromoszomális DNS fragmentet, amely esetenként bepakolódhat fágfejbe. Ilyenkor olyan fág részecskét ka-

[13] *Concatamer* = egybekapcsolódott.

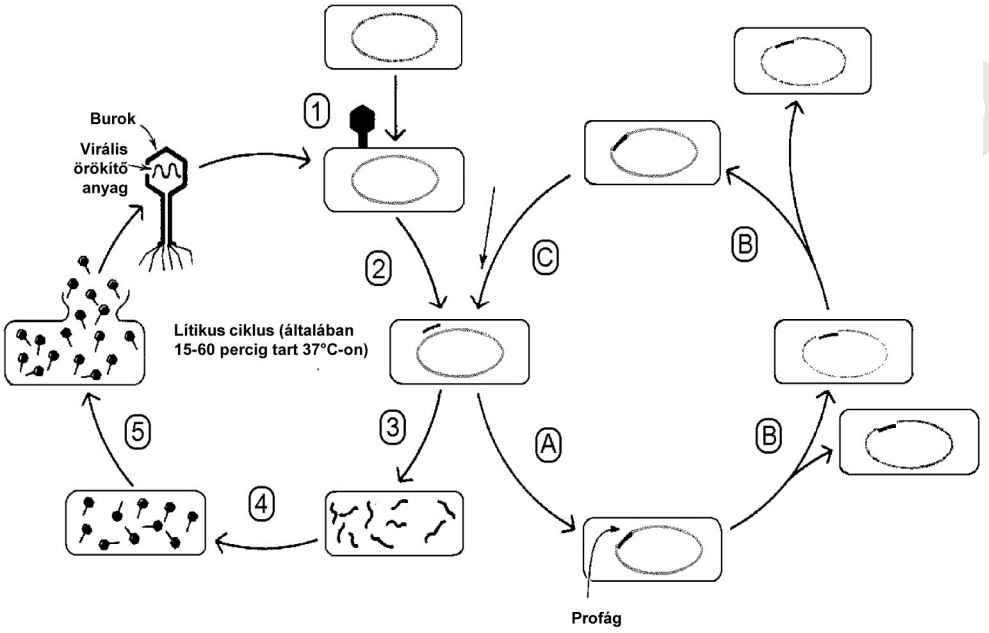
punk, mely fág DNS-t egyáltalán nem, csak a gazdasejt DNS-ének egy részét hordozza. Az ezt követő fágfertőzés alkalmával ezt a DNS-t juttatja be a recipiens sejtbe, amely rekombinációval beépülhet az új gazda kromoszómájába. (Amennyiben ez az integráció nem történik meg, a gének kifejeződhetnek, s a recipiens fenotípusát megváltoztathatják, de mivel az idegen DNS a sejtosztódások során nem replikálódik, végül is elvész. Ezt nevezzük **abortív transzdukció**nak.) Az ilyen transzdukáló fágok tehát a donor baktérium kromoszómájának egy viszonylag nagy méretű részét viszik át egyik sejtből a másikba, azaz a kromoszómán egymáshoz közeli gének gyakran együtt kerülnek át. Ezt a jelenséget hívják **kotranszdukció**nak. Az egymástól távoli (a fággenom méretét meghaladó távolságra lévő) gének kotranszdukciója viszont sohasem fordul elő. A kotranszdukció gyakoriságának mérése genetikai térképek szerkesztésére használható. Mivel a baktérium lízise során a genom bármely részéből azonos valószínűséggel keletkezhet a fággenom méretével megegyező nagyságú fragment, a generalizált transzdukció során a baktérium bármely génje azonos valószínűséggel lehet a tárgya transzdukciónak.

A **specializált transzdukció** a fágok lizogén ciklusához kapcsolódik. Ilyenkor a fág integrációja, illetve a profág kivágódása a fággenomban és a baktérium kromoszómában egyaránt megtalálható szimmetrikus kapcsolódási helyek (*att* régió) közötti helyspecifikus rekombinációval történik. Amikor egy fággal lizogenizált baktériumsejtben például a DNS sérülése miatt a profág indukálódik, a kivágódása általában precízen történik, s visszaáll az eredeti állapot. Azonban mintegy 10^{-6}-10^{-7} gyakorisággal a kivágás hibás. Ilyenkor nem az *att* régióban történik a kivágás, hanem azon kívül eső szakaszok között. Rendszerint a fág DNS egyik végéből egy darab benne marad a kromoszómában, míg a fág DNS másik végéhez a baktérium kromoszóma egy darabja kapcsolódik és azzal zárul körré. Ilyenkor a fág genomjához a baktérium kromoszómának csak az a része kapcsolódhat, amelyik az *att* régió mellett helyezkedik el, azaz ilyen módon csak bizonyos gének kerülhetnek transzdukcióra, amire a folyamat elnevezése is utal.

A transzdukáló fágok rendszerint defektesek, mivel szaporodásukhoz nélkülözhetetlen fehérjék génjei közül némelyik a törvénytelen kivágódás miatt elveszett. Szaporításuk csak úgynevezett *helper* (kisegítő) fággal keverve oldható meg. Ilyenkor a helper fág biztosítja a kiesett funkciókat.

A bakteriofágok azonban nemcsak a génátvitel eszközeiként fontosak. Jelentős szerepük volt a genetikai kutatásokban is (replikáció, rekombináció, mutáció stb.), mint igen egyszerű, könnyen és gyorsan tanulmányozható tesztobjektumoknak. A fágok ugyanis gyorsan szaporodnak és igen könnyen detektálhatók. Ha szilárd táptalaj felületére baktérium szuszpenzióval együtt olyan fág szuszpenziót is kiszélesztünk, amely a baktériumot képes megfertőzni, akkor egyetlen fágrészecske az egymást követő fertőzés-lízis-fertőzés-lízis… eredményeként a baktérium tenyészet folytonos növekedésű pázsitján ún**. tarfolt**ot (**plakk**) képez. A fágok genomja bármely más genomhoz hasonlóan megváltoz-

hat, vagy mesterségesen megváltoztatható, azaz mutánsok hozhatók létre. Ezek különbözhetnek egymástól a tarfolt morfológiájában, a szaporodáshoz szükséges optimális hőmérsékletben, a különböző baktériumtörzsekhez való adszorpciós képességben stb. Mivel egyetlen sejtet egyszerre több fág is fertőzhet, s közöttük a rekombináció mindaddig létrejöhet, amíg a replikálódó DNS szabadon a citoplazmában van, s nem pakolódik fágfejbe, ezért lehetőség van akár többszörös (3 vagy több különböző fágtörzs közötti) rekombinációra is, s a rekombinánsok könnyen detektálhatók.



4-3. ábra

Lizogén bakteriofág lehetséges életciklusai

A gazdasejtbe való bejutás után, vagy mint egy **litikus vírus**, azonnal elindítja a fágspecifikus DNS- és fehérjék szintézisét, vagy pedig integrálódik a gazdasejt genomjába, s azzal replikálódva átadódik minden egyes utódsejtbe. Ilyenkor generációkon keresztül rejtve marad. Bizonyos hatásokra, pl. a DNS sérülése, a profág indukálódik, s a genomból kivágódva litikus ciklusba megy át. **1**. A fág megtapad a gazdasejten. **2**. A fággenom bejutása a gazdasejtbe. **3**. A fág-DNS replikációja. **4**. A fággenom fágfejbe pakolódik. **5**. A gazdasejt lízisekor a fágrészecskék kiszabadulnak. **A**) **Profág** képződése. **B**) A **lizogén baktérium**ok rendszerint ugyanolyan gyorsan szaporodnak, mint a nem lizogének. **C**) A fágkromoszóma kivágódása a baktérium kromoszómából (általában ritka).

A fent leírt típusú kísérletekkel igazolták (az *E. coli* T4 fágja *rII* génjének analízisével) a genetikai kód triplet voltát, illetve bizonyította Benzer, hogy (1) génkicserélődés (rekombináció) géneken belül is, bármely szomszédos bázispár között létrejöhet, és (2) hogy a mutáció gyakorisága nem azonos minden egyes bázispárnál. Bizonyos bázisoknál nagy valószínűséggel jön létre (mutációs forró pontok), míg másoknál sokkal ritkábban.

A restrikciós-modifikációs rendszer

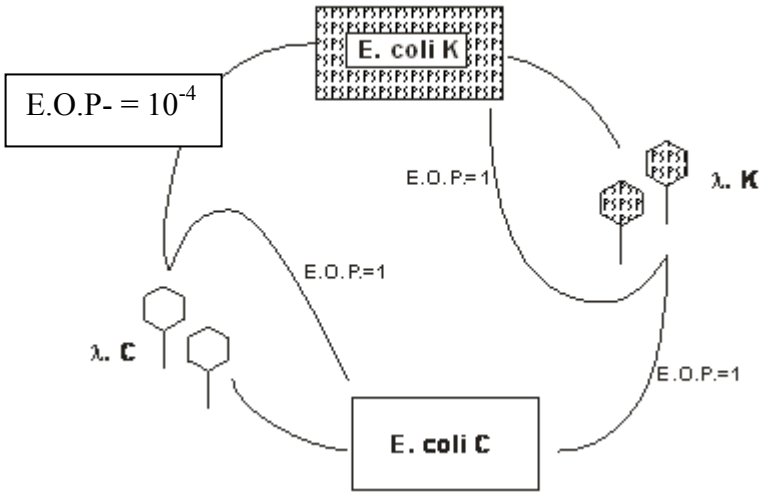
Ugyancsak a bakteriofágok tanulmányozása vezetett a restrikciós enzimek felfedezéséhez az 1970-es években, ami azután lehetővé tette a rekombináns DNS technikák kifejlesztését, s a genetika és molekuláris genetika robbanásszerű fejlődését.

Fágfertőzés során kutatók azt tapasztalták, hogy amennyiben egyik baktérium törzsből származó fággal további baktérium törzseket fertőznek, azok plakk képző képessége (E.O.P. = *efficiency of plating*) jelentősen eltérhet (4-4. ábra).

Az *E. coli* K jelű törzsén szaporított fágrészecskék mind az *E. coli* K, mind pedig az *E. coli* C jelű törzset 100%-os hatásfokkal fertőzik, azaz minden egyes fágrészecske tarfoltot (plakkot) eredményez. Ezzel szemben az *E. coli* C törzsön szaporított fágrészecskék csak az *E. coli* C jelű törzset fertőzik 100%-os hatékonysággal, az *E. coli* K jelű törzsön csak minden tízezredik részecske ad plakkot (E.O.P. 10^{-4}). Ennek oka, hogy a K jelű törzs termel egy olyan enzimet, ami a bejutó idegen DNS-t (ez esetben fág DNS-t) lebontja, azaz korlátozza annak fertőző képességét. Az enzimet ezért **restrikciós enzim**nek (restrikciós endonukleáz) nevezték el. A restrikciós enzimet termelő baktérium törzs a saját DNS-ének védelmére, azaz az „öngyilkosság" elkerülésére termel egy **DNS módosító enzim**et (pl. DNS adenin metiláz), amely módosítás után a restrikciós enzim már nem képes hasítani a DNS-t. Ezt a degradációt csak néhány fág DNS molekula „éli túl", azok, amelyek a restrikciós enzim által történő lebontás előtt szintén módosulnak. A lebontást ilyen módon túlélő fágrészecskék már ismét 100%-os hatékonysággal fertőzik a K jelű törzset is.

Többféle restrikciós enzim létezik, melyek közül a II. típusú enzimek a legfontosabbak. Ezek a DNS-t úgy hasítják, hogy egy specifikus rövid szimmetrikus szekvenciához kötődnek, s a DNS két szálának hasítását ezen a szekvencián belül végzik. Az ilyen szekvenciát – a szójáték után – **palindrom szekvenciá**nak hívják. (Olyan szó, vagy mondat, amely visszafelé olvasva is ugyanaz: pl. indul a görög aludni; erőszakos kannak sok a szőre.) A DNS két szálának hasítása vagy azonos, vagy eltérő nukleotidoknál történik, ezáltal tompa, vagy ún. ragadós véget generálva (4-5. ábra).

A restrikciós-modifikációs rendszerek prokarióta szervezetekben működnek, s nagyon sok különböző specifitású, azaz eltérő palindrom szekvenciát felismerő enzim létezik, ami egy DNS molekula tetszés szerinti, de bármikor ismételhető feldarabolását (és pl. géntechnológiailag fontos helyspecifikus illesztését) teszi lehetővé.



4-4. ábra

Restrikciós-modifikációs rendszer az *E. coli* két törzsében

(Olvasás: az óramutató járásának megfelelően. Bővebben l. a szövegben. λC és λK a két törzsből származó fágok megjelölése, λ = lambda fág.)

↓ ↓
3′-GAATTC -5′ 3′-GAATTC-5′
5′-CTTAAG-3′ 5′-CTTAAG-3′
↑ ↑

hasítás

3′-GAA TTC -5′ 3′-G AATTC-5′
5′-CTT AAG-3′ 5′-CTTAA G-3′

4-5. ábra

Egy palindrom szekvencia lehetséges hasítási módjai

A hasítási helyek a DNS két szálán nyilakkal jelölve, és a keletkező tompa (balra), ill. ragadós végek (jobbra).

A restrikciós enzimek nem csak a fágfertőzés során a sejtbe bejutott idegen DNS-t, hanem bármely módon (transzformáció, konjugáció) bejutott

DNS-t is lebontanak, azaz természetes funkciójuk a termelő baktériumok védelme.

A molekuláris genetikában egy DNS szakasz jellemzésére, analízisére az RFLP (*restriction fragment length polymorphism*) módszert széleskörűen alkalmazzák. Egy bizonyos restrikciós endonukleáz adott DNS molekulát kisebb-nagyobb darabokra hasít, melyek mintázata gélelektroforézissel megállapítható. Ezt a mintázatot egy mutáció vagy SNP megváltoztathatja (egy hasítóhely törlésével vagy új létrehozásával). Alkalmasint nem magában a vizsgált génben, hanem hozzá szorosan kapcsoltan megjelenve is informatív marker lehet egy családban valamely DNS-polimorfizmus követésére.

A gén definíciója és a génfogalom változásai

Az *rII* gén szerkezetének igen részletes analízise ugyancsak segített olyan alapvető fogalom, mint a **gén** jelentésének tisztázásában. Kezdetben (Mendel és követői) olyan közelebbről (kémiailag és fizikailag) nem definiált **öröklődési faktor**okat tételeztek fel, amelyek valamely **fenotípusos jelleg létrejöttéért felelős**ek. A mendeli genetikában ma is így említik a gént. Később, amikor a mutációkat kiterjedten kezdték vizsgálni, a gént ilyen szempontból igyekeztek definiálni. Eszerint a gén az öröklődés olyan egysége, melynek megváltozása mutáns fenotípust hoz létre (*muton*). Amikor a kapcsolódás és crossing over tanulmányozása került előtérbe, a gént mint a rekombináció egységét (*recon*) interpretálták. Beadle az 1950-es években vezette be az **egy gén egy enzim** fogalmát, s ennek finomítása a génfogalomként általánosan elfogadott ***cisztron***, mely a gént, mint egy polipeptid szintéziséért felelős DNS szakaszt definiálja. (Ennek megfelelően egyetlen, több különböző alegységből álló fehérjét több cisztron határoz meg. Ezek a cisztronok prokariotákban általában egyetlen szabályozási egységbe [operon] tartoznak.) Benzer kísérletei egyértelműen bizonyították, hogy fizikailag a muton és recon a génen belül egyetlen bázispárnak felelnek meg.

A gén fogalmának pontos definiálását e fejezet írásának idején sem tekinthetjük véglegesen lezártnak. Alighanem el kell fogadnunk, hogy a pillanatnyilag – egyéb funkcióik mellett – leginkább epigenetikus tényezőként számon tartott eukarióta mikroRNSek (l. részletesen alább az eukarióta RNS-ekről írottakat) kódját hordozó DNS szekvenciákat is géneknek tekintsük. Eszerint a gén egy sorrendspecifikus makromolekula szintéziséért felelős DNS szakasz. Nem szabad ugyanakkor elfeledkezünk arról sem, hogy vannak gének, amelyek áttételesen (pl. egy általuk kódolt enzim révén) határoznak meg valamely fenotípusos tulajdonságot. Végezetül pedig: gén-e egy makromolekulát nem kódoló, de igen fontos szabályozó DNS-szakasz? Vélhetően annak tekinthető.

EDITPress

A génexpresszió szabályozása prokariótákban

Nem minden gén fejeződik ki folyamatosan a sejt élete során, sőt van olyan, amelyik egyáltalán nem. Ennek szembetűnő megnyilvánulása magasabbrendű eukariótákban, hogy bár a sejtek genetikai állománya kevés kivételtől eltekintve (ivarsejtek, s bizonyos nagy fokban differenciálódott sejtek, mint az immunrendszer egyes képviselői) azonos, mégis az egyes szövetek, szervek sejtjei mind morfológiailag, mind funkcionálisan nagyon eltérőek lehetnek. E különbségek oka az, hogy az egyes sejttípusokban nem azonos gének kerülnek expresszióra. Bár a prokarióták életciklusában az egyes sejtek morfológiája és biokémiai működése közötti különbség nem ennyire szembetűnő, de ezekre is igaz, hogy homeosztázisuk fenntartásához, azaz az állandóan változó környezeti hatások és feltételek mellett – ezekhez folyamatosan alkalmazkodva – belső dinamikus egyensúlyuk biztosításához, rendelkezniük kell anyagcseréjük szabályozásának képességével. Ehhez bizonyos enzimek, fehérjék megjelenése, eltűnése, aktivitásának változása szükséges. A prokarióta sejtnek nem kell egy soksejtű szervezet egészéhez alkalmazkodnia (amelyben homeosztatikus környezet előnyeit élvezné), ennek megfelelően egyszerűbb szabályozási modelleket követhet. Az egyes fehérjék szintézisének aktuális szintje az őket meghatározó gének expressziójának szabályozásán keresztül valósul meg.

Mindezeknek megfelelően a **génexpresszió szabályozása** némileg különbözik a pro- és eukarióta sejtekben. A prokarióták többsége egysejtű, s mindaddig gyorsan szaporodnak, amíg a környezeti feltételek (táplálék stb.) ezt lehetővé teszik. **A környezethez való alkalmazkodás**uk elsősorban **a transzkripció szabályozásának szintjén valósul meg**, mivel az mRNS eukariótákban ismeretes posztranszkripcionális módosítása prokariótákban hiányzik. **A bakteriális mRNS élettartama általában rövid** (néhány perc), bár ma már ismeretes, hogy az egyes operonokról szintetizálódott mRNS-ek élettartamában jelentős eltérések lehetnek, s a stabilitást valamilyen módon a nukleotid szekvencia határozza meg (pl. RNS bontó enzimek szubsztrátjaként szolgáló szekvenciák megléte). Ugyancsak kisebb jelentőségű (vagy kevésbé ismerjük) a transzlációs szintű szabályozást. A transzláció szinte automatikusan követi a transzkripciót, s már a transzkripció elongációjának szakaszában kapcsolódnak a riboszómák az mRNS 5′-végéhez, s a még félig kész **policisztronális mRNS** molekulán[14] több polipeptidlánc szintézise is befejeződhet. Azaz **a transzkripció és transzláció prokariótákban kapcsolt.** (Ez azért lehetséges, mert a nukleoidot [a DNS állományt] és a citoplazmát nem választja el egymástól membrán). Ugyanakkor az is ismeretes, hogy az egyetlen policisztronális mRNS molekula által kódolt különböző fehérjék nem feltétlenül azonos mennyiségben szintetizálódnak. Erre példa az *E. coli lac* operonja. Itt az egymást követő cisztronok információja alapján szintetizált fehérjék aránya 1 : 1/2 : 1/5. Ennek oka lehet az,

[14] Egyetlen ilyen több, általában közös funkciócsoportba tartozó fehérje kódját is tartalmazza. Részletesen l. az alábbiakban.

hogy a riboszómák csak az első cisztron előtt kötődnek az mRNS-hez, s az egyes cisztronok transzlációja után, a stop kodonokat követően bizonyos gyakorisággal leválnak. Ugyancsak magyarázható ez természetesen azzal is, hogy a riboszómák az egyes cisztronok előtt lévő riboszóma-kötő helyekre kapcsolódnak, s ennek eltérő a gyakorisága. Az is ismeretes, hogy a transzláció hatásfoka úgy is szabályozható, hogy az mRNS bizonyos tripletjeinek megfelelő tRNS fajta nem, vagy csak korlátozott mértékben áll rendelkezésre.

Mindazonáltal tény, hogy a mai tudásunk szerint a legjelentősebb és legjobban ismert magának a transzkripciónak a szabályozása. A továbbiakban elsősorban ezzel kívánunk részletesen foglalkozni.

Konstitutív enzimszintézis

A prokarióta sejteknek egyedileg kell alkalmazkodniuk környezetük gyakran igen szélsőséges változásaihoz. Ugyanakkor bizonyos alapvető életfunkcióikat, anyagcserefolyamataikat állandóan fenn kell tartaniuk. Ilyenek pl. az energiahasznosítás, a DNS-, RNS- és fehérjeszintézis, valamint a sejtalkotók (pl. sejtfal) képzése. Az ezekhez a funkciókhoz szükséges enzimek folyamatosan megvannak, ezeket **konstitutív enzim**eknek nevezzük. Képzésük **konstitutív enzimszintézis**: a fehérjék elhasználódása, tönkremenetele következtében fellépő, ill. új enzimmolekulák iránt a sejtosztódás miatt jelentkező igényt folyamatos szintézissel elégíti ki a sejt. Ezeket a géneket szokták **háztartási gé**neknek (*housekeeping gene*) is nevezni. (*Mutatis mutandis* ugyanez vonatkozik természetesen a szerkezeti feladatot ellátó fehérjemolekulákra is.)

Indukálható és represszálható enzimszintézis

Más enzimekre a környezetbeli tápanyagkínálat függvényében van vagy nincs szüksége a sejtnek. Evolúciós előny, ha ezeket nem tartja mindig a lehetséges maximális igénynek megfelelő mennyiségben készenlétben, hanem szintézisük a pillanatnyi szükségletnek megfelelően folyik. Az **induktív enzim**ek képzése akkor indul meg, ha a környezetben olyan hasznosítható tápanyag jelentkezik, amire a sejt rá van utalva. Értelemszerűen számos **katabolikus** (egyes anyagok lebontásában résztvevő) **enzim** tartozik ebbe a csoportba, kivételt gyakorlatilag csak a glükóz hasznosításának enzimei képeznek, amelyek konstitutívan termelődnek.

Az **anabolikus enzim**ek, amelyek pl. a makromolekulák építőköveinek (aminosavaknak, purin- és pirimidin bázisoknak) a szintéziséért felelősek, a **represszálható enzim**ek csoportjába tartoznak. Ezek szintézisére addig van szükség, amíg a sejt külső forrásból meg nem kapja a megfelelő enzimlánc végtermékét. Ha ez kellő mennyiségben áll rendelkezésre, az előállító enzimek szintézise feleslegessé válik, represszálódik, megszűnik.

EUPRESS

Az operonális szabályozás és elemei

A két utóbbi típusú enzimcsoport szintézisének a transzkripció szintjén történő szabályozását a Jacob és Monod által 1961-ben leírt **operon modell** alapján érthetjük meg. **Operon**on értjük az egy szabályozási egységbe tartozó, a DNS-en közvetlenül egymás után elhelyezkedő struktúrgének és az ezek expresszióját befolyásoló szabályozó gének és DNS szakaszok csoportját.

A bakteriális transzkripció jellegzetessége, hogy a közvetlenül egymás után elhelyezkedő struktúrgénekről az RNS-polimeráz enzim ún. **policisztronális mRNS** molekulát másol, amely egyvégtében tartalmazza az operon fehérjekódoló információjának átiratát. Így érthető, hogy egy operon struktúrgénjei koordináltan kerülnek expresszióra, az általuk meghatározott enzimek egyszerre képződnek, ill. szintézisük egyszerre szűnik meg. A fentiekből következik, hogy **struktúrgén**nek nevezzük a DNS azon szakaszát, amely valamilyen fehérje (ill. polipeptid) aminosav sorrendjét, azaz elsődleges szerkezetét kódolja. Ezen gének kifejeződését az határozza meg, hogy a közvetlenül előttük elhelyezkedő **operátor** régión (*O*) áthaladhat-e az RNS-polimeráz enzim. Ha az operátorhoz nem kapcsolódik semmi, az RNS-polimeráz kialakíthatja az iniciációs komplexet a **promoter** szekvencián (*P*), s megkezdheti a transzkripciót az operátor szekvencia (vagy annak egy része) átírásával. Ha az operátor régióhoz egy hozzá specifikusan kapcsolódni képes fehérje, a **represszor** kötődik, ez megakadályozza, hogy az RNS-polimeráz az operont jelentő DNS-szakaszt átírja. Így az operonhoz tartozó enzimek szintézise gátolt.

A represszor fehérje aminosavsorrendjének kódját a **regulátor gén** (*I*) tartalmazza. Míg a promoternek (amelyhez az RNS-polimeráz először kapcsolódik) és az operátornak működése ellátásához közvetlenül a szabályozott struktúrgének előtt kell elhelyezkednie, azaz **cisz helyzet**ben, a regulátor gén lehet az általa szabályozott operonon kívül is, bárhol a genomban, **transz pozíció**ban, hiszen funkciója a represszor elsődleges szerkezetének meghatározása (azaz tulajdonképpen ennek a fehérjének a struktúrgénje), és ez a fehérje diffúzióval bárhova eljuthat a sejtben.

A represszor **allosztérikus fehérje**, amely specifikusan képes kötődni a saját (szabályozott) operonja operátorához. Hogy ez a kapcsolódás valóban létrejön-e, azt egy kis molekula, egy ún. **effektor** szabja meg. Az indukálható enzimeket meghatározó **katabolikus operon**ok esetén az effektort **induktor**nak nevezzük, mert ha hozzákapcsolódik a represszor-fehérjéhez, annak konformációját úgy változtatja meg, hogy az nem képes az operátorhoz kötődni; leválásával szabaddá teszi az utat az RNS-polimeráz számára, megindulhat a transzkripció. Ezt a génszintű történést **derepresszió**nak nevezzük (= a represszált állapot megszűnése), eredménye az **enzimindukció**, vagy más néven **indukált enzimszintézis**.

Az **anabolikus enzim**ek kódját tartalmazó **anabolikus operon**ok szabályozásának elve hasonló, csak az effektor szerepe más. Ezen operonok represszor fehérjéje önmagában nem képes az operátor régióhoz való kapcsolódásra, ezért

aporepresszornak nevezzük. Az operátort felismerő konformációját csak az effektor molekula, a **korepresszor** hozzákötődése nyomán veszi fel, azaz a hatásos **represszor** az apo- és korepresszor komplexe. Az ilyen operon alapállapota a derepresszált helyzet, a korepresszor kapcsolódása után következik be a represszió, a transzkripció gátlása.

Az induktor általában az a molekula, amelynek katabolikus hasznosítására az operon enzimjei szolgálnak. Egyes esetekben (l. pl. a *lac* operont) lehet az induktor a hasznosítandó molekula valamilyen közvetlen, egy lépésben kialakuló származéka, ill. kísérleti rendszerekben mesterségesen előállított struktúranalógja is. A korepresszor az általa szabályozott operonban kódolt enzimlánc végterméke (vagy ennek valamilyen közeli származéka, pl. egyes aminosavak esetén komplexük saját tRNS-ükkel).

A represszor ismertetett funkciójából következően az operátoron keresztül ható regulációt **negatív szabályozás**nak nevezzük: **a represszor kapcsolódása** – a DNS-hez – **gátló** jellegű. A katabolikus operonok esetén ismert egy **pozitív szabályozás**i mechanizmus is, ami a promoteren keresztül hat: **a CRP + cAMP komplex kötődése a promoterhez elősegíti az RNS-polimeráz kapcsolódását**, azaz ez is allosztérikus szabályozási mechanizmus. A **cAMP** (ciklikus adenozin-3′,5′-monofoszfát) fontos szabályozó molekula az élővilág legkülönbözőbb képviselőiben. A **CRP**-hez (= cAMP receptor protein) kapcsolódva alakítja ki ez utóbbi fehérje olyan konformációját, amelyben az a katabolikus operonok promotereinek a felismerésére, ill. ehhez való kötődésre, s ezáltal az RNS-polimeráz kapcsolódás frekvenciájának fokozására képes. (A CRP-t CAP-nek, *catabolite activator protein* = katabolit aktivátor fehérje is hívják, és **CAP + cAMP komplex**ről beszélnek.)

Az elmondottakat két operon példáján világítjuk meg. Az első a **katabolikus operon**ok típusa: a *lac* operon, amihez a tejcukor (laktóz = *lactose*) hasznosításának enzimjei tartoznak. Ezt a rendszert tanulmányozva ismerte fel Jacob és Monod az operonális szabályozás elvét. A második, mely az **anabolikus operon**ok példája (*trp* operon), egy aminosav, a triptofán bioszintézisében résztvevő enzimek szintézisének szabályozását mutatja be.

Az *E.coli lac* operonja

Ha *E. coli* sejteket valamilyen egyéb szénforrásról tejcukrot mint egyedüli szénforrást tartalmazó táptalajra viszünk át, akkor szaporodásuk rövid időre leáll, majd újra indul. Ha az átállási periódus eseményeit vizsgáljuk, a legszembetűnőbb változást abban láthatjuk, hogy míg korábbi tápközegükben a sejtek nem termeltek **béta-galaktozidáz enzim**et, ami a diszaharid tejcukrot glükózra és galaktózra hasítja, az új táptalajban ennek a szintézise megindul: enzimindukció történik.

A β-galaktozidázzal párhuzamosan megjelenik a **galaktozid permeáz** és a **tiogalaktozid transzacetiláz**[15] is a sejtekben, azaz a három enzimet meghatározó gének koordinált expresszióját figyelhetjük meg. Megállapították, hogy a laktóz, pontosabban: izomérje, a belőle keletkező allolaktóz szerepel induktorként a rendszerben. Ez azonban helyettesíthető olyan mesterséges galaktozid-származékokkal is, amelyek nem metabolizálódnak, nem használódnak fel, hanem a kísérleti rendszerben a vizsgáló által megszabott módon és ideig tartják fenn a derepresszált állapotot.

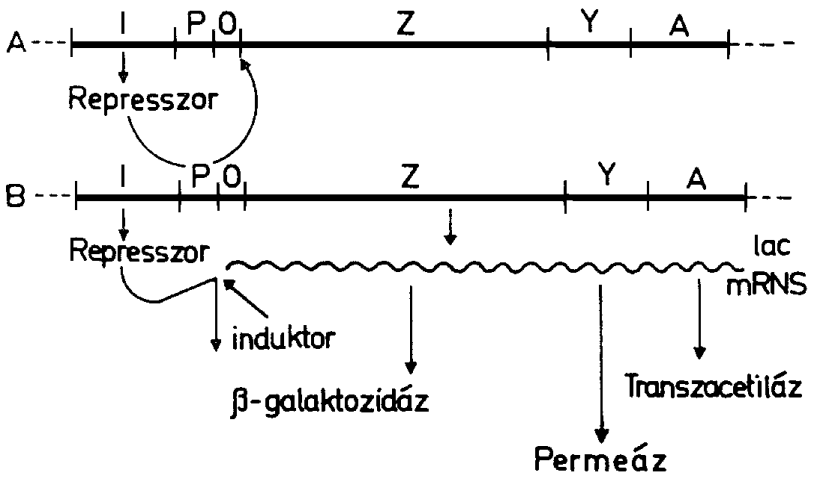
A *lac* operon elvi szerkezetét a 4-6. ábra mutatja. A három struktúrgén (*lacZ, lacY, lacA*) előtt helyezkedik el a három szabályozó elem (*lacI, lacP és lacO*).

Az *I* a regulátor gén, a *lac*-represszor fehérje struktúrgénje, saját külön promoterrel rendelkezik és folyamatos, de igen alacsony frekvenciájú a transzkripciója. Ez elegendő ahhoz, hogy a sejtben mindig kellő mennyiségű *lac*-represszor legyen. A represszor fehérje tetramer, négy identikus monomerből áll. Az aktív represszor egy olyan szimmetrikus szerkezetet vesz fel, amely a DNS szimmetrikus (ún. palindróma[16]) operátor szekvenciájához specifikusan kötődni képes.

A represszor-operátor komplex disszociációs állandója olyan, hogy a kapcsolatuk időben gyakorlatilag majdnem állandónak tekinthető, s az *E. coli* sejtben található kisszámú (kb. 10-20) aktív represszor ellenére csak véletlenszerűen fordulhat elő, hogy egy-egy RNS-polimeráz molekula átírhatja az operon struktúrgénjeit. Így a represszált állapotban csak néhány (kb. 10) β-galaktozidáz (és még ennél is kevesebb galaktozid permeáz) molekulát tartalmaz egy-egy baktériumsejt. Ha akár laktózt, akár mesterséges induktort (pl. IPTG-t = izopropil-béta-D-tiogalaktozidot, tehát egy struktúranalóg galaktozid-származékot) adunk a tenyészethez, bekövetkezik a derepresszió és az enzimindukció. Ahhoz azonban, hogy ez végbemehessen, szükség van a sejt külső membránjában meglévő galaktozid permeáz aktivitásra, ami bejuttatja a galaktozid molekulákat. Tejcukorból az aktív induktor allolaktóz kialakulása pedig a béta-galaktozidáz enzim működése révén történik. Tehát a természetes körülmények közötti indukálhatósághoz a *lac* operon időnkénti véletlenszerű transzkripciója is szükséges. Az induktor kötődése a represszorhoz olyan konformációban stabilizálja ezt a fehérjét, amelyben megváltozik a kötődési állandója és gyakorlatilag nem képes az operátor szekvenciájának felismerésére és az ehhez való kapcsolódásra. Ezáltal szabaddá válik az út az RNS-polimeráz számára: megindul a *lac* operon struktúrgénjeinek transzkripciója, s a keletkező policisztronális mRNS transzlációja.

[15] Érdekességként megemlíthetjük, hogy ennek elvesztése (pl. géndeléció révén) semmilyen hátrányt nem jelent az *E. coli* sejt számára. A két másik *lac* enzim nélkülözhetetlenségére az operonális rendszerben alább még visszatérünk.

[16] Palindróma: olyan szöveg, amely mindkét irányban olvasva azonos. Közismert példája: Géza kék az ég. DNS-re vonatkoztatva: mindkét szál 5'-3' irányban olvasva azonos.



4-6. ábra

Az *E. coli lac* operonja elvi vázlata

***A**:* represszált állapot. Az *I* regulátor gén által meghatározott *lac*-represszor fehérje az *O* operátorhoz kapcsolódva gátolja a mögöttes struktúrgének (*Z*, *Y* és *A*) transzkripcióját.
***B**:* derepresszált állapot. Induktor hatására ez a fehérje leválik az *O* régióról és a promoterhez (*P*) kapcsolodó RNS-polimeráz megkezdheti az operon transzkripcióját, aminek eredménye a policisztronális *lac* mRNS.

Ennek nyomán az operonhoz tartozó három enzim mennyisége igen rövid idő alatt akár az eredeti enzimszint 1000-szeresére is emelkedhet. (A rendszer tanulmányozásának kezdetén igen gondos kísérletekkel igazolták, hogy valóban új enzimmolekulák szintéziséről, s nem már meglévők aktiválásáról van szó. Ezt úgy fejezzük ki, hogy *de novo* mRNS- és enzimszintézis történik.) A prokarióta enzimindukció mértéke sokszorosan felülmúlja az eukariótákét, amely csak kb. 10-szeres.

Ha az indukált tenyészethez glükózt adunk, az ún. **katabolit represszió** jelenségét figyelhetjük meg: az indukált enzimszintézis majdnem teljesen megszűnik. Alapos vizsgálatokkal kiderítették, hogy szőlőcukor hatására nem történik változás az operon derepresszált állapotában, hanem az RNS-polimeráz operonhoz kapcsolódásának, következésképpen a transzkripció iniciálásának frekvenciája csökken. Ahhoz ugyanis, hogy ez az enzim a katabolikus operonok promoteréhez kapcsolódjon, a fentebb emolített pozitív szabályozó elemre, a CRP+cAMP komplexre is szükség van. Glükóz hatására az *E. coli* sejtek cAMP-szintje erősen lecsökken. A szabad CRP egymagában nem tud kötődni a promoterhez, s így nem is tudja elősegíteni az RNS-polimeráz kapcsolódását. cAMP hiányában (ill. nagyon alacsony intracelluláris koncentrációja esetén) a

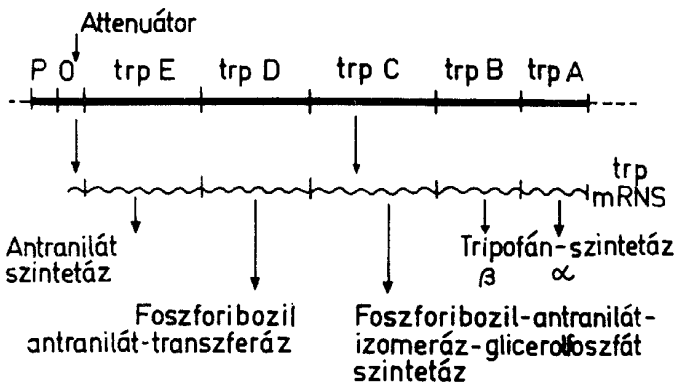
transzkripció megkezdése csak nagyon ritkán (a magas cAMP szintre jellemzőnél 50-100-szor ritkábban) következhet be, s az operon transzkripciója akkor sem folyik, ha a represszor nem zárja el az RNS-polimeráz útját, azaz kiesik a **pozitív szabályozás**.

Az *E. coli lac* operonjának tanulmányozása kiválóan alkalmasnak bizonyult számos molekuláris biológiai és genetikai probléma felvetésében és megoldásában. Pl. az mRNS létének és funkciójának felismerésében is megalapozó szerepe volt. Sokat köszönhetünk ennek a rendszernek a mutációk jellegének, hatásának megismerésében is. Konstitutívvá válhat például az operon enzimeinek szintézise egymástól igen eltérő jellegű mutációk következtében: elveszhet a represszor-fehérje szintézisének képessége a *lacI* gén teljes vagy részleges deléciója esetén, de hasonló eredményű lehet egy nonszensz mutáció is. Pontmutáció következtében létrejött aminosavsorrend-változás miatt is funkcióképtelen lehet a *lac* represszor, mert nem képes kötődni az operátorhoz, de elvesztheti az induktorkötő képességét is, aminek eredménye a mutáns sejtek indukálhatatlansága. Az ép represszor sem kötődhet a DNS-hez, ha a *lacO* nukleotid sorrendjében következett be olyan változás, ami a fehérje-DNS kölcsönhatást megzavarja (operátor-konstitutív állapot). Ha nincs funkcióképes represszor, egy ép nukleotidszekvenciájú *lacI* gén bevitele a sejtbe (pl. F′-plazmidon) korrigálni tudja a hibát, a *lac* operon működése újra szabályozottá válik, míg operátor-mutáció esetén ép *lacO* régió bevitele nem változtat a helyzeten, csak akkor, ha crossing over révén kicserélődik a sejt kromoszómájában lévő hibás szekvenciával. Azaz a regulátor gén transz helyzetben is kifejti hatását (akkor is, ha más DNS molekulán van, mint az általa szabályozott régió), **transz-domináns** hatású, míg az operátor csak ha azonos DNS-en van a szabályozott struktúrgénekkel. Ez könnyen érthető: a *lac* represszor fehérje a citoplazmában diffundálva eljuthat a kívánt helyre, bárhol termelődjön is, míg az operátor régióhoz kapcsolódva csak akkor gátolhatja a *Z*, *Y* és *A* gének transzkripcióját, ha az operátor ezeket a struktúrgéneket – **cisz helyzet**ben – közvetlenül megelőzi.

Génsebészeti kísérletekben csakúgy, mint géntechnológiai eljárásokban is szerepet kapott a *lac* operon, legalábbis egy része. Ahhoz ugyanis, hogy egy idegen fajból, ráadásul eukariótából (pl. emberből) az *E. coli*ba ültetett gén kifejeződhessen, olyan promoterre és az mRNS-en olyan vezető (Shine-Dalgarno) szekvenciára van szükség, ami lehetővé teszi a bakteriális RNS-polimeráz, ill. a 70S riboszómák kapcsolódását. Erre a célra kiválóan megfelel a *lac PO* szakasz. (A *lacZ* gént kapcsolva egy eukarióta génhez, annak minőségi és mennyiségi kifejeződése tanulmányozható eukarióta sejtekben a β-galaktozidáz kromogén [kék színű produktumot adó] mesterséges szubsztrátja segítségével.)

Az *E. coli trp* operonja

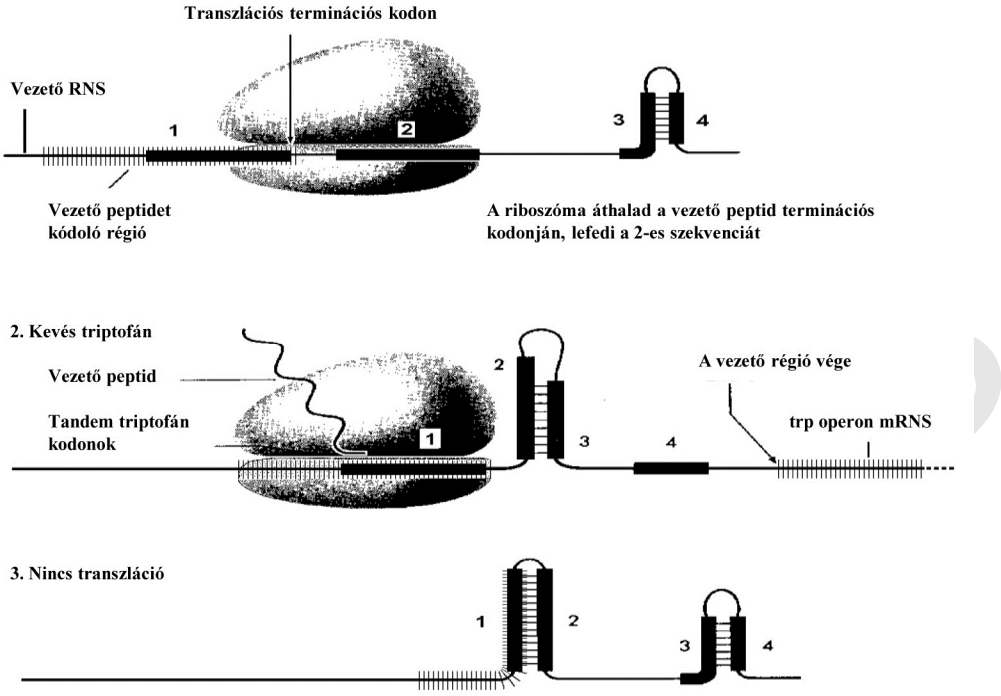
Az **anabolikus operon**ok példájaként említjük: 5 struktúrgén közös szabályozási egysége (4-7. ábra), amelyek a triptofán bioszintéziséért felelős enzimek kódját tartalmazzák. Az operon aporepresszorát kódoló regulátor gén (*trpR*) távolabb helyezkedik el az általa szabályozott struktúrgénektől. Ez a fehérje önmagában nem képes az operátorhoz (*trpO*) kapcsolódni, csak triptofánnal együtt. Ennek következtében a triptofán szintéziséért felelős enzimek folyamatosan szintetizálódnak mindaddig, amíg az intracelluláris triptofán koncentráció egy bizonyos szintet meg nem halad. Ha ez megtörténik, létrejöhet az aktív *trp* represszor, s ez a struktúrgének transzkripcióját gátolja. (Az aktív represszor koncentrációja az aporepresszor molekulák számától és a triptofán koncentrációjától függ, az előbbi azonban meglehetősen állandó.) A *trp*-represszor is **negatív szabályozó elem**. Az anabolikus operonoknak a *lac* operonnál leírt, vagy ahhoz hasonló pozitív szabályozásáról (CRP-cAMP) nem tudunk. Ha az intracelluláris triptofánszint csökken, az aporepresszor és korepresszor komplex disszociál, a *trp* operon derepressziója következik be. Feltétlenül látnunk kell, hogy ez a szabályozás (a *lac* operonéhoz hasonlóan) nem „minden vagy semmi" típusú: az aktív represszor-komplex életideje változik a triptofán koncentráció függvényében.



4-7. ábra

Az *E. coli* triptofán (*trp*) operonjának elvi vázlata

Triptofán hiányában az operon derepreszszált állapotban van, folyhat a *trp* policisztronális mRNS szintézise. A promoterhez kapcsolódó, az átírást az operátor területén kezdő RNS-polimeráz az attenuátor régióról még leválhat (l. a szövegben és a 4-8. ábrán). Az operonhoz 5 struktúrgén tartozik, ezek 5 polipeptidet határoznak meg, melyek közül kettő egyetlen alegységes enzimhez tartozik.



4-8. ábra

A *trp* operon transzkripció terminációjának szabályozása az attenuátor régiónál

A szabályozás végső soron a triptofán koncentráció függvénye.

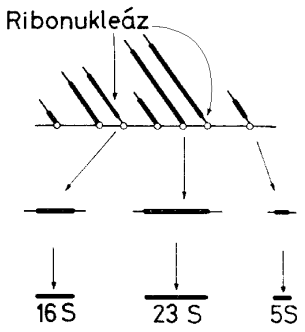
1. Elégséges triptofán koncentráció esetén a 3. és 4. szakaszok létrehozzák a transzkripciós terminátort.
2. A szükségesnél alacsonyabb triptofán koncentráció esetén a riboszóma a triptofán tripleteknél (1. szakasz) várakozik, s a 2. és 3. szakaszok képeznek hajtűt. Ilyenkor nem jöhet létre a transzkripciós terminátor. A struktúrgének átíródnak.
3. Ha a riboszóma nem kezdi el a vezető peptid transzlációját, akkor az 1.-2. és következésképpen a 3.-4. RNS szakaszok hoznak létre hajtűket, a transzkripció befejeződik, s a struktúrgének nem kerülnek transzkripcióra.

Igen meglepő volt az a felismerés, hogy a derepresszált *trp* operonon az mRNS szintézisének iniciálását követően nem feltétlenül szintetizálódik a struktúrgénekről mRNS. Mielőtt ugyanis a struktúrgének transzkripciója elkezdődne, az mRNS szintézisbe egy újabb szabályozási elem van beépítve. Ez ismét a triptofán koncentráció függvényében teszi lehetővé, vagy akadályozza meg a struktúrgének átírását. Átírás csak akkor van, ha ismételten megerősítést nyer, hogy a triptofán koncentráció alacsony. Ellenkező esetben az RNS polimeráz az mRNS szintézisét még a struktúrgének előtt befejezi, s leválik a DNS-ről. A jelenség magyarázatát a *trp* operon 5′ végének szekvencia-analízise adta

meg. Az első struktúrgén, a *trpE* előtt egy 161 bázispárnyi szakasz van, melyben egy AUG triplettel kezdődő, 14 aminosavat kódoló, ún. vezető peptidet meghatározó szakasz van (melyet stop kodon követ), s ez után egy tipikus transzkripciós terminátor szekvencia található (4-8. ábra).

A terminációt és az RNS polimeráz leválását elősegítő hajtű szerkezet a 3. és 4. szekvencia-szakaszok között jöhet létre, s ezt követi a poli-U régió. Ennél az ún. **attenuátor** régiónál az mRNS szintézis befejeződhet, s egy 139 nukleotid hosszúságú RNS keletkezik. Ha azonban a triptofán intracelluláris koncentrációja valóban alacsony, a vezető szekvencia néhány sajátsága lehetővé teszi az mRNS szintézis folytatását, és a struktúrgének átírását. A terminátor hajtűszerkezet kialakulásán kívül ugyanis lehetőség van további hajtű-szerkezetek kialakulására. Az 1. és 2. RNS szakaszok ugyanis szintén komplementerek, s hajtűt hozhatnak létre, sőt a 2. és 3. RNS szakaszok is hozhatnak létre ilyen struktúrát, ezzel megakadályozva a 3. és 4. RNS szakaszok közötti hurok kialakulását és a transzkripciós terminátor létrejöttét. Ezeken túl, a vezető szekvencia egy olyan 14 aminosavból álló rövid polipeptidet határoz meg, amely előtt egy erős riboszóma-kötőhely van, s a 14 aminosavból két egymást követő aminosav is triptofán. Más aminosav bioszintetikus operonok vezető régióiban is, ugyancsak egymást követően, annak az aminosavnak a tripletjei találhatók, amelynek bioszintéziséért végső soron az operon felelős. Így pl. a hisztidin operon vezető régiójában kódolt 16 aminosav közül 7 a hisztidin. Ezeknél a tripleteknél a szintetizálódó mRNS transzlációját végző, az RNS polimerázt közvetlenül követő riboszóma várakozni kényszerül, ha nincs a sejtben elegendő aminosavval feltöltött tRNS. Amennyiben a riboszóma ennél a szekvenciánál megáll, hosszú időre lefoglalja az 1. RNS szakaszt, a hajtű-szerkezet a 2. és 3. szakaszok között jön létre (4-8. ábra). Ennek következtében nem alakulhat ki a transzkripciós terminátor a 3. és 4. szakaszok között, és az RNS polimeráz tovább haladhat az attenuátor régión, elkezdheti a struktúrgének átírását. Ellenkező esetben, amikor a sejtben elegendő töltött *trp*-tRNS van, a riboszóma a triptofán kodonoknál tovább halad, lefedi a 2. DNS szakaszt, miáltal a 3. és 4. szakaszok közötti hajtű, azaz a transzkripciós terminátor létrejöhet, és az RNS polimeráz leválik. További lehetőség még, hogy a riboszóma már a triptofán tripletek elérése előtt várakozni kényszerül, pl. valamely más aminosav hiánya miatt. Ekkor az 1. és 2. szekvenciák, továbbá a 3. és 4. szekvenciák között is létrejön a hajtű-struktúra, s az operon nem íródik át. Az így szintetizálódó vezető peptidnek a sejtben más szerepe nincs, a celluláris proteázok igen gyorsan lebontják.

Elképzelhető, hogy a *trp* operonnál megismert két szabályozási elem az operon finomabb szabályozási lehetőségét teremti meg azáltal például, hogy a triptofán koncentráció csökkenése először csak a represszor leválását okozza, majd pedig az aminosav további hiánya az attenuáció alól is felszabadítja az operont. Egyes aminosavak bioszintéziséért felelős operonok (*his, leu*) esetében represszor egyáltalán nincs, a szabályozást egyedül az attenuátor végzi.



4-9. ábra

A háromféle rRNS szintézisének és módosításának vázlata *E. coli*ban

Az egy transzkripciós egységen szintetizálódó RNS feldarabolása még a szintézis folyamata során megtörténik, a vékony vonallal jelzett részek levágódnak, így alakul ki a három „érett" rRNS.

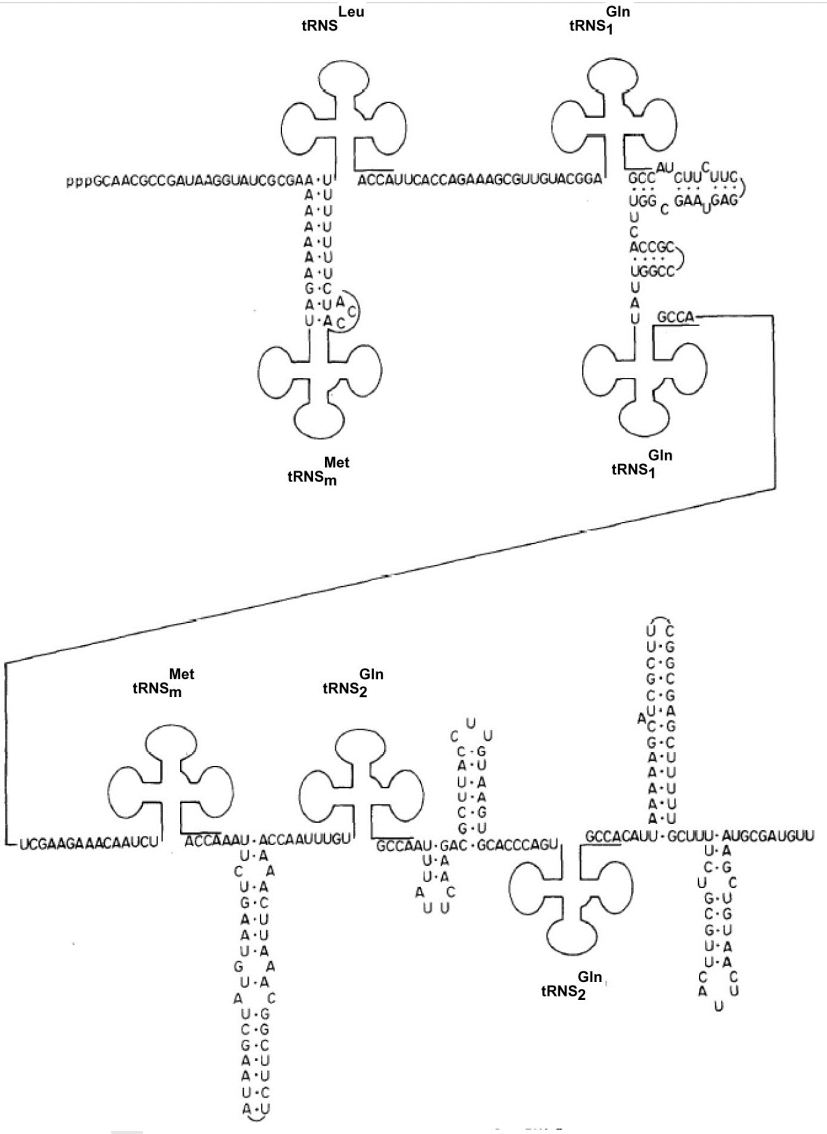
Az operonális szabályozás módosulásai

A fentiekben csak az operonális szabályozás legáltalánosabb elveit foglaltuk össze. Hangsúlyoznunk kell, hogy még az *E. coli*ban is többféle megvalósulását írták már le a génszintű (transzkripcionális) regulációnak. Ezekre itt nem térhetünk ki, de feltétlenül meg kell említenünk a **regulon** fogalmát. Ez olyan struktúrgének csoportját jelenti, amelyek nem egymás után, hanem különböző helyeken vannak a baktérium kromoszómán, de mindenütt azonos operátorral együtt, következésképpen egy regulátor gén hatásának alávetve, tehát egy szabályozási egységet alkotva.

Bár nem tartozik a szorosan vett operonális szabályozás körébe, néhány szóval meg kell emlékezzünk az rRNS és tRNS szintéziséről és szabályozásáról is. Szemben a bakteriális mRNS-sel, az rRNS és a tRNS molekulák hosszabb prekurzor molekulák részeként szintetizálódnak, s ezekből ribonukleázok hasítják ki az érett rRNS ill. tRNS molekulákat, azaz ezek bizonyos érési folyamaton mennek keresztül a prokariótákban is (4-9. és 4-10. ábra). *E. coli*ban 7 rRNS-kódoló DNS szakasz van, mindegyik előtt több promoterrel. Így biztosítható, hogy a sejtben állandóan elegendő mennyiségű riboszóma álljon a fehérjeszintézis rendelkezésére. Az a tény pedig, hogy mindhárom rRNS génje egyetlen transzkripciós egységben van, biztosítja az egyes rRNS molekulák ekvimoláris mennyiségben való szintézisét.

A tRNS molekulák génjei sejtenként több példányban fordulnak elő. Néha egyetlen transzkripciós egységben ugyanaz a tRNS gén ismétlődik, néha pedig több különböző tRNS molekula génje alkot egyetlen operont (4-10. ábra). Érdekesség, hogy a prekurzorból az érett tRNS kihasítását végző enzimek közül az egyik, az RNáz P, mely egy fehérje-RNS komplex, egy olyan endonukleáz, mely a tRNS 5′ végénél hasítja a prekurzort, s az enzimaktivitás nem a fehérje, hanem az RNS molekulához rendelhető (ribozim). A 3′-vég kialakítását egy másik nukleáz az RNáz D végzi, mely *E. coli*ban a minden tRNS-ben azonos 3′-végi CCA szekvenciánál fejezi be működését. Más baktériumfajokban és eukariótákban a CCA szekvencia gyakran poszttranszkripcionálisan, utólag kerül a molekula végére.

DUPRESS



4-10. ábra

Az *E. coli supB-E* operonjáról átírt RNS szekvenciája és szerkezete
Az operon 7 tRNS molekulát kódol. A köztes (*spacer*) régiók különböző hosszúságúak, és ezeket az RNáz D bontja le.

Aminosav-éhezésben az ún. stabil RNS-ek (rRNS és tRNS) szintézise leáll. Ezt a jelenséget **stringens kontroll**nak nevezzük. Mediátora, a ppGpp (guanozin-3′-difoszfát-5′-difoszfát = guanozin tetrafoszfát) és ppGppp (guanozin pentafoszfát), az aminosav éhezés hatására szaporodik fel a sejtekben. Ez a szabályozás biztosítja az rRNS és tRNS túltermelésének megakadályozását, ha a fe-

hérjeszintézis az alapanyagok (vagy csak egy esszenciális aminosav) hiányában nem mehet végbe.

A géntechnológia néhány alapfogalmáról

A bakteriális rendszerek fentebb leírt tanulmányozása vezetett a biológiai tudomány robbanásszerű fejlődését elindító géntechnológiai eljárások kidolgozásához is. **Géntechnológián az élőlények sejtjeinek molekuláris genetikai módszerekkel történő mesterséges megváltoztatását értjük**, amelynek eredményeként azok genetikai információtartalma és/vagy genetikai programjai megváltoznak. Hívják ezt **rekombináns DNS technikának** is, mivel az így létrejött sejtekben a genetikai információ olyan új kombinációit hozzák létre, amelyek egyébként természetes módon nem is jöhetnek létre, mivel a sejtekbe bejuttatott DNS akár más fajokból is származhat. Az így létrehozott élőlényeket pedig genetikailag módosított élőlényeknek (**GMO**, *Genetically Modified Organism*) nevezzük.

Viszonylagos egyszerűségük miatt a technológia alapjainak kidolgozása baktériumokban történt. A **restrikciós enzimek** felfedezése után az első génklónozások *E. coli*ban a múlt század hetvenes éveiben megtörténtek.. (Ugyanazzal a restrikciós endonukleázzal hasítva a hordozó és az abba beültetendő DNS-t, azonos [„ragadós"] végeket generálva hozható létre a beillesztés, azaz a rekombináns molekula, l. még 4-5. ábra.) Az idegen DNS-t kezdetben plazmiddal, majd más klónozó vektorok segítségével juttatták be a gazdasejtbe. Az első, gazdasági/gyógyászati szempontból egyaránt jelentős áttörés az emberi inzulin génjének klónozása és emberi inzulin termeltetése volt *E. coli* sejtekben.

Eukarióta gének prokariótában való kifejeztetésekor az eukarióta gént intronmentes formában kell bejuttatni a bakteriális gazdasejtbe. Ennek általános módja, hogy **a génről átíródott mRNS-ről reverz transzkiptáz** (RNS templátról DNS-t szintetizáló enzim) **segítségével cDNS**-t (*complementary DNA*, azaz komplementer DNS) szintetizálnak, s ezt ültetik be a klónozó vektorba. A génkifejeződés biztosításához szükséges továbbá az eukarióta gént prokarióta regulációs szignálok, az RNS polimeráz kötődésére szolgáló promoter, a transzláció iniciálására szolgáló Shine-Dalgarno szekvencia (riboszóma kötőhely) és iniciációs triplet (ATG) mögé illeszteni.

Ma már a magasabbrendű élőlények mesterséges genetikai megváltoztatása is mindennapos. Ilyen módon kártevőkkel és/vagy gyomirtó szerrel szemben rezisztens, ill. szárazságtűrő növények, vagy humán terápiás célra alkalmazott fehérjét termelő **transzgénikus** (idegen eredetű gént tartalmazó) élesztők, növények, állatok létrehozása is ismert. (Ez utóbbi eukarióták alkalmazása esetén általában nem szükséges a beültetett gén nagyobb fokú átalakítása, mert az eukarióta rendszerek egymással olyan evolúciós távolságban is kompatibilisek, mint a *Homo sapiens* és a *Saccharomyces cerevisiae* [élesztő]. A kifejeződést fokozó módosítások viszont kívánatosak lehetnek.) A **rekombináns technológiával előállított humán fehérjék gyógyászati felhasználására** a 10. fejezetben láthatunk példákat. Meg kell

még jegyeznünk ezzel kapcsolatban, hogy a bevitt gén célszerűen módosítható is, pl. a fehérje aktivitásának vagy élettartamának növelése érdekében.

A géntechnológiai eljárások fenti rövid megemlítése természetesen sem a módszerek részleteire, sem pedig a GMO körül kialakult társadalmi vitára nem térhet ki.

DUPress

2/ Az eukarióta genom

Az elmúlt két évtizedben az élőlények genomjának (a sejtek teljes genetikai információ-tartalma) szerveződéséről, a gének és kromoszómák szerkezetéről, funkciójáról szóló ismereteink elmélyültek. Ma már mintegy 8500 prokarióta, s 1500 eukarióta genom, köztük az emberi genom teljes nukleotid szekvenciája is ismert. Ezen ismeretek birtokában az orvostudományban is új megközelítési lehetőségek, eljárások alkalmazhatók. Ez a fejezet a gének szerkezetének és funkciójának ismertetése mellett a molekuláris genetika azon aspektusait tárgyalja, amelyek az orvostudományban mindinkább előtérbe kerülő, genetikai megközelítésen alapuló, diagnosztika és személyre szabott gyógyítás szempontjából fontosak.

A molekuláris genetikai és genomikai módszerek tekintetében a Molekuláris Biológia és az Orvosi Genombiológia kurzusok ismeretanyagára hagyatkozunk.

A molekuláris genetikának az orvostudományra kifejtett jövőbeni hatását Paul Berg Nobel díjas tudós a Nobel díj átvételekor, 1980-ban, bölcs jövőbelátással a következőképpen fogalmazta meg:

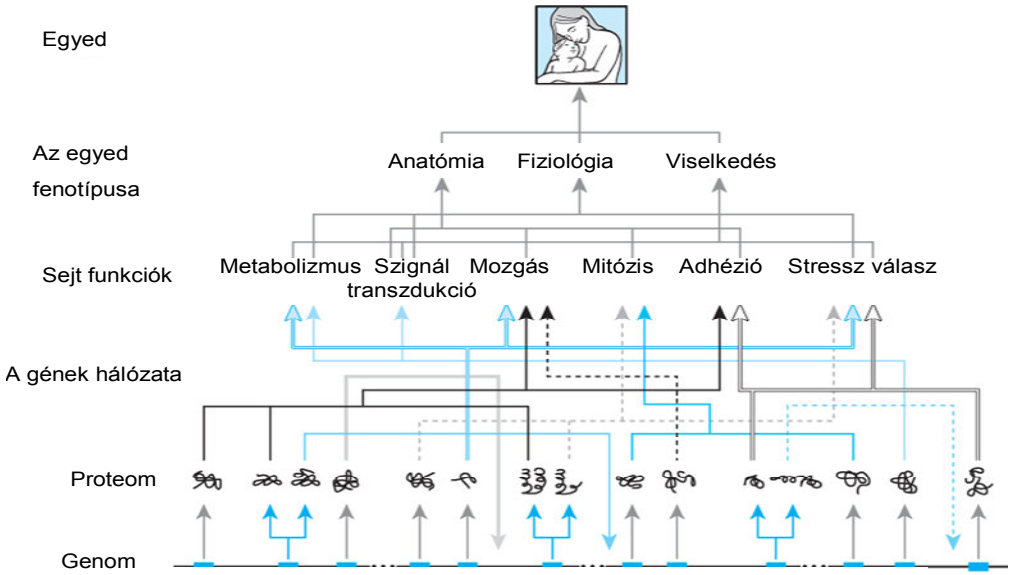
„Ahhoz hasonlóan, ahogy jelen tudásunk és az orvosi gyakorlat az emberi test anatómiájának, élettanának és biokémiájának részletes és pontos ismeretén alapszik, a jövőben a betegségek gyógyításához a humán genom molekuláris anatómiájának, élettanának és biokémiájának az alapos ismerete lesz szükséges. ... Olyan orvosokra lesz szükség, akik ugyanolyan jól ismerik a gének és kromoszómák molekuláris anatómiáját, ahogy a szívsebész a szív és keringési rendszer szerkezetét és működését."

A humán genom információ-tartalma

A haploid humán genom mintegy 3,3 milliárd bázispárból áll, s meglepően kevés, 22 000 - 25 000 közötti gént kódol. (Ne feledjük: itt csak a fehérjéket meghatározó DNS-szakaszokra gondolunk.) Hogyan határozza meg ez a kis számú gén az ember rendkívül komplex anatómiai felépítését[17], valamint fiziológiai és biokémiai folyamatait? Egy ilyen komplex rendszer kialakításához és működtetéséhez a mintegy 25 000 gén nyilvánvalóan kevés lenne. A kérdésre a választ a genetikai információtartalom expanziója adja, amely akkor jön létre, amikor a génekről fehérjék szintetizálódnak, azaz a ***genom* létrehozza** a ***proteom***ot (az egyes sejtekben található fehérjék összességét), **mely a sejtek, szövetek, szervek, s az egész élőlény felépítéséért, és működéséért felelős**. Ennek megértéséhez a génműködés két sajátságának ismerete szükséges. Az egyik, hogy az egyes génekben tárolt információ alapján több, egymástól – részben – különböző fehérje szintetizálódhat. Ezek egyrészt az alternatív kódoló szakaszok révén, alternatív promoterek, alterna-

[17] Súlyos hiba lenne tagadni, hogy e téren (és pl. a viselkedés stb. génikus meghatározásában) ismereteink még nagyon is hiányosak.

tív RNS átszabás, alternatív terminátorok használatával, másrészt pedig a fehérjék posztszintetikus kémiai módosításával jönnek létre. Ez a genetikai információ nagyfokú expanzióját jelenti, melynek révén a kb. 25 000 génről mintegy 1 millió különböző fehérje keletkezhet. Ehhez járul hozzá továbbá az, hogy az egyes fehérjék nem egyedül, hanem több más fehérjével együtt, koordináltan vesznek részt az egyes folyamatok létrehozásában, genetikai, fejlődési, és környezeti szignálokra adott válaszok kialakításában. A génhálózatok ilyen módon történő kombinatórikus együttműködése tovább fokozza az egyedfejlődés és válaszadás lehetséges eltérő módjait (4-11. ábra).



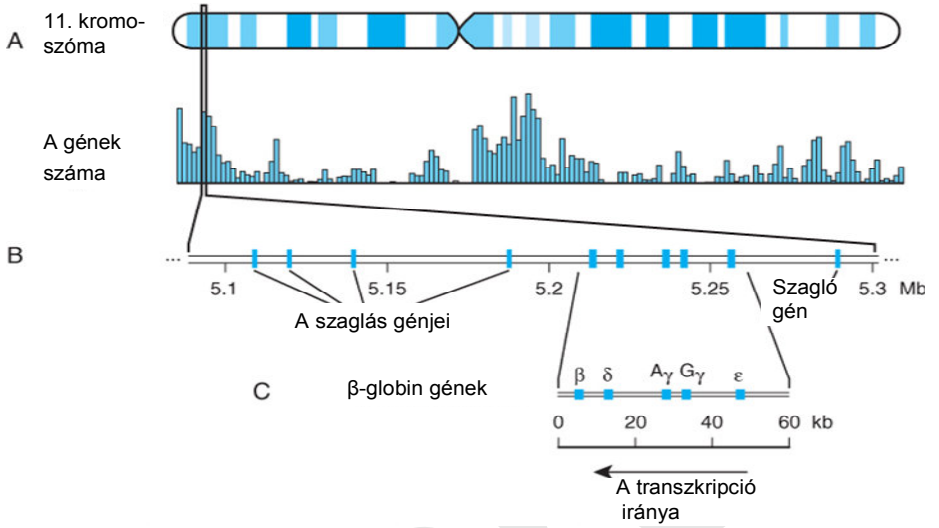
4-11. ábra

A genetikai információ expanziója a génektől a proteomon, s a gének hálózatán keresztül a különböző sejtfunkciókig és az így létrehozott fenotípusig

A legtöbb gén alternatív kódoló szekvenciák használatával eltérő fehérjéket hoz létre. A legtöbb fehérje sok más fehérjével együttműködve olyan hálózatokat alkot, amelyek koordinált és kombinatórikus módon reagálnak a különböző szignálokra, ezáltal kiterjesztve a végső fenotípust létrehozó sejtfunkciókat. Ide tartozik a gének pleiotrópiája is.

A gének a teljes genomban elszórtan találhatók, de bizonyos kromoszómákon, s azok bizonyos részein gyakoribbak, más kromoszómákon vagy azok bizonyos régióiban pedig ritkábbak. Példaként a géneknek az emberi 11. kromoszómán való eloszlását mutatjuk be (4-12. ábra), amely génekben viszonylag gazdag kromoszóma. Ennek bizonyos régióiban a génsűrűség igen nagy (1 gén/10 kbp). Más

régiók génben szegények, sőt ún. „gén-sivatagok” is találhatók, ahol 1 millió bázispárnyi, vagy még hosszabb szakaszokon egyáltalán nem találhatók gének. Ezen **génmentes szakasz**ok jelentőségének és fontosságának felismerése még várat magára. A kromoszómákon egyes rokon gének együtt, **géncsalád**okat alkotva helyezkednek el.



4-12. ábra

A gének eloszlása a 13 445 Mbp méretű 11-es kromoszómán

A. A gének sűrűsége két régióban magas, másutt alacsony. **B.** A gének eloszlása az 5,1-5,3 Mbp régióban. Ebben a területben 10 gén található, melyek közül öt a szagló receptorok, öt pedig a globin gének családjába tartozik. **C.** A β-globin géncsalád részletes térképe. (L. még a 9-2. ábrát is!) Tekintettel arra, hogy DNS-ről van szó, a Mb, ill. kb. Mbp-nek, ill. kbp-nek olvasandó.

Az autoszomális kromoszómákon elhelyezkedő génekből egy ember két példánnyal (alléllel) rendelkezik, melyek közül egyet az anyjától, egyet az apjától örököl. A legtöbb autoszomális génből mindkét példány ki is fejeződik. Néhány génből azonban csak egy, melynek az alábbiakban tárgyalandó **genomi bevéső dés** (*genomic imprinting*), vagy az ún. **allélkizárás** lehet az oka.

Az ivari kromoszómákon (X és Y) elhelyezkedő gének alléljeinek száma a két nemben eltérő, az egyik X kromoszóma véletlenszerű inaktiválása miatt az X-hez kötötten öröklődő gének közül nőkben csak egy allél fejeződik ki.

A centrális dogma: DNS→RNS→fehérje

A genetikai információt eukarióta sejtekben a kromoszómákba szerveződött DNS molekulák hordozzák, melyek a sejtmagban, a citoplazmától a nukleáris membránnal elválasztott térben találhatók. A fenotípust kialakító fehérjék szintézise viszont a citoplazmában történik. (Ilyen kompartmentalizáció a prokarióta sej-

tekben nincs. A genetikai információt hordozó DNS nincs membránnal elhatárolva, s minden folyamat egyetlen térben, a citoplazmában játszódik le.) Ezért a génműködés megértéséhez elengedhetetlen a sejtmagból a citoplazmába történő információ áramlás komplex folyamatának ismerete is. A fehérjék specifikus aminosav sorrendjét meghatározó utasítást a fehérjeszintézis helyére, a citoplazmába, szimpla szálú mRNS molekulák szállítják, melyek a dupla szálú DNS molekula egyik szálának komplementereként szintetizálódnak. Tehát a genetikai információ áramlásának iránya DNS → RNS → fehérje. Az információ áramlásának ezt a módját hívjuk a **molekuláris biológia centrális dogmájá**nak.

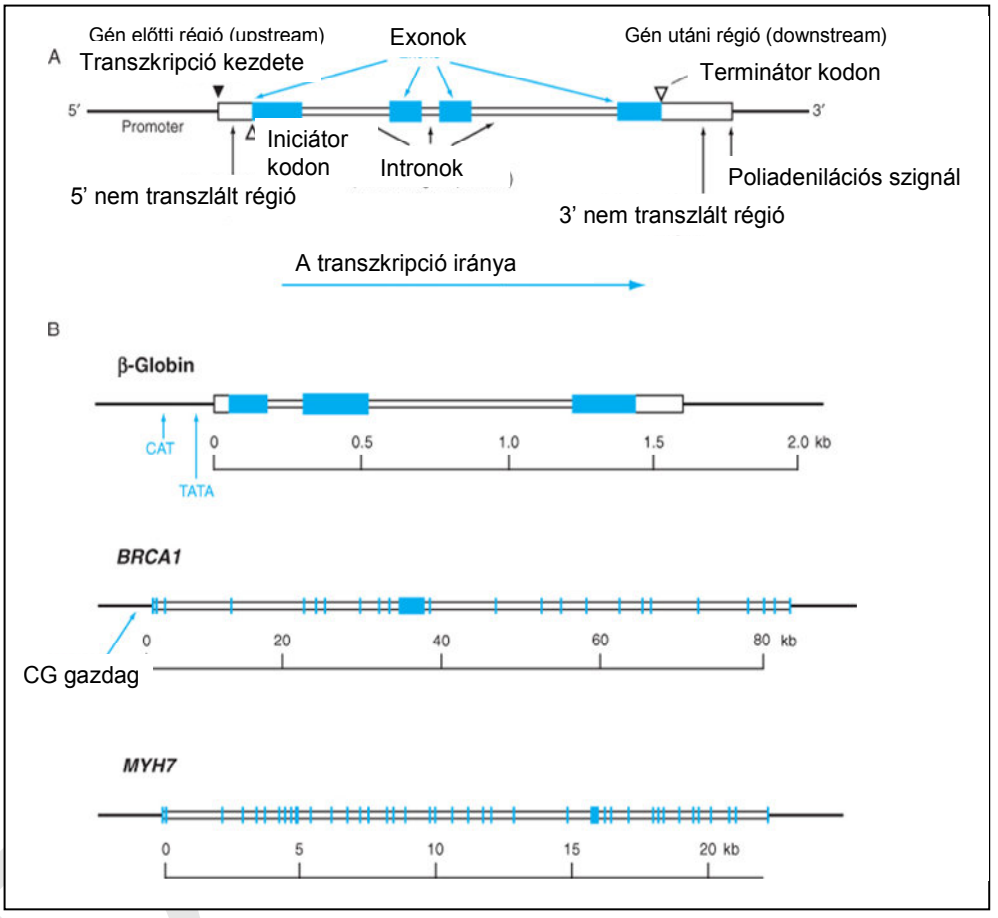
A fehérjék genetikai információja a DNS specifikus bázissorrendjében van kódolva, **triplet**ek formájában, azaz minden egyes aminosavat három bázispár határoz meg. Az információt a citoplazmába szállító RNS-féleség a **hírvivő RNS** (*messenger RNA*, **mRNS**), mely a DNS egy szakaszának átírásával (transzkripció) keletkezik. A **transzkripció** során a DNS specifikus bázissorrendje RNS molekulák specifikus nukleotid-sorrendjébe íródik át. Az mRNS által szállított információ dekódolása („lefordítása", transzlációja) a citoplazmában található riboszómák felületén történik meg. **Transzláció** során az mRNS specifikus bázissorrendje a fehérjék meghatározott aminosav sorrendjét diktálja. Ebben a folyamatban további két, ugyancsak transzkripcióval keletkező RNS-féleség, a riboszómák felépítésében szerepet játszó **riboszomális RNS** (rRNS) és a fehérje szintézishez az aminosavakat szállító **transzfer RNS** (tRNS) vesznek részt (hasonlóan mint a prokariótákban). Az utóbbi molekula egyfajta „adapter", amely megteremti a kapcsolatot az mRNS által szállított genetikai információ és a fehérjék aminosav sorrendje között.

A gének szerveződése és szerkezete

A géneket (amennyiben a gén fogalmát leszűkítjük a fehérjék szintézisét meghatározó egységekre) a legegyszerűbben úgy képzelhetjük el, mint a DNS molekula egy szegmentjét, amely egy fehérje vagy polipeptid aminosavsorrendjét meghatározó genetikai információt (kódot), és a kifejeződését (expresszióját) szabályozó regulációs DNS szakaszokat tartalmazza. Ez az elképzelés igaz a legtöbb prokarióta gén szerveződésére (kivételt képeznek a prokarióta rRNS és tRNS gének, l. e fejezet első felében), de nem igaz a legtöbb eukarióta génre. Az eukarióta gén ugyanis nem egy folytonos DNS szakasz, hanem abban a kódolókat nem kódoló szekvenciák szakítják meg. **A kódoló szakaszt exon**nak, a **nem kódolót** pedig **intron**nak nevezzük. Transzkripció során mind az exonok, mind az intronok átíródnak, s a gén előtti 5′ és a gént követő 3′, transzlációra nem kerülő szakaszokkal együtt részei az elsődleges mRNS-nek (*pre-mRNA*). Nem részei azonban az intronok a fehérje aminosavsorrendjét meghatározó végső, a citoplazmába kijutó, érett mRNS-nek (4-13. ábra).

Néhány eukarióta gén (pl. hiszton gének) nem, a többség azonban rendkívül változatos számú és méretű intront tartalmaz. Jellemzően, az eukarióta gének méretének nagyobb részét az intronok teszik ki. A gének nagysága is rendkívül változa-

tos. Egyesek mindössze pár ezer bázispárból állnak, míg az egyik legnagyobb génünk, az X kromoszómán elhelyezkedő disztrofin gén, melynek mutációi a Duchenne-féle izomdisztrófiát okozzák, több mint kétmillió bázispárt tartalmaz. Ennek az óriási génnek a transzkripciója mintegy 16 óráig tart, s a pre-mRNS-nek kevesebb mint 1%-a fehérjét kódoló exon. (Ennek – is – megfelelően nem a disztrofin a legnagyobb fehérjénk.)



4-13. ábra

A. Tipikus humán (eukarióta) gén szerkezete.
B. Ugyanez három, orvosi szempontból fontos humán génre.

A 3 exont tartalmazó β-globin gén mutációi hemoglobinopátiákat okoznak. A 24 exont tartalmazó *BRCA1* gén mutációi különböző emlő- és petefészek daganatokért felelősek. A 40 exont tartalmazó β-miozin nehéz láncának génjében (*MYH7*) keletkező mutációk pedig örökletes hipertrófiás kardiomiopátiát (a szívizom megvastagodása) okoznak.

A humán gének szerkezete

A gének a DNS molekula egy olyan szakaszát jelentik, amely egy funkcióképes makromolekula (polipeptid vagy RNS) szintéziséhez szükséges információt hordozzák. Ebbe beleértjük nemcsak a funkcióképes molekulát meghatározó kódoló szakaszt, hanem azokat a regulációs szereppel rendelkező régiókat is, amelyek a génterméknek a megfelelő mennyiségben, a megfelelő helyen és időben történő szintéziséért felelősek a sejtciklus, vagy egyedfejlődés során.

A kódoló szekvenciák környezetében lévő DNS szakaszok vesznek részt a transzkripció kezdetének és befejezésének kijelölésében (4-13A. ábra). A gének 5′-végénél található a **promoter** régió, amely **a transzkripció iniciációjáért felelős**. Ugyancsak itt találhatók bizonyos DNS szakaszok, amelyek sok különböző génben konzerváltak. Ez a konzerváltság, egyéb génexpressziós vizsgálatokkal összhangban, a génregulációban betöltött fontosságukra utal.

A különböző szövetekben génjeinknek csak egy, az arra a szövetre jellemző kis része fejeződik ki. Ezt a szövetspecifikus kifejeződési mintázatot a humán genomban található eltérő specifitású promoterek biztosítják. A promoterek, s a gének 5′ és 3′ határoló régióiban, sőt az intronokban található regulációs szekvenciák mutációi megváltoztathatják a gén kifejeződését, és különböző betegségeket (hemofília A, PKU, β-talasszémia stb.) okozhatnak. További szabályozó elemek az alább tárgyalandó **serkentő** (*enhancer*), **csendesítő** (*silencer*) és **lokusz kontroll régiók** (LCR, *locus control region*), amelyek gyakran a kódoló szekvenciától nagy távolságra helyezkednek el. Ez megerősíti azt a feltételezést, hogy a genomi környezet is fontos a gének expressziójában, megváltoztathatja azok kifejeződését, és normális funkcióját. A humán genom komparatív genomikai analízisével egyre több ilyen regulációs szekvenciát, s emberi betegségek kialakulásában játszott szerepét ismerjük meg. (Alkalmasint ezeket úgyszintén génként említjük, jóllehet nem kódolnak fehérjét.)

A gének 3′-végén transzlációra nem kerülő régióban található egy szignál szekvencia, mely a transzkripció terminációjáért és az mRNS 3′-vége poliadenilációjáért felelős. (Bővebben l. az alábbiakban.)

A gének kiterjedéséről alkotott véleményünk a közeljövőben még változhat, különösen a távolabbi régiók szerepének felderítése eredményeként.

Géncsaládok

Sok gén ún. géncsaládokba tartozik. Ezen gének DNS szekvenciája, és következésképpen az általuk determinált fehérjék aminosavsorrendje nagy fokban hasonló. A 11-es kromoszómát ábrázoló 4-12. ábrán két ilyen géncsaládot, és a géncsaládok jellemzőit mutatjuk be.

Az egyik a **β-globin géncsalád**, amely a 16-os kromoszómán található α-globin géncsaláddal együtt, mintegy 500 millió évvel ezelőtt, egy közös primitív prekurzor gén duplikációjából jött létre. E géncsaládok tagjai a hemoglobinban található globin fehérjéket kódolnak, melyek az egyedfejlődés különböző stádiumaiban fejeződnek ki. Mindkét géncsalád tagjai sorozatos duplikációval, és mutá-

ciókkal jöttek létre, s ezek a gének a kromoszómán egy csoportban (klaszter) találhatók. Az exon-intron szerkezet, s azok határai az evolúcióban konzerválódtak, minden funkcióképes globin gén két, nagyjából azonos helyen elhelyezkedő intront tartalmaz. Az intron szekvenciák sokkal több mutációt halmoztak fel az evolúció során, mint az exonok.

A 11-es kromoszómán bemutatott másik géncsalád a **szagló receptorok**é. A humán genomban összesen mintegy 350 gén tartozik ebbe a családba. Ezek megfelelő működése eredményeként vagyunk képesek több ezer szag megkülönböztetésére. Ezek a gének, szemben a globin géncsalád tagjaival, a genomban elszórtan helyezkednek el, szinte minden kromoszómán találunk belőlük, bár a család tagjainak több mint fele a 11-es kromoszómán öröklődik.

A **szagló gének családja** része egy nagyobb, ún. szupercsaládnak, a **G-proteinnel kapcsolt receptorok szupercsaládjá**nak. Ezekre a különböző szignáltranszdukcióban résztvevő, s ennek megfelelően eltérő funkciójú receptorokra a membránt többszörösen átérő fehérje szekvencia motívumok jellemzők. Mutációik többféle örökletes betegséget (cukorbaj, vakság, depresszió) okoznak.

Pszeudogének

Mind a β-globin, mind a szagló gének családjában vannak olyan szekvenciák, amelyek hasonlók a funkcióképes globin vagy szagló génekhez, de róluk RNS, vagy fehérje sohasem szintetizálódik. Az ilyen, más génekhez nagyfokban hasonló, de nem funkcionáló géneket **pszeudogén**eknek nevezzük. A humán genomban *több ezer ilyen pszeudogén van*, melyek két csoportba, a processzált és a nem processzált pszeudogének csoportjába oszthatók.

A **processzált pszeudogének retrotranszpozícióval keletkeztek**. Ebben a folyamatban az eredeti gén transzkripcióját követően az mRNS-ről egy komplementer egyszálú, majd kétszálú DNS molekula keletkezik (reverz transzkripció), s ez integrálódik valahová a genomba. Ennek megfelelően a processzált pszeudogének intront nem tartalmaznak, s a genomban bárhová integrálódhattak, a kifejeződésükhöz szükséges szekvenciákkal nem rendelkeznek.

A **nem processzált pszeudogének** az evolúció olyan melléktermékei, melyek funkcióképes génekből keletkeztek génduplikációval, majd mutációk felhalmozásával a kódoló, vagy regulációs régiókban. Bizonyos géncsaládokban legalább annyi pszeudogén van, mint funkcióképes gén. A szagló gének családjában pl. mintegy 600 pszeudogén található szétszórtan a genomban.

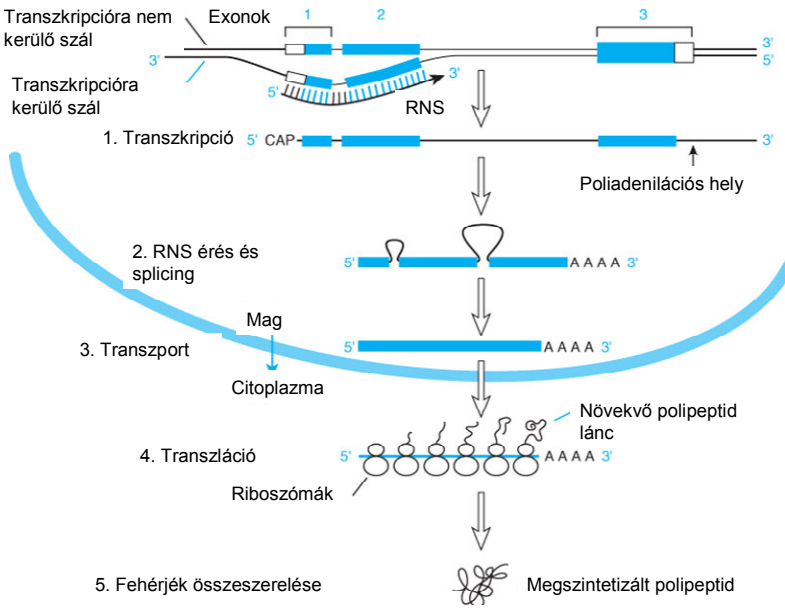
Fehérjét nem, csak RNS-t kódoló gének

Nem minden eukarióta gén kódol fehérjét. A már korábban is említett rRNS és tRNS gének mellett vannak a genomban olyan gének, amelyek végső terméke ugyancsak RNS. Ezeknek a géneknek a funkciója csak részben ismert. Egy részük regulációs szerepet tölt be más gének expressziójában, míg mások strukturális szerepet játszanak magi vagy citoplazmatikus folyamatokban (pl. kis nukleáris RNS

Dunitess

[*snRNA, small nuclear RNS*] a splicingban, Xist RNS az X kromoszóma inaktiválásában, telomeráz RNS a kromoszóma szerkezet fenntartásában).

A nem kódoló RNS gének egyik csoportja, a mikro-RNS gének, amelyek mintegy 22 bp hosszúak, és amelyekből a humán genomban mintegy 250 féle található, feladatuk más gének kifejeződésének szabályozása. Ez az **epigenetikai reguláció** körébe sorolható funkció. (= A gén nem változik meg, csak a kifejeződése.)



4-14. ábra

Az információáramlás iránya egy olyan eukarióta gén esetén, melynek 3 exonja és 2 intronja van

Az exonokon belül a transzlációra kerülő szekvencia jelölve. Az ábra a transzkripciót, az mRNS érést, az mRNS transzportját és transzlációját mutatja.

A fehérjéket kódoló gének kifejeződése, azaz a fehérjeszintézis többlépéses folyamat (4-14. ábra). Az **első lépés a transzkripció** (átírás), melynek iniciációját transzkripciós faktorok és a promoter valamint más regulációs szekvenciák kölcsönhatása szabályozza. Ezek biztosítják a gének specifikus, térben és időben koordinált expresszióját. A transzkripció a kromoszomális DNS transzkripciós start helyénél kezdődik, s a transzkripciós terminátor szekvenciánál ér véget. Az eukarióta transzkripció során a szintetizálódó pre-mRNS molekula tartalmazza az 5′-végi nem kódoló régiót, az exonokat és intronokat, valamint a 3′-végi, transzlációra nem kerülő régiót. A pre-mRNS még a sejtmagon belül érésen megy keresztül, melynek során a végei módosulnak, az intronok kivágódnak, s az exonok összeillesztődnek. Ez utóbbi folyamatot nevezzük angol szakszóval ***splicing***nak, magyarul átszabásnak. Az így keletkezett érett mRNS molekula a citoplazmába kerül és ott történik meg transzlációja.

A gének kifejeződése

Ezen bonyolult folyamat lépéseiben bekövetkezett mutációk különböző öröklődő betegségeket okozhatnak.

Transzkripció

A transzkripciót RNS-polimeráz enzim végzi, s a nukleotidok beépülését a DNS replikációhoz hasonlóan a báziskomplementaritás határozza meg. Eukariótákban háromféle RNS polimeráz van. Az **RNS-polimeráz I** a rRNS gének átírását végzi, kivéve az 5S rRNS gént. Az **RNS polimeráz II** a fehérje kódoló gének átírásáért felelős. Az **RNS-polimeráz III** pedig a tRNS gének és az 5S rRNS gén átírását végzi.

A fehérjét kódoló gének átírása a transzkripciós starthelynél kezdődik. A pre-mRNS szintézise 5′-3′ irányú, templátként a DNS 3′-5′ szála szolgál. Mivel a transzkriptum irányultsága és bázissorrendje (kivéve a T helyett beépülő U) megegyezik az átírásra nem kerülő 5′-3′ DNS szálával, ezért egyezményesen ezt hívjuk **értelmes vagy kódoló szál**nak, s amelyikről transzkripció történik **templát szál**nak. A transzkripció a transzkripciós terminátor szekvenciánál fejeződik be.

A pre-mRNS még a magon belül módosulásokon megy keresztül. Az 5′-végére a transzkripció iniciációja után közvetlenül egy metilált guanin kerül a polinukleotid láncban, szokatlan, 5′-5′ kötéssel. Ezt 5′-végi sapkának (*cap*) hívják. A 3′-végén pedig egy specifikus poli-adenilációs szignálnál a molekulát egy enzim hasítja, s egy poli-A szekvenciát (poli-A farok) illeszt hozzá. További módosulás az intron szekvenciák precíz kivágása, s az exonok összeillesztése. Ezt az átszabási folyamatot ***splicing***-nak nevezik. Az intronok kivágása és az exonok összeillesztése nukleotid pontossággal kell megtörténjen, mert ellenkező esetben kereteltolásos mutációhoz hasonló helyzet jön létre.

Az így keletkezett érett RNS, az mRNS – az erre a célra szolgáló szállító rendszer révén – a citoplazmába jut, és ott történik meg a transzlációja.

A transzláció és a genetikai kód

A citoplazmában a transzláció, azaz a fehérjeszintézis az mRNS által szállított információ alapján, a riboszómák felületén játszódik le, amelyek biztosítják a folyamatban résztvevő molekulák megfelelő térbeli összerendeződését. A riboszómák rRNS-ből és néhány tucat fehérjéből álló makromolekula komplexek. Az eukarióta riboszóma nagy alegységét egy 28S, egy 5,8S és egy 5S rRNS, valamint 49 fehérje molekula építi fel, míg a kis alegység egy 18S rRNS-t és 33 fehérje molekulát tartalmaz. (Az S **Svedberg egység**et jelent, ultracentrifugálással meghatározott ülepedési konstans, függ a mérettől [a részecske tömegétől] és alaktól.)

A transzlációhoz az aminosavakat a tRNS molekulák szállítják. Ezek azok az adapter molekulák, amelyek az mRNS specifikus nukleotidsorrendjének (genetikai kód) fehérjék specifikus aminosavsorrendjére való „lefordításában” működnek közre. **A genetikai kód tripletekből áll**. A 4 bázisból összesen 64 különböző triplet hozható létre, ami elegendő a 20 aminosav kódolására. A lehetséges 64 (4^3) trip-

letből 3 nem határoz meg aminosavat, ezek az **ún. stop, vagy értelmetlen, nonszensz kodon**ok. A maradék 61 triplet mindegyike aminosavat határoz meg. Minden aminosavnak van – értelemszerűen – legalább egy kodonja. Amint a 4-1. táblázatból is látható, az aminosavak többségét azonban több bázishármas is kódolja. Ezek általában a tripletek harmadik nukleotidjában térnek el egymástól. Ezt hívják a **genetikai kód degeneráltságá**nak, vagy redundanciájának. **Egyetlen triplet azonban csak egyetlen aminosavat kódol!** További jellegzetessége a genetikai kódnak, hogy **a tripletek nem átfedők**, s egy triplet az evolúció legkülönbözőbb szintjein álló élőlényben ugyanazt az aminosavat kódolja, azaz **a genetikai kód univerzális**. Ez alól csak néhány mitokondriális triplet a kivétel. (A kód univerzalitása azt is jelenti, hogy minden eukarióta ugyanattól a kezdeti primitív őstől származik az evolúcióban, sőt a prokarióták nagyobb része is.)

4-1. táblázat

A genetikai kódszótár

(az egyik szokásos megjelenítésben, az mRNS-re vonatkoztatva)

A kodon első betűje (5' végén)	A kodon második betűje: U		C		A		G	
U	UU**U**	Phe	UC**U**	Ser	UA**U**	Tyr	UG**U**	Cys
	UU**C**	Phe	UC**C**	Ser	UA**C**	Tyr	UG**C**	Cys
	UU**A**	Leu	UC**A**	Ser	UA**A**	Stop	UG**A**	Stop
	UU**G**	Leu	UC**G**	Ser	UA**G**	Stop	UG**G**	Trp
C	CU**U**	Leu	CC**U**	Pro	CA**U**	His	CG**U**	Arg
	CU**C**	Leu	CC**C**	Pro	CA**C**	His	CG**C**	Arg
	CU**A**	Leu	CC**A**	Pro	CA**A**	Gln	CG**A**	Arg
	CU**G**	Leu	CC**G**	Pro	CA**G**	Gln	CG**G**	Arg
A	AU**U**	Ile	AC**U**	Thr	AA**U**	Asn	AG**U**	Ser
	AU**C**	Ile	AC**C**	Thr	AA**C**	Asn	AG**C**	Ser
	AU**A**	Ile	AC**A**	Thr	AA**A**	Lys	AG**A**	Arg
	AU**G**	Met	AC**G**	Thr	AA**G**	Lys	AG**G**	Arg
G	GU**U**	Val	GC**U**	Ala	GA**U**	Asp	GG**U**	Gly
	GU**C**	Val	GC**C**	Ala	GA**C**	Asp	GG**C**	Gly
	GU**A**	Val	GC**A**	Ala	GA**A**	Glu	GG**A**	Gly
	GU**G**	Val	GC**G**	Ala	GA**G**	Glu	GG**G**	Gly

4-15. ábra

A β-globin gén 5′-végének szerkezete

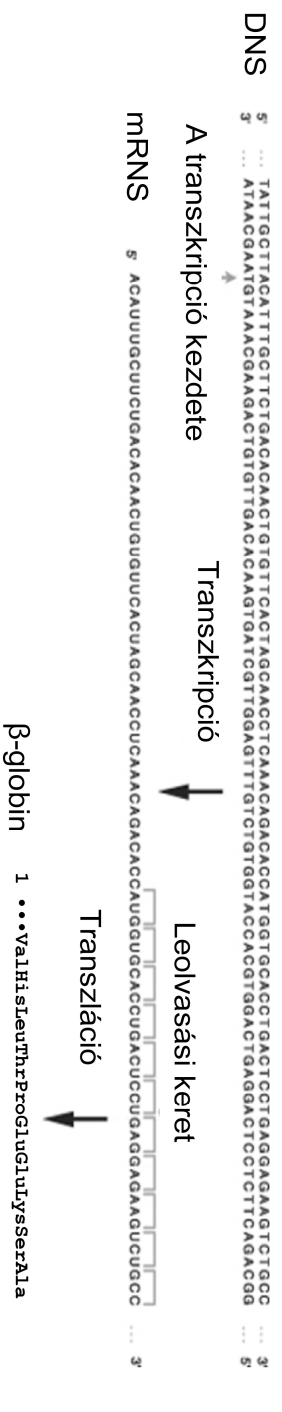
A gén transzkripciója a 3′-5′ szálról a „Start” helynél kezdődik. Ez az ún. templát szál. Az 5′-3′ szálat pedig, melynek szekvenciája megegyezik az mRNS szekvenciájával (a T/U báziscserét leszámítva) kó-doló szálnak nevezik, s az adatbázisok ennek szek-venciáját adják meg. Az mRNS transzlációja az AUG transzlációs startkodonnál kezdődik.

A β-globin gén és közvetlen környezete, valamint az expresszióját szabályzó regulációs elemek nukleotidszekvenciája a 4-16. ábrán látható.

A tripletek interpretálására a tRNS molekulákat specifikus szerkezetük teszi alkalmassá. Minden egyes aminosav szállítását különböző tRNS molekula végzi. A tRNS molekulához a megfelelő aminosavat egy aminosav-tRNS-szintetáz nevű en-zim köti hozzá, amely felismeri az aminosavat és a tRNS molekulát, és összekapcsolja őket. Mindegyik tRNS molekulában található egy, az mRNS molekula valamelyik tripletjével komplementer bázishármas, az ún. **anti-kodon**, ily módon azok az mRNS tripletjei (a **kodon**ok) által megszabott sorrendben szállítják a riboszóma megfelelő helyére az aminosavakat a fehérje-szintézishez.

A transzláció az **AUG transzlációs startkodon**nál kezdődik, ami egyúttal ki is jelöli a leolvasási keretet. Elvileg tehát minden fehérje metioninnal kezdődik, de ez igen gyakran, még a fehérjeszintézis befejeződése előtt levágódik. Az mRNS által meghatározott sorrendben a riboszómák felületére szállított aminosavak között peptidkötés alakul ki oly módon, hogy az újonnan beépülő aminosav amino csoportja és a peptidláncban lévő utolsó aminosav karboxil csoportja között jön létre a peptidkötés, azaz az mRNS 5′-vége a fehérjék amino-terminális végét kódolja.

A transzláció akkor fejeződik be, amikor a riboszóma egy stop kodonhoz érkezik. Ennek nincs komplementer tRNS-e. Ezeket egy fehérje, az ún. *release* faktor ismeri fel, s az mRNS-ből, ribo-szómából és naszcens polipeptidből álló komplex elemeire disszociál.





4-16. ábra

A β-globin gén és közvetlen környezete

Az exonok nagybetűvel, az intronok és a környező szekvenciák kisbetűvel vannak szedve. A gén 5′-végén a CAT és TATA boxok, a 3′-végén pedig a poliadenilációs szignál szekvencia van kiemelve. A transzláció az ATG start kodonnál kezdődik, s a TAA terminátor kodonnál fejeződik be. Kiemeltük továbbá az exon-intron határokat kijelölő konzervált GT és AG dinukleotidokat. A fehérje aminosav sorrendjét az aminosavak hárombetűs rövidítéseivel adjuk meg.

A transzkripció iniciációja

.A β-globin gén promotere, sok más génhez hasonlóan, tartalmaz olyan rövid szekvenciákat, amelyek a transzkripció szabályozásában résztvevő fehérjékkel (transzkripciós faktorok) lépnek kölcsönhatásba. Ezek között van olyan is, amelynek funkciója a gén kifejeződésének az eritroid sejtekre való korlátozása.

Egyik ilyen szekvencia a **konzervált AT gazdag TATA box**, mely a transzkripciós starthely előtt mintegy 25-30 bázispárnyira található (4-15. és 4-16. ábrák). Szerepe a transzkripció kezdetének kijelölésében van, ami a β-globin gén esetében a transzlációs startkodon előtt 50 bázispárnyira helyezkedik el (4-13. ábra). Azaz ebben a génben van mintegy 50 bázispárnyi szakasz, ami nem kerül transzlációra. Más gének esetén az ilyen szakasz sokkal hosszabb is lehet, sőt intronokat is tartalmazhat.

A génexpresszió bemutatása a β-globin gén példáján

A β-globin 146 aminosavból áll, s génje a 11-es kromoszóma rövid karján található. Az 1600 bázispárból álló gén 3 exont és 2 intront tartalmaz (4-14. ábra). Átírása a centromertől a telomer irányában történik. Más gének átírása azonban ezzel ellentétes is lehet, hiszen a DNS bármelyik szála lehet kódoló. A gén átírását irányító promoter régió a transzkripciós start hely előtt mintegy 200 bázispárnyira található.

A másik konzervált **regulációs régió a CAT box** (aktuálisan CCAAT) ami a TATA box előtt található (4-16. ábra). *A regulációs régiók mutációi a génexpresszió csökkenését eredményezik*, mutatva ezzel jelentőségüket a normál génkifejeződésben. Közülük néhány β-talasszémiát okoz.

A fehérjék poszttranszlációs módosulásai

Igen sok fehérje a szintézisét követően poszttranszlációs módosuláson esik át. A naszcens fehérje felveszi, a részben az aminosavsorrendje által meghatározott háromdimenziós szerkezetét, s különböző kötésekkel stabilizálja azt. Két vagy több polipeptid, amelyek lehetnek azonosak, vagy eltérőek, összekapcsolódhat, s egyetlen érett funkcióképes fehérjét hozhat létre. Két α-globin és két β-globin nem kovalens asszociációja alakítja ki például a tetramer hemoglobin molekulát. Különböző kémiai módosítások metil-, vagy foszfátcsoportok, szénhidrátok kapcsolása bizonyos aminosav oldalláncokhoz, ugyancsak ismeretesek, s a fehérje funkciójának szabályzásában fontosak. További poszttranszlációs módosítás a fehérjék proteolitikus hasítása, amely vagy a fehérje lokalizációját meghatározó szignálszekvenciák eltávolítására szolgál, vagy pedig az aktív, funcióképes molekulát vágja ki egy nagyobb fehérjéből. Ilyen például az inzulin, amely két, 21 és 30 aminosavból álló peptidből áll, de eredetileg egyetlen, 110 aminosavból álló polipeptidként, az ún. pre-pro-inzulinként szintetizálódik, s az aktív molekula az N-terminális pre- és a molekula közepén található pro- szekvenciák kivágódása után veszi fel végső formáját.

Kulipress

Háztartási gének

Azon gének promoterei, amelyek minden, vagy a legtöbb szövetben állandóan (konstitutívan) kifejeződnek (ezeket hívjuk **háztartási gének**nek), **nem rendelkeznek TATA és CAT box regulációs elemekkel,** tehát **ezek a szekvenciák a szövet-specifikusan expresszálódó génekre jellemzőek**. A háztartási gének promoter régióiban a metilálatlan CG bázisok aránya környezetükhöz képest magas (4-11. ábra, *BRCA1* gén). Ezeket CpG szigeteknek[18] nevezzük, s szerepük specifikus transzkripciós faktorok megkötésében van. Azért maradhattak fenn az evolúcióban a háztartási génekhez kapcsolódóan, mert a metilálás inaktiválja a vonatkozó génterületeket, és ez a minden sejtre vonatkozóan életfontos elemek esetén nem megengedhető.

A CG szekvenciák citozinjai metilálódhatnak, aminek a gének transzkripciója gátlásában van szerepe. Ilyen inaktiválás játszik szerepet bizonyos egyedfejlődést irányító gének esetében (genomi bevéső dés), az X kromoszóma inaktiválásában, valamint daganatok kialakulásában.

Egyéb szabályozó elemek

A promoter regulációs elemei mellett az egyes gének transzkripcióját további, a géntől viszonylag távol elhelyezkedő szekvenciák is befolyásolják. Ilyenek a **serkentő** (***enhancer***) szekvenciák, amelyek a gének előtt és után is elhelyezkedhetnek. Ezek csak bizonyos sejttípusban funkcionálnak, tehát a szövetspecifikus génexpressziót biztosítják, különböző transzkripciós faktorokkal való kölcsönhatások révén. Serkentő gének a β-globin génen belül, és környezetében is előfordulnak, s ezek kölcsönhatása különböző fehérjékkel fokozza a transzkripciót.

A β-globin normál expresszióját az egyedfejlődés során befolyásolják még a **lokusz kontroll régió**k (*locus control region*, LCR) is, amelyek az ε-globin gén előtt helyezkednek el (4-10. ábra), s a kromatin megfelelő struktúrájáért felelősek. Az LCR mutációi ugyancsak csökkentik, vagy meg is gátolják a gén expresszióját (l. alább).

Az RNS érése, átszabása.

A β-globin génről keletkező elsődleges transzkriptum, a pre-mRNS két intront tartalmaz, amelyek az érett mRNS-ből kivágódnak. Ezt hívjuk ***splicing***nak. A kivágódás nagyon pontos, az esetek 95%-ában funkcióképes mRNS-t eredményez. A folyamatot a pre-mRNS szekvenciái irányítják. Az intron 5′-végén ez egy 9 bázispárnyi szekvencia, melynek része a konzervált GT. Az intron 3′-végén mintegy 12 nukleotid, melynek része az ugyancsak konzervált AG. A kivágódás a leolvasási kerettől független, nem feltétlenül esik egybe a triplet határokkal. L. például az 1. intron kivágását a 4-12. ábrán. A splicingnak nukleotid pontossággal kell megtörténnie. A normál splicingot érintő mutációk csökkentik a képződő mRNS mennyiségét, és β-talasszémiát okoznak.

[18] Itt a láncban egymást követő, foszfát csoporttal összekötött nukleotidokról van szó.

Alternatív átszabás. A pre-mRNS átszabása a legtöbb gén esetében többféle, alternatív módon valósulhat meg. Ennek során bizonyos exonok nem kerülnek be az mRNS-be, vagy **alternatív *splice* helyek**en történik az átszabás. Az ennek eredményeként létrejövő mRNS-ről eltérő fehérjék szintetizálódnak (l. még 9-5. ábra). Jelen becslések szerint az emberi gének egyharmada többféle mRNS-t hoz létre, s ennek megfelelően a mintegy 25 000 emberi gén sokkal többféle fehérje szintézisét eredményezi, s akkor még nem beszéltünk a fehérjék poszttranszlációs módosításairól. Az alternatív splicing egy extrém példája egy nátrium csatorna génje, amelynek mutációja az epilepszia egy örökletes formáját okozza. A génnek 35 exonja van, melyek közül nyolcat érint alternatív splicing. Ennek következtében összesen több mint 500 különböző mRNS keletkezik, melyekről különböző tulajdonságú csatorna-fehérjék szintetizálódnak (különféle sejtekben).

Poliadeniláció. A β-globin mRNS tartalmaz egy 130 bázisnyi 3′-végi, transzlációra nem kerülő szakaszt, mely a transzlációs stop kodon és a poli-A farok között helyezkedik el. Az itt található AAUAAA szignál szekvencia felelős, legalábbis részben, a transzkripció terminációjáért és a poli-A farok szintéziséért. Mutációja β-talasszémiát okoz. Egyes gének 3′-végi nem transzlált régiója igen hosszú, akár több ezer bázispár is lehet. Mások több alternatív poliadenilációs helyet tartalmaznak, melyek alternatív használata az mRNS stabilitását befolyásolja.

Génreguláció és genom átrendeződés

A génexpresszió szövet- vagy fejlődés-specifikus változásai leggyakrabban a transzkripció szabályozására, alternatív splicingra, vagy poszttranszlációs modifikációra vezethetők vissza. Ilyenkor a gének és a genom változatlan.

Bizonyos esetekben azonban a génexpresszió változásának hátterében a genom átrendeződése, és szomatikus mutációk eredményeként kialakuló új gének állnak.

Az immunválasz genetikájának alapjai: **az immunglobulinok és T-sejt receptorok nagyfokú változatossága.** Az emberi szervezet számára idegen anyagok antigénként viselkednek, s antitest termelését váltják ki, valamint – meghatározott esetekben – sejtes immunválaszt. Az antitestek immunglobulin fehérjék, amelyek specifikusan kötődnek az antigénekhez, s részt vesznek az eliminálásukban.

Becslések szerint az ember mintegy 10^{11} különböző antitest létrehozására képes, holott $3{,}3\times10^{9}$ bp-nyi genomja mindössze $2{,}5\times10^{4}$ gént tartalmaz. Ennek az ellentmondásnak az a feloldása, hogy az antitesteket a B limfocita prekurzor sejtek genomjában viszonylag kis számú gén kódolja, amelyek az antitest termelő B limfociták keletkezése során szomatikus genomi átrendeződésen és mutációkon mennek keresztül. Ennek eredményeként óriási számú génváltozat jön létre.

Az **immunglobulinok** négy polipeptid láncból, két azonos könnyű (L) és két azonos nehéz (H) láncból állnak (az utóbbi génjei a 14-es kromoszómán). L láncból kétféle van: κ (kappa, 2-es kromoszóma) és λ (lambda, 22-es kromoszóma). Mind a H mind az L láncok két szegmenst, egy konstans (C) és egy változó (V) régiót tartalmaznak. A nehéz lánc C régió határozza meg az immunglobulin osztályt (M, G, A, E vagy D) és azonos osztályon belül aminosav sorrendje konzer-

vált. Ezzel szemben a V régió nagyfokú változékonyságot mutat. Az immunglobulinok H és L láncainak V régiói alkotják az antigénkötő helyet, azaz felelősek az antitestek specificitásáért.

Az egyes immunglobulinok szintézisét irányító gének a B limfociták érése során jönnek létre a prekurzor génekből, melyek az egyes kromoszómákon gyakran nagy távolságban helyezkednek el. Így például a H lánc V régiója három különböző domént (V = variable; D = diversity; és J = joining) tartalmaz (4-17. ábra). A V szegmensből több mint 200 különböző változat (bár ezek egy része valószínűleg pszeudogén), a D szegmensből mintegy 30 változat, a J szegmensből pedig 9 változat található a kromoszómán, s ez után helyezkednek el a különböző C (konstans) régiók. Egy-egy H vagy L láncot kódoló géncsoport több millió bázispárnyi szakasz a kromoszómán. Az antitesttermelő sejtek differenciálódása során ez a szakasz genomi átrendeződésen megy keresztül, s végül létrejön a funkcionális H vagy L lánc génje.

A H lánc esetében pl. az antigénkötő régió kialakulása során az egyik V szegmens és D szegmens közötti duplaszál törés és újraegyesülés eredményeként V és D szegmensek kerülnek egymás mellé, majd hasonló mechanizmussal valamelyik J szegmenshez csatlakozva létrejön a VDJ fúzió, miközben a közbeeső genomi DNS régiók kiesnek. Az így létrejövő átrendezett régió transzkripcióra kerül, s a VDJ fúzió és a C szegmensek közötti intron régió kivágódik az RNS átszabása során. Minden B limfocitában először a C_μ átirat, azaz IgM molekulák fejeződnek ki. Ez a későbbiekben vagy megmarad, vagy egy bonyolult deléciós-rekombinációs esemény eredményeként más C régiók kerülnek expresszióra. Mivel ez az esemény a variáblis régiót nem érinti, így ugyanazon a variábilis régiók különböző konstans (effektor) régiókhoz is kapcsolódhatnak. Az L lánc hasonló módon keletkezik, de ott D domének nem szerepelnek.

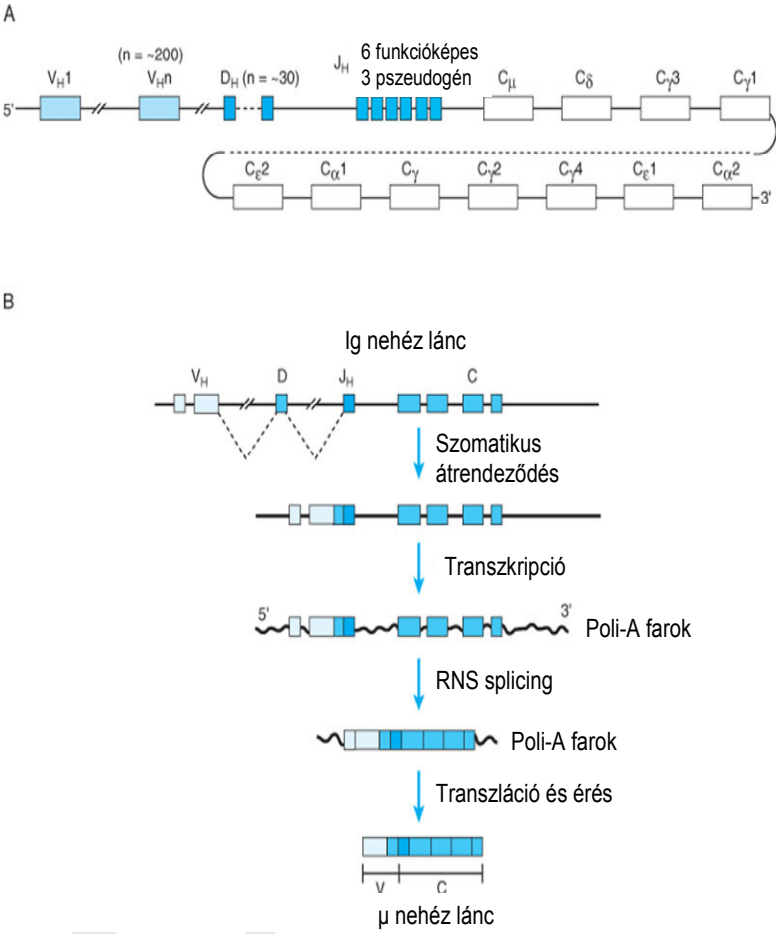
A lehetséges antitestek száma tovább nőhet a szomatikus átrendeződés során történő néhány bázispárnyi deléciókkal, vagy nukleotid beépülésekkel, melyek a leolvasási keret eltolásával eltérő aminosav sorrendű láncokat hoznak létre.

További változatosságot jelent, hogy az aktivált, antitest termelő B limfociták (plazmasejtek) genomjának az átrendeződött régiójában igen gyakoriak a pontmutációk. A mutációs ráta (100 bázispáronként és sejtosztódásonként 1 mutáció) mintegy 1000-szer magasabb mint a genom többi részében tapasztalt mutációs ráta. Ezek a mutációk a variábilis régió aminosav szekvenciáját megváltoztatva további lehetőséget biztosítanak az antitestek antigénkötő affinitásának javításában.

A rendszer működésének további jellemzőit l. az immunológia keretében.

A fentebb tárgyalt szomatikus rekombináció az immunglobulin szupergéncsalád egy másik tagjára, a T-sejt receptorokra (TCR) is jellemző. A TCR-ek nagyfokban variábilis transzmembrán glikoproteinek, amelyek kulcsszerepet játszanak a T-sejtek antigén-felismerésében. Az immunglobulinokhoz hasonlóan variábilis és konstans régiókból állnak, s a variábilis régiók V, D és J szegmensekből, genomátrendeződéssel jönnek létre, s ezeknél is ismert a variábilitás fokozása az átrende-

ződés során deléciók és nukleotid beépülések eredményeként. Nem játszik azonban szerepet a variábilitás fokozásában a megnövekedett szomatikus mutációs ráta.



4-17. ábra

Az immunglobulin gének szerkezete és a szomatikus átrendeződés, mely az egyes funkcionális géneket eredményezi

A. A nehéz lánc lokusz szerkezete a 14-es kromoszómán. A V, D, és J szegmensek száma, elhelyezkedése, és a különböző C régiók génjei láthatók. **B.** Szomatikus átrendeződés az antitest képződése során, s a létrejövő gén expressziója.

A szomatikus genomátrendeződés csak az immunglobulin és TCR géncsaládokra jellemző. A genom többi része stabil, nem változik az egyedfejlődés és differenciálódás során.

Allélkizárás

A fentebb leírt szomatikus átrendeződés a sejtek két immunglobulin, vagy TCR génje közül csak az egyiket érinti. Ennek az allélkizárásnak nevezett jelenségnek, melynek során a két autoszomális lokusz közül csak az egyik kerül expresszióra, a hátterét még nem ismerjük.

Allékizárást mutatnak a korábban említett szagló receptor géncsalád génjei is (4-12. ábra). Minden egyes érzékelő neuronban a géncsalád több száz génje közül csak egyetlen kerül expresszióra. Ennek alapja valószínűleg CpA metiláció.

Az immunglobulin, TCR és szagló receptor géncsalád allélkizárása során az expresszióra kerülő gén kiválasztása, hasonlóan az X inaktiváláshoz, ahol a különböző sejtekben vagy az apai, vagy az anyai gének fejeződnek ki, független a szülői eredettől. Ez megkülönbözteti a **genomi bevéső**dést**ől** (*genomic imprinting*), amikor is a kifejeződő allél kiválasztása a szülői eredet alapján történik.

A génexpresszió változásai és orvosi jelentősége

A humán genom mintegy 25 000 génjének megfelelő szabályozása a regulációs szintek közötti kölcsönhatást igényel, amely magában foglalja a géndózis szabályozásától a gének szerkezetének, transzkripciójának, splicingjának, transzlációjának, a fehérjék módosításának, és degradációjának összehangolt kontrollját. Bizonyos gének expressziójában beállt változásoknak súlyos klinikai következményei vannak, ami ezen gének termékeinek egyes biológiai útvonalakban betöltött fontos szerepére utalnak, s az ezt kiváltó génszerkezeti és génműködési háttér megismerése orvosi szempontból igen fontos.

DUPRESS

5. fejezet

Mendeli (monolokuszos) jellegek öröklődési mintázata

A génikus meghatározottságú jellegeket feloszthatjuk mendeli (monolokuszos, egygénes) és komplex öröklődésűekre, valamint beszélhetünk még kromoszomális rendellenességekről. Ebben a fejezetben főként a klasszikusan monolokuszosnak nevezett jellegek öröklődésének szabályszerűségeit tekintjük át.

A sejtmagi genomban elhelyezkedő egy gén mutációja miatt kialakuló tulajdonság-variánsokat gyakran csak mendeli jellegekként említjük, mivel statisztikai átlagot tekintve egy bizonyos típusú pár utódai között meghatározott arányban jelennek meg a tulajdonság egyes változatai. Ha a betegségeket nézzük, előfordulhat, hogy az egy ugyanazon génben más pozícióban bekövetkezett mutációk más betegséghez vezetnek, de az is lehetséges, hogy különböző gének mutációja egymástól megkülönböztethetetlen módon jelenik meg, kvázi ugyanazt a betegséget alakítva ki. Eddig nagyjából 2000 génről (az emberi genom 8-10%-a) állapították meg, hogy mutációja milyen betegséget, betegségeket okozhat, de e jegyzet írásának idején kb. 600 egyértelműen egygénes öröklődési mintázatot mutató betegséget még nem sikerült hozzárendelni egyetlen génhez sem.

Az itt tárgyalt kórképek többsége gyermekkorban jelenik meg, kevesebb, mint 10% a pubertás, és 1% a reproduktív kor lezárulta után, tehát főként a gyermekorvosok, de bármely más szakorvos is találkozhat praxisa során érintett személyekkel. Azért is fontos ezt tudnunk, mert kb. 200 egygénes öröklődésű kórkép olyan általános tünetekkel jár, mint a szívbetegségek, agyvérzés, rák, I-es típusú cukorbetegség. Ilyen esetekben nem csak a beteget kell kezelni, hanem a családtagokat is el kell látni útmutatással, felvetve a genetikai tesztelés lehetőségét is.

Ebben a fejezetben természetesen nem tudjuk tárgyalni az összes mendeli öröklésmenetű betegséget, ez nem is lehet célunk a jelen alapozásban, de az érdeklődő hallgatók és a majdani gyakorló orvosok figyelmébe ajánljuk a http://www.ncbi.nlm.nih.gov honlapon keresztül elérhető OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) adatbázist, ahol megtalálható az összes ismert egygénes rendellenesség leírása.

Alapfogalmak áttekintése

Johann Gregor Mendel Ágoston-rendi szerzetes volt, aki 1856. és 1863. között a brünni (Brno) kolostor kertjében borsóval végzett növénykeresztezési („hibridizá-

lási") kísérletei során az örökletes „faktorok" utódnemzedékekbe való átjutásának törvényszerűségeit vizsgálta. Modern tudósra vall, hogy kísérleteit gondosan megtervezte, a beporzást a növények porzóinak eltávolítása után saját kezűleg végezte el. Következtetéseit nagyszámú (több ezer) növény keresztezéséből nyert adatokat átlagolva vonta le, vagyis statisztikai módszereket használt az adatok kiértékeléséhez, ezért a következőkben áttekintünk pár statisztikai/valószínűségszámítási tételt.

Valószínűségszámítási alapfogalmak a genetikában. **Egy esemény valószínűségén bekövetkeztének esélyét értjük**. Azt adjuk meg, hogy hasonlók sorozatában milyen arányban várhatjuk az általunk vizsgált esemény megjelenését, vagyis az összes esetszámhoz viszonyítjuk a minket érdeklő esemény előfordulásának számát. Az így kapott értéket megadhatjuk tört vagy százalékos alakban, de számolások elvégzéséhez mindig tört alakra hozzuk. Például ha feldobunk egy pénzérmét, leesése után annak az esélye, hogy az írás legyen felül, 50% = 1/2 = 0,5. Ennél a pénzfeldobásos példánál maradva azt is megtapasztalhatjuk, hogy miért fontos több kísérlet elvégzése. Ugyanis, ha tízszer dobjuk fel a pénzérmét egymás után, előfordulhat, hogy valóban az esetek felében lesz az írás felül. De lehetséges, hogy csak 40%, vagy éppen 70%-ban fordul ez elő, sőt akár egyszer sem, vagy éppenséggel dobhatunk írást minden esetben. Ha növeljük az esetszámot (a feldobások számát) százra vagy akár ezerre, szintén tapasztalunk ingadozást, de minél nagyobb ez a szám, annál kisebb mértékű az eltérés az elméletileg várt 50%-os aránytól. Ez alapján könnyen beláthatjuk, hogy egy esemény bekövetkeztének gyakorisága csak sok független vizsgálat elvégzése után fogja közelíteni a várt értéket. Ugyanakkor az is kiderül ebből a vizsgálatból, hogy minden egyes dobás egy új, **független esemény**t jelent, és az, hogy az előző dobás során fej vagy írás volt felül, nem befolyásolja ennek az új dobásnak az eredményét („**A véletlennek nincs emlékezete**.").

Előfordulhat, hogy **két esemény együttes bekövetkeztének a valószínűségé**t kell megadnunk. Ilyenkor először azt kell megvizsgálni, hogy független eseményekről vagy éppenhogy egymás bekövetkeztét befolyásoló, nem független eseményekről van-e szó. Független esemény például egy pénzérme feldobása egymás után, ha a kérdést úgy tesszük fel, hogy mennyi a valószínűsége annak, hogy először fejet és másodszorra írást dobunk (vagyis, ha az eseményeket *ÉS* kötőszóval tudjuk összekapcsolni). Ilyenkor a **független események** valószínűségét egyenként kiszámítjuk (1/2; 1/2), majd összeszorozzuk: 1/2 × 1/2 = 1/4 (**szorzási szabály**). Ha azonban a kérdést úgy tesszük fel, hogy mi a valószínűsége annak, hogy egy pénzérme kétszeri feldobásával egy fejet és egy írást dobunk (tehát nem jelöljük meg, hogy az első vagy a második dobás eredménye például a fej), akkor itt a két esemény a következő: elsőre írást dobunk és másodjára fejet; vagy elsőre fejet és másodjára írást (vagyis az eseményeket *VAGY* kötőszóval tudjuk összekapcsolni). Amint látható, ez a két esemény nem következhet be egyszerre, nem független, vagyis **egymást kölcsönösen kizáró események** (vagy az egyik, vagy a másik következik be), ilyenkor a két esemény valószínűségét (1/2 × 1/2 = 1/4; 1/2 × 1/2 = 1/4) összeadjuk: 1/4 + 1/4 = 2/4 = 1/2 (**összeadási szabály**).

Előfordulhat, hogy egy esemény valószínűségét nem az összes eseményre, hanem egy annál szűkebb halmazra kell vonatkoztatnunk. Ha például azt szeretnénk megtudni, hogy dobókockával való dobáskor mi az esélye annak, hogy páros számot dobva az a 2-es lesz, akkor természetesen itt figyelmen kívül hagyjuk a páratlan számokat eredményező dobásokat. Így a lehetséges kimenetelek száma három lesz, melyből egy eset az, amikor 2-est dobunk, vagyis a válasz 1/3.

Génvariációk Ahhoz, hogy áttekinthessük az egygénes jellegek öröklésmeneteit, először ismernünk kell bizonyos alapfogalmak pontos jelentését. A DNS egy szegmensét, amely egy adott kromoszóma meghatározott helyén található, **lokusz**nak vagy génhelynek nevezzük. Ha ez valóban génként (vagy egyéb fontos szekvenciaként) funkcionál, akkor ez a DNS szegmens a gén lokusza. Egy adott gén a faj minden egyedében azonos lokuszon helyezkedik el, így a homológ kromoszómák azonos helyeit egy lokuszként szoktuk említeni. A gének alternatív formáit, melyek szekvenciája kis mértékben eltér egymástól, **allél**eknek nevezzük. Az egy kromoszóma egy lokuszán (haploid genotípus) vagy lokuszcsoportján (lokuszok genetikailag kapcsolt, együtt öröklődő kombinációja, l. pl. HLA rendszer) található allélek alkotják a **haplotípus**t. Haplotípusként definiálható egy statisztikailag asszociált SNP (*single nucleotide polymorphism* – egypontos nukleotid polimorfizmus)[19] készlet egy kromoszómapár egyik tagján. Az egyedi szekvenciák egymástól eltérő mutációik, SNP-ik alapján egy-egy haplotípust határoznak meg. Azok a szekvenciák megegyező haplotípusúak, amelyek ugyanazokat a SNP-ket ugyanazon leosztásban tartalmazzák.

Sok gén rendelkezik egy olyan allélel, mely a faj egyedeinek többségében megtalálható, ezt nevezzük **vad típusú allél**nek. Ilyenkor a többi allélt **mutáns allél**nek vagy **allélvariáns**nak mondjuk, ezek a vad típusú alléltől a nukleotid szekvenciában vagy a DNS elrendeződésében bekövetkezett állandósult változás, a **mutáció** vagy mutációk, ill. SNP-k miatt különböznek. Fontos megemlíteni ezen a ponton, hogy a mutáció szót két értelemben is használhatjuk az orvosi genetikában. Jelenthet egyrészt olyan génikus változást egy családban, ahol eddig ez nem volt jelen, de megnevezhet pusztán egy betegséget okozó mutáns allélt is. Mindenesetre soha nem használjuk a mutáns kifejezést mutáns allélt hordozó emberre. Sokszor nehézséget okoz annak megítélése, hogy egy adott allélvariáns mutáció vagy egy SNP miatt jött-e létre. Végső soron a mutáció is alapulhat egyetlen bázispár megváltozásán (pl. misszensz mutáció, ami egy aminosav másikra cseréje a polipeptid láncban). A praktikus megkülönböztetés a populációs gyakoriságukon alapulhat: SNP >1%, mutáció <1%. A mutáció-típusok többsége természetesen nem állhatja ki az ilyen összehasonlítási próbálkozásokat (pl. kereteltolásos mutáció, nonszensz mutáció stb.)

Ha egy populációban egy génnek kettőnél több változata is fellelhető, akkor **multiplex (többszörös) alléliá**ról beszélünk. Ilyenkor természetesen egy egyedben

[19] Egy nukleotidnyi eltérés a szekvenciában, amit transzverzió vagy tranzíció okozhat, deléció vagy inszerció nem, l. 7. fejezet.

a gént hordozó homológ kromoszómapár adott lokuszán csak egy-egy allél (tehát összesen kettő) található. Az allélek között dominancia hierarchia állhat fenn, kombinációik különböző fenotípust eredményeznek. Például a házinyulak bundaszínét egy gén négy allélje alakíthatja. A ***C*** sötétszürke, a c^{ch} erezetes mintázatú világos szürke (csincsilla), a c^{h} Himalája (fehér színű, de az alacsonyabb hőmérsékletű testrészeken – farok, orr, fülek, mancsok – fekete), a *c* albínó bundát alakít ki. A dominancia sor közöttük a következő: $C > c^{ch} > c^{h} > c$, de a c^{ch} allél nem teljesen domináns a c^{h} és a *c* fölött, mert csak homozigóta formában alakít ki csincsilla színt, heterozigóta formában ($c^{ch}c^{h}$, $c^{ch}c$) a bundaszín világos szürke.

Az allélvariánsok a közeli vagy távolabbi múltban keletkeztek mutációval. Ha legalább két, a populációban viszonylag elterjedt (>1%), a hordozó egyed fenotípusát hátrányosan nem érintő allélel is rendelkezik egy lokusz, akkor azt **polimorf**nak, a jelenséget pedig **polimorfizmus**nak (sokalakúságnak) nevezzük. A vad típusú allél gyakorisága ebben az esetben kisebb, mint 99%. Polimorfnak tekintjük az AB0 vércsoport lokuszát vagy a HLA lokuszokat. A normál allélen, illetve az elterjedt polimorf alléleken kívül a lokuszokon előfordulnak ritka allélvariánsok. Ezeket a ritka alléleket sokszor azért azonosították, mert szerepet játszottak betegségek kialakulásában. Más ritka allélek érzékenyíthetik a szervezetet bizonyos betegségekre, befolyásolhatják egyes gyógyszerek hatását, lehet valamilyen pleiotróp effektusuk stb. Ezekkel egyrészt alább, másrészt a további fejezetekben találkozunk. De az is lehet, hogy semmi látható hatásuk nincs az egyén egészségi állapotára vagy fenotípusára.

Genotípus és fenotípus

Egy egyed **genotípus**a az allélkészlet, mely genetikai állományát felépíti. Ilyenkor beszélhetünk az összes lokuszon levő allélekről (genom), de általában csak egy lokusz alléljeiről szoktunk. A **fenotípus** ezzel szemben a genotípus megfigyelhető morfológiai, klinikai, celluláris vagy biokémiai jellegként való megjelenése. Ez jelentheti betegség kialakulását (abnormális) vagy hiányát (normális), de lehet olyan jelleg is, melyet csak biokémiai vagy genetikai tesztekkel detektálhatunk vér vagy szövetmintában, vagy egyéb speciális (valamilyen műszeres) vizsgálattal azonosíthatunk. Minden gén egy polipeptid láncot vagy egy RNS-t kódol, ennek ellenére egy mutáns allélnek vagy allélpárnak sokszoros változatos fenotípusos hatása is lehet, ami meghatározza, hogy mely szervek érintettek, milyen tünetek jelennek meg és mikor. A géndefektus kifejeződését (**expresszió**ját) ilyenkor **pleiotróp**nak nevezzük.

Az egygénes rendellenességeket elsősorban egy-egy lokusz alléljei határozzák meg. Ha valakinek két egyforma allélje van egy sejtmagi lokuszon, akkor ő illetve a genotípusa, lokusza **homozigóta**, ha két különböző, akkor **heterozigóta** vagy – más megközelítésben – **hordozó** (***carrier***). A carrier kifejezést leginkább az X kromoszómán hibás gént hordozó nőkre használják. A ***compound*** (**összetett, komplex**) **heterozigóta** genotípus (személy) esetén két különböző allélt találunk a lokuszon, de mindkettő mutáns. Az X-hez kötötten öröklődő jellegek esetén a fér-

fiak csak egy alléllel rendelkeznek az adott génre (ha a génből csak egy kópia van a kromoszómán), őket és genotípusukat ekkor **hemizigótá**nak nevezzük. A mitokondriális DNS szintén kivételt képez, mivel mitokondriumból (és így a mitokondriális genomból is) több tíz vagy akár több ezer kópia is lehet egy sejtben, így az előbb ismertetett kifejezések nem alkalmazhatók a mitokondriális lokuszok genotípusának leírására, hanem a homoplazmia és a heteroplazmia kifejezés használatos (l. mitokondriális öröklődés).

Mendel megfigyelései és a belőlük levont következtetések

Mendel a borsónövények hét tulajdonságpárjának öröklődését követte figyelemmel. Ezek: a borsószem színe (sárga vagy zöld), a borsószem alakja (gömbölyű vagy ráncos/szögletes), a borsóhüvely színe (zöld vagy sárga), a borsóhüvely minősége (telt vagy befűződött), a borsóvirág színe (lila vagy fehér), a növény magassága (normál vagy törpe) és a borsóvirág és a hüvely elhelyezkedése (axiális – a szár mentén, vagy terminális – a szár végén találhatók). Ezeket **egymást kölcsönösen kizáró**, **allelomorf** jellegeknek nevezzük, mivel egy növényen csak egy jelleg alakulhat ki (a borsószem vagy sárga, vagy zöld), és ezeket a jellegeket a gének különböző alléljei alakítják ki. Mivel a mendeli genetika a genotípus fenotípusos megnyilvánulását vizsgálja, és az utóbbiból következtet az elsőre, ezért **fenogenetikának** nevezzük.

Kísérletei során Mendel mindig **tiszta származéksorú** növényekből indult ki, ami azt jelenti, hogy önbeporzáskor az összes utód mind ugyanolyan fenotípusú volt, mint a szülő. (Modern terminológiával a tiszta származéksorú növény homozigóta). Kísérletei kiindulópontja különböző fenotípusú, tiszta származéksorú növények keresztezése volt, ezt a generációt nevezzük P (parentális = szülői) generációnak. Utódaik alkotják az F1 (első filiális) nemzedéket, és az F1 egyedeit egymás között (***inter se***) keresztezve vagy önbeporzásukkal kapjuk az F2 (második filiális) generációt. Kísérletei során Mendel rájött, hogy a különböző fenotípusú egyedek keresztezéséből származó utódok nem köztes tulajdonságúak lesznek, hanem az egyik szülőhöz hasonlítanak (**uniformitás szabálya**). Az F2 generációban viszont újra megjelenik a másik szülői tulajdonság is. Ebből azt a következtetést vonta le, hogy egy tulajdonság öröklődése valamiféle öröklődési faktorok segítségével történik. Kikövetkeztette, hogy minden egyed két ilyen faktorral (ma allélnek mondjuk) rendelkezik, az egyik képes elnyomni a másik hatását, ha együtt fordulnak elő (vagyis **domináns** a másik, **recesszív** allél felett), és az ivarsejtek képzése során elválnak egymástól (l. homológ kromoszómák elválása a meiózis I. anafázisában), vagyis **lokuszra vonatkozóan egy ivarsejtbe csak egy öröklődési faktor – allél – kerül**. Ma ezt **Mendel első törvény**ének vagy az **allél szegregáció szabály**ának (esetleg a **gaméta tisztaság törvény**ének) nevezzük. Az F1 generáció fenotípusából következtethetünk arra, hogy az adott fenotípusos bélyeg (jelleg) esetén melyik a domináns, ugyanis az összes F1 egyed egyformán heterozigóta genotípusú és domináns fenotípusú. (A Mendel által vizsgált, fentebb felsorolt hét jellegpár közül az elsőként említett bélyeg a domináns.) A különböző tulajdonságok együttes

előfordulását vizsgálva Mendel arra is rájött, hogy az egyes tulajdonságpárok öröklődése nem befolyásolja egymást, vagyis az ivarsejtek képzése során **a különböző tulajdonságpárok kialakításáért felelős öröklődési faktorok egymástól függetlenül szegregálnak** (válnak szét) és jutnak be az ivarsejtekbe (l. kromoszómák független szegregációja, kombinálódása a meiózis I. anafázisában). Ezt a szabályszerűséget ma **Mendel második törvény**ének, vagy a **különböző gének alléljei független kombinálódásának** nevezzük. Ma már azt is tudjuk, hogy ez csak az olyan génekre teljesül, melyek vagy különböző kromoszómán helyezkednek el, vagy pedig ugyan **szintenikus**ak (egy kromoszómára lokalizálódnak), de egymástól akkora távolságban, hogy a rekombináció bekövetkeztét a köztük lévő távolság már nem befolyásolja, vagyis **nem kapcsoltan öröklődnek**.

A keresztbeporzást annak az eldöntésére is lehet használni, hogy a szülők neme befolyásolja-e az adott jelleg öröklődését. Ilyenkor az egyik kísérlet során a recesszív fenotípusú növény adja a pollent és a domináns fenotípusú a petesejtet, a másik keresztezés során pedig fordítva (**reciprok keresztezés**). Ha mindkét kísérlet ugyanarra az eredményre vezet (az F1 és az F2 is ugyanolyan fenotípusos és genotípusos megoszlást mutat), akkor a szülők neme nincs befolyással a jelleg öröklődésére.

Ha el szeretnénk dönteni, hogy egy domináns fenotípusú egyed homozigóta domináns vagy heterozigóta genotípusú, akkor erre a legegyszerűbb módszer az egyed keresztezése egy homozigóta recesszív genotípusúval. Ezt **tesztelő** vagy egyszerűen **tesztkeresztezés**nek nevezzük. Homozigóta domináns egyedet tesztkeresztezve minden utód domináns fenotípusú lesz, de ha egy utód is recesszív fenotípusú (akár százból), akkor a domináns fenotípusú szülő heterozigóta volt. Elvégezhető az utódok keresztezése valamelyik szülői genotípussal is, ezt **visszakeresztezés**nek nevezzük, tiszta származéksor előállításakor van jelentősége. Ha homozigóta recesszív szülővel végezzük el a mendeli keresztezés F1 egyedeinek visszakeresztezését, akkor ez nem tekinthető tesztkeresztezésnek, hiszen az ilyen F1 szülő és domináns fenotípusú utóda egészen biztosan heterozigóta.

A keresztezéseket egyezményes jelekkel írjuk le, táblázatos formában, ez a **Punnett-tábla**. A domináns allélt nagybetűvel, a recesszív allélt kisbetűvel jelöljük, egy gén alléljeinek jelölésére mindig azonos betűt (néha betűket, pl. *Se* a szekretoros fenotípust kialakító domináns allél, *se* a nem-szekretoros fenotípust kialakító recesszív allél esetén, l. 7. fejezet) használunk. A gének sokszor a mutáns fenotípusról kapják a nevüket, és betűjelüket. A vad típusú allélt ilyen esetekben a mutáns allélt jelölő betű nagy változatával vagy egy + szimbólummal jelöljük (esetleg a mutáns allél betűjelét kiegészítjük egy felső indexbe rakott + jellel). Nemi kromoszómákon található gének esetében szerencsés jelölni az elhelyezkedést, pl: X_A, X^A. Az egyik szülő gamétái (ivarsejtjei) lehetséges genotípusát (genotípusait) az első sorba, a másik szülőét az első oszlopba írjuk, és a megfelelő kockákba vezetjük be az egyes gaméta-kombinációkból kialakuló egyedek genotípusát.

Ha a szülők csak egy tulajdonságban különböznek, akkor a keresztezést **monohibrid keresztezés**nek nevezzük. Egy klasszikus mendeli monohibrid ke-

resztezést a következőképpen írunk fel: a lehetséges gamétákat egy-egy oszlop fölé (vízszintesen), ill. egy-egy sor elé (függőlegesen) írjuk, általában úgy, hogy vízszintesen az anyaiak, függőlegesen az apaiak jelenjenek meg.

P: $AA \times aa$

	A
a	Aa

F1:
minden egyed heterozigóta,
minden egyed domináns fenotípusú

F1 × F1: $Aa \times Aa$

	A	a
A	AA	Aa
a	Aa	aa

F2:
1/4 homozigóta domináns, 1/2 heterozigóta, 1/4 homozigóta recesszív,
3/4 domináns fenotípusú, 1/4 recesszív fenotípusú

A gének jelét, szimbólumát, legyen az egy vagy több betű, általában dőlten írjuk. (Ez nem feltétlenül kötelező minden esetben. Ha viszont azonos szimbólummal együtt szerepel a gén és az általa meghatározott fehérje, az utóbbi álló, a gén dőlt betűvel írandó.) A domináns allélt nagy, a recesszívet kis betűvel jelezzük.

F2 × F2: $AA, Aa, Aa, aa \times AA, Aa, Aa, aa$
Gaméták: *A* és *a*, arányuk 4:4 (1:1) vagyis 1/2:1/2

	1/2 A	1/2 a
1/2 A	1/4 AA	1/4 Aa
1/2 a	1/4 Aa	1/4 aa

F3:
1/4 homozigóta domináns, 1/2 heterozigóta, 1/4 homozigóta recesszív
3/4 domináns, 1/4 recesszív fenotípusú

Megfigyelhető, hogy egy generációban az allélek aránya megegyezik az egyedekben és a gamétákban, és ha a keresztezést az egyedek között végezzük, akkor ez nem változik a generációk során (*A* és *a* aránya a P generáció *AA* és *aa* egyedeiben és gamétáikban 1:1, az F1 heterozigótáiban szintén 1:1, az F2 egyedeiben összesítve 4:4 vagyis szintén 1:1). Ez azt vonja maga után, hogy nem csak két egyed keresztezéséből származó utódok genotípusát és arányát tudjuk meghatározni egy Punnett-táblában, hanem egy generáció egyedeinek egymás közötti keresztezéséből származó utódok genotípusát és egymáshoz viszonyított arányukat is. Ilyenkor a populációban fellelhető hímivarsejtek és petesejtek kerülnek az első oszlopba, illetve az első sorba (képződési arányuk feltüntetésével), és a független események együttes előfordulása valószínűségének kiszámítására használt szorzási szabály alkalmazásával meghatározható az egyes genotípusok képződési gyakorisága. Ha tehát meg szeretnénk határozni egy mendeli monohibrid keresztezés harmadik generációjának (F3) genotípus és fenotípus összetételét, akkor nem kell minden egyes keresztezést külön felírnunk, elég kigyűjtenünk a lehetséges gamétákat,

meghatározni az arányukat, és így felírni egy összesített Punnett-táblát (ez a törvényszerűség visszafelé is igaz: amilyen allélarányt tapasztalunk az utódok között, olyan allélarány volt jellemző a szülői generációra is):

Természetesen lehetséges két független tulajdonság öröklődésének együttes vizsgálata is. Mivel a szülők két tulajdonságban különböznek, ezért ilyen esetekben **dihibrid keresztezés**ről beszélünk. Egy klasszikus mendeli dihibrid keresztezés így írható fel (mivel mendeli keresztezésről van szó, ezért a szülők homozigóta domináns és homozigóta recesszív genotípusúak):

P: *AABB* × *aabb*

	AB
ab	*AaBb*

F1:
minden egyed kettős heterozigóta
minden egyed domináns fenotípusú mindkét tulajdonságra

F1 × F1: *AaBb* × *AaBb*

	AB	*Ab*	*aB*	*ab*
AB	*AABB*	*AABb*	*AaBB*	*AaBb*
Ab	*AABb*	*AAbb*	*AaBb*	*Aabb*
aB	*AaBB*	*AaBb*	*aaBB*	*aaBb*
ab	*AaBb*	*Aabb*	*aaBb*	*aabb*

F2 fenotípus arányok:

I. 9/16 domináns mindkét tulajdonságra
II. 3/16 domináns az **a** és recesszív a **b** tulajdonságra
III. 3/16 recesszív az **a** és domináns a **b** tulajdonságra
IV. 1/16 recesszív mindkét tulajdonságra

F2 genotípus arányok fenotípus-osztályokra lebontva, az általános genotípus feltüntetésével:
I. 1/16 homozigóta domináns mindkét génre; 2/16 homozigóta domináns az *A* és heterozigóta a *B* génre; 2/16 heterozigóta az *A* és homozigóta domináns a *B* génre; 4/16 kettős heterozigóta (mindösszesen ***A-B-***, ahol a **-** bármelyik allélt jelentheti).
II. 1/16 homozigóta domináns az *A* és homozigóta recesszív a *b* génre; 2/16 heterozigóta az *A* és homozigóta recesszív a *b* génre (***A-bb***)
III. 1/16 homozigóta recesszív az *a* és homozigóta domináns a *B* génre; 2/16 homozigóta recesszív az *a* és heterozigóta a *B* génre (***aaB-***)
IV. 1/16 homozigóta recesszív mindkét génre (***aabb***)
(A vízszintes vonás a genotípusban azt jelenti, hogy ott a szóba jövő allélek [domináns vagy recesszív] bármelyike előfordulhat.)

Ugyanezt az F2 arányt a független események együttes előfordulása valószínűségének kiszámítására használt szorzási szabályt alkalmazva, az úgynevezett **gén × gén módszer**rel is megkaphatjuk. A következőképpen járunk el:

F1 × F1: $Aa \times Aa$

	A	a
A	AA	Aa
a	Aa	aa

F2:
1/4 homozigóta domináns, 1/2 heterozigóta, 1/4 homozigóta recesszív
3/4 domináns fenotípusú, 1/4 recesszív fenotípusú

F1 × F1: $Bb \times Bb$

	B	b
B	BB	Bb
b	Bb	bb

F2:
1/4 homozigóta domináns, 1/2 heterozigóta, 1/4 homozigóta recesszív
3/4 domináns fenotípusú, 1/4 recesszív fenotípusú

Vagyis megadjuk az egyes génekre és fenotípusos jellegre lebontva a genotípusos és fenotípusos arányokat, és mivel az egyed genotípusa az *A* génre nézve nem befolyásolja a genotípusát a *B* génre nézve, azért páronként összeszorozzuk a valószínűségeket:

F2 genotípus arányok		**F2 fenotípus arányok**		
1/4 *AA* × 1/4 *BB* =	1/16 *AABB*	3/4 domináns **a**-ra	3/4 domináns **b**-re	= 9/16
1/4 *AA* × 1/2 *Bb* =	1/8 *AABb*	3/4 domináns **a**-ra	1/4 recesszív **b**-re	= 3/16
1/4 *AA* × 1/4 *bb* =	1/16 *AAbb*	1/4 recesszív **a**-ra	3/4 domináns **b**-re	= 3/16
1/2 *Aa* × 1/4 *BB* =	1/8 *AaBB*	1/4 recesszív **a**-ra	1/4 recesszív **b**-re	= 1/16
1/2 *Aa* × 1/2 *Bb* =	1/4 *AaBb*			
1/2 *Aa* × 1/4 *bb* =	1/8 *Aabb*			
1/4 *aa* × 1/4 *BB* =	1/16 *aaBB*			
1/4 *aa* × 1/2 *Bb* =	1/8 *aaBB*			
1/4 *aa* × 1/4 *bb* =	1/16 *aabb*			

Természetesen az F2 fenotípus arányok az adott fenotípus kategóriához tartozó genotípusok valószínűségének összeadásával is kiszámolhatók (hiszen egy egyed csak egy genotípussal rendelkezhet, vagyis az azonos fenotípust kialakító genotípusok egymást kölcsönösen kizáró eseménynek tekintendők):

F2 fenotípus arányok
I: domináns az **A** és **B** jellegre: 1/16 *AABB* + 2/16 *AABb* + 2/16 *AaBB* + 4/16 *AaBb* = 9/16
II: domináns az **A** és recesszív a **b** jellegre: 1/16 *AAbb* + 2/16 *Aabb* = 3/16
III: recesszív az **a** és domináns a **B** jellegre: 1/16 *aaBB* + 2/16 *aaBb* = 3/16

PUPress

IV: recesszív az **a** és a **b** jellegre: 1/16 *aabb*

A mendeli öröklődés során várható fenotípus és genotípus arányokat módosító hatások

A mendeli szabályszerűségek csak bizonyos feltételek megléte esetén érvényesülnek. Mindenekelőtt szabályos ivaros szaporodású diploid szervezet esetén teljesülhetnek csak (hiszen láthattuk, hogy a mendeli törvények a meiózis I anafázisának eseményein keresztül értelmezhetők). A géneknek autoszomákon kell elhelyezkedniük, hiszen a nemi kromoszómákon található génekből nem egyformán részesül a két nem. (Természetesen ez akkor fontos, ha az adott faj rendelkezik nemi kromoszómákkal.) A nyomon követett fenotípusos jegyek monolokuszos öröklődésűek kell legyenek (nem lehetnek poligénes/multifaktoriális meghatározottságúak, vagy nem jöhetnek létre génkölcsönhatás következtében). Az allélek között szabályos dominancia – recesszivitás kell fennálljon, hiszen az **inkomplett dominancia** esetén az F1 generáció heterozigóta egyedei egyik tiszta származéksorú szülőre sem hasonlítanak, hanem egy köztes tulajdonság alakul ki bennük, de természetesen a genotípus arányokon ez nem változat (l. nyulak bundaszíne). Az **intermedier öröklődés** az inkomplett dominancia egy speciális esete, ahol a heterozigóták fenotípusa pontosan a két szélső fenotípus minősége között középen helyezkedik el, pl. rózsaszín virágú csodatölcsér, mely egy vörös és egy fehér virágú egyed keresztezésekor keletkezik, és két rózsaszín virágú növényt keresztezve 1/4-1/4 arányban megjelennek a szülői fenotípusok az 1/2 gyakoriságú heterozigóta rózsaszín növények mellett. **Kodomináns** allélek esetén pedig mind a kettő hatása teljes mértékben megnyilvánul a fenotípusban (pl. AB vércsoport).

Több gén öröklődésének együttes vizsgálatakor a géneknek egymástól függetlenül kell öröklődniük, vagyis különböző kromoszómán kell elhelyezkedniük, vagy azonos kromoszómán, de olyan nagy távolságra egymástól, hogy ne befolyásolják egymás ivarsejtbe jutását. Ugyanakkor a kapott genotípusos vagy fenotípusos arányokat az is torzíthatja, ha nem kellően nagy számú utódot vizsgálunk (statisztikai mintavételi hiba), vagy ha egy bizonyos allélkombináció letális hatású. A letális allél lehet recesszív, ilyenkor homozigóta vagy X kromoszómán elhelyezkedő gén esetén hemizigóta formában okozza az egyed korai halálát (Tay-Sachs betegség, cisztikus fibrózis [autoszomálisak], Duchenne-féle izomdisztrófia [X-hez kötött]) és/vagy reprodukcióra való képtelenségét (**genetikailag letális**, pl. cisztikus fibrózisos férfi betegek) avagy éppen a magzat elvetélését. A letális allél lehet domináns is, ebben az esetben előfordul, hogy már heterozigóta formában is letális (pl. a *Huntington chorea* klinikai, de nem genetikai letális, mivel a betegség a reproduktív kor elérése után jelentkezik, így ilyenkor a betegeknek többnyire már vannak gyermekeik), vagy csak homozigóta formában, de a heterozigóták sem egészségesek (familiáris hiperkoleszterinémia, achondroplasiás törpeség, utóbbi esetben a homozigóta domináns magzatok vesznek el). Néhány X-hez kötött domináns rendellenesség a hemizigóta fiúmagzatok elvetélését okozza.

Ha valamilyen környezeti hatás, fertőzés, xenobiotikum (egy olyan anyag, amely idegen az élő szervezet számára, l. a 13. fejezetben) egy ismert öröklött jelleghez hasonló fenotípust alakít ki, akkor **fenokópiá**ról beszélünk. Ilyen fenokópiák megjelenése is vezethet a fenotípus arányok módosulásához. A fertőzések és a xenobiotikumok általában fejlődési rendellenességeket okoznak (**teratogén**ek), ha a hatás az embriót (magzatot) a második vagy harmadik (néhány esetben a negyedik) terhességi hónap során éri. A fertőző ágensnek át kell jutnia a placentán[20]. Gyógyszerek is lehetnek teratogének, az 1960-as évek elején a volt NSZK-ban a várandósok által szedett Contergan (thalidomid) nevű gyógyszer miatt mintegy 6700 végtaghiányos – phocomeliás, „fókakezű" – gyermek született (l. bővebben a 13. fejezetben). Felnőtt korban a nem megfelelő életvitel, illetve káros környezeti hatások hozhatnak létre fenokópiákat: pl. magas koleszterinszintet a mozgásszegény életmód és a kalóriadús táplálkozás kombinációja.

Génkölcsönhatások. Egy fenotípusos jegyet több gén is kialakíthat együtt, ilyenkor természetesen ezek a gének befolyásolhatják egymás hatását. A legegyszerűbb esetben egy tulajdonságot két gén kölcsönhatása határoz meg, de sok esetben kettőnél több gén bizonyos (pl. vad típusú) alléljei lehetnek szükségesek egy adott (pl. a normál) fenotípus kialakításához. Példaként említhetjük a *xeroderma pigmentosum*ot, mely emberben a nukleotid kivágó DNS hibajavító (nukleotid excíziós repair, NER, l. 7. fejezet) rendszer hibája miatt alakul ki. A betegség a hibajavításban résztvevő enzimeket kódoló 8 gén bármelyikének mutációja miatt kialakulhat, a különböző gének alléljei úgy viselkednek, mintha csak egy lokuszhoz tartoznának (**pszeudoallélia**).

Ha egy tulajdonságért két lokusz felelős, keresztezésekkor a genotípusok arányai nem változnak a két jelleget vizsgáló dihibrid keresztezések során tapasztaltakhoz képest, a két gén kölcsönhatása egyedül a fenotípus arányokat befolyásolja.

A legkönnyebben átlátható az **egyszerű génkölcsönhatás**. A két gén domináns alléljei önállóan (ha a másik génre csak recesszív allélek vannak jelen) különböző fenotípust alakítanak ki. Eltérő fenotípus jelenik meg, ha a két lokusz mindegyikén domináns allél van, vagy ha egyiken sem található ilyen. Ez azt jelenti, hogy mendeli dihibrid keresztezés F2 generációjában ugyanúgy négy fenotípus kategóriát kapunk és ugyanolyan arányban, mintha nem állna fenn génkölcsönhatás, csak éppen ezek nem két fenotípus kombinációiként állnak elő. Példa az ilyen génkölcsönhatásra a tyúkok tarajalakjának öröklődése: *R* gén domináns allélje **rózsa** tarajt határoz meg, ha nincs jelen domináns allél a *B* lokuszon (***R-bb***); *B* domináns allélje **borsó** tarajt alakít ki, ha nincs jelen domináns allél az *R* génre (***rrB-***); ha *R* és *B* allél is jelen van, akkor **dió** taraj jelenik meg (***R-B-***); ha nincs se *R* se *B* allél, akkor **egyszerű** taraj fejlődik (***rrbb***). Kettős heterozigóták (*RrBb*) keresztezésekor a

[20] Erre képesek a TORCH komplexet alkotó kórokozók. A torch angolul fáklyát jelent, és itt az ilyen kórokozók nevének kezdőbetűiből áll össze a betűszó: *Toxoplasma gondii*, a rubeola vírusa, cytomegalovírus, és a II-es típusú herpes simplex vírus; az O az „other" (egyéb) helyett áll

fenotípus megoszlás ugyanúgy 9 (dió) : 3 (rózsa) : 3 (borsó) : 1 (egyszerű) arányt mutat, mint a dihibrid keresztezés fent levezetett esetében.

A következő tárgyalandó génkölcsönhatás típus az **episztázis**. Ilyen esetekben az egyik gént (lokuszát) **episztatikus** génnek (lokusznak) nevezzük, ez az a lokusz, melyen egy bizonyos allélkombináció jelenléte, úgymint **recesszív episztázis** esetén két recesszív allél, illetve **domináns episztázis** esetén legalább egy domináns allél, teljesen elnyomja a másik (**hiposztatikus**) lokuszon lévő bármely allélkombináció hatását. Tehát ha az *A* lokusz az episztatikus és a *B* a hiposztatikus, akkor recesszív episztázis esetén az *aaBB*, *aaBb*, *aabb* (vagyis *aa*--) genotípusok, domináns episztázis esetén pedig az *AABB*, *AABb*, *AAbb*, *AaBB*, *AaBb*, *Aabb* (vagyis *A*---) genotípusok egyforma fenotípust alakítanak ki. Ez azt jelenti, hogy kettős heterozigóták keresztezésekor az utódnemzedékben bizonyos kategóriák összeolvadása miatt módosulnak a fenotípus arányok, recesszív episztázis esetén **9** (*A-B-*) : **3** (*A-bb*) : **4** (3 *aaB-* + 1 *aabb*), domináns episztázis esetén **12** (9 *A-B-* + 3 *A-bb*) : **3** (*aaB-*) : **1** (*aabb*) a tapasztalt fenotípus arány.

Recesszív episztázis alakítja ki az emberi Bombay vércsoportot (*hh*--). Ilyenben az AB0 vércsoportot meghatározó allélek közül bármelyik jelen lehet, a fenotípus ugyanolyan lesz, mivel az I^A illetve I^B allélek által kódolt enzimek nem tudják hozzátoldani a megfelelő monoszacharid egységet az alap H-antigénhez, ugyanis az nincs jelen a vörösvértestek felszínén egy másik lokuszon (*H*) fennálló mutáció (homozigóta recesszív genotípus) miatt (az *i* allél nem kódol működőképes enzimet, 0 vércsoport esetén a H-antigén nem egészül ki, l. 7. fejezet).

Domináns episztázis alakítja ki a tökök fehér terméssszínét. A *W* gén domináns allélje mindig fehér termést alakít ki, mivel gátolja a fehér pigment továbbalakulását zölddé. Ha nincs *W* allél (*ww*), akkor az Y lokusz határozza meg a színt, *wwY*-genotípus esetén a létrejövő zöld pigment tovább alakul sárgává, míg *wwyy* genotípus esetén marad zöld.

Az utolsó génkölcsönhatás típus, amit részletesen elemzünk, a **komplementer génkölcsönhatás**. Ebben az esetben a két gén kifejeződése kölcsönösen függ egymástól. Ezek az egymást kiegészítő vagy **komplementer gének (pszeudoallélek)**. Legtöbbször ezek olyan enzimeket kódolnak, melyek *egy* metabolikus, differenciálódási vagy más jellegű útvonalon működnek. Gyakori, hogy az egyik enzim által létrehozott termék egy másik enzim szubsztrátja, és ilyenkor természetesen sem akkor nem képződik végtermék, ha ez a köztitermék nem jön létre, sem akkor, ha létrejön, de nem alakul tovább. Vagyis a komplementer génkölcsönhatás esetén két fenotípus kategóriát találunk: vagy van végtermék, mivel minden enzimet kódoló gén rendelkezik legalább egy normál, domináns alléllel (*A-B-*), vagy nincs végtermék, mert valamelyik vagy az összes génen nem található normál allél (*A-bb*, *aaB-*, *aabb*). Pl. két gén (*A* ill. *B*) két különböző enzimet kódol, melyek egy virágszínt meghatározó pigment létrehozásáért felelősek. A recesszív allélek (*a*, ill. *b*) funkcióképtelen enzimet kódolnak. Ha a növény homozigóta akár *a*-ra, akár *b*-re, nem képződik pigment, a virág fehér marad. Ennek megfelelően két kettős heterozigóta

színes virág (mendeli dihibrid keresztezéskor ez az F1 nemzedék *inter se* keresztezésének felel meg) keresztezésekor **9:7** arányban kapunk színes és fehér virágokat.

Természetesen további génkölcsönhatások is lehetségesek, ezekről adunk áttekintést az 5-1. táblázatban. Mindazonáltal meg kell említenünk, hogy a kategóriák közötti határ nem éles, tehát sokszor nézőpont kérdése, hogy melyik kategóriába soroljuk az adott génkölcsönhatást (pl. a NER enzimeinek működésekor komplementer génkölcsönhatás áll fenn, de akár recesszív epizstázisról is beszélhetnénk, ha megengednénk, hogy minden lokusz epizstatikus és hiposztatikus is lehessen egyszerre). Fentebb már utaltunk rá, hogy a mendeli genetika fenogenetika. A fenotípus definíciója pedig sokszor önkényes. A kérdést tovább bonyolítja, hogy többnyire kettőnél több gén felelős egy tulajdonság kialakításáért, és sokszor az általános genetikai háttér illetve a környezet is befolyásolja a gének hatását. Arra is fontos itt felhívnunk a figyelmet, hogy **ha valamely jelenséget, valamilyen fenotípus kialakulását génkölcsönhatás eredményeként írunk le, az sohasem valóban gének, hanem az általuk meghatározott fehérjék szintjén realizálódik. Ugyanez igaz a dominancia-recesszivitás viszonyra is**.

5-1. táblázat

Mendeli dihibrid keresztezés F2 generációjában tapasztalható, génkölcsönhatások miatt módosult fenotípus arányok áttekintése

AABB	*AABb*	*AaBB*	*AaBb*	*AAbb*	*Aabb*	*aaBB*	*aaBb*	*aabb*	F2 fenotípus arány	Gén-kölcsönhatás típusa
1	2	2	4	1	2	1	2	1		
9				3		3		1	9:3:3:1	egyszerű génkölcsönhatás
9 (van két különböző domináns allél)				3 (*A* van)		3 (episztatikus *aa* van)		1	9:3:4	recesszív episztázis
9 (episztatikus *A* van)				3 (episztatikus *A* van)		3 (*A* nincs, *B* van)		1	12:3:1	domináns episztázis
9 (van két különböző domináns allél)				3 (nincs *B*)		3 (nincs *A*)		1	9:7	komplementer gének
9 (*A* és *B* semlegesíti egymást)				3		3		1	10:3:3	konkuráló gének
9 (van két különböző domináns allél)				3 (csak *A* van)		3 (csak *B* van)		1	9:6:1	alternáló (összegződő hatású) gének
9				3		3		1	15:1	duplikált gének
9 (inhibitorikus *A* van)				3 (inhibitorikus *A* van)		3		1	13:3	inhibitor gének (domináns szupresszió)
9 (*A* és *B* semlegasíti egymást)				3		3		1	10:6	konkuráló azonos hatású gének
9				3		3		1	12:4 (3:1)	monolokuszos öröklődés

Kapcsolt gének

Két gén együttes öröklődésének vizsgálatakor mendeli dihibrid keresztezés esetén azt tapasztaljuk, hogy az F1 kettős heterozigóta a két génre nézve négyféle gamétát képez. Az ivarsejtek párokban képződnek két különböző meiózis eredmé-

nyeként. Az egyik pár ugyanolyan kombinációban tartalmazza a két gén alléljait, mint amilyen gamétákból az F1 egyed létrejött (mendeli keresztezés esetén *AB* és *ab*), ezek a **szülői típusú gaméták**. A másik pár új kombinációban tartalmazza az alléleket (itt *Ab* és *aB*), ezek a gének független öröklődése esetén a **neokombináns gaméták**. Ha a két gén kapcsolt, vagyis ugyanazon a kromoszómán, bizonyos távolságon belül helyezkednek el egymáshoz viszonyítva, akkor ezek a gaméták csak rekombináció eredményeként képződhetnek, és **rekombináns gamétá**knak nevezzük őket. Ilyenkor, ha egy gamétában egy kromoszómán 2 mutáns, avagy 2 vad típusú allél van, vagyis **cisz** elrendezésében találhatók a gének, akkor ezeket ***coupling*** – kapcsolt, párban álló – fázisú gamétáknak nevezzük. Ha egy mutáns és egy vad allél van egy gamétában egy kromoszómán, vagyis **transz** elrendezésben találhatók a gének alléljei, akkor ezek a **repulziós** gaméták. Független öröklődés esetén a gaméták egyforma eséllyel keletkezhetnek, de kapcsolt géneknél a rekombináns gaméták képződési valószínűsége csökkent, megegyezik a gének közötti rekombináció valószínűségével. A rekombináció valószínűsége a két gén távolságától függ: minél közelebb van egymáshoz két lokusz, annál kisebb eséllyel következik be közöttük crossing over. Ha nem képződnek rekombináns gaméták, akkor **teljes kapcsoltság**ról beszélünk. Két gén távolságát **centiMorgan**-ban (cM) adjuk meg, ami nem abszolút távolságot jelent, hanem a két gén közötti rekombináció valószínűségétől függ: 1 cM = 1% rekombinációs gyakoriság. Belátható, hogyha két gén távolsága eléri az 50 cM-t, akkor a rekombináns gaméták képződési valószínűsége megegyezik a szülői gamétáékkal (50-50%), és ekkor már független öröklődésről beszélünk. Ez azt is jelenti, hogyha két szintenikus (egy adott kromoszómán levő), de függetlenül öröklődő gén távolságát ki akarjuk számolni, keresni kell olyan géneket, melyek közöttük helyezkednek el egymástól kevesebb, mint 50 cM távolságra, és a megállapított rekombinációs értékeket össze kell adni.

Pédául: *A* és *B* az esetek felében öröklődik együtt, a másik felében nem. Egy kromoszómán helyezkednek el? Határozzuk meg a – vélhetően – köztük lévő gének rekombinációs gyakoriságait (egyszerűsítve)! *A–C* 8 cM, *C–D* 12 cM, *D–E* 15 cM, *E–F* 10 cM, *F–B* 5 cM; lineárisan összegezve *A – B* 50 cM, egy adott kromoszómán.

Mivel a rekombináns gaméták kisebb arányban termelődnek, mint a szülői típusú gaméták, így a belőlük kialakuló utódok is kevesebben lesznek, vagyis kapcsoltság esetén a genotípus arányok is megváltoznak. Ez heterozigóták egymás közötti keresztezésekor kevéssé nyomon követhető, így a kapcsoltság tesztelésére kettős heterozigóták tesztkeresztezését alkalmazzuk. Ilyenkor a tesztelő (*ab*/*ab*) szülő csak recesszív alléleket ad át az utódoknak, vagyis ezek fenotípusát a kettős heterozigóta szülőtől örökölt allélek határozzák meg, így téve könnyen eldönthetővé, hogy mely utódok milyen gamétát kaptak tőle. A vonatkozó kromoszómaképeket l. a 8. fejezetben (8-1. és 8-2. ábra).

Genotípus arányok *független öröklődés esetén* kettős heterozigóta tesztkeresztezésekor:

	AB	*Ab*	*aB*	*ab*
ab	*AaBb*	*Aabb*	*aaBb*	*aabb*
	1	1	1	1

Genotípus arányok *kapcsoltság esetén*, ha az F1 egyed haplotípusa *AB*/*ab* (tehát a P generáció *AABB* és *aabb* genotípusú volt, a szülői gaméták *coupling* fázisúak), és a gének távolsága x cM (x < 50 cM):

	AB	*Ab*	*aB*	*ab*
ab	*AaBb*	*Aabb*	*aaBb*	*aabb*
	(100-x)/2	x/2	x/2	(100-x)/2

Genotípus arányok kapcsoltság esetén, ha az F1 egyed haplotípusa *Ab*/*aB* (tehát a P generáció *AAbb* és *aaBB* genotípusú volt, a szülői gaméták repulziósak), és a gének távolsága x cM (x < 50 cM):

	AB	*Ab*	*aB*	*ab*
ab	*AaBb*	*Aabb*	*aaBb*	*aabb*
	x/2	(100-x)/2	(100-x)/2	x/2

A tesztkeresztezés során kapott adatokból a valószínűségszámítás szabályainak megfelelően (esemény valószínűsége = minket érdeklő események száma / összes eseményszám) kiszámítható a rekombináció gyakorisága (R = rekombináns gamétákból keletkezett utódok száma / összes utódszám), melyet 100-zal megszorozva %-ban kapjuk meg a gyakoriságot, ami megfeleltethető a két gén távolságával. (A centiMorgan megnevezés *T.H. Morgan* Nobel-díjas genetikus nevéből.)

Családfák a humángenetikában

Mivel kontrollált keresztezési kísérletek eredményei nem állhatnak rendelkezésre, ezért monolokuszos emberi jellegek öröklődéséről úgy nyerhetünk információt, ha családokon belül követjük a jelleg nemzedékről nemzedékre való átadását.

Ez az igény csak kivételesen merül fel normál fenotípusos jegyek kapcsán, annál inkább különböző kórállapotokra vonatkozóan. Rendkívül fontos ezek pontos, lehetőleg molekuláris szintű (pl. DNS szekvencia) ismerete. Sohase felejtsük el: lehet, hogy két személy klinikai (fenotípusos) képe megkülönböztethetetlenül azonos, de a génikus meghatározottságuk különböző.

Először információt kell gyűjteni a beteg családjáról, és a részleteket egy **családfá**n kell összegezni, mely a családtagok leszármazási viszonyának grafikus ábrázolása egyezményes jelekkel (5-1. ábra), az egyének fenotípusának illetve hordozó voltának (ha biztos információkkal rendelkezünk ez ügyben) jelölésével. Azt a személyt, aki miatt a család genetikai vizsgálata kezdetét vette (akár több ilyen személy is található a családfán) **probandn**ak vagy **probandusz**nak nevezzük. A férfi probanduszt **propozitusz**nak, a nőt **propozitá**nak is szokás még nevezni. A rokonok lehetnek *elsőfokúak* (a proband szülei, testvérei, gyermekei), *másodfokúak* (nagyszülők és unokák, nagybácsik és nagynénik, féltestvérek), *harmadfokúak* (pl.

első unokatestvérek [szülő testvérének gyermeke]) és így tovább, attól függően, hogy hány lépés választja el őket a családfán a probandtól. Ha egy párnak egy vagy több közös őse van, akkor a házasságot **rokonházasság**nak nevezzük. Ha csak egy érintettet találunk a családban, akkor **izolált eset**ről, ha bizonyítható, hogy a proband betegsége egy új mutáció következménye, akkor **sporadikus eset**ről beszélünk. Ha izolált esettel állunk szemben, a diagnózis úgy is lehetséges, ha olyan családokat használunk diagnosztikai alapként, melyekben megegyező fenotípussal járó betegség fordult elő (de l. a fenti megjegyzést a molekuláris diagnózisról).

Természetesen egy jelleg öröklődési mintázatának vizsgálatához szükség van arra, hogy a jelleg örökölhető legyen, vagyis a beteg képes legyen továbbörökíteni azt. A **fitnesz** (*fitness*, rátermettség, jelölése: *W*) azt méri, hogy egy jelleg hogyan befolyásolja a hordozója reproduktivitását (utódot létrehozó képességét). Definíció szerint a fitnesz a reproduktív kort elérő jelleghordozó egyének utódainak száma viszonyítva egy megfelelő kontrollcsoporthoz. (L. a 12. fejezetben is.) A fitnesz nem ad információt a jelleghordozó testi és szellemi képességeiről, hiszen ha egy betegség a szaporítószerveket érinti, akkor a fitnesz 0 lehet, bár szellemileg és fizikailag az egyén egészséges, és az is előfordulhat, hogy egy szellemileg visszamaradott ember fitnesze 1, mert például a reproduktív kor kezdete után jelentkezik a betegség.

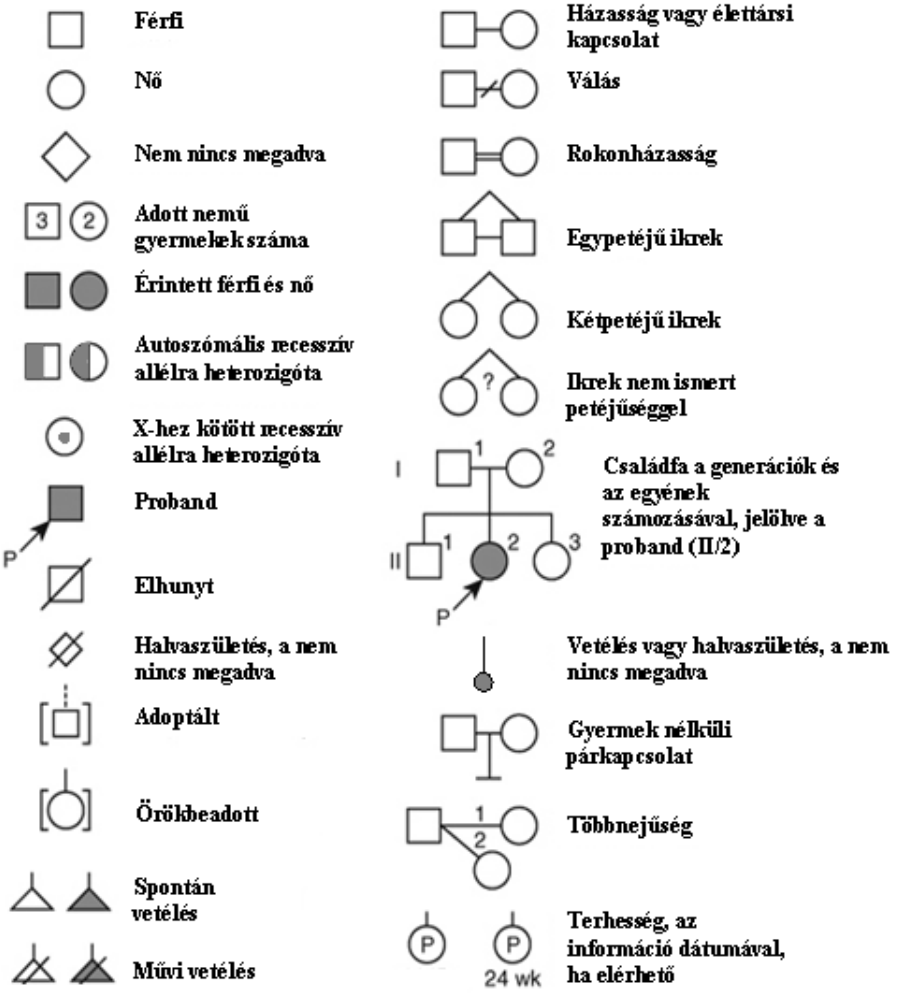
Emberi monolokuszos jellegek mendeli öröklődése. A monolokuszos jellegek öröklődési mintázata két tényezőtől függ elsősorban:

1. a mutáns fenotípus **domináns** (akkor jelenik meg, ha a kromoszómapár egyik [vagy mindkét] tagján a mutáns allél található), vagy **recesszív** (a mutáns allélnek nincs vad típusú domináns párja a genotípusban, aminek legegyszerűbb – de nem kizárólagos – formája, ha a kromoszómapár mindkét tagján a mutáns allél található), és
2. a gén **autoszomán** (1 – 22-es kromoszóma) vagy **nemi kromoszómá**n (X, ill. Y kromoszóma) helyezkedik-e el.

Különbséget kell tennünk az X és Y **szinténia** (a gén fizikailag az X vagy az Y kromoszómán lokalizálódik; **szintenikus lokusz**ok: egy kromoszómán található lokuszok) és az **X-hez** illetve **Y-hoz kötött öröklődés** között. Az X és az Y nagy részén különböző géneket találunk. Az X-en lévők csak a női gametogenezis során vehetnek részt rekombinációban, mert a nőknek két homológ X kromoszómájuk van. Azonban az X és az Y kromoszóma végein találunk géneket, melyek mindkét kromoszómán jelen vannak, ezt a régiót (régiókat) **pszeudoautoszomális régió**(k)nak nevezzük. A gének ebben a régióban a férfi meiózis során is rekombinálódhatnak, öröklődésüket családfa analízissel nem tudjuk elkülöníteni az autoszomális gének öröklődéstől, vagyis ezek a gének az X és az Y kromoszómán találhatók, de nem X-hez illetve Y-hoz kötött öröklődés jellemző rájuk.

Mindezek alapján megkülönböztetünk autoszomális domináns, autoszomális recesszív (beleértve a pszeudoautoszomális gének öröklődését is), X-hez kötött domináns, X-hez kötött recesszív és Y-hoz kötött öröklődést (mivel egy Y kromoszóma van a férfiakban, vagyis hemizigóták az Y kromoszómán elhelyezkedő gé-

nekre, nem beszélhetünk recesszivitásról vagy dominanciáról). Ha a mitokondriumokban található gének mutációja okoz betegséget, akkor mitokondriális vagy anyai öröklődésről beszélünk. Ez utóbbi nem mendeli szabályokat követ.



5-1. ábra

A családfákon általánosan használt jelölések

Autoszomális és X-hez kötött öröklődés. A hibás génváltozat autoszomán vagy nemi kromoszómán való lokalizációjának meghatározó szerepe van a jelleg megjelenésében. Az autoszomális rendellenességek általában egyenlő arányban és mértékben érintenek nőket és férfiakat (kivéve a nemre korlátozott jellegeket). X-hez kötött öröklődés esetén ez nem így van. A férfiak csak egy, az anyától örökölt X kromoszómával rendelkeznek (hemizigóták az X-hez kötött génekre), vagyis nem lehetnek heterozigóták, míg a nők igen, mivel két X kromoszómájuk van. A másik fontos dolog, hogy a nőkben az X-hez kötött gének legtöbbje csak az egyik

X kromoszómáról fejeződik ki – véletlenszerűen – minden sejtben, kompenzálva a nőkben a férfiakhoz képest – e tekintetben – kétszeres dózisban jelenlévő génmennyiséget. (L. az X inaktiváció jelenségét, a Barr-test képződést.)

Domináns és recesszív öröklődés. Elöljáróban meg kell jegyeznünk, hogy a köznyelvben elterjedt a „domináns-recesszív öröklődés" megjelölés. Ez súlyosan hibás, félrevezető! Vagy egyik, vagy másik, a fenotípus definíciója szerint. **Recesszív öröklődés.** Egy fenotípus akkor recesszív, ha csak a homozigótákban jelenik meg (illetve X-hez kötött öröklődésnél a hemizigóta férfiakban is), de a heterozigótákban nem. A recesszív rendellenességek többsége olyan mutációk miatt jön létre, melyek csökkentik vagy megszüntetik az adott gén termékének működőképességét. Ezek az úgynevezett ***loss of function*** **(LOF)** vagyis **funkcióvesztéses** mutációk. Sok betegség amiatt alakul ki, hogy egy mutáció érinti vagy akár meg is szünteti egy enzim funkcióját, ha homozigóta állapotban jelentkezik. Heterozigótákban az egyetlen működőképes allélről általában a normál fiziológiai funkció ellátásához elegendő enzim (a homozigóta vad típusúakban termelt enzim mennyiségének kb. a fele) termelődik, vagyis nem alakul ki hiányállapotú betegség. A compound heterozigótaság fogalmát fentebb már említettük, alább még visszatérünk rá. Ebben két, molekulárisan különböző allél hoz létre recesszív fenotípust. Úgy tűnik fel, recesszív kórállapotok esetén ez a gyakoribb forma.

Domináns öröklődés. Ha a mutáns allél hatása mind homozigótákban, mind heterozigótákban megjelenik, akkor domináns öröklődésről beszélünk. Kóros fenotípusokat tekintve a domináns rendellenességek attól függetlenül jelennek meg, hogy van-e egyáltalán normál géntermék. Egy **tisztán domináns** jelleg esetén a mutáns allére homo- és heterozigóták általában egyforma tüneteket mutatnak.

Gyakran tapasztaljuk, hogy a lokuszon jelenlévő mindkét különböző allél hatása megjelenik a fenotípusban, ilyenkor az alléleket **kodominánsn**ak nevezzük (pl. AB0 vércsoportrendszerben az I^A és I^B). Még gyakoribb azonban, hogy a domináns rendellenességek sokkal súlyosabb tünetekkel jelennek meg a homozigótákban, mint a heterozigótákban. Ebben az esetben beszélhetünk **inkomplett (nem teljes) dominanciá**ról vagy **szemidominanciá**ról.

Szigorúan véve a fenotípus és nem az allél öröklődése a domináns vagy a recesszív. Mégis az alléleket is szokás recesszívnek vagy dominánsnak nevezni az alapján, hogy csak homozigóta vagy heterozigóta formában is kialakítják-e a rájuk jellemző fenotípust. Mint a fentiekből kitűnt, az X kromoszómán elhelyezkedő gének esetében egy gén domináns vagy recessziv voltának kérdése csakis nőkben dönthető el.

Az öröklődés mintázatát érintő tényezők

Penetrancia és expresszivitás. Sok genetikai állapot élesen elkülönül a családokon belül, vagyis a rendellenes fenotípus könnyen megkülönböztethető a normáltól. De előfordul, hogy valakiben annak ellenére nem jelenik meg a rendellenesség, hogy ugyanolyan genotípussal rendelkezik, mint más, a tüneteket mutató családtagja. Más esetekben a vonatkozó fenotípus megjelenése nagyon változatos

lehet magát az alapjelenséget vizsgálva (polimorfizmus), a klinikai súlyosság, a tünetek kombinációja és a megjelenés időpontja tekintetében. Egy kórosnak minősülő genotípus fenotípusos kifejeződését befolyásolhatja más lokusz genotípusa, az öregedés, valamint belső vagy külső környezeti hatás (megbetegedés, afiziológiás állapot, egyebek). Ezek a csökkent penetrancia vagy változó expresszivitás formájában jelentkező kifejeződésbeli eltérések sokszor nehézséget okoznak a diagnózisban vagy az öröklődés miként jének megállapításában.

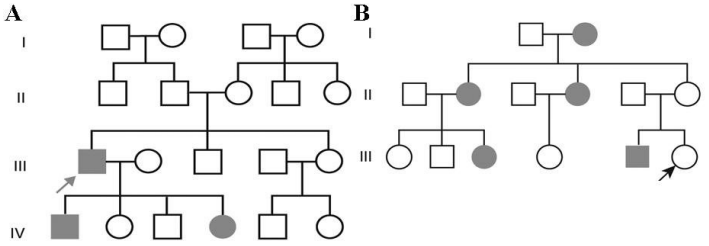
A **penetrancia** annak a valószínűsége, hogy adott genotípusnak lesz-e egyáltalán fenotípusos megjelenése. Ha egy genotípus kifejeződési valószínűsége kisebb, mint 100%, vagyis lesznek olyanok, akikben a genotípus hatása egyáltalán nem jelenik meg, akkor **csökkent penetranciá**ról beszélünk. A penetrancia „minden-vagy-semmi" elvet követ, azoknak az egyéneknek a százalékos arányát adja meg, akik a szükséges genotípussal rendelkeznek a jelleg kialakulásához, de nem mutatják azt (= 0 expresszivitás), ill. akikben a jelleg – igen kis mértékben – valóban meg is jelenik (erősen csökkent expresszivitás).

Az **expresszivitás** a fenotípus kifejeződésének mértékét jelenti olyan egyénekben, akik ugyanannak a jellegnek a kialakulását lehetővé tevő genotípussal rendelkeznek. Ha az azonos genotípussal rendelkező egyénekben különbözik a jellegek kifejeződésének mértéke, akkor a fenotípus **változó expresszivitást** mutat. Még édestestvérek esetén is előfordulhat, hogy hiába hordozzák ugyanazt a mutáns allélt, habár lesznek közös tüneteik, de a jelleg más megjelenési jegyei nagyon eltérőek is lehetnek, attól függően, hogy mely szövetek vagy szervek érintettek.

Az imént vázolt problémák demonstrálására álljon itt példaként a *neurofibromatózis* (NF1) és az SHFM (*split-hand/foot malformation* – hasadt kéz és láb rendellenesség) öröklődésének áttekintése. Az NF1 autoszomális domináns öröklésmenetű, mely az idegrendszert, a szemet, és a bőrt érinti. Etnikai hovatartozástól függetlenül kb. minden 3500 élveszületésre jut egy eset. A megjelenés **pleiotróp**, mivel a tünetek igen sokféleképpen jelenhetnek meg, és számos szervet érinthetnek (neurofibrómák – jóindulatú húsos bőrdaganatok, *café au lait* – tejeskávé – foltok a bőrön, Lisch-csomóknak nevezett hamartomák – kis jóindulatú tumor – az íriszen, ritkábban mentális retardáció, központi idegrendszeri daganatok, diffúz plexiform – szétterjedt hálózatos – neurofibromák, rákos elváltozások az idegrendszerben és az izmokban). Habár a heterozigóta felnőttekben mindig megjelenik valamilyen tünet (vagyis a penetrancia 100%-os), de néhányuknak csak tejeskávé foltjai vannak és Lisch-csomói, míg másokban súlyos, az életet veszélyeztető tumorok fejlődnek ki, vagyis a betegség expressziója variábilis. Ráadásul a tünetek fokozatosan jelennek meg, az érintett újszülöttek kevesebb mint felében találunk akár olyan apró tüneteket is, mint a tejeskávé foltok, vagyis a penetrancia korfüggő.

Az *NF1* génben számos mutációt azonosítottak, melyek mindegyike a géntermék, a neurofibromin működőképességének elvesztéséhez vezet. A teljes allél hiánya által okozott rendellenes jellegeken, mentális retardáción és a gyermekkori neurofibrómák megnövekedett számán kívül nem találtak összefüggést az adott mutáns allél és a betegség súlyossága között. A mutációk kb. fele nem öröklött, hanem újonnan (*de novo*) jön létre (5-2. ábra, A panel). Ebben az esetben a beteg (jövendő) testvéreiben nem fog kialakulni a betegség, míg öröklött mutáns allél

esetén a testvéreknek 1/2 (50%) az esélyük, hogy szintén betegek legyenek (ha az egyik szülő heterozigóta), illetve hogy nem.



5-2. ábra

Az öröklődés mintázatát befolyásoló faktorok megnyilvánulása családfákon

A: Neurofibromatózis (NF1) öröklődése. A nyíllal jelölt probandban (III/1) valószínűleg új mutáció jelent meg, mivel szülei és nagyszülei egészségesek. **B:** Hasadt kéz és láb rendellenesség (SHFM) öröklődése. A konzultációt kérő proband (III/6) édesanyjában (II/6) csökkent penetrancia miatt nem jelent meg a jelleg, holott heterozigóta, hiszen beteg gyermeke született (III/5).

Az SHFM-et több gén mutációja is okozhatja (**lokusz heterogenitás**), a legtöbb csökkent penetranciájú autoszomális domináns öröklésmenetet mutat. A penetrancia kb. 70%-os, ami azt jelenti, hogy a mutáns allélt hordozó egyének 30%-ában semmiféle tünet sem észlelhető, de gyermekükben, ha örököli a mutáns allélt, megjelenhetnek a tünetek (rákolló-szerű rendellenesen fejlődött kéz és láb), vagyis a családfán generációátugrást tapasztalunk (5-2. ábra, B panel).

Életkor a tünetek jelentkezésekor (manifesztációs életkor)

Az örökletes rendellenességek kifejeződhetnek bármely életkorban. Vannak olyanok, melyek hatása már prenatálisan jelentkezik, ezek lehetnek letálisak, vagy a normális magzati fejlődést megzavarók, de az élettel összeegyeztethetők. Ez utóbbiakat akár ultrahangos vizsgálattal diagnosztizálhatják is, de vannak olyan rendellenességek, melyek csak a születéskor válnak észlelhetővé (**kongenitális – veleszületett – rendellenességek**: lehetnek génikus eredetűek, de nem feltétlenül azok). Ha egy mutáció összeegyeztethetetlen a magzati fejlődéssel, akkor a családok vizsgálatakor az ilyen mutációkra egyedül a vetélések viszonylag nagy száma illetve a csökkent fertilitás (nemzőképesség) utalhat. Ezzel szemben a késői megjelenésű domináns rendellenességek esetén a mutáns allélt hordozó személyben csak későn, alkalmasint gyermekvállalás után jelenhetnek meg a tünetek. Az is előfordulhat, hogy egy ilyen személy meghal, mielőtt a tünetek kialakulnának, és mivel hordozó gyermekei is tünetmentesek, úgy tűnhet, hogy a család vagy a család ezen ága mentes a betegségtől.

Más, az öröklődés mintázatát befolyásoló tényezők

Számos olyan tényezőt ismerünk, mely megnehezítheti egy herediter rendellenesség öröklésmenetének tisztázását. Ilyen lehet a fentiekben tárgyalt csökkent

penetrancia vagy a változó expresszivitás. Sokszor más gének vagy a környezet befolyásolja egy gén kifejeződését. Előfordulhat, hogy egy adott genotípussal rendelkező embrió vagy magzat spontán vetélés áldozata lesz. Lehetséges, hogy nem áll rendelkezésre pontos adat a rendellenesség előfordulásáról a rokonság körében, vagy éppen a családi kapcsolatokról nem rendelkezünk kielégítő információkkal. Egy új mutáció kialakulása hozzájárulhat egy domináns és/vagy X-hez kötött betegség megjelenéséhez. Végezetül a fejlett országokban szokásos kis családok is megnehezítik az öröklésmenet tisztázását, hiszen a proband jó eséllyel az egyetlen érintett személy a családjában. (És, ne dugjuk homokba a fejünket[!]: egyes esetekben kérdéses lehet az apaság. Nem csak a XXÍ. században, hanem korábban is.)

A genotípus és a fenotípus megfeleltetése

Egy monolokuszosnak tűnő örökletes betegség analízisekor kiderülhet, hogy genetikailag valójában heterogén; ilyenkor a rendellenesség fogalmához több hasonló fenotípus tartozik, melyek mindegyikét különböző lokuszokon található különböző genotípusok határozzák meg. **Genetikai heterogenitást** eredményezhetnek különböző mutációk ugyanazon a lokuszon (**allélikus heterogenitás**), mutációk különböző lokuszokon (**lokusz heterogenitás**) esetleg a kettő kombinációja. Másrészről ugyanannak a génnek különböző családokban öröklődő eltérő mutáns alléljei eltérő fenotípusokat alakíthatnak ki. Ezt a jelenséget **klinikai** vagy **fenotípusos heterogenitás**nak nevezzük. Mindez a rendkívül pontos diagnózis szükségességére hívja fel figyelmünket – már a fenotípus szintjén.

Allélikus heterogenitás. Sok lokuszhoz tartozik egynél több mutáns allél; valójában egy adott lokuszon számos mutáció előfordulhat. Például a cisztikus fibrózis konduktancia regulátor (*CFTR*) génen a cisztikus fibrózisos betegek körében világszerte kb. 1400 különböző mutáns allélt azonosítottak. Számos esetben a különböző mutációk klinikailag megkülönböztethetetlen rendellenességekben nyilvánulnak meg, máskor hasonló fenotípust alakítanak ki, de egy folytonos súlyossági eloszlás mentén: például sok *CFTR* mutáció a klasszikus cisztikus fibrózist alakítja ki a betegekben (hasnyálmirigy elégtelenség, folyamatosan súlyosbodó tüdőbetegség, és a *ductus deferens* (ondóvezeték) veleszületett hiánya vagy elzáródása férfiakban, míg más mutáns allélek „csak" tüdőrendellenességet okoznak, vagy a férfi reproduktív rendszer abnormalitását.

Mivel a mutáns allélek általában ritkán fordulnak elő a populációban, ezért a legtöbb autoszomális recesszív betegségben szenvedő ember inkább ***compound* heterozigóta**, mintsem valódi homozigóta recesszív genotípusú. A különböző allélkombinációk különböző klinikai konzekvenciákkal járhatnak, ezért nem szabad elfelejteni, hogy az ugyanazon betegségben szenvedők eltérő tüneteiért felelős lehet az allélikus heterogenitás is. Vannak persze kivételek. Előfordulhat, hogy egy beteg azonos alléleket örökölt rokonságban álló szüleitől, akik ugyanazt a mutáns allélt hordozzák, ami egy közös őstől származott. Az is előfordulhat, hogy a betegségeket ugyanaz az allél alakítja ki egy népességcsoport (pl. etnikai csoport) tagjai között, és ilyenkor a betegek ezen a csoporton belül valódi homozigóták erre az

allélre. Sőt az is előfordul, mint például a sarlósejtes vérszegénységnél, hogy a betegséget csak egy bizonyos mutáns allél alakíthatja ki, ilyenkor nem is beszélhetünk allélikus heterogenitásról. (Ugyanakkor ne feledjük, hogy a számos hemoglobinopátia hátterében különféle, mind nukleotid-, mind aminosav-szinten azonosított mutáns gének állnak.)

Lokusz heterogenitás. Sok fenotípus esetén a családfák vizsgálata elégséges volt a lokusz heterogenitás bizonyításához. Például *retinitis pigmentosa*, egy fotoreceptor degeneráció miatt bekövetkező látás-rendellenesség esetén már régóta ismert volt, hogy autoszomális domináns, autoszomális recesszív és X-hez kötött formái is vannak. Nemrégiben azonban családfavizsgálatokkal kombinált géntérképezés segítségével az is kiderült, hogy legalább 43 lokusz felelős az 5 X-hez kötött, 14 autoszomális domináns és 24 autoszomális recesszív *retinitis pigmentosa* formáért. De ha azokat az eseteket is figyelembe vesszük, amelyekben a *retinitis pigmentosa* más tünetekkel (süketség, mentális retardáció) együtt jelenik meg, akkor közel 70 génikus rendellenességet találunk, melyek ezen betegség kialakulásával járnak együtt.

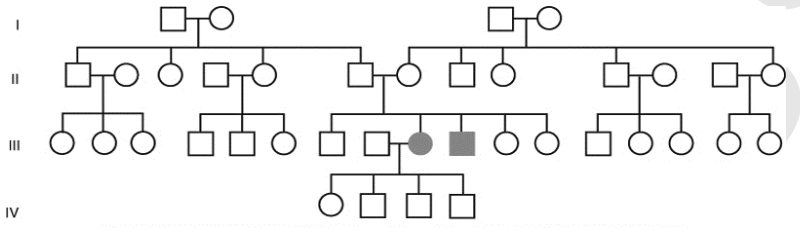
Fenotípusos heterogenitás. Ugyanabban a génben bekövetkező különböző mutációk néha alapvetően eltérő tünetekben nyilvánulhatnak meg. Például a *RET*, egy receptor tirozin kinázt kódoló gén bizonyos funkcióvesztéses mutációi dominánsan öröklődő vastagbél ganglion fejlődési rendellenességet okoznak, mely vastagbél motilitási defektust és krónikus konstipációt (szorulást) okoz (Hirschsprung betegség). Ugyanebben a génben bekövetkező más mutációk a kináz regulálatlan túlműködését okozzák, ami dominánsan öröklődő pajzsmirigy és mellékvese daganatokhoz vezet (multiplex endokrin neoplázia 2A és 2B típusa). A *RET* génben bekövetkező mutációk harmadik csoportja egyszerre okoz Hirschsprung betegséget és multiplex endokrin neopláziát ugyanabban a betegben. Hasonló helyzet figyelhető meg az *LMNA* gén esetén. Ez a gén a lamin A és C fehérje kódolásáért felelős (a kettő ugyanarról a génről íródik át, csak az elsődleges RNS – hnRNS vagy pre-mRNS – más átszabáson megy át), melyek a sejtmaghártya alatt elhelyezkedő és azzal kapcsolatban álló lamin hálózat alkotásában vesznek részt. Az *LMNA* különböző mutációi vagy fél tucat fenotípusosan elkülönülő betegséggel asszociáltak, beleértve az Emery-Dreifuss muszkuláris disztrófiát, egy öröklött dilatációs kardiomiopátiát, a Charcot-Marie-Tooth perifériás miopátia egy formáját, lipodisztrófiát (a normál zsírszövet egyfajta rendellenessége) és a korai öregedés szindrómát, melyet Hutchinson-Gifford progériaként ismerünk.

A mendeli öröklődés autoszomális típusai

***Autoszomális recesszív (AR) öröklődés*. Az autoszomális recesszív jellegek, rendellenességek csak homozigótákban vagy *compound* heterozigótákban nyilvánulnak meg**, vagyis olyan egyénekben, akik csak recesszív (rendellenesség esetén: mutáns) allélekkel rendelkeznek. Az így öröklődő emberi kórképek leggyakrabban enzimdefektusok, hiszen enzimek esetén egy vad típusú allél terméke már elég a normális (domináns) fenotípus létrehozásához, vagyis egy normál allél kompenzálni tudja a mutáns allél hatását, és nem alakul ki a recesszív fenotípus. Mivel egy egyén egy lokusz esetén a két allél közül mindig csak az egyiket örökli az egyik szülőtől, a homozigóta recesszív genotípusúak mindkét szülőtől örököltek

egy-egy mutáns allélt (kivétel az uniparentális – egyszülős – diszómia és ha új mutáció jött létre, bár ez meglehetősen ritka autoszomális recesszív rendellenességek esetén). Mindezeknek megfelelően az AR jellegek és betegségek általában igen korai életszakaszban már felismerhetővé válnak.

Kialakulhat homozigóta recesszív genotípus a heterozigótaság elvesztésekor – **LOH** = ***loss of heterozygosity***: az eredetileg heterozigóta egyén egy vagy több testi sejtjében bekövetkező mutáció vagy deléció miatt az ép allél funkciója is kiesik. A tünetek súlyossága az érintett sejtek számától illetve a gén funkciójától függ, l. pl. az *Rb1* tumorszuppresszor mutációja miatt kialakuló *retinoblastoma*. Az egyén egy ép és egy mutáns allélt örököl (= heterozigóta). A vad típusú allél egyetlen sejtben bekövetkezett mutációja tumor kialakulását eredményezheti, amelyben nem termelődik az Rb tumorszuppresszor fehérje.



5-3. ábra

Autoszomális recesszív öröklésmenet tipikus megjelenése családfán

AZ AR-re jellemző a nemzedékátugrás, azaz a jelleg nem minden generációban jelenik meg. II/6 és II/7 egyaránt heterozigóta kell legyen, mivel két gyermekük (egy leány és egy fiú) is homozigóta recesszív. Az autoszomális öröklődés mellett szól, hogy mindkét nem érintett.

Homozigóta recesszív beteg akkor születik, ha vagy mindkét szülő beteg vagy csak az egyik, és a másik szülő heterozigóta hordozó. A leggyakoribb mégis az, hogy mindkét szülő egészséges heterozigóta. Az első esetben (két beteg szülő) minden utód beteg lesz; egy érintett homozigóta és egy nem beteg heterozigóta hordozó esetén 1/2 az esély beteg gyermek születésére (1 a valószínűsége, hogy recesszív allélt örököl a beteg, 1/2, hogy recesszív allélt örököl a heterozigóta szülőtől, hogy mindkettőtől a recesszív allélt örökli, az $1 \times 1/2$); míg a harmadik esetben, két heterozigóta házasságakor 1/4 (1/2 a valószínűsége, hogy recesszív allélt örököl egy-egy heterozigóta szülőtől, hogy mindkettőtől, annak az esélye $1/2 \times 1/2$). Ritka allélek esetén gyakran egyetlen érintett személy található a családban, ha mégis lenne másik, akkor az általában a testvérei között található (5-3. ábra). A beteg személy egészséges testvérei ilyenkor 2/3 eséllyel heterozigóták, hiszen két heterozigóta egészséges utódai között 1:2 arányban találunk homozigóta dominánsokat és heterozigótákat.

Nem által befolyásolt rendellenességek. Mivel a férfiak és a nők ugyanazokkal az autoszomális készletekkel rendelkeznek, ezért az autoszomális recesszív rendellenességek többnyire azonos gyakorisággal és azonos súlyosságú tünetekkel

jelentkeznek mindkét nemben. Persze előfordulnak kivételek. A hemokromatózis például gyakoribb férfiakban. Ez a vas metabolizmusban tapasztalható rendellenesség az észak-európai népesség kb. 0,5%-ában fordul elő, olyanokban, akik homozigóták a *HFE* gén egy miszszensz mutációjára (Cys282Tyr, vagyis a normál allél által kódolt fehérjében a 282. pozícióban lévő cisztein helyett a mutáció miatt tirozin épül be). Az erre az allélra homozigóták túl sok vasat vesznek fel a táplálékból, és gyakran találunk náluk olyan laborértékeket, melyek arra vezethetők vissza, hogy a szervezetük túl sok vasat tárol, bár igen ritkán alakul ki vasmérgezés, ami a szív, a máj és a hasnyálmirigy súlyos károsodásához vezetne. A nőkben a betegség incidenciája (egy adott időtartam alatt újonnan jelentkező esetek gyakorisága) ötöde-tizede a férfiakban tapasztaltnak, ami egyéb faktorok mellett arra vezethető vissza, hogy a nők kevesebb vasat visznek be táplálékkal a szervezetükbe, kevesebb alkoholt fogyasztanak, és sok vasat veszítenek a menstruáció alatt.

Allélfrekvencia és hordozó frekvencia. A recesszív betegségeket kialakító allélek ritkák, az emberek többségének egy kópiája sincs az ilyenekből. Az adott alléllel rendelkezők között sokkal többen lesznek azok, akikben csak egy recesszív gént találunk, mint azok, akiknek két kópiájuk van, és így betegek. A heterozigóta hordozók esélye, hogy beteg gyermekük születik, azon múlik, hogy a partnerük is heterozigóta-e vagy sem, hiszen egy beteg gyermeknek mindkét szülőtől kapnia kell egy-egy recesszív allélt. Ha tudjuk, hogy a már említett cisztikus fibrózis esetén az európai és amerikai fehérek populációiban minden 2000 gyerek közül 1 beteg (az ázsiai populációkban a betegség gyakorlatilag nincs jelen, az afroamerikaiak között pedig nagyon ritka), akkor – a 12. fejezetben leírt módon – kiszámolható, hogy a recesszív allél gyakorisága 1/29, és hogy a recesszív allélek 98%-a heterozigótákban van jelen, és csak 2%-a található betegekben.

Rokonházasság. Mivel a recesszív gének főleg heterozigótákban vannak jelen, ezért számos generáción adódhatnak át a családokban anélkül, hogy homozigóta formában megjelennének, és betegséget alakítanának ki. Az ilyen megbúvó recesszív allélek jelenléte egészen addig nem szokott kiderülni, míg egy hordozó házasságot nem köt valakivel, aki ugyanazon a lokuszon szintén hordoz egy recesszív allélt, és gyermekük mindkettőjüktől a hibás allélt nem örökli. Becslések szerint mindenki legalább 8-10 lokuszon hordoz mutáns allélt, melyek fele homozigóta formában még a megszületés előtt halált okoz. A másik fele homozigóta formában jól felismerhető autoszomális recesszív betegségekhez vezet. Ez persze csak egy minimális becslés, mely nem veszi figyelembe azokat mutáns alléleket, melyek más lokuszokon található mutáns allélekkel kölcsönhatva fejtik ki hatásukat (valamint **pleiotrópia**, ill. **poligénes öröklődés**).

Annak az esélye, hogy mindkét szülő ugyanazon a lokuszon hordoz recesszív allélt, lényegesen megnő, ha rokonok, és mindketten egy közös ősüktől örökölték a mutáns allélt. Ha a rokonsági fok másod-unokatestvéri (vagy még közelebbi), akkor **rokonházasság**ról beszélünk. (A legközelebbi rokoni kapcsolatból származó gyermeket vérfertőzésből születettnek mondják. Az incesztust a törvények a világ minden táján szigorúan tiltják.) Ha egy érintett személy szülei rokonok, akkor ez

ugyan nem bizonyíték, de komolyan felveti a jelleg autoszomális recesszív öröklésmenetének gondolatát. Az elsőfokú unokatestvérek közötti rokonházasság körülbelül megduplázza (2-3%-ról 3-5%-ra növeli) annak esélyét, hogy a gyermek bármilyen rendellenességgel szülessen (beleértve az autoszomális recesszív rendellenességeket, a halva születést, újszülöttkori elhalálozást és minden egyéb fejlődési rendellenességet). A harmadfokú unokatestvérek házassága már semmiféle kockázatnövekedést nem jelent. Azt is meg kell jegyeznünk, hogy az esetek többségében nem rokonházasság miatt születnek autoszomális recsszív rendellenességgel gyerekek. Ha egy mutáns allél gyakorisága elég magas egy populációban (mint pl. a cisztikus fibrózis esetében), akkor a beteg szülei általában nem rokonai egymásnak. De az igazán ritka betegségek, mint pl. a DNS excíziós repair hibája miatt kialakuló *xeroderma pigmentosum* esetén, többnyire rokonházasság áll a betegség megjelenésének hátterében (a *xeroderma pigmentosum* esetében az érintettek több mint 20%-a elsőfokú unokatestvérek házasságából született).

Rokonsági fok mérése. A vérrokonság fokát a **beltenyésztési koefficiens**sel (beltenyésztési együttható, jele: F) mérjük. Ez annak a valószínűségét adja meg, hogy egy homozigóta mindkét alléjét egy közös őstől örökölte. Megadhatja a lokuszok részarányát is, melyekre a személy úgy homozigóta, hogy az alléleket ugyanattól az őstől örökölte, ezt **leszármazási azonosság**nak nevezzük. A beltenyésztési koefficiens a közös allélek részarányának a négyzete. A közös allélek részarányát a rokonsági fok segítségével számoljuk: $(1/2)^r$, ahol r = a rokonsági fok (az utódot a közös őstől elválasztó generációk száma). Ha például egy A_1A_2 és egy A_3A_4 genotípusú házaspár különböző szülőktől született unokái összeházasodnak és gyerekük születik, akkor bármely allél az A lokuszon (tehát A_1, A_2, A_3, A_4) $1/8 \times 1/8 = 1/64$ eséllyel jelenik meg homozigóta formában ebben a gyermekben, vagyis a gyerek esélye, hogy bármelyik allélra homozigóta legyen $4 \times 1/64 = 1/16$. Ha egy személy több leszármazási vonalon keresztül is beltenyészett, akkor a külön számított koefficienseket összeadjuk, hogy a teljes beltenyésztési együtthatót megkapjuk.

Beltenyészés. A beltenyészés – emberben – azt a helyzetet jellemzi, melyben egy kis populációt alkotó személyek kulturális, földrajzi vagy vallási okokból ugyanabból a populációból választanak párt maguknak. Ilyenkor a házasulók hiába tudják úgy, hogy ők nem rokonok, az előző generációkban lehettek közös őseik. Tehát, csakúgy, mint a rokonházasságnál, a beltenyészés is megnöveli annak esélyét, hogy egy személy homozigóta lesz egy lokuszra, mivel az alléleket ugyanattól az őstől örökli. Vagyis nem csak a rokonházasságokat kell figyelembe vennünk egy család vizsgálatánál, hanem azt is, hogy az ősök milyen földrajzi régióból származtak, főleg, ha egy genetikai tanácsot kérő pár azonos etnikai, földrajzi vagy vallási csoportbeli eredettel rendelkezik. Ebben az esetben is meg tudunk állapítani beltenyészési együtthatót egy populáció egyedeire, még akkor is, ha nincs tudomásuk rokonságról.

Habár megkülönböztetjük a családon belüli rokonházasságot és az azonos populációból, etnikai csoportból származó nem rokon egyedek között megjelenő

beltenyészést, mindkettő megnöveli annak az esélyét, hogy egy azonos autoszomális recesszív rendellenesség alléljére heterozigóta hordozók házasodjanak össze.

Genetikai izolátumokban megjelenő ritka recesszív rendellenességek. Vannak olyan kis csoportok, ahol bizonyos ritka recesszív allélek gyakorisága nagyobb, mint egy átlagos populációban. Az ilyen csoportok, az úgynevezett genetikai izolátumok földrajzi, vallási vagy nyelvi akadályok miatt lehettek, lehetnek elszeparálva szomszédjaiktól. Ezekben a csoportokban az esély arra, hogy ugyanannak a rendellenességnek a recesszív alléját hordozó két heterozigóta házasodik össze, éppoly nagy, mint unokatestvérek házassága esetén.

A Tay-Sachs betegség neurológiai degeneratív betegség. (GM_2 gangliozidózis, a hexózaminidáz A enzim hiánya miatt főként az idegsejtek lizoszómáiban az elbontatlan gangliozidok felszaporodnak – lizoszómális tárolási betegség.) A gyermekek megvakulnak, szellemi és fizikai képességeik visszafejlődnek. Kora gyermekkorban halálhoz vezet. Az észak-amerikai ashkenázi (a középkorban a Rajna vidékén élt [de onnan más területre elköltözött, majd kivándorolt], a jiddist annakidején anyanyelvként beszélő) zsidók között ez a betegség 100× gyakoribb (1/3600), mint bármely más európai ősökkel rendelkező amerikai népcsoport esetén. Ez azért fordulhat elő, mert az ashkenázi zsidók között a Tay-Sachs hordozók aránya 1/30, vagyis 10× magasabb, mint a nem ashkenázi zsidó európaiak között. Mivel a recesszív allél gyakorisága magas, ezért egy Tay-Sachs beteg szülei többnyire nem rokonai egymásnak ebben a népcsoportban. Ezzel szemben, ha egy populációban a mutáns allél gyakorisága alacsony, akkor a betegség megjelenésének oka általában a rokonházasság, mint például a québeci kanadai Tay-Sachs betegek francia felmenőkkel rendelkező szülei között.

Autoszomális recesszív rendellenességet okozó új mutációk megjelenése. Ha egy gyerek autoszomális recesszív betegségben szenved, akkor a leggyakoribb feltételezés az, hogy mindkét szülője heterozigóta hordozó. Természetesen a gaméták képződésekor mindig keletkezhetnek új mutációk. Elképzelhető olyan eset is, hogy csak az egyik szülő hordozó, a másik szülő gamétájában pedig újonnan jött létre egy mutáció, ennek az esélye 10^{-5} – 10^{-6} közé esik, ami 1000× kisebb, mint hogy ez a szülő is heterozigóta volt eredetileg (1/20 – 1/1000). Vagyis az autoszomális recesszív rendellenességek esetében (ellentétben az autoszomális domináns vagy X-hez kötött betegségekkel) a mutációk szerepe elhanyagolható a betegség kialakulásában.

Az autoszomális recesszív (AR) öröklésmenet jellemzői – összefoglalás

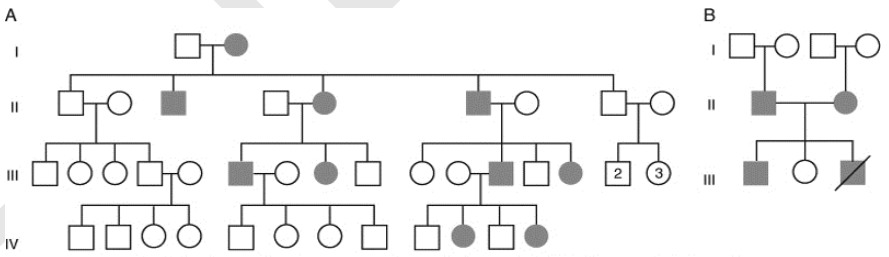
- Az autoszomális recesszív fenotípus, ha több egyedben is megjelenik a családfán, akkor tipikusan a proband testvérei között; a szülőkben, utódokban vagy más rokonok között nem. Azaz nemzedékátugrás figyelhető meg.
- A legtöbb autoszomális recesszív rendellenesség esetén a férfiak és a nők egyenlő eséllyel érintettek.
- A beteg szülei – az esetek túlnyomó többségében – a mutáns allél tünetmentes heterozigóta hordozói.
- Előfordulhat, hogy a beteg szülei rokonok. Ez különösen akkor valószínű, ha a recesszív allél különben ritka az adott populációban.
- A betegség újbóli megjelenésének esélye a beteg testvérei között 1/4.

- Az érintett beteg egészséges testvérének esélye, hogy hordozó 2/3, hogy nincs meg benne a hibás allél 1/3.

Autoszomális domináns (AD) öröklődés

A humángenetikai példatár hajlamos a kóros formákra koncentrálni, és megfeledkezni arról, vajon a barna szemszín domináns-e a kékkel szemben, vagy fordítva. (A barna, de az öröklődés nem ilyen egyszerű.) Arról meg különösen kevés szó esik e lapokon, hogy a házi kedvencek, mondjuk a különböző fajta kutyák, macskák stb. és haszonállataink szőrzetszíne hogyan öröklődik, és milyen génikus meghatározottságú pl. a rózsák szirmainak, vagy a *Drosophila melanogaster* szemének a színe[21].

A fentiekben általában recesszív rendellenességekről, betegségekről szóltunk. Ezek vad típusú, normál, egészséges megfelelői – értelemszerűen – dominánsak. Ha autoszomális domináns jellegekről, rendellenességekről beszélünk, azok párjai, normál megfelelői recesszív bélyegek. Az emberi mendeli rendellenességek (vagy éppen más emlősök herediter rendellenességei) több mint fele autoszomális domináns módon öröklődik. Sok ilyen betegség, kórállapot ritka, de vannak olyanok, melyek egy-egy populációban meglehetősen magas incidenciával bírnak, mint például a familiáris hiperkoleszterinémia az európai és japán populációban 1/500, vagy a *Huntington chorea*, a neurofibromatózis, policisztás vesebetegség – szintén európai populációkban – 1/2500 - 1/3000. Így összességében az autoszomális domináns betegségek incidenciája mégiscsak jelentős, és ezt tovább növeli, hogy ha egy családban felbukkan egy ilyen rendellenesség, az általában nem egy egyént, hanem a család egész ágát érintheti, nemzedékkihagyás nélkül, akár generációkon át (5-4. ábra, A panel).



5-4. ábra

Autoszomális domináns öröklésmenetű rendellenességek megjelenése családfákon

A. Egy teljes penetranciájú jelleg, a progresszív szenzorineurális süketség egy változatának (*DFNA1*) öröklődése. **B.** Akondroplasztikus törpeség öröklődése. Az I. generációban a házaspárok tagjai tünetmentesek, mindkét esetben új mutáció következtében jelenhetett meg a rendellenesség (mivel az akondroplázia teljes penetranciájú). A II/1, II/2 és III/1 heterozigóta akondropláziás törpe. A III/3 korán elhalálozott, minden bizonnyal a homozigóta domináns genotípusa által okozott súlyos

[21] Pedig a calico macska, ill. piros szemű muslica kedvelt vizsgakérdések – a szerk.

rendellenességek miatt. (Ebben az értelemben a jelleg szemidominánsnak tekinthető, ami nem ritka a súlyos elváltozású domináns kórformák esetén.)

Az orvosi gyakorlatban nagyon ritkán találkozni homozigóta domináns genotípusú egyénekkel, mert a házasságok, melyek esetén ilyen gyerekek születhetnének, meglehetősen ritkák. Ehhez mindkét szülőnek jelleghordozónak kell lennie (ha *D* a domináns és *d* a recesszív allél, akkor a következő házasságokból születhet homozigóta domináns utód: *Dd* × *Dd*, 1/4 valószínűséggel; *DD* × *Dd*, 1/2 eséllyel; *DD* × *DD*, 100% bizonyossággal). Ha csak az egyik szülő érintett, a másik, egészséges szülő gamétájában új mutációnak kell keletkeznie, ami rendkívül kis valószínűségű. Sokszor a homozigóta domináns genotípusú egyedek olyan súlyos tünetektől szenvednek, hogy utóduk nem is lehet (fitneszük 0), vagyis igazi jelentősége csak két heterozigóta házasságának van. Ilyenkor a gyerekek 1/4-e *DD*, 1/2-e *Dd*, 1/4-e *dd* genotípusú, vagyis 3/4-ük mutat a szülőkhöz hasonló (esetleg a beteg gyerekek 1/3-át képviselő homozigóta domináns utódok súlyosabb) tüneteket. Inkomplett dominancia esetén a homozigóta domináns utódok tünetei sokkal súlyosabbak is lehetnek, mint a szülőké vagy a heterozigóta testvéreké. A leggyakoribb az az eset, amelyben az egyik szülő egészséges, homozigóta recesszív (*dd*) genotípusú, a másik pedig heterozigóta, ilyenkor a gyerekek fele egészséges, fele heterozigóta érintett. Tisztán domináns betegséget meglehetősen nehéz találni. Például a *Huntington chorea*-t tisztán domináns betegségnek tartják, mivel a homozigóta dominánsok és a heterozigóták tünetei és a tünetek súlyossága megegyezik, mégis megfigyelhető, hogy a homozigóta domináns egyénekben a tünetek megjelenésétől a beteg haláláig kevesebb idő telik el.

Inkomplett (nem teljes) domináns öröklődés. Az akondroplasztikus törpeség jól ismert, inkomplett (szemi-)domináns módon öröklődő rendellenesség, mely a csontváz fejlődését érinti elsősorban. A betegség rövid végtagok és nagy koponya fejlődésével jár együtt, az intelligencia normális, az egyének élete is – bizonyos, a testméretből következő nehézségektől eltekintve – normális. Nem ritka, hogy két akondroplasztikus törpe köt házasságot (pl. liliputi színházak tagjai). Ilyenkor a homozigóta domináns gyerekek pusztán klinikai tünetek alapján azonosíthatók, mivel az akondropláziát okozó alléra homozigóta egyének tünetei sokkal súlyosabbak, és többnyire röviddel születésük után vagy még méhen belül elhalnak (5-4. ábra, B panel).

Egy másik példa az inkomplett dominanciára a familiáris hiperkoleszterinémia, (LDL-receptor defekt) melynek legsúlyosabb következménye a fiatalkori koszorúér betegség. A ritkán előforduló homozigóta domináns genotípusú betegek tünetei sokkal súlyosabbak, hamarabb jelennek meg, és élettartamuk is sokkal rövidebb, mint a viszonylag gyakori heterozigótáké.

Autoszomális domináns rendellenességet okozó új mutációk megjelenése

Egy tipikus autoszomális domináns rendellenesség esetében egy érintett személy legalább egyik szülője szintén érintett, ennek a beteg szülőnek a szüleje úgyszintén, és ez igaz végig a generációk során, generáció átugrás nélkül, ameddig

csak a családban visszakövethető a rendellenesség, vagy a betegséget okozó mutáció megjelent a családban. Ez az X-hez kötött domináns rendellenességekre is igaz. Valójában az orvosi jelentőségű domináns rendellenességek többségénél nem csak az okozhatja a rendellenességet, hogy a gyermek örököl egy mutáns allélt a szintén érintett szülőjétől, hanem úgy is, hogy egészséges, homozigóta recesszív szülőtől a gamétában egy új mutációval keletkezett mutáns domináns allélt örököl. Ez azért fordulhat elő, mert a domináns rendellenességek kialakulásához elég, ha a lokuszon csak az egyik allél hibás, legyen bár ez egy heterozigóta szülőtől örökölt, vagy egy egészséges szülő gamétájában újonnan keletkezett mutáns allél. Különleges esetet képviselnek a **domináns negatív mutáció** miatt kialakuló rendellenességek (pl. az ún. ioncsatorna-betegségek). Ilyenekben a mutáns allél génterméke vetélkedik az ép allél termékével, akadályozva annak funkcióját. Hatása heterozigóta formában is >50% funkcióromlás. Pl.: torz fehérje keletkezik, amely dimert alkotva a normál fehérjével tönkreteszi annak működését/hatását (l. p53 tumorszuppresszor)[22].

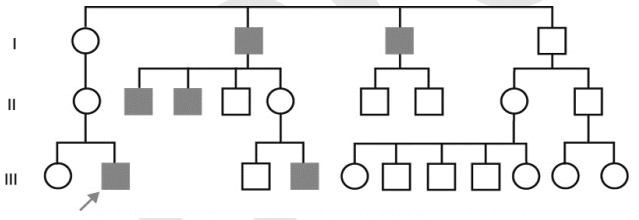
Az autoszomális domináns rendellenességeket kialakító új mutációk és a fitnesz között fennálló kapcsolat. Ha egy új mutáció megjelent, akkor a populációban való fennmaradása a hordozó fitneszétől függ, vagyis hogy az erre a mutáns allélre heterozigóta személy milyen sikerrel hagy utódokat. Fordított arányosság áll fenn a fitnesz és az egyének aránya között, akik a rendellenes allélt új mutáció keletkezése miatt és nem egy heterozigóta szülőtől örökölték. Az egyik szélsőséges eset: a fitnesz 0. Az ilyen betegeknek sosem születik (életképes) utóduk, és a betegséget **genetikai okok miatti letális**nak, röviden **génikusan letális**nak nevezzük. Ennek megfelelően minden autoszomális génikus ok miatt letális betegség új mutáció miatt kell, hogy kialakuljon. Az érintett személyek izolált esetekként tűnnek fel a családfákon. A másik szélsőséges eset, hogy az autoszomális domináns betegség fitnesze látszólag teljesen normális vagy azért, mert a betegség késői megjelenésű, vagy azért, mert olyan enyhe tünetekkel jár, melyek nem érintik a reprodukciót. Ha a fitnesz normális, akkor a betegség nagyon ritkán jelenik meg új mutáció következtében, az egyének inkább öröklik a rendellenességet, mintsem új mutáns alléljük legyen, és a családfákon általában több érintett személyt találunk, egyértelmű autoszomális domináns öröklődésre jellemző mintázatot mutatva. (Ne felejtsük ugyanakkor: az emberi reproduktivitás sok egyéb tényezőtől is függ.)

Nemre korlátozott fenotípus az autoszomális domináns rendellenességek esetén. Hasonlóan az autoszomális recesszív rendellenességek között megemlített hemokromatózishoz, az autoszomális domináns rendellenességek között is akadnak olyanok, melyeknél az érintett személyek nemi aránya eltér a várt 50 - 50%-tól. Szélsőséges eltérést tapasztalunk az olyan, ún. **nemre korlátozódó rendellenesség**ek esetén, melyek autoszomális öröklődésűek, de csak az egyik nemben jelennek meg. Egy példa: a férfiakra korlátozódó korai pubertás (pubertas praecox, familiáris testotoxicosis), mely autoszomális domináns öröklődésű, az érintett fiúk másod-

[22] Leírtak olyan eseteket is, amelyekben egy vad típusú gén által meghatározott normál fehérje funkcióját egy virális proteinnel való kölcsönhatás szüntette meg.

lagos nemi jellegei 4-5 éves korukra kialakulnak, és kamaszokra jellemző hirtelen magasságnövekedést figyelhetünk meg náluk már ebben az életkorban. Az epifízisek záródása, azaz a hosszú csöves csontok növekedése hamar befejeződik, így felnőtt korukban ezek a férfiak viszonylag alacsonyak lesznek. Néhány családban a betegség kialakulását a luteinizáló hormon receptorának génjében (*LHCGR*) megjelenő mutációval hozták összefüggésbe, mely a receptor szignalizációs aktivitásának konstitutív (folyamatos, állandó) aktiválását okozza a hormon hiányában is. A rendellenesség nem jelenik meg heterozigóta nőkben. Habár a betegséget egészséges heterozigóta nők is továbbadhatják, mivel esetenként apáról fiúra történő öröklődést is megfigyelhetünk, ezért ez a rendellenesség nem lehet X-hez kötött (5-5. ábra).

A férfiak, akik esetében az aktiváló *LHCGR* mutáció miatt korai pubertás alakult ki, normális fertilitással rendelkeznek, azért is ismert számos sokgenerációs családfa ezzel a rendellenességgel. Azonban az olyan fenotípusos jegyek esetében, amelyek mellett a férfiaknak nem lehet utóduk, nem is olyan egyszerű elkülöníteni a nemre korlátozódó autoszomális öröklődést az X-hez kötöttől, mivel ilyenkor nem tapasztalható a kritikus megkülönböztető jegy, az apáról fiúra való öröklődés lehetősége autoszomális átadásban. Az ilyen esetekben más eszközökre, például a géntérképezésére van szükség, hogy megállapítsuk a gén lokalizációját (autoszomális vagy az X-en helyezkedik-e el) és így a következményes megjelenési kockázatot.



5-5. ábra

A férfiakra korlátozódó autoszomális domináns korai pubertás (familiáris testotoxicosis) öröklődése

Az ábrán egy nagyobb családfa jellemző részlete látható. A jelleg (tünetmentes) heterozigóta nőkön vagy érintett férfiakon keresztül öröklődik, tehát sem Y-hoz, sem X-hez kötött nem lehet.

Az autoszomális domináns (AD) öröklésmenet jellemzői – összefoglalás

- A jelleg általában minden generációban megjelenik, minden érintett egyénnek van érintett szülője.
  A szabály alóli kivételt vagy látszólagos kivételt jelentenek az olyan esetek, amelyekben *(1)* a rendellenesség egy fenotípusosan egészséges szülő ivarsejtjében fellépő új mutáció miatt alakul ki, vagy *(2)* ha a rendellenesség nem jelenik meg (nem teljes penetranciájú) vagy csak nagyon enyhe tüneteket pro-

dukál a mutáns allélt öröklő egyénben. (Ez hibás, hiányos diagnózishoz vezethet.)

- Egy érintett szülő minden gyerekének 50% esélye van arra, hogy örökölje a rendellenességet.
  Ez teljesül a legtöbb család esetében, amikor a másik szülő fenotípusosan nem jelleghordozó. Mivel statisztikailag minden egyes családtag egy független esemény „eredménye", ezért egy családban a várt 1:1 aránytól igen nagy eltéréseket is tapasztalhatunk a véletlenszerűség miatt.
- A fenotípusosan egészséges családtagok nem örökítik a jelleget gyermekeikre.
  Egy generációban a penetrancia hiánya vagy gyenge expresszió miatt tűnhet úgy, mintha ez nem mindig lenne így.
- A férfiak és nők egyenlő arányban örökítik a jelleget mindkét nembeli gyermekeikre. Vagyis apáról fiúra öröklődhet a jelleg, és érintett férfiaknak lehet egészséges lányuk.
- Az izolált esetek jelentős része új mutáció miatt alakul ki. Minél alacsonyabb fitnesszel jár együtt a rendellenesség, annál nagyobb az aránya azoknak az eseteknek, melyek új mutáció miatt jelentek meg.
- Az AD öröklődésű rendellenességek általában strukturálisak. (Pl. arachnodaktília [nagyon hosszú ujjak] és diszlokált szemlencse a Marfan szindrómában.)

X-hez kötött öröklődés

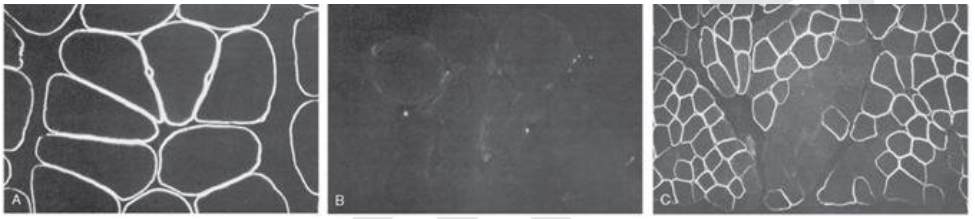
Az X kromoszómán lévő gének által meghatározott jellegek karakterisztikus nemi megoszlást és könnyen meghatározható öröklődési mintázatot mutatnak. Körülbelül 1300 gén helyezkedik el az X-kromoszómán, melyek kb. 40%-a asszociált (hozható kapcsolatba) valamilyen rendellenes fenotípussal.

Mivel a férfiak egy, a nők pedig két X-kromoszómával rendelkeznek, ezért a férfiakban két, a nőkben három lehetséges genotípus alakulhat ki egy X-kromoszomális lokuszon elhelyezkedő mutáns allél tekintetében. Egy férfi, aki ilyennel rendelkezik, hemizigóta erre az allélre, míg a nők lehetnek homozigóták mind a mutáns, mind a vad típusúra, és lehetnek heterozigóták is. Vagyis, ha – ismert példaként – a VIII-as véralvadási faktor vad típusú alléljét X^H-val jelöljük, a hemofília A kialakulásáért felelős mutáns allélt pedig X^h-val, akkor a férfiak genotípusai és a genotípusokhoz tartozó fenotípusai lehetnek: hemizigóta X^H, egészséges; hemizigóta X^h, hemofília A-ban szenvedő. A nők genotípusai és a kialakuló fenotípusok pedig: homozigóta X^HX^H, egészséges; heterozigóta (hordozó, *carrier*) X^HX^h, egészséges (többnyire); homozigóta X^hX^h, hemofília A-ban szenved.

X-inaktiváció, dózis kompenzáció, X-hez kötött gének kifejeződése. Az X inaktiváció fiziológiai folyamat, melynek során a nőkben (hasonlóan a nőstény emlős állatokhoz) a testi sejtekben az embrionális fejlődés korai stádiumában az egyik X-kromoszóma nagy része inaktiválódik, ezzel kiegyenlítve a legtöbb X-hez

kötött gén expresszióját a két nemben. Az inaktiválódott X kromoszóma heterokromatinizálódik, és Barr-testet hoz létre, mely nem osztódó sejtek megfelelő festése után fénymikroszkópos vizsgálattal látható heterokromatikus rög a magboríték belső felszínéhez tapadva. (3-1. ábra, vizsgálatát lásd a gyakorlatokon.)

Az X inaktiváció alapvető jelentőségű. A nőkben emiatt két sejtpopuláció alakul ki, az egyikben az egyik (apai) X aktív, a másikban a másik (az anyai). A két sejtpopuláció sok esetben valóban detektálható, például a Duchenne izomdisztrófia esetén a heterozigóta nők tipikus mozaik expressziót mutatnak (funkcionális mozaikok), ami lehetővé teszi, hogy a hordozókat azonosítsák az ebben a betegségben hiányzó disztrofin immunológiai festésével (5-6. ábra). A két X-kromoszóma véletlenszerű inaktivációs mintázatától függően két, ugyanarra az X-hez kötött betegségre heterozigóta nő tünetei eltérhetnek, mivel a klinikai tünetek szempontjából fontos szövetekben különböző arányban találunk az aktív X-kromoszómán a mutáns allélt hordozó sejteket. Ebben a vonatkozásban az egypetéjű ikrek is különbözhetnek egymástól.



5-6. ábra

Disztrofin kimutatása immunreakcióval izombiopsziákból

A disztrofin fényes vonalak formájában látható az egyes izomrostokat határoló szarkolemmában. **A.** Homozigóta domináns genotípusú nő mintája (nagyítás: 480×). **B.** DMD-s fiú mintája (nagyítás 240×). A metszeten nem látható disztrofin festődés. **C.** Heterozigóta nő mintája (nagyítás: 240×). Mind disztrofin-pozitív, mind disztrofin-negatív izomrostok jelen vannak, az X-inaktivációs mintázatnak megfelelően.

Az X-hez kötött rendellenességek recesszív és domináns öröklődése

Az X-hez kötött domináns és recesszív öröklődést a heterozigóta nők fenotípusa alapján különítjük el. Néhány X-hez kötött fenotípus mindig (legalábbis az esetek több mint 85%-ában) megjelenik a heterozigótákban (domináns), míg más tulajdonságok nem, vagy legfeljebb az esetek kevesebb, mint 15%-ában (recesszív). Az osztályozás nehézségét az okozza, hogy még egy családon belül is az azonos mutáns allélt hordozó heterozigóta nőkben előfordulhat, hogy kialakul az adott jelleg, de az is lehet, hogy nem. Ez a véletlenszerű X-inaktiváció mintázatától, és az adott szövetben előforduló aktív mutáns illetve aktív nem mutáns allélt tartalmazó sejtek arányától függ. Az X-hez kötött rendellenességek körülbelül 30%-a nem sorolható be egyértelműen egyik kategóriába sem, mert a penetranciája a heterozigóta nőkben 15% és 85% közé esik.

X-hez kötött recesszív (XR) öröklődés. Egy X-hez kötött recesszív mutáció fenotípusosan minden, az allélt öröklő hemizigóta férfiben kifejeződik, de nők esetében csak azokban, akik homozigóták a mutáns allélre. Éppen ezért, az X-hez kötött recesszív rendellenességek általában férfiakban jelennek meg, és ritkán nőkben (akik egy érintett apa és egy heterozigóta anya házasságából származnak).

A **hemofília A** klasszikus X-hez kötött recesszív betegség. Az ebben szenvedők vére nem alvad meg vagy csak nagy késlekedéssel a VIII-as véralvadási faktor (génje az *F8*) hibája (hiánya) miatt, mely fontos eleme a véralvadási kaszkádnak[23]. A vérzékenység, csakúgy, mint öröklődésének módja, már régóta ismert. Utal rá a babiloni Talmud: ha egy nő két fia circumcisio következtében elvérzett és meghalt, a harmadik fiút nem volt szabad körülmetélni. A legismertebb modern családfa a brit Viktória királynő (1819-1901) leszármazottait mutatja, ez azonban (bár hosszú ideig úgy szerepelt) nem hemofília A, hanem – a sokszorosan ritkább – **hemofília B**-nek bizonyult, ún. Christmas betegség, a IX-es alvadási faktor (génje *F9*) hibája volt.[24]

Ha egy hemofíliás férfi párja nem hemofíliás, és nem is hordozó, akkor minden gyermekük egészséges lesz, mivel a fiúk az apától az Y kromoszómát kapják, anyjuktól pedig egy vad típusú allélt hordozó X kromoszómát. A lányok mind hordozók lesznek, hiszen mindkét szülőjüktől X-et kapnak, és az apa X kromoszómáján rajta van a hibás allél. Ha egy ilyen hordozó nő férje egészséges, akkor lányaik mind egészségesek lesznek (az apai vad típusú domináns allél miatt), de várhatóan 50%-uk hordozó. A fiúk 50%-a egészséges lesz, a másik 50%-a pedig vérzékeny. Ha az X^h reprezentálja a mutáns allélt, és X^H a normál allélt, akkor:

Hemofíliás férfi × normál nő: $X^hY \times X^HX^H$:

	X^H	X^H	
X^h	X^HX^h	X^HX^h	Lányok: mind hordozó.
Y	X^HY	X^HY	Fiúk: mind egészséges.

Egészséges férfi × hordozó nő: $X^HY \times X^HX^h$:

	X^H	X^h	
X^H	X^HX^H	X^HX^h	Lányok: 1/2 homozigóta normál, 1/2 hordozó.

[23] Csak a rend kedvéért jegyezzük meg: ha valakiben a VIII-as véralvadási faktor szintje eléri a 25%-ot, az a férfi már nem tekintendő vérzékenynek. Az *F8* génnek nem csak ún. nulla mutációja ismert, hanem allélikus heterogenitás jellemzi, változatos VIII-as faktor aktivitással, és ennek megfelelően különböző súlyosságú hemofília A betegekkel.

[24] Történelmi érdekesség: Viktória brit királynő leszármozottait, a „királyi betegség" hordozóit a legtöbb tankönyv még ma is a hemofília A körébe sorolja (pl. a 2014-es kiadású Essential Genetics). Sorsa miatt a legismertebb személy közöttük a Romanov dinasztia trónörököse, Alexij cárevics volt. A cári családot a bolsevikok 1918-ban kivégezték. A maradványok feltárása után a csontokból izolált DNS-t 2009-ben megvizsgálták az *F8*, ill. *F9* génre. Az utóbbi bizonyult mutánsnak.

DUPrese

Y	$X^{H}Y$	$X^{h}Y$	Fiúk: 1/2 egészséges, 1/2 hemofíliás.

Vagyis a hemofíliás nagyapa betegsége nem jelenik meg a gyerekeiben, de minden fiúunokája, aki valamelyik lánya gyermeke, 50% eséllyel lesz hemofíliás. A fiaitól származó unokái mind egészségesek lesznek. Az is látható, hogy egy hordozó nő lányának 50% esélye van arra, hogy ő is hordozó legyen. Előfordulhat, hogy egy X-hez kötött recesszív allél generációkon keresztül megbújva adódik tovább hordozó nők során át, míg megjelenik egy beteg férfi utódban (5-7. ábra).

Előfordulhat az is hogy egy beteg férfinak és egy ugyanarra a génre mutáns allélt hordozó heterozigóta nőnek homozigóta recesszív beteg lánya születik:

Érintett férfi × hordozó nő: $X^{h}Y \times X^{H}X^{h}$:

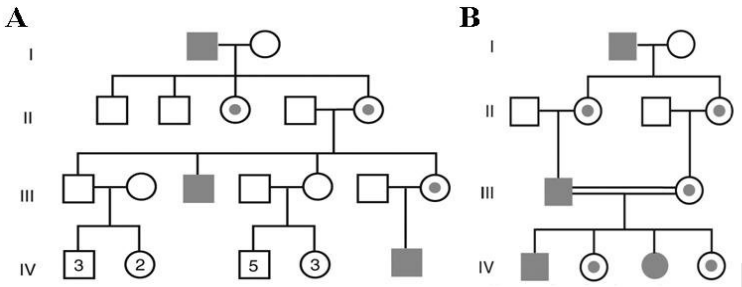
	X^{H}	X^{h}	
X^{h}	$X^{H}X^{h}$	$X^{h}X^{h}$	Lányok: 1/2 hordozó, 1/2 érintett.
Y	$X^{H}Y$	$X^{h}Y$	Fiúk: 1/2 egészséges, 1/2 érintett.

A legtöbb X-hez kötött recesszív allél túl ritka ahhoz, hogy bekövetkezzék egy ilyen eset, hacsak a szülők nem rokonok (5-7. ábra, B panel), de az elméleti esély fennáll. Például Szardínia szigetén nagy gyakorisággal találjuk meg egy X-hez kötött recesszív jelleg, a glükóz-6-foszfát dehidrogenáz (G6PD) deficiencia tüneteit mutató nőket, mivel ott a működésképtelen vagy erősen csökkent aktivitású enzimet kódoló recesszív allél gyakorisága magas (bővebben l. 13. fejezet), ugyanakkor a hordozó fitneszét (megfelelő elővigyázatosság mellett) nem rontja.

Az 5-7. ábra B paneljén hivatkozott vörös-zöld színtévesztést szokás így, összevontan emlegetni, de valójában több rendellenességről van szó. (A színvakság megnevezés alkalmazása tulajdonképpen helytelen, mivel a valódi színvakság [= tritanopia] rendkívül ritka, kivételes.) A színlátáshoz szükséges három látópigment génjei közül kettő, a főként zöld (deutan) és a főként vörös (protan, valójában sárga tartományban van az elnyelési maximuma) fény hullámhosszára érzékenyek az X kromoszómán találhatók egymás közelében. Ha valamelyik pigment hiányzik, akkor deuteranópiáról („zöld vakság") illetve protanópiáról („vörös vakság") beszélünk (dikromázia, „két színt látás"). Az érintett személyek – habár kissé eltérő árnyalatok formájában –, de lényegében kék, sárga és barna színeket érzékelnek csak. Ha a pigmentek termelődnek, de az általuk érzékelt spektrum eltolódott a deutan esetében a vörös, illetve a protan esetében a zöld tartomány felé, akkor csökken a zöld és a vörös szín közötti különbségtétel lehetősége, bár érzékelésük képessége megmarad. Ilyenkor anomáliás trikromáziáról beszélünk (deuteranomália illetve protanomália, a „klasszikus" színtévesztés típusok).

Recesszív fenotípust mutató heterozigóták és X-hez kötött jellegek esetén megfigyelhető kiegyensúlyozatlan X-inaktiváció. Ritkán előfordulhat, hogy egy X-hez kötött recesszív allélt hordozó nő fenotípusában megjelenik az allél hatása. Számos betegségnél leírtak már ilyen esetet, pl. vörös és zöld színtévesztés, hemofília A, hemofília B, Duchenne-féle muszkuláris disztrófia, Wiskott-Aldrich szin-

dróma (X-hez kötött immundeficiencia) esetén. Hemofíliára heterozigóta nők menstruációja lehet az átlagosnál hosszabb időtartamú vagy bővebb vérzéssel járó.



5-7. ábra

X-hez kötött recesszív jellegek öröklődése

A. Hemofília A. **B.** Vörös-zöld színtévesztés, rokonok házasságából születő homozigóta recesszív lánnyal (IV/3).

Hogy megjelenik-e a recesszív allél hatása egy heterozigóta nő fenotípusában, és ha igen, akkor milyen expresszióval, az sok tényezőn múlik. Először is, mivel az X-inaktiváció véletlenszerű, és e jegyzet írásakori ismereteink szerint az embrionális fejlődés korai posztimplantációs stádiuma alatt alakul ki (kb. 7 nappal a megtermékenyülés után, *blastocysta*, hólyagcsíra állapotban), amikor az embriócsomó kevesebb, mint 100 sejtből áll, a különböző szövetekben az aktívan maradó normál illetve mutáns allélt hordozó sejtek aránya változatos lehet. Ha egy, a betegség szempontjából kulcsfontosságú szövetben sok olyan sejt van, melyben a mutáns allélt hordozó X marad aktív, és a normál allélt tartalmazó inaktiválódik, akkor a női hordozó mutathatja a betegség tüneteit. Másodszor: a rendellenességtől függően a heterozigóta nőkben még akkor is különböző lehet a betegség penetranciája és expressziója a genetikai háttér különbözősége miatt, ha a sejtek aránya, melyekben a recesszív allélt hordozó X maradt aktív, különben megegyezik. Egy lizoszómális tárolási betegség, az iduronát-szulfát szulfatáz deficiencia miatt kialakuló Hunter-szindróma esetében például azok a sejtek, melyekben az ép allélt hordozó X marad aktív, az enzimet képesek exportálni az extracelluláris térbe, ahonnan az aktív X-en a mutáns kópiát tartalmazó sejtek felvehetik, imígyen korrigálva ezekben a sejtekben a hibát. Ennek eredményeképpen a heterozigóta nőkben a Hunter-szindróma penetranciája nagyon alacsony, még akkor is, ha különben az X inaktiváció jelentősen eltér az ideális esetben véletlenszerűen kialakuló 50%-50% mintázattól. Másrészről egy másik X-hez kötött rendellenességre, a fragilis X-szindrómára (más néven törékeny X-szindróma, FRAXA-szindróma, FXS, Martin-Bell kór) heterozigóta nők közel felénél jelentkeznek fejlődési rendellenességek, bár általában enyhébb tünetekkel, mint a hemizigóta recesszív férfiaknál (l. alább).

Néha a kiegyensúlyozatlan X-inaktiváció esetén pont az ellenkező mintázatot figyelhetjük meg, amikor a mutáns allél jobbára az inaktiválódott X-en található a heterozigóta nők bizonyos vagy az összes szövetében. Általánosságban ilyen kiegyensúlyozatlan X inaktiváció látható a tünetmenetes heterozigótákban, és feltéte-

lezhetően azért alakulhat ki, mert az aktív X kromoszómán a mutáns allélt hordozó sejtek osztódási vagy túlélési hátrányba kerülnek. A gént expresszáló szövetekben a kiegyensúlyozatlan X inaktiválódás mintázatát néhány X-hez kötött rendellenesség esetén a hordozóság diagnosztizálására használják, például néhány X-hez kötött immundeficiencia esetén, mint a *dyskeratosis congenita* (bőrelváltozásokkal és csontvelő elégtelenséggel is járó rendellenesség) vagy az *incontinentia pigmenti* (bőrpigmentációs és csont-rendellenességekkel is együtt járó tünetegyüttes).

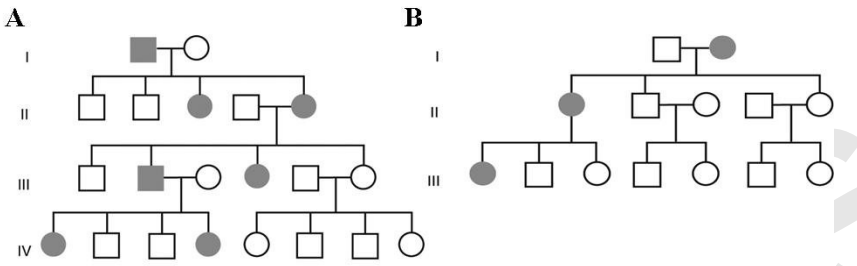
Az X-hez kötött recesszív (XR) öröklésmenet jellemzői – összefoglalás

- A rendellenesség incidenciája magasabb a férfiak, mint a nők között.
- A heterozigóta nők többnyire egészségesek, de néhányuknak lehetnek változó súlyosságú tünetei az X inaktiváció mintázatától függően.
- Heterozigóta nők esetén a családfán gyakran figyelhető meg beteg fiútestvér, vagy az anyjuk (ill. anyai nagyanyjuk) érintett fiútestvére.
- A rendellenességért felelős allél egy jelleghordozó apán keresztül átörökítődik az összes lányára, de soha nem örökítődik közvetlenül apáról fiúra. Bármelyik hordozó nő fia 50% eséllyel örökli ezt az allélt.
- A mutáns allél hordozó nők sorozatán át örökítődhet. Ilyen esetben a családfán az egy generációban megjelenő érintett férfiak nőági rokonai egymásnak.
- Az izolált esetek jelentős része új mutáció miatt alakul ki.

X-hez kötött domináns (XD) öröklődés. Egy X-hez kötött jelleget akkor tekintünk dominánsnak, ha heterozigótákban rendszeresen kifejeződik. Az X-hez kötött domináns öröklésmenet könnyen elkülöníthető az autoszomális dominánstól az **apáról fiúra való öröklődés** teljes hiánya miatt, mivel az apák a fiaikra nem örökítenek X kromoszómát, csak Y-t. Egy teljes penetranciájú XD jelleg családfán való azonosításának legfontosabb elkülönítő jegye, hogy egy érintett férfi *minden lánya* és *egy fia sem* jelleghordozó; ha egy lány is egészséges vagy egy fiú is érintett, akkor a jelleg egészen biztosan autoszomális és nem X-hez kötött. Ha a jelleg nőkön keresztül öröklődik, akkor a mintázata semmiben sem tér el az autoszomális domináns jellegekétől, hiszen a nőknek ugyanúgy egy pár X kromoszómájuk van, mint ahogy autoszomális kromoszómáik is párokat alkotnak, és egy heterozigóta nő minden egyes gyermekének nemtől függetlenül 50% esélye van a mutáns allél öröklésére. Ha több családban megvizsgálunk egy X-hez kötött domináns jelleget, akkor azt tapasztaljuk, hogy a betegség kifejeződése enyhébb a szinte kizárólag heterozigóta nőkben, mivel a sejtjeik egy bizonyos részében a mutáns allél az inaktív X kromoszómán található. Ezért is a legtöbb X-hez kötött domináns jelleg inkomplett dominanciát mutat, hasonlóan sok autoszomális domináns jelleghez (5-8. ábra, A panel).

Csak pár X-hez kötött rendellenességet osztályoztak dominánsként. Ilyen a hipofoszfatémia (D-vitamin-rezisztens angolkór), amelyben a vesetubulusok nem képesek megfelelően visszaszívni a filtrátumból a foszfátot. A hibás gén az endopeptidázok olyan családjába tartozik, melynek tagjai peptid hormonokat aktiválnak

vagy degradálnak. Az még nem ismert, hogy ez a hibás allél hogyan vezethet a foszfát metabolizmus zavarához és angolkórhoz. Mindenesetre a rendellenesség teljesíti az X-hez kötött dominancia feltételeit, mivel a mutáns allél jelenléte esetén mindkét nem érintett, és a szérum foszfátszint a heterozigóta nőkben kevésbé csökkent és az angolkór kevésbé súlyos, mint az érintett férfiakban.



5-8. ábra

X-hez kötött domináns jellegek öröklődési mintázata családfákon

A. Teljes penetranciájú X-hez kötött domináns jelleg öröklődése. **B.** Prenatálisan férfi letalitással járó X-hez kötött domináns rendellenesség öröklődése. Beteg férfi nem látható a családfán.

X-hez kötött domináns jellegek férfi letalitással. Néhány azok közül a génikus rendellenességek közül, melyek kizárólag vagy csaknem kizárólag nőkben jelennek meg, X-hez kötött domináns öröklésmenetűek, és a férfiak halálát okozzák még születésük előtt. Az ilyen jellegek vizsgálatakor a családfán a jelleg átadása érintett nőkön keresztül történik, akiknek egészséges lányaik, beteg lányaik és egészséges fiaik vannak egyenlő (1:1:1) arányban (5-8. ábra, B panel).

A Rett-szindróma (normális fejlődés újszülött korban, majd hirtelen fellépő és egyre súlyosabb idegrendszeri degeneráció) szinte kizárólag nőkben jelenik meg, és a hemizigóta férfiakban általában letális.

Az X-hez kötött domináns (XD) öröklésmenet jellemzői – összefoglalás

- Egy érintett férfinak nincsenek beteg fiai és egészséges lányai, ha az anya egészséges.
- Egy hordozó anya minden fiának és lányának 50% esélye van arra, hogy örökölje a rendellenességet. Ebben az esetben a családfán megfigyelhető öröklésmenet hasonló az autoszomális domináns öröklődés esetében tapasztalthoz.
- Az érintett nők kétszer olyan gyakoriak, mint az érintett férfiak, de az érintett nők tünetei enyhébbek (habár variábilisak).

Új mutációk az X-hez kötött rendellenességekben

A férfiakban az X-hez kötött rendellenességek szelekció alá esnek, mely néhány esetben teljes, más esetekben részleges, és néha hiányzik, a genotípus fitneszétől függően. A vérzékeny férfiaknak kb. 30%-kal kevesebb utóduk van, mint

az egészségeseknek, vagyis a hemofíliás férfiak fitnesze kb. 0,7.[25] A szelekció sokkal drámaiabb az olyan X-hez kötött rendellenességek esetén, mint például a Duchenne muszkuláris disztrófia (DMD). A betegség hordozó nőkön át öröklődik, akik nem mutatják a betegség tüneteit. Számos X-hez kötött betegség esetében az izolált esetek jelentős részét (becslések szerint 1/3-át, l. még alább) új mutáció okozza. Ha betegek olyan súlyos rendellenességben szenvednek, mint a DMD, akkor nem születhet utóduk (a szelekció teljes), vagyis az általuk hordozott mutáns allél elvész a populációból. Mivel a DMD incidenciája nem csökken, a beteg fiúk szaporodásképtelensége miatt elvesző allélek folyamatosan pótlódnak új mutációval keletkezettekkel. A hemofília esetében, amikor az utódok száma csökkent, de nem nulla, arányában az esetek kisebb része következik be új mutáció miatt.

Pszeudoautoszomális öröklődés

A pszeudoautoszomális megnevezéssel olyan jellegek öröklődését jellemezzük, melyek génjei az X vagy az Y kromoszóma pszeudoautoszomális régiójában (PSAR) helyezkednek el, vagyis e gének alléljei rekombinálódhatnak a két nemi kromoszóma között. Ezeknek a géneknek az alléljei apáról fiúra öröklődhetnek, vagyis utánozzák az autoszomális gének öröklődését, mivel átkerülhetnek az X-ről az Y-ra (vagy fordítva) a spermiogenezis során. Egy példa a pszeudoautoszomális dominánsan öröklődő jellegekre a *dyschondrosteosis*, ami csontváz fejlődési rendellenességgel és aránytalan törpeséggel valamint az alkar deformitásával jár együtt. A férfiakkal összehasonlítva a nők között a betegség nagyobb prevelanciájával (előfordulásával) találkozunk, ami az X-hez kötött domináns rendellenességek jellemzője, de az apáról fiúra való öröklődés lehetősége miatt a szigorúan X-hez kötöttség kizárható. Ezért a rendellenességért az **egy homeodomént tartalmazó** (tehát **az embrionális fejlődés során szerepet játszó**) **transzkripciós faktort kódoló** *SHOX* gén mutációja a felelős. A gén az X és az Y rövid karján található, és nem némul el az X inak-tivációja során, vagyis mindkét nem két funkcionáló kópiával rendelkezik.

(A **homeotikus** [emberben: ***HOX***] **gének**et a Drosophilák egyedfejlődésének szabályozását tanulmányozva fedezték fel. Meglepő módon rendkívüli konzervativizmust mutatnak a törzsfejlődésben, bár – természetesen – a *Homo sapiens*ben más ontogenetikus lépésekben jelentősek, mint az ecetmuslicákban, ahol egy sorozat van belőlük. Az emlősökben négy sorozatuk található a genomban [A, B, C és D], amelyek a homológjai a rovarok génjeinek, és ugyanúgy szekvenciális kifejeződésűek fej - hátsó végtag irányban. A bennük található [maximális evolúciós stabilitású] homeodomén egy 60 aminosavból álló szekvencia [180 bázispár kódolja], a transzkripcionális regulációban a DNS-hez kötődésben játszik szerepet.) Mintegy 20 emberi rendellenesség ismert, ami *HOX* gén mutációján alapszik.

[25] Ez függ a kórkép súlyosságától és az alkalmazott terápia sikerességétől. Ha a VIII-as véralvadási faktor szintje a normálisnak <1%-a, az súlyos betegséget jelent, de 5% és 25% közöttmár enyhe formáról beszélünk.

Mozaicizmus

A mozaicizmus legalább **két, genetikailag különböző, de egy zigótából származó sejtvonal meglétét jelenti** egy egyedben vagy szövetben. Habár úgy tartjuk, hogy sejtjeink mindegyike ugyanazt a genetikai anyagot hordozza, tudnunk kell, hogy ez nagymértékű leegyszerűsítés. A mozaicizmus fogalmát már csak az X inaktiváció miatt is be kell vezetnünk, hiszen az X inaktiváció miatt a nők testi sejtjei két különböző sejtpopulációt alkotnak, azokat, amelyekben az anyai, és azokat, amelyekben az apai X marad aktív. Ilyenkor természetesen csak a genetikai anyag kifejeződése eltérő, ezért ezt a jelenséget **funkcionális (működésbeli) mozaicizmus**nak nevezzük. A genetikai mozaicizmus a prenatális vagy a posztnatális élet során egy sejtben bekövetkező mutáció miatt alakul ki. Ha egy mutáció egyszer bekövetkezett, akkor a mutációt tartalmazó sejt összes utódjában (klónjában) fennmarad, így egy vagy akár több olyan sejtvonal (klonális leszármazási vonal) jön létre, mely genetikailag eltér az eredeti zigótától. A számbeli vagy szerkezeti (strukturális) **kromoszóma rendellenességek miatt kialakuló mozaikosságnak klinikai jelentősége van** (l. a 2. fejezetben), **a testi sejtekben megjelenő mutációk pedig sokszor daganatok kialakulásához vezethetnek** (de daganatos sejtvonal jelenléte esetén nem beszélünk mozaicizmusról). Akár testi, akár csírasejtekben az egy génben bekövetkező mutáció miatt kialakuló mozaicizmus számos szokatlan jelenséget magyarázhat, mint például a szegmentális neurofibromatózis, amelyben a bőrtünetek nem egyenletesen jelennek meg, hanem foltszerű eloszlást mutatnak. Mozaicizmus lehet a magyarázata az *osteogenesis imperfecta*, egy magas penetranciájú autoszomális domináns betegség újbóli megjelenésének, amikor egészséges szülőknek születik két vagy több érintett gyermeke, de a legismertebb eset, ha valakinek két különböző színű írisze van.

Egy mozaik egyénben a mutációt hordozó sejtpopuláció elméletileg jelen lehet csak a test néhány szövetében, de az ivarsejtekben nem (tisztán szomatikus – testi sejtekre korlátozódó – mozaicizmus), vagy csak az ivarsejtekre vonatkozik és más szövetben nem jelenik meg (tisztán germinális – csíravonal – mozaicizmus), esetleg jelen lehet mind a testi, mind a csíravonal sejtjeiben. Ez attól függ, hogy az embrionális fejlődés során mikor következett be a mutáció, a csíravonal sejtjeinek a testi sejtektől való különválása előtt, vagy utána. Ha előtte, akkor mind a testi szövetek, mind a csíravonal mozaik lehet, a mutáció átadódhat az utódoknak, és a testi sejtekben is mozaikosan kifejeződhet. Ha utána, akkor vagy csak a csíravonalat, vagy csak a testi szövetek egy részét érinti. Ha például a mutáció egy csíravonal prekurzor sejtben jelenik meg, akkor az ivarsejtek egy része hordozni fogja a mutációt (és ha zigóta lesz ezek egyikéből, az abból fejlődő új egyed minden sejtje mutáns). A női csírasejtekben a meiózist kb. 30 mitótikus osztódás előzi meg, a férfiban pedig több száz, bőséges lehetőséget teremtve arra, hogy az ivarsejtképzés mitótikus fázisában mutációk jelenjenek meg.

Azt megállapítani, hogy egy mutáció miatt kialakuló mozaicizmus csak a csíravonalban vagy csak a testi sejtekben van-e jelen, elég nehéz. Ha a mintavétel szempontjából könnyen hozzáférhető szövetekben (perifériás fehérvérsejtek, hám-

sejtek, szájnyálkahártya sejtek) nem találunk mutációt, az nem bizonyítja, hogy a test más szöveteiben vagy az ivarsejtekben nincs jelen[26]. A mozaicizmus mértékének meghatározását még nehezebbé teszi, ha a mutáns allél csak az extraembrionális függelékekben (pl.: placenta) van jelen, de magában a magzatban nem.

Szomatikus mozaicizmus. Egy morfogenezist érintő, és az embrionális fejlődés alatt fellépő mutáció szegmentális vagy foltként megjelenő abnormalitásként jelentkezik, attól függően, hogy a fejlődés mely stádiumában jött létre, és melyik sejtvonalból származik. Például néha a neurofibromatózis (*NF1*) szegmentális megjelenésű, a test csak egy részére korlátozódik. A szegmentális NF1-et mozaicizmus okozza, mely a fogamzás után alakult ki. Ilyenkor a beteg szülei egészségesek, de ha neki érintett gyermeke van, akkor a betegség megjelenése ebben a gyerekben már nem szegmentális. Ebben az esetben a szegmentális NF1 betegben a mutáció még a csíravonal sejtjeinek szeparálódása előtt következett be, és jelen van az érintett ivarsejtjeiben is.

Germinális mozaicizmus. Annak az esélye, hogy testvérek között egy új mutáció miatt kialakuló autoszomális vagy X-hez kötött rendellenesség egynél többször megjelenjen, nagyon alacsony, mivel a spontán mutációk eléggé ritkák (10^{-4} - 10^{-6} gén/generáció gyakoriságúak), és hogy két mutáció egymástól függetlenül ugyanabban a génben jelenjen meg egy családon belül, az meglehetősen valószínűtlen (10^{-8} - 10^{-12} az esélye). Ha a szülőkben a gyermek betegségének legapróbb nyomának jelenlétét, és molekuláris tesztekkel a hordozóságukat is kizárták, akkor azt szokták közölni, hogy a betegség új mutáció miatt alakult ki, és elhanyagolható, a populációs kockázattal megegyező annak az esélye, hogy megjelenik a következő gyermekben. De előfordul néha, hogy egy egészséges és nem is hordozó párnak mégis több olyan gyermeke születik, akik ugyanabban a magas penetranciájú autoszomális domináns vagy X-hez kötött betegségben betegednek meg. Az ilyen szokatlan családfákat magyarázhatja germinális mutáció jelenléte. Ilyen germinális mozaicizmus okozza az autoszomális domináns rendellenesség, az *osteogenesis imperfecta* súlyos, letális formájának 6%-át, amelyben az I. típusú kollagén génjében bekövetkező mutáció miatt abnormális kollagén alakul ki, és a csontok törékenyek lesznek. Germinális mozaicizmust írtak le már sok jól ismert rendellenesség, mint a hemofília A, a hemofília B, vagy a DMD esetében is, de domináns kórképek, mint pl. az *achondroplasia* esetén csak ritkán. A germinális mozaicizmus gyakoriságának pontos mérése nehézkes, de becslések alapján a DMD esetén a leggyakoribb, akár az izolált esetek 15%-ában (más becslések szerint még gyakrabban) az anyák nem hordozzák a mutációt a testi sejtjeikben, csak az ivarsejtjeikben. Ez gyakorlatilag lehetetlenné teszi a DMD-re heterozigóták eredményes, megbízható szűrését. Ugyanis ezek alapján beláthatjuk, hogy új mutáció megjelenésekor a betegség újbóli felbukkanásának esélyét nem tudjuk pontosan meghatározni. Ha olyan betegségről van szó, melyre írtak már le germinális mozaicizmust, a szülőket figyelmeztetni kell, hogy a betegség akár 3-4% eséllyel is megjelenhet a következő gyermekben, és így mindenképpen tanácsos a következő terhesség során prenatális, vagy alkalmasint preim-

[26] A génszinten kivitelezett interfázisos FISH megközelítés (l. a 2. fejezetben) lehetősége megnyitotta az utat a biopsziás mintákból történő, sokféle szövetben elvégezhető diagnosztika előtt. De ne feledjük: a tűbiopszia is invazív, nem ártalmatlan beavatkozás, ami nem végezhető korlátlanul (egyes szervekben [pl. agy] pedig egyáltalán nem).

plantációs genetikai szűrésen részt venni. A pontos esély meghatározása nehéz, mivel ez függ a mutációt hordozó ivarsejtek arányától.

Az imprinting megjelenése a családfákon

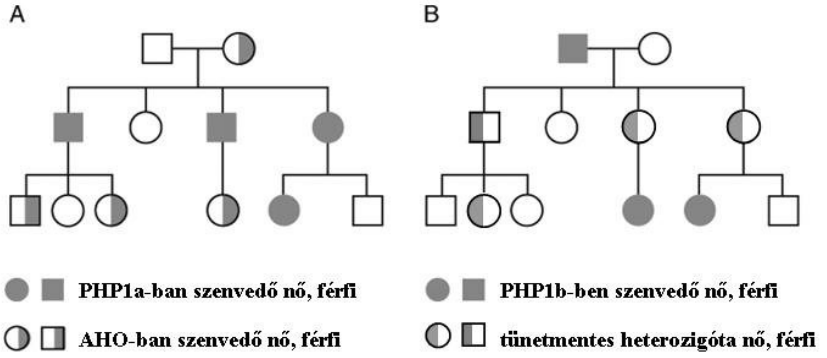
Genomi imprinting miatt kialakuló szokatlan öröklődési mintázatok. Az Albright-féle örökletes *osteodystrophia* (AHO) egy nem túl gyakori, teljes penetranciájú autoszomális domináns rendellenesség, melyre jellemző az alacsony testmagasság, *brachydactylia* (rövidujjúság[27], főleg a négyes és ötös kézközépcsontoké), *obesitas* (elhízás), *osteoma cutis* (bőr alatti kalcifikáció), mentális retardáció, illetve más fejlődési rendellenességek. Ami szokatlan, hogy a családokban néhány, de nem minden betegben az AHO szindrómához társul egy másik klinikai kórkép, az ún. *pseudohypoparathyreosis* (PHP). PHP esetén a parathormon deficiencia miatt kialakuló kalcium metabolizmus rendellenességet figyelhetünk meg, de a parathormon szintje a vérben emelkedett (ezért használjuk a *pseudo-* vagyis ál- előtagot), azaz a betegség a vesetubulusok parathormon-rezisztenciája miatt alakul ki. Az AHO szindrómásokban megjelnő PHP-t *pseudohypoparathyreosis 1a* típusnak (PHP 1a) nevezzük. Az AHO szindrómát (PHP-val vagy a nélkül) a *GNAS* gén defektusa okozza, a gén terméke a parathormon szignál továbbításában játszik szerepet a vese sejtjeinek felszínéről a sejtek belsejébe.

A PHP1a családfák vizsgálatakor megfigyelhető, hogy néhány betegnek csak AHO szindrómája van a kalcium és veseproblémák nélkül, míg mások fizikai jellegzetességei a PHP1a részeként jelennek meg. Ha az AHO a vesetubulus-rendellenesség nélkül mutatkozik meg az olyan családokban, ahol más rokonoknak PHP1a-juk van, akkor gyakran erre a betegségre *pseudopseudohypoparathyreosis* típusként (PPHP) hivatkoznak. Ha PPHP és PHP1a megjelenik ugyanabban a családban, akkor testvérek esetén az *összes* testvérnek vagy PPHP-ja vagy PHP1a-ja van. A jelenség magyarázata az, hogy **a hibás gén** (*GNAS*) **bizonyos szövetekben, beleértve a vesetubulus sejtjeit, imprinting alá esik, vagyis csak az anyai allél fejeződik ki ezekben a szövetekben, míg az apai normális körülmények között inaktív**. A PHP1a tehát csak akkor jelenik meg, ha a beteg az édesanyjától hibás génkópiát kapott. Ilyenkor ezekben a szövetekben nincs *GNAS* expresszió, hiszen az apai kópia inaktív, és a szövetek rezisztensek a parathormon hatására. A test más szöveteiben nincs *GNAS* imprinting, így akik heterozigóták egy *GNAS* mutációra, AHO szindrómásak lesznek, ami autoszomális domináns módon öröklődik (5-9. ábra, A panel).

Egy negyedik variációról is említést kell tennünk, ez az autoszomális domináns módon öröklődő *pseudohypoparathyreosis 1b* (PHP1b). A PHP1b esetén megfigyelhetjük a PHP1a kalcium rendellenességeit, de az AHO tünetei nélkül. A PHP1b-t a *GNAS* gén imprintingjét szabályozó regulátor elemeiben (imprinting centrum) bekövetkező mutáció okozza. Ezeknek a szabályozó elemeknek a feladata annak biztosítása, hogy a vesetubulusokban csakis és kizárólag az anyai *GNAS* allél expresszálódjon. Ha az imprinting kontroll régió mutáció-

[27] Figyeljük meg! *Brachydactylia* előfordul önálló, dominánsan öröklődő jellegként is. Sok esetben tapasztalhatjuk a herediter kórformáknál, hogy lehetnek izoláltak vagy egy szindróma jellemző tünetei közé tartozók.

ját örökli a beteg az anyától, akkor sem az anyai (a régió hibája miatt) sem az apai (normális) kópia nem fejeződik ki a vesetubulusokban, és megjelennek a PHP1b tünetei. Ha a régió mutációja az apában következett be, akkor ezek az egyének tünetmentes heterozigóták, hiszen az anyai *GNAS* kópia ki tud fejeződni a vesében. A vesén és néhány más szöveten kívül az apai és az anyai *GNAS* mindenféle imprintingtől függetlenül kifejeződik, így az AHO szindróma nem alakul ki (5-9. ábra, B panel).



5-9. ábra

Pseudohypoparathyreosis öröklődése

A. *pseudohypoparathyreosis 1a* (PHP1a) és *pseudopseudohypoparathyreosis* (PPHP) öröklődése, az összes PHP1a beteg az édesanyjától örökölte a *GNAS* mutáns alléját, míg a PPHP betegek az édesapjuktól. **B.** Az imprinting kontroll régió delációja miatt kialakuló PHP1b öröklődése. Minden beteg az édesanyjától örökölte a mutációt, akik az édesapjuktól örökölték, azok a heterozigóta egészségesek.

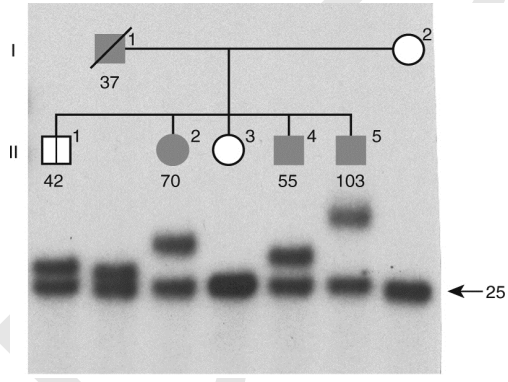
Instabil triplet expanziók – dinamikus mutációk

A dinamikus mutációkra jellemző, hogy a mutáns allél változik, ahogy továbbadódik a generációk során. Az adott génen belül egy három (vagy több) nukleotid-ból álló, egymás után (tandem) többször ismétlődő DNS szegmens helyezkedik el. A betegségekben érintett lokuszok polimorfok, vagyis a DNS szegmens változó ismétlésszámától függően több különböző allélt találunk egy populációban. Az ismétlésszám normálisan viszonylag alacsony, ám a generációk során átörökítve az allélt megnőhet (expandálódhat), és ha meghaladja a normál értékeket, az hatással van a gén működésére, kifejeződésére is. Ez az expanzió valószínűleg DNS repli-kációs hiba – elcsúszott, téves bázispárosítás miatt következik be. A betegséget okozó expanzió mértéke néha igen kicsi, mint az *oculopharyngealis izom-dystrophia* (OPMD) esetén, ahol a normál 10 ismétlődésről 12-17-re nő a betegekben a *PABPN1* első exonjában található ismétlődő GCG tripletek száma, de többnyire igen nagymértékű, mint a *dystrophia myotonia congenita* (*congenitalis dys-trophia myotonica*, Steinert-betegség) vagy a fragilis X-szindróma súlyos esetében.

A dinamikus mutációk miatt kialakuló betegségek elsősorban idegrendszeri rendellenességekkel járnak. Sok hasonlóság és különbség van közöttük, ezeket a négy legelterjedtebb ilyen betegség ismertetésén keresztül mutatjuk be.

Poliglutamin rendellenességek. Ezek közé a rendellenességek közé tartozik a *spinobulbaris muscularis atrophia* (XR), különböző gének dinamikus mutációja miatt kialakuló spinocerebelláris ataxiák (AD) és a Huntington-kór (AD). A betegségek különböző agyi területeket érintenek, más gének mutációja okozza őket, más a normálnak tekinthető ismétlésszám, ahogy a tünetek kialakulásáért felelős ismétlésszám-küszöb is eltérő. Ami közös, hogy az ismétlődő DNS szegmens három nukleotidpárból áll (trinukleotid ismétlődés), és ez minden esetben a glutamint kódoló CAG triplet. Részletesen a Huntington-kórral kapcsolatos információkat tekintjük át.

Huntington-kór, Huntington chorea. A betegséget először 1872-ben írta le George Huntington. Az első tünetek általában középkorúakban jelentkeznek, és egyre súlyosabbá válnak egészen a beteg haláláig. Ezek mozgási problémákat (*chorea* – gyors, rövid, rendezetlen mozgások sorozata: vitustánc, *dystonia* – izomtónus rendellenesség, abnormális testtartás) jelentenek, majd személyiségváltozásokat és a kognitív (észlelést, érvelést, emlékezést felölelő folyamat) képességek fokozatos elvesztését. A mutáns fehérje a huntingtin (HTT), pontos funkciója még ismeretlen, valószínűleg a mikrotubulus-mediált és a vezikuláris transzportokban van szerepe, illetve az oszlási orsó pólusainak orientálásában. Az idő múlásával a mutáns fehérje felhalmozódik a proteoszómákban, de a citotoxikus hatásért más, még kutatott tényezők is felelősek.



5-10. ábra

Huntington-kór öröklődése

A családfa alatt a huntingtin génben található CAG triplet expanzió Southern blot analízise látható. (Ezt a technikát e fejezet végén függelékként mutatjuk be.) A normál, 25 ismétlést tartalmazó allél mellett az I/1, II/1, II/2, II/4 és II/5 egyénekben egy-egy megnövekedett, de eltérő tripletszámú mutáns allél mutatható ki. A tripletek száma a családfán az egyes hordozók szimbóluma alatt látható. Az I/1 férfi 64 éves korában kezdődtek a tünetek, gyermekeiben a 40-es éveikben, kivéve a II/5 fiúban, akinek fiatalkori Huntington-kórja van, és a II/1 férfiben, aki 50 évesen még egészséges. Az I/2 nőnek és II/3 lányának két, 25 tripletet tartalmazó allélje van.

A normál allélekben a CAG triplet ismétlésszáma 9 és 35 között van, az átlag 18-19. A Huntington-kórban szenvedők esetében ez a szám több mint 40, általában 46 körüli. Az átmeneti, 36-39 triplet ismétlődést tartalmazó alléllal rendelkező egyének tünetei csak késő öregkorban jelennek meg. Elmondható, hogy minél több

triplet ismétlődés található a génben, annál korábban jelentkezik a betegség. Az ismétlődések száma nőhet az átörökítés során, ami a betegség egyre korábbi megjelenését okozza a későbbi generációkban (**anticipáció**). Egészséges egyének 29-35 ismétlésszámmal rendelkező alléljainak tripletjei könnyen expandálódhatnak a meiózis során, ezért ezt **premutációs állapot**nak nevezzük. Érdekesség, hogy a triplet expanzió a *HTT* esetében csak az apai meiózis során következik be, tehát anticipáció, illetve a korai megjelenésű forma (tinédzserkorban jelenik meg, a tripletek száma 70 és 121 között van) csak akkor figyelhető meg, ha az apa örökíti a gént (vagyis az expanzió apai transzmissziós hajlamot mutat). A megnövekedett számú triplet ismétlődés instabil a mitózis alatt is, ezért előfordul, hogy a Huntington-kóros beteg különböző szöveteiben más-más számú tripletet lehet detektálni a mutáns allélban, vagyis olykor szomatikus mozaicizmus figyelhető meg.

Dystrophia myotonica (DM). Autoszomális domináns *myopathia* (izomgyengeséggel járó izombántalom), mely *myotoniával* (izmok kontrakció utáni túl lassú relaxációja), muszkuláris *dystrophiával* (izomleépülés), *cataractával* (szürkehályog), *hypogonadizmussal* (nemi szerv csökkent működése), cukorbetegséggel, elektroenkefalogram mintázatbeli elváltozásokkal jár együtt. Inkomplett penetrancia, pleiotrópia, jellemző rá a változó expresszivitás a klinikai tünetek súlyosságában és a megjelenéskori életkorban. A kongenitális (veleszületett) forma nagyon súlyos, életveszélyes rendellenesség, mentális retardáció oka lehet.

A betegségért felelős gén a *DMPK* (dystrophia myotonica protein kináz), mely 3′-UTR-ében (3′-*untranslated region*, a gén 3′-végén lévő, átírt, de nem transzlálódó szakasz) található egy expanzióra hajlamos CTG triplet. A normál ismétlődésszám 5-30, a premutációs állapotban 38-54, enyhén érintett egyénekben 50-80. Ennél magasabb kópiaszám mind súlyosabb, és mind fiatalabb korban megjelenő rendellenességet okoz, vagyis a családokban anticipáció figyelhető meg. A triplet expanzió bármelyik szülőben bekövetkezhet, bár a férfiak maximum 1000 tripletet tartalmazó allélt örökítenek, a több ezer tripletet tartalmazó allélek a női gametogenezis során alakulnak ki. Mivel a veleszületett DM esetén az allélben több ezer triplet található, ezért ez a forma csaknem mindig egy érintett anyától öröklődik.

Friedreich ataxia (FRDA). Autoszomális recesszíven öröklődő *spinocerebelláris ataxia* (mozgáskoordináció elvesztése). Általában gyerekkorban megjelennek a tünetek, melyek a koordinálatlan végtagmozgások, nehézségek a beszéd során, csökkent vagy hiányzó ínreflexek, a pozíció és a vibráció érzékelésének gyengülése, *cardiomyopathia* (szívizomgyengülés), szkoliózis (gerincferdülés), láb deformitások. Az AAG triplet, mely a gondot okozza, a frataxin nevű, vas metabolizmusban résztvevő mitokondriális fehérje génjének első intronjában található. A normál ismétlődésszám 7-34, a betegekben ez általában 100-1200. A triplet expanzió megakadályozza a gén kifejeződését. A betegek 1-2%-a *compound* hete-rozigóta, bennük az egyik allél az itt leírt triplet expanzió miatt működésképtelenné vált, a másik pedig más mutációt tartalmaz.

5-2. táblázat

Dinamikus mutáció miatt kialakuló rendellenességek jellegzetességeinek összehasonlítása.

Betegség	Öröklődés	Anticipáció	Triplet	Gén	Triplet helye a génben	Ismétlődésszám			meiotikus expanzió	mitotikus instabilitás
						normál	átmeneti (premutáció)	betegben		
Huntington-kór	Autoszómális domináns	Általában igen	CAG	HD	kódoló régió	<36	36-39, általában öregkori tünetei vannak	>40	spermatogenezis során	viszonylag alacsony
Fragilis X szindróma	X-hez kötött (domináns)	Általában igen	CGG	FMR1	5' UTR	<55	60-200, általában tünetmentes	>200	oogenezis során	magas
Dystrophya myotonica	Autoszómális domináns	Általában igen	CTG	DMPK	3' UTR	<30	50-80, enyhe tünetei lehetnek	80-2000	oogenezis során	magas
Friedreich ataxia	Autoszómális recesszív	Általában nem	AAG	FRDA	intron	<34	36-100	>100	is-is, oogenezis során nagyobb mértékű	magas

Fragilis X-szindróma *(Martin-Bell-kór)*. Ez a mérsékelt szellemi visszamaradottság leggyakoribb örökletes formája, és a Down-szindróma után a második leggyakoribb oka a férfiak mentális retardációjának. X-hez kötött domináns módon öröklődik, a nőkben a rendellenesség penetranciája 50-60%-os. A betegséget az *FMR1* (*fragilis X mentális retardáció 1*) gén 5′-UTR-ében (5′-*untranslated region* – a gén első exonjának elején elhelyezkedő, mRNS-re átíródó, de nem transzlálódó szakasz) egy CGG triplet expanziója okozza. A normál allélben maximum 55 triplet ismétlődést találunk, 55 és 200 triplet ismétlődés esetén premutációs állapotról beszélünk, 200 ismétlődés fölött pedig megjelennek a tünetek. A betegekben a tripletek száma általában ezertől néhány ezerig terjed, de már 200 ismétlődés esetén is a promoterben található citozinok túlzott metilációját okozza az elváltozást, ami egyrészt interferál vagy a replikációval vagy a kromatin kondenzációval, vagy mindkettővel, ezáltal kialakítva a karakterisztikus „törékeny” helyet a kromoszómán az Xq27.3 régióban, másrészt megakadályozza a promoter normál működését, a gén átíródását.

A triplet expanzió a női gametogenezis során megy végbe, vagyis ez a fragilis X-szindróma esetén anyai transzmissziós hajlamot mutat. Minél nagyobb a premutációs állapotban a tripletek száma, annál nagyobb valószínűséggel következik be replikációs csúszás és triplet expanzió. Ráadásul ezekben a nőkben felnőttkorban fragilis X-hez asszociált tremor/ataxia szindróma alakul ki, ami kisagyi rendelle-

nes működéssel, és neurológiai leromlással jár. Az ilyen nők negyedében korai petefészek-elégtelenség is kialakul 40 éves korukra.

Az egygénes jellegek mendeli öröklődését utánozó állapotok

A családfákon tapasztalható öröklődési mintázatok sokszor akkor is egygénes rendellenességek menetét mutathatják, ha valójában nem arról van szó. Ilyen módon könnyen téveszthetjük össze az ilyen egygénes jellegekkel a valamilyen teratogén hatás miatt kialakuló rendellenességeket, az öröklött kromoszóma rendellenességek néhány típusát (mint a kiegyensúlyozott transzlokáció), illetve a család tagjait egyformán érintő környezeti hatások miatt fellépő betegségeket. Az elkülönítésben segít, hogy a monolokuszos jellegek tipikus mendeli szegregációt mutatnak a testvérek között, illetve tesztekkel kimutatható a hibás allél (vagy allélek), a képződött hibás géntermék, vagy a géntermék hiánya.

A rendellenességek egy önálló kategóriáját alkotják a **szegmentális aneuszómiák**. Ezekben pár, szomszédos lokuszon található génből hiány vagy többlet detektálható egy DNS szegmens delécója vagy többszöröződése miatt. A fenotípus, amelyet gyűjtőnévvel **összefüggő gén szindróma**nak nevezhetünk, több gén kópiaszámának rendellenessége miatt alakul ki, mégis, a szegmentális aneuszómiák úgy öröklődnek, mintha egyetlen mutáns allélről lenne szó, ezért tipikus mendeli szegergációt mutatnak, általában domináns öröklésmenettel. Az ilyen rendellenességekre példa az autoszomális domináns Parkinson-kór, melyet a 4q kb. 2 Mbp hosszúságú szakaszának triplikációja okoz; az autoszomális domináns velocardiofaciális-szindróma (Shprintzen-szindróma), mely a 22q11.2 régió több millió bázispárjának delécója miatt alakul ki; vagy az Xq21 sávban legalább három lokusz delécója miatt kialakuló *choroideremiával* (egyfajta retina-degradáció), süketséggel és mentális retardációval járó szindróma.

A mitokondriális genom mutációja miatt kialakuló rendellenességek anyai öröklődése

A mitokondriális genom egy (vagy több) körré záródott DNS molekula, melynek mérete 16,5 kbp. A legtöbb sejt mitokondriumok százait tartalmazza, amelyekben összesen legalább 1000 DNS molekulát (mtDNS) találunk. Kivétel az érett oocyta, melyben több mint 100 000 mtDNS kópia helyezkedik el. Ez a mennyiség a petesejt DNS tartalmának kb. harmadát adja.

A mitokondriális DNS 37 gént tartalmaz, melyek az oxidatív foszforiláció alegységeit alkotó polipeptidek közül 13-at kódolnak, valamint a riboszómális RNS-ek két típusát, és 22 transzfer RNS-t. A többi, a mitokondrium működéséhez szükséges polipeptid a sejtmagban kódolt, a citoplazmában szintetizálódik, majd bejut működési helyére.

Több mint 100 különböző átrendeződést és 100 különböző pontmutációt azonosítottak a mtDNS-ben, mely emberi betegségek oka lehet. Ezek a betegségek többnyire a nagy energiaigényű központi idegrendszert és a vázizom rendszert érintik (pl. MERRF – Myoclonic Epilepsy – Ragged Red Fibers [rojtos vörös

izomrostok mioklónusos epilepszia]; Kearns-Sayre-szindróma; MELAS – Mitochondri-alis Encephalomyopathia Lactat acidosis Stroke; Leber-féle optikus neuropátia; Leigh-szindróma; Pearson-szindróma), és jellegzetes öröklődési mintázatot mutatnak a mitokondriumok három szokatlan tulajdonsága miatt, melyek a **replikatív szegregáció**, a **heteroplazmia** és az **anyai öröklődés**.

Replikatív szegregáció. A mitokondriális DNS molekulák duplikáció utáni szegregációja nem olyan pontosan kontrollált, mint a sejtmagi kromoszómáké a mitózis vagy a meiózis során. Az egyes mitokondriumokban található több mtDNS kópia megduplázódik, és véletlenszerűen oszlik meg az újonnan létrejött mitokondriumok között, majd ezek is véletlenszerűen oszlanak meg osztódáskor a két utódsejt között. Ezt a folyamatot nevezzük **replikatív szegregáció**nak.

Homoplazmia és heteroplazmia. A legtöbb sejt sok kópiát tartalmaz az mtDNS-ből. Amikor egy mutáció keletkezik az mtDNS-ben (nincs DNS javítás!), akkor ez először csak egy molekulában található meg a mitokondriumban. A replikatív szegregáció miatt azonban a mutáns mtDNS-t tartalmazó mitokondriumban több mutáns mtDNS kópia lesz. A sejtosztódás során egy mutáns és vad típusú mtDNS-eket is tartalmazó sejt utódsejtjeibe akár nagyon különböző arányban kerülhetnek mutáns és vad típusú mtDNS-ek. Előfordulhat akár az is, hogy az egyik utódsejt csak vad típusú, a másik pedig csak mutáns mtDNS-t tartalmazó mitokondriumokat örököl, az eredmény (egyforma mtDNS-ek lesznek jelen a sejtben) a **homoplazmia**. Gyakoribb, hogy az utódsejtekbe mindkét mtDNS-ből kerülnek kópiák, ezt hívjuk **heteroplazmiá**nak. Mivel az mtDNS-ek mutációinak fenotípusos megjelenése a különböző szöveteket felépítő sejtekben található normál és mutáns mtDNS-ek arányától függ, ezért az ilyen rendellenességeknél gyakran tapasztalunk csökkent penetranciát, változó expressziót és pleiotrópiát.

A mitokondriális DNS anyai öröklődése. Mivel az apai mitokondriumok a megtermékenyítés után eliminálódnak a zigótából (vagy be sem jutnak), ezért az összes mitokondrium az anyától származik. Ha egy nő homoplazmiás egy mitokondriális mutációra, akkor az összes gyermeke örökli ezt a mutációt, míg ha egy férfi homoplazmiás egy mtDNS mutációra, akkor egy gyermeke sem fogja azt örökölni (5-11. ábra).

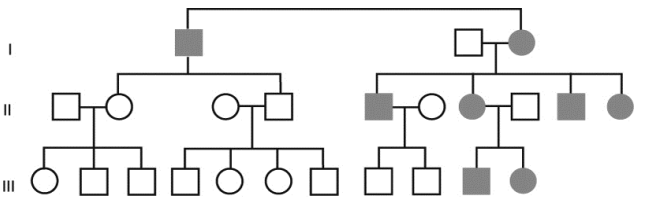
Heteroplazmia esetén más, orvosi szempontból fontos jegyek is előtérbe kerülnek. Először is, a fejlődő petesejtben az mtDNS-sek száma lecsökken, mielőtt megsokszorozódna az érett petesejtté válás előtt. Ezt a lecsökkenést és az ezt követő amplifikációt nevezzük **mitokondriális genetikai palacknyak-effektus**nak. Következménye a heteroplazmiás anyák gyermekeiben található mutáns mtDNS molekulák arányának variabilitása, ami legalábbis részben annak a következménye, hogy az oogenezis során csak az mtDNS-ek egy csoportjából történik mintavétel. Ennek megfelelően azt tapasztaljuk, hogy a sok mutáns mtDNS-t hordozó anyákban nagyobb valószínűséggel képződnek a mutáns mtDNS-t nagyobb arányban tartalmazó petesejtek, és ezért nagyobb valószínűséggel születik klinikai tünetekkel sújtott utóduk, mint a kevesebbet hordozó anyáknak. Kivétel, ha az anya deléciós mutációt tartalmazó mtDNS-re heteroplazmiás, ugyanis nem tudni, miért, de egy

klinikai tüneteket mutató anya deléciós mtDNS molekulái általában nem adódnak át az utódoknak.

5-11. ábra

Leber-féle optikus neuropátia

Az mtDNS mutációja miatt spontán kialakuló vakság öröklődése.



Habár a mitokondriumok anyai öröklődésűek, főleg azért, mert bizonyos apai mitokondriális fehérjék ubiquitináltak, és így az apai mitokondriumok lebomlanak a zigótában, előfordulhat, hogy ez az elimináció mégsem teljes körű. Ismert olyan eset, amelyben a mitokondriális myopathiát a beteg az apjától örökölte, vagyis a ritka, sporadikus eseteknél ezt az eshetőséget sem szabad figyelmen kívül hagyni.

A mitokondriális öröklődés jellemzői – összefoglalás

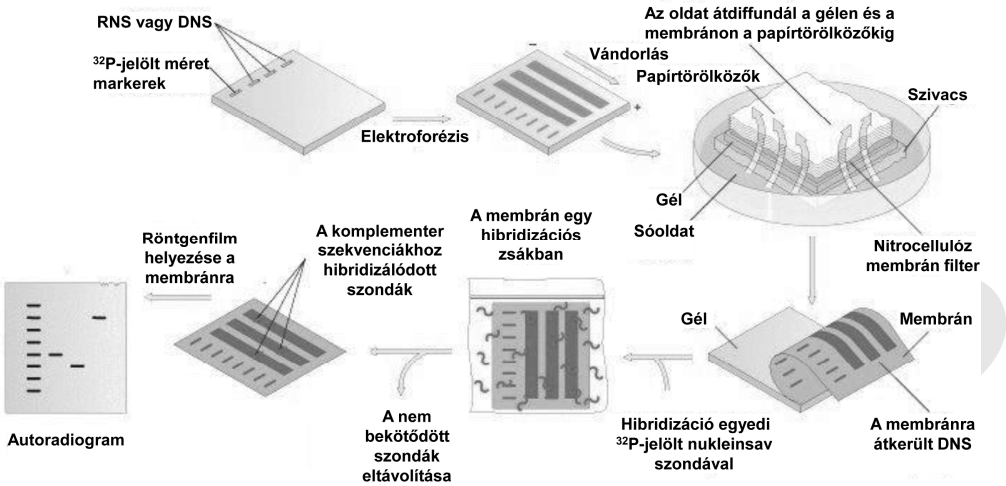
- Egy mutációra homoplazmiás nőnek az összes gyermeke örökli a mutációt; egy hasonló mutációt hordozó férfinak egyik sem.
- Egy pontmutációra vagy duplikációra heteroplazmiás anya minden gyermekére örökíti a mutációt. Az utódokban a mutáns mitokondriumok aránya és ezért a betegség rizikója és súlyossága nagy eltéréseket mutathat, attól függően, hogy az anyában milyen arányban vannak jelen mutáns mitokondriumok, illetve a véletlen hatásától függően, aminek a sejtben maradó kisszámú mitokondriumra ható petesejti palacknyak-effektus során van jelentősége. A heteroplazmiás deléciók általában nem öröklődnek.
- Egy mutációra heteroplazmiás egyén különböző szöveteiben található mutáns mitokondriumok aránya nagy mértékben eltérő lehet, ezért egy mitokondriális mutációra heteroplazmiás családon belül a betegségek széles skálája figyelhető meg. Gyakori a pleiotrópia és a variábilis expresszió a különböző érintett családtagok között.

Családi anamnézis, mint a személyre szabott gyógyítás része

Az öröklésmenet meghatározása nem csak azért fontos, hogy a probandról diagnózist állítsunk fel, hanem azért is, hogy a családon belül azonosíthassuk a potenciálisan veszélyeztetett személyeket, akiket utána pontos diagnózissal és megfelelő tanácsokkal láthatunk el. A fejlett citogenetikai és molekuláris tesztelési eljárások mellett a megfelelő családi anamnézis, beleértve a családfa megalkotását, alapvető eszköz maradt a betegek személyre szabott kezelésének megtervezésében.

Publish

Függelék
A Southern blot hibridizáció elve



A Southern blot hibridizáció segítségével specifikus DNS szakaszok mutathatók ki. (A módszer kifejlesztőjéről, Edwin Southernről kapta a nevét, nem az égtájról.) A rövidebb-hosszabb DNS szakaszokat (amelyeket pl. PCR technikával vagy restrikciós enzimes emésztéssel nyertek) méretük szerint agaróz gélelektroforézissel választják szét egymástól, majd átviszik egy nitrocellulóz membránra, ahol rögzítik és a kettős hélixet denaturálják (azaz egyszeres láncokra választják szét). Ezekhez lehet ismert nukleotidsorrendű jelzett szondákat (próbákat) hozzáhibridizálni. A jelzés eredetileg radioaktív volt, mára már inkább használnak erre a célra fluoreszcens vagy valamilyen enzimhez kapcsolódó jelölést. Ahol a hibridizáció jelentkezik, ott van a keresett DNS szakasz.

Hasonló elven RNS (immár szójátékként: Northern blot), ill. fehérje molekulák (Western blot) is kimutathatók, azonosíthatók. Az utóbbiak esetén általában specifikus és láthatóan jelzett antitesteket alkalmaznak szondaként.

DUPress

6. fejezet

Komplex öröklődésű jellegek és gyakori betegségek

A gyakori, összességükben az emberek csaknem kétharmadát érintő, általában súlyos kimenetelű, gyakran halálhoz vezető kórállapotokra, mint pl. a veleszületett (konnatális, kongenitális) fejlődési rendellenességek, szívinfarktus, daganatos megbetegedések, 2-es típusú cukorbetegség, szellemi visszamaradottság, az Alzheimer kór stb., többször jellemző a családi halmozódás (az érintett egyének rokonai között gyakrabban fordulnak elő, mint a populáció átlagában). Ennek ellenére öröklődésük nem követi egyik tipikusan mendeli, a monolokuszos jellegekre jellemző öröklésmenetet sem. Ezekben az esetekben az érintett személyek nem oszthatók be a fenotípus alapján egymástól jól elkülöníthető és egymást kölcsönösen kizáró kategóriákba. Az említett betegségekről azt gondoljuk, hogy több genetikai faktor és környezeti tényező egymásra hatásának eredményképpen alakulnak ki, ezért **multifaktoriális (komplex) meghatározottságúak**, **komplex öröklésmenet** jellemző rájuk**.** Igaz ez számos normál örökletes bélyegre emberben csakúgy, mint pl. emlős állatokban. Ez utóbbiakat azért emeljük itt ki, mert nem kevés örökletes bélyeg és kórállapot meghatározásának kísérletes tanulmányozása emberen lehetetlen.

A családi halmozódást magyarázhatja, hogy szemben a nem rokon egyénekkel, a rokonokban a genom nagyobb hányada azonos és a környezetük is hasonló. Egy érintett személy (**probandus**) rokonai esetében nagyobb valószínűséggel lehetnek jelen ugyanolyan **gén-gén** és **gén-környezeti tényező** közötti **kölcsönhatások**, mint az érintett egyénnel rokonságban nem lévők esetében. A **multifaktoriális öröklésmenet**tel jellemezhető jegyek tehát több lokusz genotípusa közötti kölcsönhatások eredményeképpen alakulnak ki (**polilokuszos**/**poligénes meghatározottság**). Általában sok, ún. **minor** (egyenként kis hatású, individuálisan nem azonosítható) **gén** additív hatása játszik szerepet a jelleg kialakításában, amelyek csökkenthetik vagy növelhetik a kifejeződés mértékét, egy betegség kialakulásának esélyét. Ez a polilokuszos genetikai meghatározottság kombinálódik a környezeti tényezők hatásával, ami hozzájárulhat egy kórállapot megjelenéséhez, felgyorsíthatja, súlyosbíthatja azt, de akár védő hatású is lehet. A különböző lokuszokon lévő genotípusok közötti kölcsönhatás lehet egyszerű **additív**, de **szinergisztikus**, felerősítő is, ezek egyrészt fokozhatják az egyének érzékenységét egy betegségre, másrészt az egyes lokuszok genotípusa tompíthatja más lokuszok genotípusainak kóros hatását. A gének és környezeti tényezők közötti kölcsönhatások tovább nehezítik az egyé-

nek betegségre való hajlamának, a betegség kockázatának meghatározását, az öröklésmenet pontos megismerését.

Minőségi és mennyiségi jellegek

A multifaktoriális meghatározottságú rendellenességekre jellemző komplex fenotípusokat két kategóriába lehet csoportosítani, **minőségi** (kvalitatív) és **mennyiségi** (kvantitatív) jellegekre. **Minőségi** vagy **diszkrét** (**diszkontinuus**) **jellegek** azok a genetikai bélyegek, amelyek **vagy megtalálhatók az egyénben vagy nem** (pl. magas vérnyomás; lásd alább a küszöb-modellnél). Ezzel ellentétben a **kvantitatív jellegek mérhető vagy számolható** (**merisztikus**) **fiziológiai vagy biokémiai mennyiségek**, mint pl. a testmagasság, a vérnyomás értéke, a vér koleszterin szintje, vércukor szint vagy a testtömeg index (BMI [*body mass index*], az elhízás jellemzésére használható érték). A mennyiségi jellegeknek gyakran kritikus szerepük van az egészség ill. a kóros állapot meghatározásában. Azonban még ma sem ismerjük a legtöbb összetett meghatározottságú kórkép hátterében lévő gének, és a gének és környezet közötti kölcsönhatásokat.

Multifaktoriális kvalitatív rendellenességek genetikai analízise

Családi halmozódás. A komplex öröklődésű betegségek egyik jellegzetessége, hogy a családokban több érintett egyén is előfordul. Ezt nevezzük családi halmozódásnak **(családi aggregáció)**. Ez önmagában azonban nem jelenti azt, hogy genetikai tényezők biztosan szerepet játszanak a jelleg kialakulásában. A családtagokban ugyanis véletlenül is létrejöhet ugyanaz a betegség, különösen, ha a jelleg gyakori a populációban. Ha a családi halmozódás mégsem csak a véletlen következménye, akkor is figyelembe kell vennünk, hogy a rokonok nem csak géneken osztoznak. A családokon belül gyakran azonosak a kulturális szokások és viselkedési formák, a sportolás, hasonló a szociális-gazdasági státusz, hasonlóak a táplálkozási szokások, és a környezeti hatások. A genetikai epidemiológus feladata meghatározni azt, hogy a családi aggregáció csak véletlen egybeesések halmaza, vagy olyan tényezők következménye, amelyek azonosak/hasonlóak a családtagok esetében, és meghatározni azt is, hogy a közös faktorok milyen hányada génikus tényező és milyen hányada környezeti hatás. Végső soron a fenotípus kialakításban résztvevő lokuszok, allélek genetikai térképezése, azonosítása szolgáltathatja a döntő bizonyítékokat multifaktoriális betegségek esetében a génikus tényezők felismeréséhez.

Konkordancia, diszkordancia. Ha két családtag ugyanabban a betegségben szenved, akkor ők **konkordáns**ok a jellegre, rendellenességre. Ebből következik, hogy ha csak az egyik családtag érintett és a másik nem, akkor **diszkordáns**ok. Komplex meghatározottságú kórkép létrejötte gyakran környezeti tényezők genotípusra kifejtett hatása következményének tekinthető. Egy adott lokuszon azonos genotípussal rendelkező családtagok esetében a diszkordáns fenotípus létrejötte magyarázható azzal, hogy az egészséges személyre nem hatott a betegséget okozó környezeti hatás. Konkordáns fenotípus viszont kialakulhat rokonokban akkor is,

ha a két érintett személy eltérő, de a betegségre hajlamosító (**prediszponáló**) genotípusokkal rendelkezik, és a betegség létrejötte **genokópia (genetikai heterogenitás:** különböző gének azonos fenotípust hoznak létre**)**, vagy akár **fenokópia** (kizárólag környezeti tényezők okoznak egyébként genetikai hátterű betegséget) eredménye az egyik betegben. A részleges penetrancia, a gyakori genokópia és fenokópia együttesen nehezítik meg a multifaktoriális betegségek genetikai hátterének megismerését.

Családi halmozódás meghatározása kvalitatív jellegek esetében

Relatív kockázat: λ_r; Betegség családi halmozódása úgy határozható meg, hogy összevetjük a betegség gyakoriságát egy adott rendellenességben szenvedő személy (a **probandus**) családjában a betegség általános populációban mutatott gyakoriságával, pontosabban a **prevalenciájával (prevalencia:** adott időpontban ill. időszakban egy adott populációt érintő jelleg [pl. betegség] előfordulási gyakorisága).

A **relatív kockázat hányadosa (λ_r)** tehát:

$$\lambda_r = \frac{\textbf{a betegség prevalenciája a probandus családjában}}{\textbf{a betegség prevalenciája a teljes populációban}}$$

6-1. táblázat

Multifaktoriális öröklődésű, családi halmozódást mutató betegségben szenvedők testvéreinek relatív kockázata

Betegség	λ_r
Skizofrénia	12
Autizmus	150
Mániás-depresszió (bipoláris rendellenesség)	7
1-es típusú cukorbetegség	35
Crohn betegség	25
Sclerosis multiplex	24

(A λ_r esetében az **r** a rokonokra utal. Gyakorlatban a λ_r értékét egy meghatározott rokonsági fokra számolják). A λ_r, a családi halmozódás mértéke függ a betegség családi ismétlődése gyakoriságának kockázatától és a betegség populációs prevalenciájától; minél nagyobb a λ_r, annál nagyobb a családi halmozódás mértéke. Azért használjuk a populációs prevalencia értékét a számításban, mert minél gyakoribb egy betegség a populációban annál nagyobb a valószínűsége (pontosabban, angol szakkifejezéssel a ***likelihood***-ja), hogy a családi halmozódás inkább véletlen egybeesések következménye mintsem, hogy az érintettek ugyanazzal a prediszponáló allélal rendelkeznének. Ha $\lambda_r = 1$, akkor a probandus bármelyik rokona ugyanolyan valószínűséggel lehet beteg, mint a teljes populáció bármelyik

tagja, a két csoport kockázata azonos. Néhány betegségre jellemző λ_r értéket mutat be a 6-1. táblázat.

Eset-kontroll tanulmányok. A családi halmozódás tanulmányozásának másik módszere az ún. eset-kontroll vizsgálat (*case-control study*). Ebben a betegek csoportját (**eset**ek) hasonlítjuk megfelelően kiválasztott (figyelembe véve a betegségre vonatkozó családi hátteret, környezeti hatásokat, foglalkozást, lakóhelyet, korábbi betegséget, etnikumot stb.) egészséges egyének (**kontroll**ok) csoportjához. A genotípusnak a betegség családi halmozódásához való hozzájárulása számításakor az esetek kiterjesztett családjában meghatározott betegség gyakoriságot (**pozitív családtörténet, érintettség, terheltség**) összevetjük a megfelelő kontrollok családi terheltségével. A házastárs gyakran felhasználható kontrollnak, hiszen általában hasonló korú és etnicitású mint a beteg és azonos környezeti hatásoknak van kitéve (ugyanakkor viszont ellenkező nemű, ami nem kedvez a végeredmény megbízhatóságának). *Sclerosis multiplex* (SM) esetén az érintettek gyermekeinek 3,5%-a szintén beteg, ami lényegesen magasabb prevalencia érték, mint az egészséges (összevethető) kontrollok családjában számolt 0,2%. Ez egyértelműen bizonyítja a családi halmozódást SM esetében.

A családi halmozódás vizsgálatára elvégzett eset-kontroll tanulmányok nem mentesek a hibáktól, a torzítástól. Különösen zavaró az adatok hiányából eredő torzítás. Egy másik figyelmet igénylő probléma a megfelelő kontrollok kiválasztása. Optimális esetben a kontrollok csak a betegség státuszában különbözhetnek a betegektől, minden más tényezőben nagyon hasonlóaknak kell lenniük: kor, nem, etnikum, foglalkozás, környezeti hatások, szociális-gazdasági státusz, étkezési szokások, dohányzás stb. Könnyen belátható, hogy e feltételek nem teljesülhetnek teljes körűen.

A komplex betegségek kialakulásában szerepet játszó gének és környezeti tényezők relatív hozzájárulása a fenotípus kialakításához. Rokonok közötti konkordancia és az allélek megoszlása. Minél közelebbi rokon két ember, annál több azonos, közös őstől örökölt allélel rendelkezik. Ebből következően minél távolabbi rokona valaki a probandusnak, genomjaik annál kevesebb közös allélt tartalmaznak. Abból a célból, **hogy meg tudjuk határozni a génikus faktorok és a környezeti tényezők hozzájárulásának arányát egy multifaktoriális meghatározottságú jelleg létrejöttében**, az egyik lehetséges eljárás a betegség konkordanciájának meghatározása a rokonok esetében. Amennyiben a gének fontosak a betegség kialakulásában, akkor a betegség konkordanciája nő a rokonsági fok közelségével. Az azonos allél hordozás legextrémebb formája természetesen az egypetéjű (**monozigóta**, **MZ)** ikrek példája: genotípusaik azonosak. A következő szoros rokonsági kategória az elsőfokú rokonok, mint pl. a szülő és gyermek vagy a testvérek kategóriája, ez utóbbi magába foglalja a kétpetéjű ikreket is (**dizigóta**, **DZ** ikrek). A szülő-gyermek páros esetén az utód minden autoszomális lokuszára igaz, hogy az egyik allélt az egyik, a másik allélt a másik szülőtől örökölte, azaz csak egy allél azonos az utód és bármelyik szülő között. Testvérek esetén (a dizigóta ikreket is beleértve) a helyzet kicsit más, egy adott lokuszra vonatkoztatva a két testvér az esetek 25%-ban örökli ugyanazt a két allélt szüleitől, az estek 25%-ban egyik alléljuk sem azonos és az estek 50%-ban, hordoznak egy közös allélt (6-1. ábra).

Egy testvérpár egy adott lokuszára vonatkoztatva a *közös allélek* átlagos megoszlása:

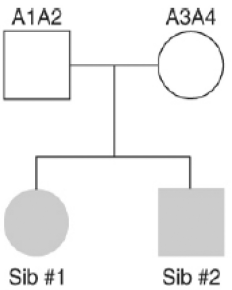
0,25 (2 azonos allél) + 0,5 (1 azonos allél) + 0,25 (0 azonos allél) = 1

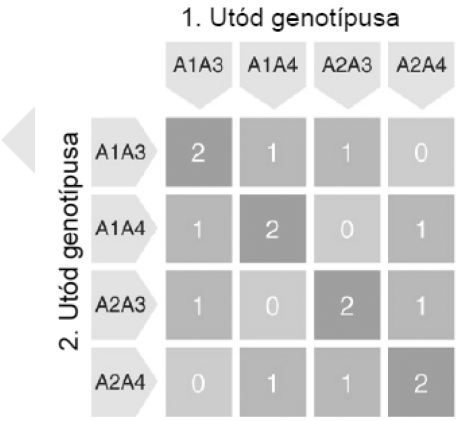
Betegségre hajlamosító gének esetében tehát azt várjuk, hogy a λ_r értéke a monozigóta ikrek esetében a legmagasabb, valamivel alacsonyabb elsőfokú rokonok esetében (szülő-utód, testvérek) és tovább csökken a rokonsági fok távolodásával, hiszen egyre kevesebb közös allélt hordoznak az egyre távolabbi rokonok (6-2. táblázat).

6-2. táblázat

A közös allélek aránya rokonokban

Rokonsági fok	A közös allélek aránya
MZ ikrek	1
Elsőfokú rokonok	1/2
Másodfokú rokonok	1/4
Harmadfokú rokonok	1/8





6-1. ábra

A szülőktől örökölt közös allélek megoszlása egy betegségre konkordáns testvérek egy hipotetikus lokusza esetében

A felső kis családfán leolvasható, hogy az anya genotípusa *A3A*4, az apa genotípusa *A*1*A*2. A táblázat tetején, a vízszintes sorban az 1. testvér (Sib #1) négy lehetséges genotípusa, a táblázat bal oldalán, függőlegesen a 2. testvér (Sib #2) négy lehetséges genotípusa van ábrázolva. A táblázat rubrikáiban az örökölt közös allélek száma van feltüntetve.

Nem-rokon családtag, mint vizsgálati kontroll. Minél közelebbi rokon két ember, annál valószínűbb, hogy génjeik hasonlósága mellett hasonló környezetben is élnek. A génikus és a környezeti hatások elkülönítésének egyik módja az, ha összehasonlítjuk a betegség **incidenciáj**át (a vizsgált populációban adott időtartam alatt előforduló új esetek gyakorisága) a nem-rokon családtagok és a biológiai rokonok csoportjai között. SM (*sclerosis multiplex*) esetén kimutatták, hogy elsőfokú biológiai rokonok (szülő-utód, testvérek) esetében λ_r = 20-40, de a családba adoptált gyermekek esetében λ_r = 1, ami arra utal, hogy SM esetében a családi halmozódásnak főleg génikus oka van.

Ikervizsgálatok

Az ikervizsgálat szintén gyakran használt módszer annak megállapítására, hogy a genetikai és környezeti tényezők milyen arányban vesznek részt a fenotípus kialakításban. A monozigóta (MZ) és dizigóta (DZ) ikrek vizsgálata jó lehetőséget biztosít a genetikai és környezeti tényezők hatásának elkülönítésére. Az **együtt nevelkedett, azonos nemű DZ ikrek** lehetőséget adnak a jelleg konkordanciájának vizsgálatára olyan rokonok esetében, akik hasonló környezetben léteznek, de alléljeiknek csak egy része azonos (a DZ ikrek genetikai szempontból annyira hasonlítanak egymásra, mint két külön született testvér). A MZ ikrek pedig lehetővé teszik két olyan, azonos genommal rendelkező rokon összehasonlítását, akik – főleg idősebb korukban – nem feltétlenül ugyanabban a környezetben nevelkednek, élnek.

Az MZ ikrek egyetlen zigótának az embriogenezis korai szakaszában bekövetkező kettéhasadásából jönnek létre. Ennek következtében a MZ ikrek minden lokuszukon azonos genotípusúnak tekinthetők (ritka szomatikus mutációk, mitotikus rekombináció módosíthatja sejtek, szövetek genotípusát, nők esetén az X-inaktiválódás okozhat különbségeket), minden esetben azonos neműek. A MZ ikrek gyakorisága az összes születések 0,3%-nak felel meg az etnikai hovátartozástól függetlenül. A DZ ikrek két különböző, azonos időben megtermékenyített petesejtből (két független zigótából) fejlődnek ki. A DZ ikrek olyan testvérek, akik fogantatásuktól ugyanabban az *in utero* környezetben fejlődnek és posztnatális életük első szakaszában is nagy valószínűséggel ugyanolyan környezeti hatások érik őket. Mint minden testvér esetében statisztikai átlagban minden lokuszon az alléljeik fele egyezik meg és 50%-os eséllyel azonos, vagy különböző neműek. Genetikai vizsgálatokra csak az előbbiek alkalmasak. A DZ ikrek gyakorisága népcsoportonként változó, ötszörös különbség lehet a populációk között (ázsiai populációkban 0,2% a gyakoriságuk, afrikai és az afroamerikai populációkban 1% körüli).

Betegség konkordancia MZ ikrek esetében. Egypetéjű ikrek esetében egyes jellegek konkordanciájának vizsgálata nagyon hatásos módszer annak megállapítására, hogy a genotípus önmagában elegendő-e egy betegség kialakítására. Például, ha egy MZ ikerpár egyik tagja a monolokuszos sarlósejtes anémiában szenved, akkor testvére is sarlósejtes anémiás. Ellenben, MZ ikerpárok esetében, ha az egyik testvér 1-es típusú *diabetes mellitus*-ban (inzulin-függő vagy *juvenilis* cukorbeteg-

ség) szenved, akkor az MZ testvérek kb. 40%-ának van szintén 1-es típusú cukorbaja. MZ ikrek esetében a 100%-nál alacsonyabb betegség konkordancia erős bizonyítéka annak, hogy nem-génikus faktorok is részt vesznek a betegség kialakításában. Ezek lehetnek környezeti hatások, táplálkozási szokások, dohányzás, fertőzések, az életkor, de szomatikus mutációk és női ikerpárok esetében az X kromoszóma inaktivációjának véletlen különbsége is befolyásolhatja a konkordanciát.

Monozigóta és dizigóta ikrek konkordanciájának összehasonlítása. A MZ és a DZ ikrek azonos méhen belüli környezetben fejlődnek és általában azonos szülők mellett együtt nevelkednek ugyanabban a környezetben. Ezért a betegségek konkordanciájának összehasonlítása az MZ és az azonos nemű DZ ikrek esetében megmutatja, hogy milyen gyakran alakulhat ki a betegség azonos prenatális és feltehetően azonos posztnatális környezetben fejlődött olyan rokonok esetében, akik vagy azonos genotípusúak (MZ), vagy alléljeiknek csak 50%-a azonos (DZ). A DZ-nél nagyobb MZ konkordancia erős bizonyítéka annak, hogy a génikus faktorok lényegesen befolyásolják a betegség létrejöttét. Ez a megállapítás különösen igaz a korán kifejeződő, pl. születési rendellenességek esetében. Az idősebb felnőttkorban megjelenő kórformák, mint pl. egyes neurodegeneratív betegségek esetében az a feltételezés, hogy a MZ és DZ ikreket azonos környezeti hatások érték, már egyre kevésbé igaz. Ezért ezekben az esetekben a konkordancia különbsége már gyengébb bizonyítéka a génikus faktorok fontosságának.

Külön nevelt ikrek. A születésük után elválasztott és külön családban nevelt MZ ikrek lehetőséget adnak a betegség konkordanciájának vizsgálatára olyan esetekben, amikor azonos genotípusú egyéneket eltérő környezeti hatások érnek. Különösen sok ilyen vizsgálatot végeztek pszichiátriai eltérések, drogfüggőség és táplálkozási zavarok tanulmányozása során, mert úgy gondolják, hogy ezekben az esetekben a családokon belüli erős környezeti hatások fontosak a rendellenesség kialakításában. De pl. egy, az alkoholizmust vizsgáló tanulmány kimutatta, hogy hat külön nevelt MZ ikerpárból öt konkordánsnak bizonyult. Ez majdnem ugyanolyan magas konkordancia érték, mint amit együtt nevelt MZ ikrek esetében kaptak, ami azt bizonyítja, hogy az alkoholizmus kialakulása esetében a genetikai tényezők hatása sokkal fontosabb, mint a környezeté.

Az ikervizsgálatok korlátai. Bármennyire is hasznosnak tűnnek az ikervizsgálatok a génikus és környezeti tényezők hatásának és fontosságának szétválasztására, a vizsgálatok eredményeit óvatosan kell értelmezni.

Először is, annak ellenére, hogy a MZ ikrek a zigóta hasadásának pillanatában azonos genotípusú sejtekből fejlődnek tovább, a genotípusaik és a génjeik expressziós mintázata nem teljesen azonos. Például az immunglobulin és T-sejt receptor lokuszokon lejátszódó véletlen szomatikus DNS átrendeződések (l. a 4. fejezetben) nem egyformák a MZ ikrek limfocita populációiban. Nők esetében a zigóta hasadása után kialakuló véletlen X kromoszóma inaktiváció jelentős különbségeket okozhat az X kromoszómán lévő gének expressziójában nőnemű MZ ikrek számos szövetében.

Másodsorban, a MZ ikrekre ható környezeti tényezők sem azonosak, miután a felnőttkor elérése után elköltöznek otthonról. De még a méhen belüli környezetük sem mindig azonos. MZ ikrek gyakran közös placentával rendelkeznek, de a két fejlődő magzat vérellá-

tása nem mindig azonos, eltérő lehet az intrauterin fejlődésük és a születési súlyuk sem egyforma.

Harmadsorban, több MZ ikerpár vizsgálata során a betegség konkordanciájának egy átlagértékét határozzuk meg, ez nem feltétlenül ad pontos értéket, különösen olyan esetben, ha a betegségre hajlamosító gén genotípusa nem azonos a vizsgált ikerpárok mindegyikében. Egy extrém példa: ha az MZ ikrek egyik csoportjában a genotípus önmagában felelős a betegség kialakulásáért (MZ konkordancia 100%), de egy másik csoportban az ikerpárok egyik tagja esetén fenokópia a betegség kialakulása (MZ konkordancia 0%) akkor a teljes csoportra kiszámított konkordancia egy köztes érték lesz ($0\% < x < 100\%$), ami tulajdonképpen egyik betegcsoportra (génikus betegség, ill. fenokópia) sem jellemző.

Végül az is okozhat torzítást, ha rossz módszerrel válogatják be a vizsgálatokba a résztvevőket. Nem helyes, ha egy érintettet kérünk meg, hogy beszélje rá ikertestvérét a vizsgálatokban való részvételre (önkéntes alapon történő beválasztás), először meg kell bizonyosodni, hogy ikrek, és csak aztán kell az egészségi állapotukat megvizsgálni (populáció alapú beválogatás). Az önkéntes alapon történő besorolás torzíthatja az eredményeket, ugyanis az ikrek, főleg az MZ ikrek, akik lelkileg is közel állnak egymáshoz, szívesebben jelentkeznek, ha konkordánsak, ami mesterségesen emelheti a konkordancia hányadost. Mindezek ellenére a jól megtervezett és végrehajtott ikervizsgálatok fontos lehetőséget biztosítanak egy fenotípusos jelleg (betegség vagy hajlam) kialakulásának tanulmányozására olyan körülmények esetén, amikor vagy a genetikai hatás konstans (betegség konkordanciájának vizsgálata együtt vagy külön nevelkedett MZ ikrek esetében), vagy amikor kimutatható génikus különbségek vannak a betegek között, de környezetük azonos (betegség konkordanciájának összehasonlítása MZ és DZ ikrek között).

Mennyiségi jellegek genetikai analízise

A mérhető fiziológiai jellemzők, mint pl. a vérnyomás, a plazma koleszterinszint vagy a testtömeg index értékei eltéréseket mutatnak az egyénekben. Az eltéréseket génikus és nem-genetikai (pl. környezeti) faktorok okozzák. A nagy kihívást az jelenti a genetikusok számára, hogy megállapítsák, a gének milyen mértékben járulnak hozzá a jelleg variabilitásához, milyen gének alakítják ki a fenotípust és végül, igazolják az egyes gének szerepét.

A normál eloszlás. A mérhető fiziológiai jellegekre általában igaz, hogy ha a populáció tagjaihoz (y tengely) tartozó értékeket (x tengely) koordináta rendszerben ábrázoljuk, akkor az értékek eloszlása a normál (vagy Gauss-) eloszlásra jellemző haranggörbének felel meg. Normál eloszlást követő értékek populációs gyakoriságát ábrázoló görbe folyamatos, szimmetrikus harang alakú. A görbe csúcsa jelzi az átlagértéket (μ, számtani átlag). A szórás, (SD, standard deviáció, σ) az értékek horizontális távolsága az átlagértéktől. Az átlag és a szórás értéke (négyzete a variancia, σ^2) pontosan meghatározza a görbe pontjainak elhelyezkedését. Bármely mérhető fiziológiai jellemző tulajdonképpen mennyiségi (kvantitatív) jelleg, ami az átlagértékkel és varianciával jellemezhető.

A normál v. referencia tartomány. *A mérhető fiziológiai értékek* ***referencia tartomány****ának* (a fiziológiai átlagérték ±2SD) fogalma alapvető fontosságú a klinikumban. Nem kevésbé az állattenyésztésben és növénytermesztésben: a fajtanemesítés eredményének, az alkalmazott törzsállomány jó vagy helytelen megvá-

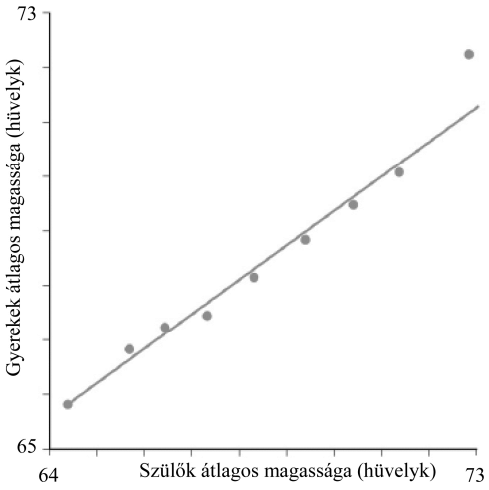
lasztásának megítélésében. Az extrém magas vagy alacsony testmagasságot, a magas vérnyomást (hipertenzió), magas koleszterinszintet azért tartjuk kórosnak, mert nyilvánvalóan kívül esnek a rájuk jellemző normál tartományból. Gyermekek egészségi állapotának vizsgálatakor is a mért magasság, testsúly, fejátmérő értékeket a gyermek korának és nemének megfelelő várható értékekhez hasonlítjuk. De hogyan határozható meg a referencia tartomány? Az orvostudományban gyakran úgy döntjük el egy fiziológiai paraméter „normális" vagy „abnormális" (rendellenes) voltát, hogy értéke milyen messzire esik az átlagtól. A normál eloszlás jellemzői segítenek a normál tartomány meghatározásában. A normál eloszlás valószínűségi eloszlás, a görbe alatti terület értéke = 1. Ebből következik, hogy a görbe integráljából kiszámítható, hogy az értékek hányad része esik két tetszőleges érték közé. A normál eloszlás esetén ismert, hogy a megfigyelt értékek 95%-a a $\mu = \pm 2$ SD tartományba esik.

Családi halmozódás mennyiségi, multifaktoriális meghatározottságú jellegek esetében. Mint ahogyan a minőségi jellegek, betegségek esetében a családi halmozódás mértékének számítása felhasználható (eset-kontroll tanulmányokban számított λ_r érték) az örökletesség vizsgálatában, ugyanúgy alkalmasak a család alapú vizsgálatok a mennyiségi jellegek esetében is az öröklődés mértékének meghatározására. Nagy különbséget jelent azonban az a tény, hogy a multifaktoriális mérhető jellegek, nem egymást kölcsönösen kizáró minőségi tulajdonságok, ezért esetükben nem lehetséges egyszerűen összehasonlítani a betegek rokonai körében és a kontroll csoportban számított prevalencia értékeket, vagy a betegség konkordanciáját ikrek között. Ehelyett mennyiségi jellegek esetében a jelleg értékei közötti korrelációt számítjuk ki a rokonok között, vagyis azt a tendenciát, hogy az adott fiziológiai jellemző mért értékei jobban egyeznek a rokonok körében, mint az átlag populációban. A **korrelációs koefficiens** (**r**) egy statisztikailag számított érték, amely alkalmas két változó közötti kapcsolat meghatározására. Orvosi gyakorlatban is gyakran használják páronkénti mérések eredményeinek összehasonlítására, pl. összevetjük egy beteg vérnyomás értékét testvéreinek átlagos vérnyomásával. Egy betegcsoportban és a rokonaik körében mért vérnyomás értékek között **pozitív a korreláció** (az **r** pozitív érték), ha a magas vérnyomású beteg rokonaiban is magasabb vérnyomás értékeket mérünk (Ha az egyik [x] változó értékeit ellentétes irányban követik a másik változó [y] értékei, akkor **negatív korreláció** van a két változó között. **Az r értéke -1** [tökéletes negatív korreláció] **és +1 között** [tökéletes pozitív korreláció] **változhat**, **ha r = 0 akkor nincs kapcsolat a két változó között**.).

6-2 ábrán látható 200 házaspár átlag magasságának összehasonlítása több mint 1000 felnőtt utóduk átlagmagasságával. Látható, hogy pozitív, de nem tökéletes a korreláció a szülők átlagmagassága és az utódok magasságának átlaga között (r = 0,6).

A rokonok közötti korreláció vizsgálata felhasználható multifaktoriális jellegek esetén annak megbecslésére, hogy a génikus faktorok milyen mértékben vesznek részt a fenotípus meghatározásában, ha feltételezzük, hogy a jelleg mért értékei

közötti hasonlóság mértéke rokonok esetében arányos a jelleget meghatározó lokuszokon lévő közös allélek számával. Egy családban minél közelebbi rokon két ember, annál valószínűbb, hogy ugyanazokkal az allélekkel rendelkeznek a mennyiségi jelleget meghatározó lokuszokon és annál erősebb a korreláció a mért értékeik között. Azonban azt is látni kell, hogy rokonok esetében egy adott fiziológiai jelleg értékei közötti korreláció nem csak a genetikai tényezők hatását tükrözi, a hasonló környezeti hatások is befolyásolják az **r** értékét. Erős korreláció megléte önmagában nem jelenti azt, hogy a jelleget csak génikus tényezők határozzák meg.



6-2. ábra

A szülők és gyermekeik átlagmagassága közötti korreláció

Az átlagértékeket ábrázoló pontokra legjobban illeszkedő egyenes láthatóan nem pontosan 45°-os szöget zár be a koordinátarendszer tengelyeivel. Ez annak tudható be, hogy, a magas szülők gyermekei bár magasak, de átlagmagasságuk általában nem éri el szülők átlagmagasságát. Az alacsony szülők gyermekei bár alacsonyak, de általában magasabbak, mint szüleik. Ez az ún. átlaghoz történő visszatérés (regresszió) jelensége.

Heritabilitás. A ***heritabilitás*** koncepcióját azért is dolgozták ki, hogy matematikailag is meghatározható legyen a genetikai és környezeti tényezők közötti különbség szerepe a mennyiségi jellegek variabilitásának létrehozásában. A **heritabilitás** (h^2-tel jelöljük) a mennyiségi jellegek teljes fenotípusos varianciájának azt a hányadát jelenti, amit génikus tényezők okoznak. Azaz a heritabilitás annak a mértéke, hogy egy mennyiségi jelleg létrehozásáért felelős lokuszok alléljei milyen mértékben járulnak hozzá a jelleg teljes populációs variabilitásához. Minél magasabb a heritabilitás értéke, annál nagyobb az emberek közötti genetikai különbségek hozzájárulása a jelleg variabilitásához. A h^2 értéke 0 és 1 között változik, h^2 = 0 ha a génikus tényezők nem vesznek részt a jelleg kialakításában és h^2 = 1, ha csak a gének felelősek a jelleg variabilitásáért.

A heritabilitás maga egy teoretikus fogalom, egy adott jelleg ismert rokonsági kapcsolatban lévő személyek (szülő-gyermek, testvérek, ikertestvérek), ill. tenyészállatok csoportjában mért értékeinek korrelációjából számítható. Ember esetén azonban számos gyakorlati probléma vetődik fel a h^2 meghatározásával és értelmezésével kapcsolatban. Az egyik az, hogy a rokonokban nem csak az allélek hason-

lóak, hanem a környezeti hatások is, a korreláció értéke tehát nem csak a génikus hatásokat tükrözi. Másodsorban, még ha magas is a heritabilitás egy jelleg esetében, akkor sem ismerjük meg pusztán a heritabilitás értékéből a jelleg pontos öröklődésének mechanizmusát, pl. azt, hogy hány lokusz vesz részt a meghatározásában, és milyen kölcsönhatások léteznek a lokuszok között. Végül pedig, még ha azt is gondoljuk, hogy a heritabilitás egy multifaktoriális jelleg saját, belső jellegzetessége, akkor sem értelmezhetjük úgy, hogy közben figyelmen kívül hagyjuk a vizsgált populáció életkörülményeit.

A heritabilitás becslése ikervizsgálatokban. Az ikervizsgálatok alkalmasak mennyiségi jellegek esetében a heritabilitás meghatározásához is. Az adott mennyiségi jelleg esetében a MZ ikrek csoportjában (100%-ban azonos genotípus) mért értékek varianciáját hasonlítjuk ugyanazon jelleg DZ ikrek (átlagban alléljeik 50%-a azonos) csoportjában mért értékeinek varianciájával. A tágabb értelmezésű heritabilitás kiszámítására alkalmas formula:

$$h^2 = \frac{\textbf{DZ ikerpárok varianciája – MZ ikerpárok varianciája}}{\textbf{DZ ikerpárok varianciája}}$$

Ha egy jelleg varianciáját főleg környezeti hatások határozzák meg, akkor a DZ ikrek varianciája (durva megközelítésben) megegyezik a MZ ikrek varianciájával, ezért a számláló és ennek megfelelően maga a h^2 is 0. Ha a genotípus határozza meg a varianciát akkor a MZ ikrek varianciája 0 és a $h^2 = 1$.

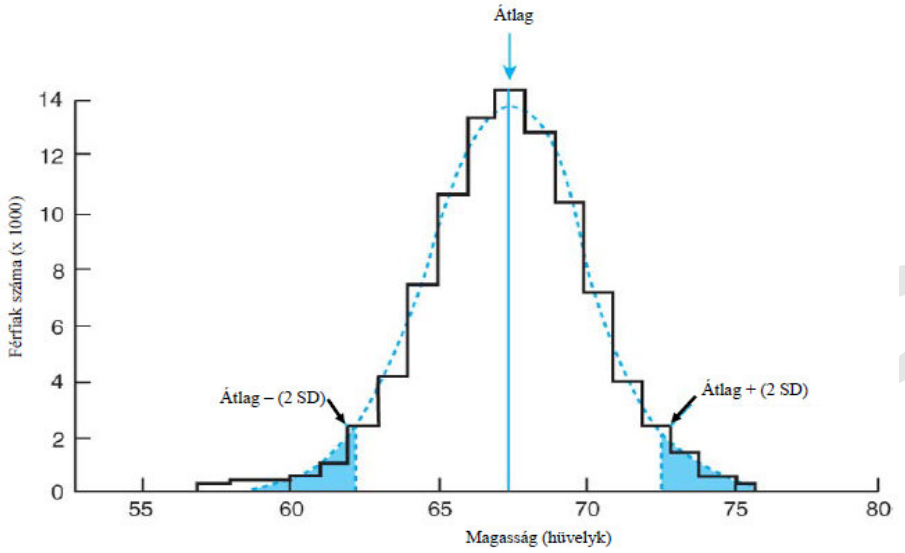
A felnőttek testmagasságának öröklődését már régóta tanulmányozzák a genetikusok, mert ez a modell lehetőséget ad arra, hogy egy mennyiségi jelleg esetében elkülönítve vizsgálhassuk a genetikai- és környezeti tényezők hatásának részarányát a fenotípus kialakításában. Egy humán populációban mért magasság értékek eloszlását mutatja be a 6-3. ábra, az oszlopdiagramra haranggörbe illeszthető, melynek alakja megfelel a normál eloszlásnak.

Észak-európai populációban végzett ikervizsgálatokban a testmagasság h^2 értéke 0,6-nak bizonyult, ami arra utal, hogy az emberek testmagasságának variabilitását főleg genetikai tényezők befolyásolják és kevésbé a környezet.

Komplex jellegek esetén a heritabilitás meghatározására használt másik vizsgálati módszer az **együtt vagy külön nevelkedett MZ ikrek összehasonlítása együtt vagy külön nevelkedett DZ ikrekkel**. Ilyen ikervizsgálatok alapján az ember testtömeg indexe (BMI) esetében a h^2 értéke 0,7 és 0,8 között változik, erre a jellegre is erős hatással van a genotípus.

Természetesen számos egyszerűsítést kell elfogadnunk a heritabilitás tanulmányozása során. Az egyik az, hogy az MZ ikrek és az együtt nevelkedett azonos nemű DZ ikrek esetében a környezeti hatásoknak való kitettség azonos, a különbség mindössze az, hogy az MZ-k 100%-ban azonos genotípusúak, míg a DZ ikrek alléljeinek átlag 50%-a azonos. Ez a feltételezés elfogadható pl. a testmagasság vagy a testtömeg index tanulmányozása esetében, de nem biztos, hogy alkalmazható a bonyolultabb, komplexebb multifaktoriális jellegek tanulmányozásakor, mint pl. az értelmi képességek, a személyiség profil. Egy másik

probléma, hogy az ikervizsgálatokkal kapott eredményeket nem lehetséges mindig extrapolálni a teljes populációra, a különböző etnikai csoportokra, sőt még ugyanarra a csoportra sem, ha közben változnak az életkörülmények.



6-3. ábra

91 163 férfi testmagasság értékeinek eloszlása

A szaggatott vonal a megfigyeltekével azonos átlagú és azonos standard deviációjú (SD) normál eloszlás görbéje. A görbe alatti besatírozott területek az átlagnál >2 SD értékkel magasabb vagy alacsonyabb személyeket jelzik.

A családi halmozódás, betegség konkordancia és heritabilitási vizsgálatok korlátai. A családi halmozódás tanulmányozása, ikrek konkordancia vizsgálata és a heritabilitás meghatározása sem ad információt arról, hogy hány lokusz, milyen lokuszok és a lokuszokon milyen allélek vesznek részt a jelleg meghatározásában. De a genotípus és a környezet hozzájárulásának részarányáról sem kapunk ezekkel a vizsgálatokkal pontos információt, csak azt tudjuk megállapítani, hogy a genotípus hozzájárul a fenotípus kialakításához.

Megfelelő eszközök hiányában a genetikusok sokáig modellek felállításával próbálták megérteni a multifaktoriális meghatározottságú jellegek genetikai hátterét. A legtöbb esetben azonban több különböző modell is viszonylag jól leírta a jellegek öröklésmenetét, ezért nem lehetett megállapítani melyik az amelyik valóban kimutatja a meghatározó genetikai mechanizmust. A Humán Genom Projekt befejezése és az azóta kidolgozott genetikai analitikai módszerek, statisztikai programok már lehetővé teszik családok, populációk közvetlen vizsgálatát, ami sokat segíthet a betegségre hajlamosító (rizikó-, kockázati) gének azonosításában.

Monogénes meghatározottságú rendellenességek fenotípusát is módosíthatják génikus és környezeti faktorok.

Mint azt az 5. fejezetben már tárgyaltuk (és a 9.-ben is visszatérünk rá), az egyes emberek genotípusában található különbségek még a monolokuszos(nak tartott) jellegek esetében is okozhatnak különbségeket a fenotípusban. A cisztikus fibrózis (CF) esetében pl. az, hogy enzimpótlást igénylő hasnyálmirigy elégtelenség kialakul-e vagy sem, az annak függvénye, hogy a *CFTR* gén melyik mutáns allélje van jelen a betegben. Egyéb örökletes jegyek és betegségek esetében nincs mindig ilyen egyértelmű összefüggés a genotípus és fenotípus között. De még a CF példájánál maradva, az allél heterogenitás figyelembevételével sem tudjuk megmagyarázni a betegek tüdejét érintő tünetek súlyosságát. A legvalószínűbb, hogy a *CFTR* lokusztól különböző lokuszok genotípusa módosító génikus tényezőként hat („*modifier gene*"). Olyan gének ezek, melyeknek alléljei befolyásolhatják a tüdőben kialakuló tünetek súlyosságát CF esetében. A CF betegeknél a tüdőfunkciót az 1 másodperc alatti erőltetett kilégzési térfogat ($FEV_{1,}$ = *forced exspiratory volume in 1 sec*) nagyságával lehet jellemezni. Ennek csökkenése (amit a CF-os betegek esetében a várható FEV_1 érték százalékában adnak meg: FEV_1%), már multifaktoriális meghatározottságú jelleg, ezért MZ vs. DZ ikrek összehasonlításával meghatározhatjuk a tüdő-tünetek súlyosságának heritabilitását függetlenül a *CFTR* gén genotípusától (hiszen az egypetéjű ikrekben biztosan ugyanaz a mutáció van jelen). A CF specifikus FEV_1% csökkenése jobban korrelál az MZ ikrekben, mint DZ-kben, a heritabilitás értéke 0,5, ami arra utal, hogy módosító gének befolyásolják a tüdőt érintő tünet súlyosságát. De mivel a heritabilitás értéke nem 1, valószínűsíthető, hogy azonos *CFTR* genotípusú CF betegek esetében a környezet is befolyásolja a tüdőelváltozások súlyosságát.

A CF súlyosságát befolyásoló módosító lokuszok és alléljeik még nem teljesen ismertek. Két feltételezett módosító gént ismerünk, az egyik az *MBL2* ami egy vérszérum fehérjét, mannóz-kötő lektint kódol, a másik a transzformáló növekedési faktor β citokint (sejtek osztódását szabályozó fehérje) kódoló *TGFB1* lokusz. A mannóz-kötő lektin a veleszületett immunrendszer egyik komponense, számos patogén baktérium felszíni szénhidrát molekulájához kötődik, és a falósejtek és a komplement rendszer aktiválásával elősegíti azok eliminálását a szervezetből. Az *MBL2* lokusznak több olyan gyakori allélja is jelen van az európai populációkban amelyek csökkentik a lektin szintet a vérben. Az alacsonyabb mannóz-kötő lektin-szint a betegség rosszabb prognózisát, súlyosabb kimenetelét jelzi, valószínűleg az immunvédekezés kevésbé hatásos a fertőzésekkel szemben. A *TGFB1* lokusz magasabb TGFβ fehérje termelést okozó alléljei szintén a betegség rosszabb kimenetével asszociáltak, valószínűleg azért, mert a TGFβ gyulladást követően fokozza a tüdő hegesedését és fibrózisát, csökkentve a tüdő funkciót.

Példák multifaktoriális öröklődésű jellegekre, amelyekben a befolyásoló gének és környezeti hatások részben ismertek

Vénás trombózis. Jól ismert példa betegség kialakulására hajlamosító gének közötti kölcsönhatásokra, az ún. hiperkoagulációs (fokozott véralvadási hajlam) állapotok, amelyekben vérrögök jönnek létre vénákban, artériákban, életet veszélyeztető komplikációkat okozva. Ezekben az állapotokban azonban bizonyos kör-

nyezeti tényezők hatása is fontossá válik, a hajlamosító génikus faktorok jelenlétében lényegesen megemelik a betegség kialakulásának kockázatát.

Egyike ezeknek a betegségeknek az **idiopátiás agyi vénás trombózis**, mikoris közismert kiváltó tényezők (fertőzések, tumor) hiányában is vérrögök keletkeznek agyi vénákban, azok elzáródását okozva. Korai felnőttkorban kialakuló ritka betegség (morbiditási ráta ~1/10000 ember), de nagyon magas a halálozási aránya (mortalitási ráta: 5–30%). Főként három, relatíve gyakori tényező (kettő génikus, egy környezeti) okozhatja az alvadási rendszer rendellenességét, mindegyikről tudjuk, hogy egyenként is emelik az agyi vénás trombózis kockázatát. Az első egy missense mutáció az V. (ötödik) véralvadási faktor génjében; a második a protrombin génjének 3′, nem-transzlálódó régiójában lévő polimorfizmus, és a harmadik az orális fogamzásgátlók használata.

A mutáns V. alvadási faktorban (***factor V Leiden***, FVL) a mutáció következtében az 506. Arg helyett Glu (Arg506Glu) található. Kaukázusi (fehér) populációkban[28] ennek az allélnek a gyakorisága 2,5%, más rasszokban alacsonyabb. A mutáció gátolja az V. faktor proteolitikus lebontását, stabilabb a fehérje, hosszabb ideig képes kifejteni eredeti, prokoaguláns hatását. Az FVL heterozigóta genotípus (gyakorisága 5% fehér populációban) relatíve alacsony betegség-kockázatot jelent, hétszerese a populációs átlagnak, de a mutáns allélre homozigóták esetében a kockázat már 80-szorosa az átlagpopulációba tartozókénak.

A második genetikai kockázati tényező a **protrombin** gén 3′ régiójában a 20210. guanin bázis adeninre történő cseréje (20210G>A), a ritka variáns allél-gyakorisága 2,4% fehér populációkban, mások esetén alacsonyabb. A mutáció hatására megemelkedik az mRNS és ennek következtében a protrombin fehérje mennyisége is. A 20210G>A heterozigótaság 3–6-szorosra növeli az agyi vénás trombózis kockázatát.

Végül a szintetikus ösztrogént tartalmazó fogamzásgátlók szedése a genotípusoktól függetlenül, önmagában is 14-22-szeresre növeli a trombózis kockázatát. Orális fogamzásgátlót szedő FVL heterozigóták esetében a trombózis kockázata alig magasabb, mint amit külön-külön jelent a két tényező, de a 20210G>A heterozigóták esetében orális fogamzásgátló szedése már 30-150%-ra emeli az agyi vénás trombózis rizikóját!

Jól látható ezekben a példákban, hogy a három hajlamosító tényező önmagában csak kissé növeli a betegség kialakulásának kockázatát, de ha a háromból már kettő jelen van, lényegesen megemelkedik a trombózis rizikója (tulajdonképpen nem is additív, inkább multiplikatív az együttes hatásuk).

Az FVL, a protrombin 20210G>A és a fejezet utolsó részében megtárgyalásra kerülő metilén-tetrahidrofolát reduktáz enzim egy hőérzékeny allélje szintén hajlamosító tényezői a **placentáris artériás trombózis** kialakulásának. Bármelyik mutáció önmagában nagyjából ötszörösére emeli (a populációs átlagértékhez képest) ennek a ritka, de súlyos, a fejlődő magzatot érintő szülészeti rendellenességnek a kockázatát. A betegség következménye lehet a placenta korai leválása a méh faláról, súlyos méhen belüli fejlődési rendellenesség, és halva születés is.

Az FVL és a protrombin 20210G>A mutációk hajlamosítanak a gyakoribb, az alsó végtagokon kialakuló **mélyvénás trombózis** (MVT) kialakulására is. Az MVT gyakorisága évente 1/1000 ember, kortól és egészségi állapottól függően a mortalitási ráta 10% is lehet (általában a vérrög leszakadó darabjai által okozott tüdőembólia következményeként). Számos környezeti hatás fokozhatja az MVT kockázatát, pl. trauma, műtétek (főleg az ortopé-

[28] A fehéreket hagyományosan a kaukázusi nagyrasszba tartozókként említik.

diai műtétek), hosszabb mozdulatlanságban töltött időszak (pl. nagy távolságú légiút), orális fogamzásgátló szedése, idős kor. Az FVL mutáció hetrozigóta genotípusa hétszeresére emeli az első MVT kialakulásának relatív kockázatát (a hordozók kockázata a mutációt nem hordozók kockázatához képest), homozigótákban 80-szoros a relatív kockázat. A fogamzásgátlót szedő heterozigótákban a kockázat már 30-szorosa a kontrollok kockázatának. A protrombin 20210G>A mutációt hordozó heterozigóták esetében 2-3%-os a relatív kockázat, de az FVL és protrombin 20210G>A kettős heterozigótákban már 20-szorosra emelkedik a kockázat az átlag populációhoz képest. Érdekes módon sem az FVL, sem a protrombin 20210G>A mutáció önmagában nem befolyásolja egy második MVT kialakulását, de együttes jelenlétük a genomban már 2-3-szorosra emeli a MVT ismétlődésének esélyét.

Az FVL és a protrombin 20210G>A mutációk tehát mind fokozzák a trombotikus esemény kialakulásának veszélyét, amit még tovább növel orális fogamzásgátló használata. Annak ellenére azonban, hogy ezek a tényezők gyakoriak a populációban, a trombózis kialakulása viszonylag ritka esemény. Ezek a génikus és környezeti faktorok tehát nem okoznak betegséget minden egyes heterozigótában vagy fogamzásgátlót szedő nőben (pl. fehér nők átlag 40%-a heterozigóta a protrombin 20210G>A mutációra, de a trombózis gyakorisága a hetrozigóta és fogamzásgátlót szedő nők esetében is kevesebb mint 1/1000).

Az FVL és a protrombin 20210G>A mutációk kiváló példát szolgáltatnak a **betegségre hajlamosító tényezők** és **betegséget okozó tényezők** közötti különbségtételre, és az egy adott genotípus által hordozott **relatív kockázat** és **abszolút kockázat** értékei közötti különbségre is. Minden tényezőt értékelve, a jelenlegi európai és észak-amerikai orvosi gyakorlatban csak azoknak az orális fogamzásgátlót szedő nőknek ajánlják a FVL és protrombin 20210G>A mutációk vizsgálatát, akiknek a családjában már fordult elő trombózis. Magyarországon érdekes módon a FVL mutáció gyakorisága magasabb mint az európai fehér populációkban, ~10% körüli, ezért ösztrogén tartalmú fogamzásgátlót szedő nőknél fontos lenne ellenőrizni az FVL mutáció meglétét (vagy igazolni hiányát).

1-es típusú (juvenilis) cukorbetegség (1-es típusú *diabetes mellitus*). A **cukorbaj** két fő típusa ismert, az 1-es vagy inzulin-függő diabetes mellitus (**IDDM,** az összes esetek 10%-a) és a 2.-es típusú (felnőttkori), nem izulin-függő diabetes mellitus (**NIDDM, az** összes esetek 80%-a). Mindkét típusra jellemző a családi halmozódás, egy adott családban azonban általában csak az egyik forma fordul elő. Kaukázusi népesség körében az IDDM incidenciája 0,2% (1/500), afrikai és ázsiai populációkban ez az érték alacsonyabb. A betegség gyermek- vagy korai felnőttkorban alakul ki a hasnyálmirigy inzulint termelő β-sejtjeinek autoimmun eredetű pusztulása következtében. A betegek nagy részében már a korai gyermekkorban, még a betegség kialakulása előtt kimutatható, hogy nagyszámú saját, endogén fehérjék ellen termelődő antitest van jelen a vérben, pl. inzulin ellenes antitestek is.

Az MHC és az 1-es típusú diabetes mellitus közötti asszociáció. Számos bizonyítéka van annak, hogy az IDDM kialakulását genetikai faktorok is befolyásolják: a MZ ikrek konkordanciája 40%, míg a DZ konkordancia csak 5%; a betegek

testvérei esetében a $\lambda_r \approx 35$. Régóta ismert, hogy az IDDM esetében a MHC lokusz fontos genetikai tényezőnek számít. (Az MHC-t bővebben lásd a 7. fejezetben.)

A betegek 95%-a heterozigóta a MHC II. osztályba tartozó HLA-DRB1 lokusz egyik alléljére. A HLA-DRB1 lokusz haplotípusának egyik komponense *HLA-DQB1* allél. A HLA-DQ két polipeptid láncból álló fehérje komplexének a β-láncát kódolja. Ha a DQ β-láncának 57. aminosava aszparaginsav (Asp), akkor kicsi a betegség kialakulásának az esélye, de ha az Asp-t alanin, valin vagy szerin helyettesíti, akkor azok inkább hajlamosítanak a kórkép kialakulására. A betegek 90%-a Asp-t nem kódoló *HLA-DQB1* allélel rendelkezik. A DQ komplex β-lánca kritikus szerepet játszik az antigének megkötésében és a megkötött antigén T sejteknek történő bemutatásában, a T sejtek aktiválásában. Valószínű, hogy az 57. pozícióban lévő aminosav minősége befolyásolja az antigének megkötését és a **saját fehérjék ellen termelt autoantitestek** közvetlenül szerepet játszanak az inzulint termelő sejtek elpusztításában. Az is igaz azonban, hogy a betegek testvérei esetében a betegség kockázata csak 17%, még akkor is, ha a testvérek a HLA-DQB1 lokuszán azonos alléleket hordoznak. Ez arra utal, hogy a genom más lokuszain lévő gének is befolyásolják az 1-es típusú diabetes mellitus kialakulásának kockázatát, ha feltételezzük, hogy a MZ és DZ ikrek esetében a környezeti hatások azonosak. A legújabb vizsgálatok sok ilyen hajlamosító lokuszt azonosítottak már, pl. az immunfolyamatok egyik regulátor génjében (*CTLA4*), vagy a *PTPN22* foszfatáz enzimet kódoló génben található DNS polimorfizmusok is befolyásolják a betegség kialakulását.

Önmagukban a genetikai tényezők nem okoznak *1-es típusú diabetes mellitus*t, a 40%-os MZ konkordancia is jelzi, hogy a környezeti hatások rendkívül fontos szerepet játszanak a betegség kialakulásában. Ezeket felismerve tehet az orvos javaslatot a helyes életmód kialakítására.

Alzheimer kór (AK)**.** Halálos kimenetelű neurodegeneratív betegség, gyakorisága 1-2% körüli. Az időskori elbutulás leggyakoribb oka, a demenciában szenvedő betegek 50%-a Alzheimer kóros. A betegség fő tünetei a memória és egyéb mentális funkciók krónikus, progresszív leépülése, az agykérgi neuronok pusztulása. Az AK esetében az életkor, a nem és a családi előzmények a legfontosabb rizikó faktorok, 65 év fölött bármilyen típusú demencia, de főleg az AK kialakulásának lényegesen megnő az esélye, leginkább nők esetében (6-3. táblázat). Bővebben l. még a 9. fejezetben is.

A betegséget *post mortem* (halál után) lehet egyértelműen diagnosztizálni, a központi idegrendszerben kimutatható neuropatológiai rendellenességek alapján. Jellegzetes elváltozások a fehérje aggregátumok – az amiloid fehérje prekurzorból proteolitikus hasítással keletkező Aβ peptidekből álló β-amiloid plakkok és neurofibrilláris kötegek – kialakulása. Az AK közönséges, gyakori formájának tünetei 60 év fölött alakulnak ki, nem mutat mendeli öröklésmenetet (a betegségnek van egy ritka, 50 év fölött manifesztálódó autoszomális domináns formája), de jellemző a családi halmozódás és a relatív kockázata is magas ($\lambda_r = 4$-5), azaz tipikusan multifaktoriális meghatározottságú betegség. Ha valakinek elsőfokú rokonai között van AK-os beteg, akkor az ilyen rokonnal nem rendelkező egyénekhez képest négyszer nagyobb esélye van arra, hogy beteg legyen. Az ikervizsgálatok

eredménye nem egyértelmű, de a MZ konkordancia 50% körüli, a DZ konkordancia pedig kb. 18%.

6-3. táblázat

Az Alzheimer kór (AK) és demencia kialakulásának korra- és nemre specifikus kumulatív kockázata

65 év fölötti kor intervallum	**Az AK kockázata (%)**	**Demencia kockázata (%)**
65 és 80 év között		
Férfiak	6,3	10,9
Nők	12	19
65 és 100 év között		
Férfiak	25	32,8
Nők	28,5	45

Az apolipoprotein E *ε4* allélje. Az apolipoprotein E (*APOE*) lokusz volt az elsőként megismert genetikai faktor ami asszociációt mutatott az AK közönséges formájának kialakulásával. Az apolipoprotein E az alacsony sűrűségű lipoprotein részecske (LDL), a koleszterin vérplazmában történő szállításában és a sejtek általi felvételében szerepet játszó lipoprotein komplexnek az egyik komponense, részt vesz az LDL-nek a sejtek LDL-receptorához való kötődésében. Az apolipoprotein E kimutatható az AK betegek amiloid plakkjaiban is. Az *APOE* lokusz a 19. kromoszómán van és három allélja ismert, az *ε2*, *ε3* és *ε4*.

6-4. táblázat

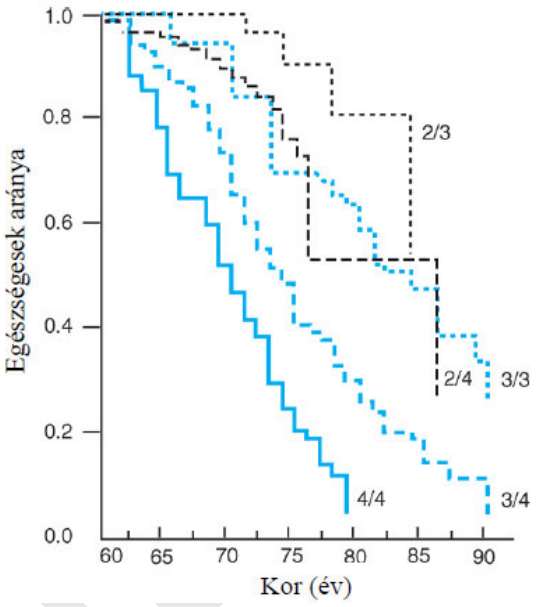
Az apolipoprotein E ε4 allélje és az Alzheimer kór közötti asszociáció USA és Japán populációkban

A táblázat a beteg- és kontroll csoportban meghatározott genotípus gyakoriságokat (%) ábrázolja.

	Gyakoriság (%)			
	USA		**Japán**	
Genotípus	**AK**	**Kontroll**	**AK**	**Kontroll**
ε4/*ε4*; *ε4*/*ε3*; *ε4*/*ε2*	0,64	0,31	0,47	0,17
ε3/*ε3*; *ε2*/*ε3*; *ε2*/*ε2*	0,36	0,69	0,53	0,83

Az USA-ban és Japánban végzett vizsgálatokból kiderült, hogy az *ε4* allélt tartalmazó genotípusok gyakorisága a betegekben háromszorosa az egészségesekben talált gyakoriságához képest (6-4. táblázat). Az AK kialakulásának kockázata még nagyobb az *ε4* allélre homozigóták esetében, az *ε4*/*ε4* homozigóta betegekben a tünetek lényegesen fiatalabb korban jelennek meg.

Általánosságban kijelenthetjük tehát, hogy az AK esetében az *ε4* allél egyértelműen hajlamosít a betegség manifesztálódására, azáltal, hogy korábbra hozza a betegség kialakulásának idejét (6-4. ábra). Nyilvánvalóan más lokuszok és a környezeti hatások is fontosak az AK kialakulásában (pl. fejsérülések), de ezekről még egyelőre keveset tudunk. Az APOE lokusz tehát egy újabb fontos példája a betegségre *hajlamosító gének*nek, erős hatással van a betegség kialakulására, de *senkit sem predesztinál* arra, hogy hordozójaként kialakuljon esetében az AK.



6-4. ábra

Az ábra azt mutatja be, hogy az életkor függvényében hogyan változik a különböző APOE genotípusú emberek esélye arra, hogy ne alakuljon ki bennük Alzheimer kór. Az egyik extrém példát jelentik az *ε4*/*ε4* homozigóták (4/4), nekik 80 év fölött csak 10% az esélyük arra, hogy ne alakuljon ki bennük az AK (ugyanakkor az *ε2*/*ε2* homozigóták még 80 év fölött is 80% eséllyel maradnak AK mentesek)**.**

Multifaktoriális veleszületett fejlődési rendellenességek

Számos veleszületett (kongenitális) fejlődési rendellenesség esetében megfigyelhető a családi halmozódás és az esetek gyakori ismétlődése a rokonok között, így pl. az idegcső defektusok (velőcsőzáródási rendellenességek, VZR, l. még a 13. fejezetben is), a nyúlajak és a farkastorok esetében is.

Az idegcső defektusok *(neural tube defects*, **NTD**) közé tartozó ***anencephalia*** és ***spina bifida*** (nyitott vagy hasadt gerinc) gyakran együtt fordul elő családokban (6-5. táblázat), ezért feltételezhetően hasonló a patogenezisük. (A magyar nyelvű

orvosi szakirodalomban a „velőcsőzáródási rendellenességek (VZR)" kifejezést is használják. Az „idegcső", ill. az NTD a helyes, még ha ez angol kifejezés is.)

Anencephalia esetében az előagy, az azt fedő hártyák, a koponyatető és azt borító bőr hiányzik, az érintettek döntő többsége halva születik. Kétharmaduk nőnemű. A *spina bifida* jellegzetes tünete a csigolyaívek záródásának hiánya, főleg a gerinc ágyéki szakaszán. A tünetek súlyossága változó.

Az NTD csoportba tartozó rendellenességek korábban a halvaszületések és korai újszülöttkori elhalálozások fő okozói voltak. A defektusok születéskori incidenciája általában 0,2-1% között változott különböző populációkban. Ma már csökken (az alábbiak okán). A gyakoriságot számos környezeti hatás is befolyásolja, pl. a szociális helyzet, vagy az, hogy milyen évszakban szülnek az anyák.

6-5. táblázat

Néhány gyakori, multifaktoriális meghatározottságú, veleszületett fejlődési rendellenesség incidenciája humán populációban

(A súlyos szív- és NTD rendellenességek kivételével a többségük műtéttel korrigálható.)

Rendellenesség	**Populációs incidencia (1000 főre)**
Nyúlajak/farkastorok	0,4 – 1,7
Csípőficam	2 (♂)
Szívfejlődési rendellenességek	4 – 8
Idegcső defektusok	2 – 10
Pylorus stenosis	1 (♀) 5 (♂)

Az anyai fólsav hiány és az idegcső rendellenességek. Az NTD-s eseteket sokáig klasszikus multifaktoriális öröklődésű jellegnek gondolták. Ezért hatalmas meglepetés volt annak felismerése, hogy az NTD első fokú oka vitaminhiány. Az NTD kockázata fordítottan arányos a terhesség során az anya vérében mért fólsav szinttel. 200 μg/liter a határérték, az ennél alacsonyabb már lényegesen megemeli a rendellenesség kialakulásának kockázatát. Az NTD-s magzattal terhes anyák vérében a csökkent fólsav szint együtt jár megemelkedett homocisztein szinttel. A két tünetből kikövetkeztethető, hogy a biokémiai rendellenesség a tetrahidrofolát metabolizmust érinti, nem metilálódik a homocisztein metioninná. A fólsav szintet természetesen döntően befolyásolja az elfogyasztott táplálék minősége, mennyisége (átlagos napi bevitel 230 μg), de génikus tényező súlyosbíthatja a fólsavhiányos állapotot. Az **5,10-metilén-tetrahidrofolát reduktáz enzim** génjében (*MTHFR*) található gyakori missense mutáció (C677T) következtében egy hőérzékeny fehérjevariáns jön létre (Arg223Val aminosav csere). Az enzim instabilitása csökkenti a terahidrofolát reciklizálását és a homocisztein metilációját metioninná. A mutáns allél gyakorisága olyan magas, hogy a mutáns allélre homozigóták aránya 5% és 15% között változik a különböző populációkban.

Természetes táplálékunkban a fólsav leginkább a zöld növények leveleiben fordul elő, amelyek a téli időszakban kevésbé – és főleg: drágábban – hozzáférhetők, érthető az NTD gyakoriság változása az évszak és szociális helyzet függvényében.

Nem minden érintett gyermekkel terhes anya homozigóta a mutáns allélre, ami jelzi, hogy az alacsony fólsav szintet más génikus faktorok, vagy a táplálkozás is befolyásolják. A NTD esetében a legfontosabb kiváltó tényező, a fólsav deficiencia felismerése lehetővé tette a széleskörű prevenciót: egyrészt az ún. magzatvédő vitamin kezelés keretében (ezt a fogamzás tervezett ideje előtt már három hónappal meg kell kezdeni), ami hazánkban is rendelkezésre áll, másrészt a kenyér (ill. liszt) fólsavas dúsításának kötelező előírásával (USA, Kanada, Nagy-Britannia stb.). Azokban az országokban ahol ezt a preventív lehetőséget bevezették, mintegy 70%-kal csökkent a nyitott gerinccel születettek száma. Ugyanakkor a maradék 30% keletkezése megelőzésének kérdése továbbra is megoldatlan, itt a prenatális diagnosztika (α-foetoprotein [AFP] meghatározás az anyai vérből[29], esetleg az amnion folyadékból; *in utero* ultrahangos vizsgálat; genetikai szűrés) utáni művi terhességmegszakítás javallata a megelőzés járható útja.

A homocisztein magas szintje a szervezetben egyéb kórállapotok fokozott kockázati tényezője is.

Nyúlajak/farkastorok rendellenesség. A farkastorokkal együtt, vagy anélkül kialakult nyúlajak a leggyakoribb születési rendellenesség, gyakorisága ~1/1000 születés. Az ok a fejlődés lassúbb volta, a mediális orrnyúlvány horogszerűen oldalra nyúló része és a felső állcsonti nyúlvány a szokásos összenövés idejében (embrionális fejlődés 5-8. hete) még nem éri el egymást, és nem forr össze. (Mint fentebb említettük: műtéti korrekció általában lehetséges.) Az érintettek 60-80%-a férfi. Ikervizsgálatok is alátámasztják a rendellenesség poligénes meghatározottságát, az MZ ikerpárok esetén a konkordancia 30%, míg DZ ikreknél csak 2-5%. A nyúlajak/farkastorok heterogén, létezik egyéb születési rendellenességekkel együtt járó ún. **szindrómás** és egyéb tünetekkel nem járó **nem-szindrómás típus**a is. A szindrómás nyúlajak/farkastorok öröklődhet monogénes mendeli jellegként, kromoszóma számbeli rendellenesség is okozhatja (13-as triszómia), vagy teratogén környezeti hatásokra is kialakulhat (rubeola embryopathia, thalidomid szedése stb.).

A nem-szindrómás forma is öröklődhet monogénes jellegként (*TBX1* és *MSX1* transzkripciós faktorokat kódoló gének mutációi vagy a fibroblaszt növekedési faktor receptort kódoló *FGFR1* gén mutációja), de gyakoribb a sporadikus formája, ami családi halmozódást is mutathat.

A multifaktoriális öröklésmenet két fő jellegzetessége igaznak látszik a nyúlajak/farkastorok esetében is, nevezetesen: (1) a súlyosabb formát mutató betegek rokonaiban nagyobb a rendellenesség kialakulásának kockázata, mint az enyhe tüneteket mutatók rokonaiban; (2) minél több érintett van egy családban, annál nagyobb a rendellenesség ismétlődésének kockázata a közeli rokonokban. Ezeknek a jellegzetességeknek az lehet a magyarázata, hogy a súlyosan érintett és a sok beteg

[29] Ennek kötelező voltát a terhességi/genetikai tanácsadás keretében a közelmúltban – a sok fals pozitív lelet miatt – eltörölték, de szabadon választható maradt.

rokonnal rendelkező probandusok genotípusában nagy számban vannak jelen a hajlamosító allélek.

Ezt az elképzelést magyarázza a poligénes additív génhatási hipotézis, az ún. **küszöb-modell**.

6-6. táblázat

Példák olyan multifaktoriális eredetű rendellenességekre, amelyek kialakulása a küszöb-modell szerint magyarázható. (Az „izolált" azt jelenti, hogy nem egy szindróma résztünetéről van szó.)

Gyakori izolált fejlődési rendellenességek	**Gyakori (elsősorban felnőttkori) krónikus betegségek (izolált előfordulás esetén)**
Cheiloschisis (nyúlajak)	Tüdő asztma
Cheilognathopalatoschisis (nyúlajak + farkastorok)	Epekő
Hernia diaphragmatica	*Coeliakia*
Hirschsprung-betegség (*megacolon congenitum, colon aganglionosis*)	*Colitis ulcerosa*
	Demencia
	Depresszió
Hypospadiasis	*2-es típusú diabetes mellitus*
Oesophagus atresia	Epilepszia
Szájpadhasadék	Glaukóma (zárt zugú)
Pylorus stenosis	Pajzsmirigy túltengés
Talipes (dongaláb)	Magas vérnyomás betegség
Veleszületett csípődiszplázia	Ischemiás szívbetegség
Veleszületett szívhibák	Lepra (fogékonyság a betegség iránt)
Velőcsőzáródási rendellenességek	*Psoriasis*
Anenkephalia ± spina bifida	*Psychosis maniacodepressiva*
Spina bifida ± hydrokephalus	Reumás sokízületi gyulladás
Enkephalokele	Schizofrénia (szkizofrénia)
	Sclerosis multiplex
	Behtyerev kór
	Tüdőbaj (fogékonyság a betegség iránt)
	Gyomorfekély

A küszöb-modell

Számos olyan humán kvalitatív bélyeget, és a medicina szempontjából nézve kóros jelleget ismerünk, amelynek örökletes volta nem kétséges, de nem mendeli módon öröklődik. Ezeknek a jellegeknek a családi ismétlődése alacso-

DUPress

nyabb a monolokuszos öröklésmenetek által várható értékeknél, de a változó penetrancia feltételezése sem ad kielégítő magyarázatot magasabb ismétlődési kockázatukra egy famíliában.

Szintén jellegzetességük, hogy egy adott családon belüli előfordulási valószínűségük messze meghaladja a más családokban meghatározható gyakoriságot, akkor is, ha nagyjából azonos környezeti feltételek között élő családokat hasonlítunk össze egymással. Ilyenek pl. a hipertónia (magas vérnyomás betegség), a dongaláb, nyitott gerinc, anenkephalia stb. (l. 6-6. táblázat). Ezek örökletes meghatározottságának magyarázatára született meg a poligénes additív génhatási hipotézis módosítása, amelyet **küszöb-modell**ként ismerünk.

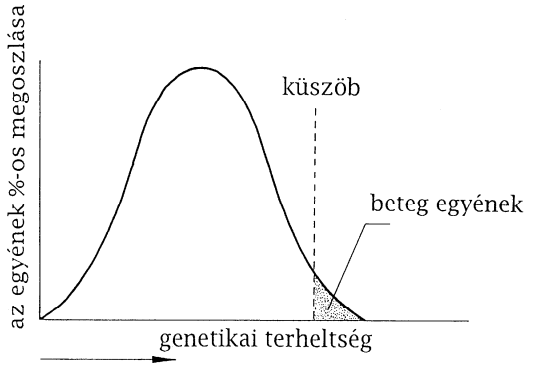
Ez azoknak a jellegeknek a génikus hátterét próbálja magyarázni, amelyek minőségi bélyegként öröklődnek, ennek ellenére a fenotípus populációs megoszlása a mennyiségi jellegekéhez hasonlít. A küszöb-modell feltételezi, hogy az adott jelleget sok gén, egy poligénes rendszer befolyásolja, a gének alléljei additív módon fejtik ki hatásukat, de a kóros jelleg csak egy bizonyos **küszöbérték** (az angol nyelvű szakirodalomban: *threshold*) fölött nyilvánul meg. A kóros jelleget befolyásoló gének az ún. *hajlamosító vagy rizikó gén*eknek az alléljei. Minél több hajlamosító allél van jelen a genotípusban, annál nagyobb a fenotípusos megjelenésük valószínűsége. A kóros jelleg tehát csak egy bizonyos számú hajlamosító allél együttes jelenlétében alakul ki, de hogy a manifesztációs küszöb hol van, azt külső és belső környezeti tényezők határozzák meg. A modellt a 6-5. és 6-6. ábra mutatja be.

Egy humán populáció esetén, ha ábrázoljuk az emberek „átlagos" vérnyomás értékeit, akkor a normál eloszláshoz jól illeszkedő görbét kapunk. A klinikai tapasztalatok alapján – empirikus módon, de a klinikus szakértők széles köre egyetértésével – megállapítható egy olyan vérnyomás érték, *küszöbérték* (140/90 Hgmm), ami alatt még normálisnak tekinthető a vérnyomás, ám fölötte már hipertóniáról beszélünk. A szisztolés vérnyomás (példánkban a 140 Hgmm), tehát egy mérhető és folytonos eloszlást mutató jelleg alapján az embereket két csoportra lehet osztani: magas vérnyomásban szenvedőkre és nem-hipertóniásokra.

A fejezet megelőző példáiban láttuk, hogy a multifaktoriális meghatározottságú jellegekre jellemző a családi halmozódás és azt is, hogy egyes családokban fokozott a betegség kialakulásának kockázata.

Ilyen családokban a probandus kóros alléljeit olyan szülőktől örökölhette, akikben a küszöbértékhez meglehetősen közeli a génikus terheltség, vagy esetleg a(z egyik) szülő/szülők jelleghordozó/k, ami felülmúlja a hajlamosító allélek populációs átlag-gyakoriságát. A probandus testvérének a népességre jellemzőhöz képest jelentősen fokozott a kockázata, hiszen ugyanazon szülői genetikai állományból származnak az ő alléljei is, vagyis nem csekély az esélye küszöbérték elérésére. Mindezek mellett ne feledkezzünk meg a környezet esetleges provokáló hatásáról sem, ami általában nagyon hasonló a családtagok esetében és fontos szerepet játszhat a gének expressziójában. A probandus első-, másod, és harmadfokú rokonai genetikai terheltségének az elméleti eloszlási görbéit mutatja be a 6-7. ábra. Pél-

dánkban azt is fontos figyelembe venni, hogy az ún. *génikus terheltség*, a kóros vagy rizikó-gének száma egy bizonyos határ környékén már hajlamosít a betegség kialakulására, de a kórállapot létrejöttében ismert, vagy még nem azonosított környezeti hatások (feszült idegállapotot, stressz stb.) is alapvető szerepet játszanak. Így helyesebb a 6-5. ábrán bemutatott modellt módosítanunk, a valósághoz a 6-6. ábrán látható állapot áll közelebb. Természetesen, ha valakiben a génikus terheltség jelentősen meghaladja a küszöböt, környezeti hatásoktól függetlenül is kialakulhat a vizsgált jelleg.



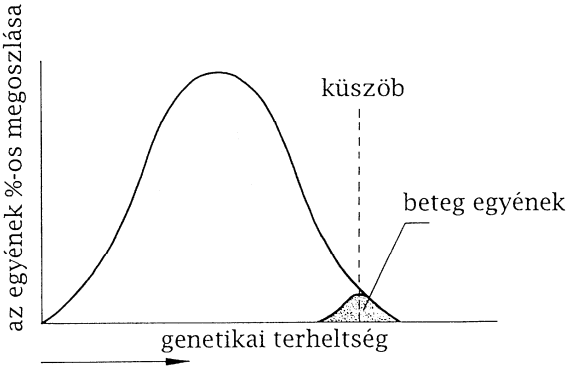
6-5. ábra

A küszöb-modell vázlata

Az elvi manifesztációs küszöb körüli genotípusos rizikót hordozó egyének a környezeti hatások függvényében lesznek – vagy nem – ténylegesen jelleghordozók. A kevéssel a küszöb elvi határa alatt maradókban is létrehozhatják a betegséget a külső (vagy belső) hajlamosító, tényezők, l. a következő (6-6.) ábrát.

6-6. ábra

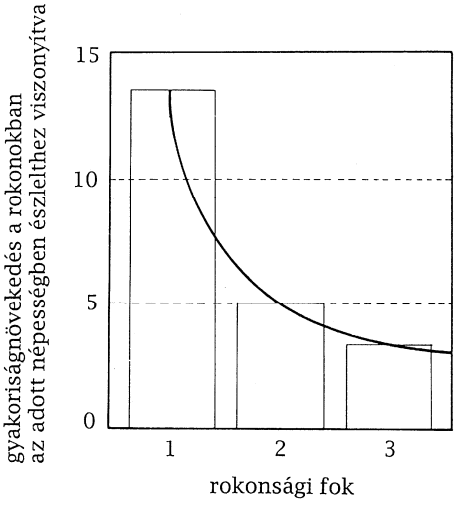
A küszöb-modell pontosítása



Más diszkontinuus eloszlást mutató kórállapotok, mindenekelőtt számos izolált fejlődési rendellenesség (l. 6-5. és 6-6. táblázat) öröklődésének magyarázatára kiválóan alkalmasnak bizonyult a küszöb-modell (l. fentebb a nyúlajak-farkastorok példáját). Ikervizsgálatok is alátámasztják a szóban forgó rendellenességek poligénes meghatározottsági komponensét, egyben jelezve a környezeti faktorok nem elhanyagolható voltát is. Pl. egy statisztikai felmérés szerint szkizofrénia esetén DZ ikreknél 15%, míg MZ testvérekre 45% konkordanciát találtak. Figyeljük meg: az egypetéjűek között is több a diszkordáns pár mint a konkordáns, de az utóbbiak gyakorisága még így is háromszorosa a kétpetéjűekre kapott értéknek.

Elsőfokú rokonok: szülő, testvér, gyermek; bennük a közös gének aránya 1/2. (Ez a szülő és gyermek esetén biztosan igaz, testvéreknél csak valószínűségi érték [vagy statisztikai átlag]). Másodfokú rokonok: nagyszülő, unoka, nagybácsi és nagynéni (szülő testvére), unokaöcs és unokahúg (testvér gyermeke), féltestvér. A közös gének aránya 1/4. Harmadfokú rokonok: dédszülő, dédunoka, első unoka-testvér (szülő édestestvérének a gyermeke); a velük közös gének aránya 1/8. Látható az ábrából, hogy a kockázati tényező csökkenése a rokonsági fok függvényében nem azonos az ún. „családi közös génállomány" arányának változásával. Ennek magyarázatát l. a 6-8. ábrán.

Statisztikai tanulmányok egyértelműen kimutatták bizonyos családok fokozott kockázatát egy-egy fejlődési rendellenesség, szív- és érrendszeri megbetegedés, szkizofrénia stb. ismétlődésére. Ilyen esetekben szokásos, hogy nem az abszolút előfordulási gyakoriságot adják meg, hanem a tanulmányozott család tagjainak kockázatát a populációs átlaghoz viszonyítva. Erre mutat be példát a 6-7. ábra.

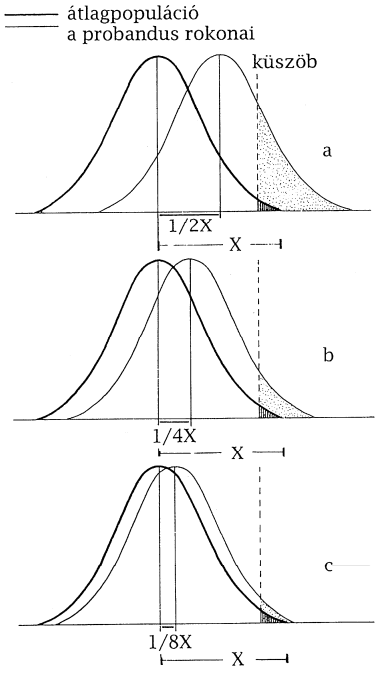


6-7. ábra

Egy küszöb-modellel leírható örökletes jelleg ismétlődési kockázata a közeli rokonok körében

Mint már említettük, ha a *probandus* egy adott rendellenességben szenvedő személy, kóros génjeit olyan szülőktől örökölte, akikben a küszöbértékhez közeli a génikus terheltség, akkor a probandus testvérének a népességre jellemzőhöz képest jelentősen fokozott a kockázata. Ugyanakkor ez az esély jelentősen elmarad pl. egy autoszomális recesszív kórkép 1/4-es ismétlődési kockázatától egy később születendő testvérben. (Ha mondjuk a – példánkban meg nem nevezett – rendellenesség populációs előfordulási gyakorisága 1/1000, akkor egy 15-szörös rizikónövekedés még mindig csak 15/1000 valószínűségi esély, míg az 1/4 [közös nevezőre hozva] 250/1000-et jelent!) A másod- és harmadfokú

rokonok is jelentős arányban részesülnek még az ún, „**családi közös gének**”-ből, de mivel nekik – elméletileg és átlagosan – csak génjeik 1/4-e, ill. 1/8-a közös a probandussal, a küszöb elérésének esélye számukra jelentősen kisebb. Mindezek mellett nem szabad megfeledkezni – mint már említettük – a környezet esetleges provokáló szerepéről sem, ami egy adott család tagjait illetően lehet rendkívül hasonló vagy azonos is.



A *probandus* első-, másod- és harmadfokú rokonai genetikai terheltségének elméleti eloszlási görbéit mutatja be a 6-8. ábra, annak illusztrálására, hogy a közvetlen rokonokban hogyan nő meg a küszöb átlépésének kockázata.

6-8. ábra

Egy küszöb-modellel leírható öröklődésű jelleg ismétlődési kockázata a közeli rokonok körében

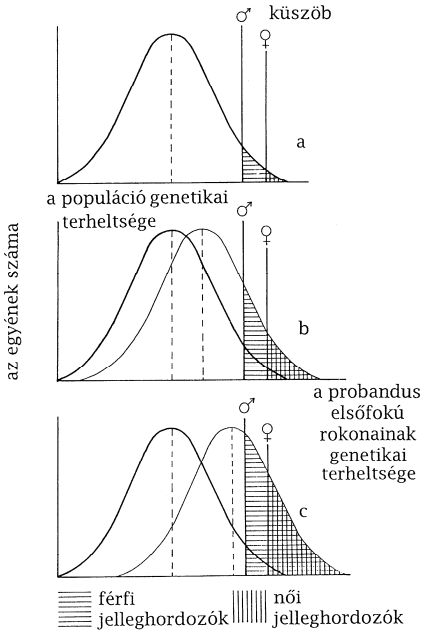
Görbe alatti területek: jelleghordozók a népességben.

Pontozott (világosszürke) = jelleghordozók a probandus megfelelő fokú rokonai között. **a**: első-, **b**: másod-, **c**: harmadfokú rokonok. A génikus terheltség görbéje szerinti átlag a családi közös gének arányában tolódik el a rokonokban a populációstól a probandus értékének irányában. Így a küszöbön – a normál eloszlásnak megfelelően – nem kétszer, hanem többször annyian jutnak túl az első- mint a másodfokú rokonokban.

Minél kisebb egy rendellenesség populációs gyakorisága, annál nagyobb az érintett személy közvetlen rokonainak kockázat-növekedése a népességi átlaghoz viszonyítva. Ezt azzal magyarázzuk, hogy a rizikó-gének alacsony allélfrekvenciája a populációban csak ritkán eredményez akkora koncentrációt egy-egy egyénben, ami a fenotípusos megjelenéshez szükséges, ha viszont valaki elérte a küszöbértéket, ez annak a jele, hogy családjában felhalmozódtak ezek az allélek, más rokonban is manifesztálódhat a jelleg, ami az alacsony populációs gyakorisághoz viszonyítva (tehát nem abszolút számokban!) jelent relatíve nagyobb kockázatot. Értelemszerűen e tétel megfordítása is igaz: nagy populációs gyakoriságú rendellenességek esetén a közvetlen rokonoknak a népesség átlagához viszonyított kockázat-növekedésének aránya kisebb.

A küszöb-modell sikerrel magyarázza több olyan multifaktoriális determinációjúnak tartható rendellenesség öröklődését, amely az egyik nemben sokkal gyakoribb mint a másikban (pl. csípőizületi diszplázia lányokban, *pylorus stenosis* fiúkban stb.) Ezekkel kapcsolatosan megfigyelték, hogy a ritkábban érintett nembe tartozó probandusok elsőfokú rokonainak akkor nagyobb a koc-

kázata, ha ellenkező neműek. Ennek a jelenségnek a magyarázatát a 6-9. ábrából érthetjük meg.



6-9. ábra

Nemi különbségek multifaktoriális kóreredetű rendellenességekben

Alacsonyabb a küszöbérték a férfiakban, ezért körükben több a manifeszt kórforma (a). Az alacsonyabb küszöbű nembe tartozó jelleghordozók elsőfokú rokonainak átlagos génikus terheltsége kevésbé tér el a populációétól, mint a magasabb küszöbű nők rokonaié (b), ezért az utóbbiak között nagyobb az ismétlődés kockázata mint a gyakrabban érintett nembe tartozóké körében (c).

Az értelmi képességek, az intelligencia öröklődése

A *Homo sapiens* esetében az intelligencia és a szellemi képességek fogalomkörébe tartozó adottságok mérhetőek. Manapság erre leggyakrabban a Stanford-Binet tesztet használják. Ennek eredményét IQ (intelligence quotient, intelligencia hányados) pontokban adják meg:

$$IQ = \frac{\text{a teszt alapján megállapított szellemi kor}}{\text{valóságos kor}} \times 100$$

A képletből látható, hogy egy átlagos értelmi képességű személy IQ-ja 100, de az IQ érték a nevelés, oktatás minőségének megfelelően változhat az életkorral. Az IQ pontok eloszlása a *multifaktoriális meghatározottságnak* megfelelően a populációban folytonos, a normál eloszláshoz hasonló. Mégis, az értékek alapján értelmi képességek szerinti osztályokba sorolhatók az emberek. IQ >140: kiemelkedően tehetséges; IQ = 120-140 tartomány: kiváló; IQ = 110-120: átlagosnál jobb képességű; IQ = 90-110: átlagos értelmi képességű; IQ = 80-90: nehéz felfogású, IQ = 70-80 határeset. Alacsonyabb IQ értékek jelzik az értelmi fogyatékosak (gyengeelméjűség, *mentális retardáció*) kategóriáit. IQ = 50-70: debilitás; IQ = 25-50 tartomány: imbecillitás; IQ <25: idiócia. Az alacsonyabb IQ pontok tartományában (IQ <60) a tényleges gyakoriság jóval meghaladja a – gaussi eloszlás alapján – várt értékeket. Ennek több oka is van, csökkent értelmi képességet, sőt kifejezett gyen-

geelméjűséget okozhat a poligénes génrendszer terheltségétől vagy súlyosan negatív hatású környezeti ártalmaktól függetlenül számos ismert monolokuszos génikus defektus (PKU, galaktozémia, Tay-Sachs kór, Lesch-Nyhan szindróma, *Huntington chorea*, fragilis X szindróma stb.), kromoszóma rendellenesség (Down kór), beltenyészet eredetű IQ-csökkenés, de számos nem génikus betegség (agyvelőgyulladás, agyhártyagyulladás), magzati fertőzések (mindenekelőtt vírusok, mint pl. rubeola, de más fertőzések is, pl. *toxoplasmosis*), környezeti fiziko-kémiai ártalom, baleset.

DUPress

DUPress

7. fejezet

Genetikai variációk egyedekben és populációkban: mutáció és polimorfizmus

Bármely két ember DNS szekvenciája kb. 99,9%-ban megegyezik. A maradék felelős az emberek közti genetikai variabilitásért. Egyes eltérések alig hatnak a fenotípusra, mások betegséget okozhatnak. E két véglet között vannak azok, amelyek anatómiai, élettani (pl. emésztési) tulajdonságok, vagy gyógyszerhatás, fertőződési fogékonyság, rák iránti hajlam, esetleg személyiségjegyek, sportolási alkalmasság, művészi tehetség stb. tekintetében okoznak variációkat. Az örökletes betegségek tehát csupán ritka és extrém megnyilvánulásai a genetikai különbségeknek, míg a sokkal közönségesebb variánsok csupán fokozott hajlamhoz vezetnek, a leggyakoribbak pedig jórészt ártalmatlanok, ill. lényegtelenek.

Mutációk. A mutációk osztályozása

Mutációnak tágabb értelemben a DNS szekvencia hirtelen, egy (sejt-) generációban bekövetkezett, stabil megváltozását/átrendeződését nevezhetjük. Ennek 3 szintjét különítik el: a **genom mutáció**kat (a kromoszómák számbeli eltéréseit), a **kromoszóma mutáció**kat (az egyes kromoszómák strukturális aberrációit), és az ún. **pontmutáció**kat (melyek hagyományos citogenetikai módszerekkel láthatatlanul kis változások). Az első két kategória tárgyalása a citogenetika körébe tartozik (l. 2. és 3. fejezet). Szűkebb értelemben inkább csak a legutóbbit tartják mutációnak, és mivel többnyire egyedi géneket érint (ha egyáltalán génben történik), sokszor génmutációnak is nevezik. Ez legtöbbször egy vagy kevés, máskor több, akár milliónyi nukleotid megváltozásával is járhat (utóbbi esetben azonban kérdéses, jogos-e pontmutációnak hívni), és lehet nagy, olykor több génre kiterjedő hatása (pl. egy szabályozó gén megváltozásakor). Máskor a mutációnak nincs fenotípusos hatása, mert pl. nem változik meg a fehérje aminosav-sorrendje vagy egy hasonló (szinonim) aminosavra való csere változatlanul hagyja a funkciót. Máskor a (normális) egyenlő crossing over miatt történik olyan szekvencia változás, ami nincs hatással a gén-működésre. Mindezek az ún. néma mutációk.

A szaporító sejtvonalakban történt mutációt **germinális mutáció**nak hívjuk, ilyen esetben az tovább kerülhet a következő nemzedékbe. Ha a testi sejtek valamelyike mutálódik, azt **szomatikus mutáció**nak nevezzük, mely nem öröklődik, mégis fontos, mert pl. daganat kialakulásához vezethet.

A **pontmutációk két fő okból keletkeznek**: replikációs hibákból ill. DNS károsodásokból, melyeket a javító (*repair*) rendszerek nem javítanak ki. Vannak spontán („maguktól" keletkező) és indukált (azaz valamilyen fizikai vagy kémiai mutagén tényező által kiváltott) mutációk.

Replikációs hibák létrejönnek annak ellenére, hogy a DNS polimerázok rendelkeznek egy önjavító, ún. *proofreading* aktivitással (3′-5′ exonukleáz aktivitás), mellyel tévesztéseiket 10^{-7} gyakoriságúra tudják csökkenteni. Mivel az emberi diploid genom mérete kb. 6×10^9 bázispár, ez még túl sok hibához vezet, de a javító rendszerek további 2-3 nagyságrenddel csökkentik a hiba gyakoriságot (kerekítve összességében kb. 10^{-10}-re), így végül egy humán sejt osztódásakor (egy replikáció folyamán) a replikációs hibákból valamivel kevesebb mint 1 új nukleotid mutáció keletkezik. (És a DNS-ünk igen kis hányada kódoló funkciójú!)

A **DNS károsodások javítása**.

Úgy becsülik, hogy naponta 10^4-10^6 nukleotid károsodik egy emberi sejtben spontán depurináció, demetiláció vagy dezaminálódás miatt, kémiai vagy fizikai (UV-fény) hatásra. Ezek helyrehozását a javító rendszerek kísérlik meg. A repair rendszerek több komponensből (fehérjéből, enzimből) állnak. Egyesek felismerik a hibát, mások elvágják a DNS szálat (endonukleáz), széttekerik a dupla hélixet (helikáz), a végek felől lebontják a hibás szakaszt (exonukleáz) és megszintetizálják a megmaradt szálhoz komplementer új szálat. Így működik pl. az egyik legfontosabb, a **nukleotid exciziós repair** (NER). Ha ennek valamelyik eleme defektes, a *xeroderma pigmentosum* nevű, emelkedett bőrrák kockázattal járó betegség fejlődik ki, mivel a bőrben nem történik meg az UV hatására keletkező timin dimerek javítása. Egy másik repair rendszer kifejezetten a téves, nem komplementer bázispárok (*mismatch*-ek) javítására „szakosodott", ezt **mismatch repair**-nek hívják. Az ún. AP-endonukleázzal működő repair a bázis kieséseket képes javítani. A **poszt-replikációs (vagy rekombinációs) repair** a replikáció utáni egyik utód DNS hibáját a másik utód DNS homológ szakaszából egyfajta rekombinációs folyamat révén vett szállal képes javítani. Mivel a károsodások nem mindegyike javítódik ki, több mutáció is marad a sejtekben.

A mutációk típusai és következményeik

Nukleotid szubsztitúciók

Ezek lehetnek **tranzíció**k (purin purinra, pirimidin pirimidinre cserélődik), vagy **transzverzió**k (purin pirimidinre, pirimidin purinra cserélődik).

Missense mutációk. Ha a bázis csere egy aminosav kodont érint, és a megváltozott kodon más aminosavat kódol, azaz a fehérjében az adott helyen egy aminosav csere történik, ezt *missense* (téves értelmű) mutációnak hívjuk. A csere lehet **szinonim** (ha kémiailag hasonló oldalláncú aminosavra változtat). A hatás ez utóbbi esetben várhatóan enyhébb, mint ha nem szinonim aminosav kodon keletkezik. De a következmény a pozíciótól is függ: a fehérje aktív helyén vagy egy a konfor-

máció szempontjából kritikusabb részen egy csere súlyosabb, máshol általában enyhébb, sőt akár észrevétlen lehet.

Lánc terminációs mutációk. Ha a bázis csere következtében egy aminosavat meghatározó kodon stop kodonra változik (elveszti aminosav-értelmét), ez a **nonsense mutáció**. Általában súlyos következményekkel jár. Egyrészt a polipeptid rövidebb lesz, fontos részei teljesen hiányozhatnak, másrészt az mRNS is kevésbé stabil és lebomlik, alkalmasint még transzláció előtt, ill. a rövidebb fehérje (a sejt által érzékelt összehajtogatódási hibái miatt) szintén hamarabb lebomlik.

Az is lehet, hogy egy korábbi stop kodon változik aminosav kodonra (ez nem nonszensz mutáció!), ilyenkor a fehérje hosszabb lesz, ami szintén okozhat instabilitást, de gátolhatja az mRNS esetleges regulációs funkcióit a 3′-végi nem-transzlálódó részén.

RNS érési (*processing***) mutációk**. Az RNS érés folyamatai (5′-*capping*, 3′-poliadenilálás, *splicing*) közül az utóbbi mutációit kell kiemelni. A megfelelő *splicing*-hoz az exon-intron átmenetnél (5′ donor hely) és az intron-exon átmenetnél (3′ akceptor hely) levő intron szekvenciák igen fontosak. Ha ezekben mutáció történik, az intron nem megfelelően vágódik ki. Az intron más helyein is létrejöhet olyan mutáció, ami megváltoztatja a kivágást, pl. akkor, ha új donor/akceptor helyet hoz létre. Így az új hely vetélkedik a kivágásért az eredeti hellyel, és az mRNS-ek legalább egy része hibás lesz.

Mutációs forró pontok. A sejtmag DNS-ében a citozin, ha guanin követi (5′-CG-3′), gyakran enzimatikusan metilálódik 5-metilcitozinná (epigenetikus génreguláció). Ez spontán dezaminálódhat timinné, és így C-T tranzíció alakul ki. Ha egy nem metilált citozin dezaminálódik, akkor uracil keletkezik, azt pedig egy repair „észreveszi” (lévén a DNS-ben idegen bázis), mielőtt a lánc replikálódna, míg a timin kijavítása ezzel a rendszerrel nem történik meg. Ezért a CG helyeken az átlagosnál sokkal gyakoribb a mutáció. (Az ún. CpG szigeteket lásd a 4. fejezetben.)

Inszerciók és deléciók (in-del mutációk)

Bizonyos meggondolásokból ide vehetjük még az **inverzió**kat, **duplikáció**kat és **fúzió**kat is. Mindezek érinthetnek egy vagy kevés nukleotidot, máskor egész géneket, viszonylag hosszabb szekvenciákat is (ezek pl. PCR-rel kimutathatók), ritkábban akár citogenetikailag is észlelhető nagyságú kromoszóma régiókat is.

Kis deléciók és inszerciók. Ha ezek fehérje kódoló régiókban történnek és tagszámuk nem 3 nukleotid vagy annak egész számú többszöröse, akkor a kodonok triplet volta miatt eltolják a transzlációban a leolvasási keretet, azaz ***frameshift*, kereteltolásos mutáció**t okoznak. Ennek velejárója, hogy az inszerció/deléció helyétől kezdődően megváltozott aminosavak épülnek a polipeptidbe, és jó eséllyel rövid úton egy stop kodon is következik. Ha ellenben 3-mal osztható számú nukleotid épül be/vágódik ki, akkor az eredeti keret és a megfelelő aminosav szekvencia megmarad, csak néhány aminosavval több lesz a beépülés helyén, ill. aminosavak hiányoznak majd a deléció területén. Ennek következményeit befolyásolja

a fehérjemolekulán belüli helyzet és alkalmasint a protein jelentősen megváltozó konformációja. Értelemszerűen a **kereteltolásos mutáció általában súlyos hatású**.

Nagy deléciók és inszerciók. Ezek olyan méretűek, hogy Southern hibridizációval is kimutathatók. Nagyobb deléciók néhány betegségben fordulnak elő gyakrabban, pl. alfa-talasszémiában, továbbá a nagyméretű gének hibája miatt DMD-ben és 1-es típusú neurofibromatózisban. Több esetben világos, hogy ezeket több helyen ismétlődő szekvenciák közötti egyenlőtlen crossing over okozza. Nagyobb DNS darabok inszerciója viszonylag ritkább. Ezek főként retrotranszpozícióval jönnek létre, pl. LINE szekvencia inszerciója a VIII-as véralvadási faktor génjébe, megszakítva a gén kódoló részét (**inszerciós inaktiválás**).

Rekombinációs következmények. Nagyon hasonló vagy azonos (pl. *Alu*) szekvenciák közötti egyenlőtlen (inekvális) crossing over az egyik oldalon deléciót, a másik oldalon duplikációt eredményez. Ilyen eset ismert pl. az LDL receptor génben, familiáris hiperkoleszterinémiát okozva. Egyes alfa-talasszémia esetek is így keletkeztek. Máskor az ugyanazon a kromoszómán egymás után elhelyezkedő hasonló szekvenciájú géncsaládok tagjaiból veszhet el egy-egy (ugyanakkor a másik testvérkromatidon vagy homológon duplán szerepel). Erre példát az X-kromoszómán lévő zöld-érzékeny pigment gének kópia számában történt változások adhatnak. Ha a homológ szekvenciák ugyanazon kromoszómán, de fordított orientációban vannak, közöttük a rekombináció inverziót okoz (pl. a súlyos hemofília A esetek felében az exonok egy része megfordul, ezzel a gén inaktiválását okozva). Oki tényező lehet gén és pszeudogén (l. a 4. fejezetben) közötti rekombináció is.

Dinamikus mutációk

Egyes betegségekben – mint azt fentebb említettük (l. 5. fejezet) –, amilyen pl. a *Huntington chorea* és a fragilis X szindróma (= familiáris mentális retardáció) egy eleve ismétlődő trinukleotid szekvencia amplifikálódása (felszaporodása) figyelhető meg. Ez lehet a kódoló (Huntington) vagy egy átíródó, de nem kódoló (*FMR1*) génszakaszon, és vagy abnormális fehérjét eredményez, vagy rontja a génexpressziót. Az amplifikáció újra és újra folytatódhat az ivarsejt képzéskor, (valószínűleg a replikáció során) egyre több és több ismétlődést produkálva az egyes generációkban, ezért nevezik dinamikus mutációnak. Ez egyben egyre súlyosabb, ill. korábban kezdődő betegséget okoz. Utóbbi az **anticipáció** jelensége.

Az emberi génmutációs ráták becslése

Egy gén mutációs rátáját az egy lokuszban egy generáció alatt bekövetkezett új mutációk számával szokás kifejezni. Ezt közvetlenül meghatározni az autoszomális domináns vagy X-hez kötött olyan génekre lehet, amelyek 100%-os penetranciájúak és már újszülött (fiatal csecsemő) korban egyértelmű fenotípussal járnak. (Pl. achondroplasia, DMD, hemofília A és B, 1-es típusú neurofibromatózis, retinoblasztóma stb.) A ráták 10^{-4}-10^{-7} között mozognak, a medián 10^{-6}. Az eltéréseket a gén nagyságában, a mutáció típusában, esetleges forró pontok meglétében jelent-

kező különbségek okozhatják. Mivel egyes mutációkat szinte észrevehetetlenül enyhe hatásuk, másokat letalitásuk miatt nem észlelünk, a valódi mutációs gyakoriságok nagyobbak lehetnek. A kb. 10^{-6}/gén/generáció érték (25 000 emberi gént véve) azt jelenti, hogy kb. 2,6% eséllyel öröklünk valamelyik szülőnktől egy új mutáns gént, másképpen: 40 emberből legalább 1 várhatóan kap egy ilyet.

A génmutációs ráták nemi különbségei. A női és férfi gametogenezis különbözik. A nők primer oocitái kb. 22 mitotikus osztódással jönnek létre, majd belépve a meiózis I-be az ovulációig ebben a szakaszban várakoznak, azaz ezután nincs több DNS replikáció. A spermatogenezisben ellenben a pubertásig 30 mitózis történik, majd ezt követően évente további 20-25. A 10^{-10} megmaradó replikációs hibát véve (l. fentebb) osztódásonként 0,6 mutációval számolhatunk, így pl. egy 25 éves férfinél a kb. 300 osztódás miatt kb. 180, egy 55 évesnél pedig már 600 új mutáció lehet spermiumonként. Persze, ezek egy része nem jelenik meg a gyermekekben, mivel vagy letális a spermiumra, vagy recesszív, vagy nem is káros. Úgy tartják, mindössze 1/2000 a káros mutációk aránya, úgyhogy a spermiumoknak (kortól is függően) 10-30%-a hordozhat új káros mutációt valahol a genomban. Az, hogy az új germinális mutációk gyakrabban apai eredetűek, illetve hogy arányuk az apa korával emelkedik, néhány betegségnél kimutatható, másoknál (ismeretlen okból) nem. (Ne felejtsük el, hogy ez a számítás csak a replikációs hibákra vonatkozik!)

Az ember, a *Homo sapiens* genetikai változatossága

Bár orvosi szempontból érthetően a káros mutációk keltenek érdeklődést, sok mutáció neutrális, sőt néhány még előnyös is lehet. Az evolúció során a mutációk folyamatos megjelenése biztosítja a genetikai diverzitást és individualitást. Ez jelentkezhet olyan szinteken mint a kromoszómák festődése, megabázis méretű darabok kópiaszám variációi, DNS nukleotid változások, fehérje változatok, vagy a betegségek megjelenése. Ezek között a természetes szelekció válogat. (Az állat- és növénynemesítésben, -tenyésztésben ill. -termesztésben az ember lép a természetes szelekció helyébe, és a saját szempontjai szerinti mesterséges szelekcióval válogatja ki a fajfenntartásra, tovább szaporításra alkalmas egyedeket.)

A genetikai polimorfizmus koncepciója. Az emberi DNS szekvenciák nagyfokú hasonlóságot mutatnak világszerte. Két nem rokon embertől származó homológ kromoszóma találomra választott 1000 nukleotidnyi szakaszán átlagban 1 bázispárnyi különbséget találunk. A fehérje-kódoló szakaszokra ez még kevesebb (1/2500), ami érthető, hiszen ott az evolúcióban kevesebb változat lehetett életképes.

Megegyezés szerint **genetikai polimorfizmusról akkor beszélünk**, ha egy szekvencia variáns a populációban a kromoszómák legalább 1%-án megtalálható. Az ennél kisebb gyakoriságú alléleket ritka variánsoknak hívjuk. Bár az örökletes betegséget okozó káros allélek többsége ritka variáns, vannak gyakori, a polimorfizmus körébe sorolható variánsok, melyek növelik bizonyos súlyos komplex betegségek kockázatát.

EU Press

A polimorfizmusok típusai és hatásai sokfélék, és nem mutatnak egyszerű összefüggést. Akár nagy DNS szegmens deléciójával, duplikációjával stb. jellemezhető polimorfizmus létezhet fenotípusos hatás nélkül, míg egy hasonló – vagy jóval kisebb (!) – méretű ritka variáns súlyos betegséghez vezethet. A polimorfizmusok lehetnek gének közötti részen vagy intronban (sokszor fenotípusos következmény nélkül), ill. kódoló szakaszban, esetleg szabályozó szekvenciákban (utóbbi két esetben gyakrabban a fenotípusban is észlelhetően).

A polimorfizmusok igen fontosak, nem csupán a kutatásban, hanem egyre inkább a klinikai gyakorlatban is. Az evolúció-kutatáson kívül nagyon jelentősek pl. a betegség-gének kromoszomális helyének kapcsoltsági analízissel vagy allél-asszociációs vizsgálattal történő térképezésében. Az orvoslás máris mindennaposan használja őket a prenatális diagnózisban, a heterozigóta szűrésben, a vér- és őssejt-bankok kezelésében, a transzplantációhoz szükséges szöveti tipizálásban. Alapját képezik a nagy jövő előtt álló perszonális medicinának (személyre szabott orvoslásnak), amelyben az egyedi gondozás az egyes betegségekre (koszorúér, rák, *diabetes mellitus* stb.) hajlamosító vagy éppen rizikót csökkentő, ill. a gyógyszerek hatását befolyásoló, vagy műtét utáni kockázatokat módosító változatok ismerete alapján történik. A bűnüldözés is alkalmazza őket elkövetők azonosításában. Apasági keresetekben is jelentősek.

Öröklött DNS variációk és polimorfizmusok

Ezek csoportosítása a szekvencia variációk típusa szerint történik. Az ***SNP***-k (a rövidítés angol kiejtése: sznip) a legegyszerűbbek, az eltérés csupán egyetlen nukleotid(pár)ban van (*Single Nucleotide Polymorphism*). Gyakori, az emberi genomban, 1 kbp-nyi szakaszon több is lehet, így összesített számuk a 10 milliós nagyságrendbe esik. Egy SNP-nek általában 2 allélje van. Ezek befolyásolhatják az RFLP-mintázatot. Az, hogy egy SNP gyakori, nem jelenti, hogy nincs hatással az egészségre vagy az életkilátásokra, de valószínű, hogy a gyakori SNP-k csak enyhe hajlamosító tényezőként szerepelnek a súlyosabb betegségek hátterében.

Felmerül a kérdés, hogy mi a különbség az egy nukleotid-párt érintő mutációk és az SNP-k között. Érdemben semmi, legfeljebb a fenotípusra kifejtett hatás felől közelítve szokták elkülöníteni őket (a mutáció megjelenik a fenotípusban), másrészt olyan operacionális különbséget tesznek, hogy egy adott SNP gyakorisága a populációban >1%, a mutációé pedig <1%.

A leggyakoribb SNP-ket markerként használják egy részletes haplotípus térkép (*HapMap*) megalkotására. Ma ez rendkívül fontos szerepet játszik a különböző populációk genomikai és génikus összehasonlításában.

Inszerciós-deléciós (in-del) polimorfizmusok. Ezek változó számú, jellemzően kevesebb mint 100 nukleotidpárból álló szakaszok beépülését (inszerció) vagy kiesését (deléció) jelentik. Belőlük kevesebb van a genomban (ezres-tízezres nagyságrend). Az egyszerű *indel*-eknek csak 2 allélje

létezik, de vannak multiallél fajtái is, melyeket tovább mini- ill. mikroszatellitáknak nevezünk.

Mikroszatelliták. Másik nevük az STR (vagy STRP, *Short Tandem Repeat Polymorphism*), mert mindössze kevesebb mint 10 (leggyakrabban 2-4) tagszámú szekvenciák egymás utáni ismétlődésével jellemezhetők, és az egyes allélek az ismétlések számában különböznek (2-től néhány tucat példányig). Az ilyen lokuszoknak elég sok allélje van a populációban, és egyszerűen genotipizálhatók PCR segítségével, mert ha a primereket a lokusz két oldalán levő szomszédos szekvenciákhoz tervezik, az ismétlődések számától függő méretű terméket kapnak. Az emberben sok tízezer mikroszatellita lokusz ismert.

Miniszatelliták. Ez is tandem ismétlődési polimorfizmus, ezért másik neve: VNTR (*Variable Number Tandem Repeat*), de itt az ismétlődő egység hosszabb (10-100 bp). Szintén sok allél jellemzi (gyakran több tucat is), amelyek az ismétlődések számában különböznek, ezért markerként ez is jól használható.

Az STR és VNTR polimorfizmusok ritkán okoznak egészségi problémát (tekintettel arra, hogy jellemzően nem kódoló DNS-régiókban helyezkednek el). Mivel jó néhány VNTR lokusz szekvencia egysége hasonlít egymásra, lehetséges számos különböző lokusz szimultán kimutatása Southern-blot hibridizációval egyetlen VNTR fragmentet használva próbaként. Ezzel a módszerrel csak az egypetéjű ikrek mutatnak hasonló mintázatot, ezért ez volt az egyik első, egyének azonosítására használt DNS ujjlenyomat módszer. Mára azonban inkább PCR-rel megsokszorozott STRP markereket használnak erre (pl. az FBI [Federal Bureau of Investigation, USA] 13 STR lokuszból álló panelt alkalmaz). Ezekben (ha nem egypetéjű ikrekről van szó) a két ember közötti egyezés valószínűsége elhanyagolhatóan kicsi.

Kópiaszám polimorfizmusok. Újabban felfedezett típus, rövid elnevezése CNP (*Copy Number Polymorphism*). Nagyobb genom szegmensek (200 bp – 2 Mbp) ismétlődése jellemzi, de hagyományos citogenetikai módszerekkel az eltérések nem láthatók. Olykor csak 2 allélje van (egy szegmentum megvan vagy hiányzik), máskor több allél is lehet (0, 1, 2, 3, esetleg még több kópia tandem előfordulásakor). Kimutatására az array-CGH módszer alkalmas. (A betűszó a *comparative genome hybridization*-t jelenti, l. a 2. fejezetben.) Az adatok fokozatosan gyűlnek arra vonatkozóan, hogy mekkora a jelentősége egyes betegségek létrejöttében, gyógyszerérzékenységben, daganatkeletkezésben stb.

A fehérjékben megjelenő örökletes variációk és polimorfizmusok

Azon eseteket vesszük ide, amelyekben bár szintén DNS szekvencia variánsok következményéről van szó, inkább a fehérjéket vizsgáljuk (vagy vizsgáltuk korábban). A fehérje lokuszokon egy ember átlag 20%-ban mutatkozik heterozigótának. Ha ehhez a jelentős polimorfizmushoz hozzávesszük a fehérjék sokféle kölcsönhatását, kézenfekvő a következtetés, miszerint **mindenki saját, csak rá jellemző biokémiai tulajdonságokkal rendelkezik**, és így egyedi módon reagál a környezeti, étkezési, gyógyszerterápiás hatásokra. Ezt a kémiai (metabolikus) egyediséget Garrod egy évszázada fogalmazta meg először, és azóta is érvényesnek bizonyult.

Az alábbiakban néhány orvosilag fontos polimorfizmust tárgyalunk, melyek a vértranszfúzió (AB0 és Rh vércsoportok), ill. a szerv-/szövet-transzplantáció (MHC, *Major Histocompatibility Complex*) szempontjából fontosak.

A legfontosabb vércsoportok polimorfizmusa

Ezek voltak a vérben elsőként felfedezett, genetikailag meghatározott antigén variációk. Az AB0 nem csak a vérátömlesztésekben, hanem szervátültetésekben is fontos: minden sejten kifejeződik, míg az Rh-faktor a transzfúziók mellett elsősorban az újszülöttek hemolitikus betegségében jelentős.

Az AB0 vércsoport rendszer. Ebben a vonatkozásban – közismert módon – az emberek vére 4 típusba sorolható (A, B, AB vagy 0) aszerint, hogy két antigén (az A és B) közül a vörösvértestjeik (vvt) felszínén melyik van jelen, esetleg mindkettő vagy egyik sem. Az A ill. B antigéneket hordozó vvt-k kicsapódnak, ha anti-A ill. anti-B ellenanyaggal (antitest) találkoznak. Ez normálisan nem következik be, mivel az A vércsoportúak vérplazmájában csak anti-B, a B vércsoportúakéban pedig csak anti-A ellenanyag van, az AB-sekében egyik sincs, míg a nullásokéban mindkét antitestet megtaláljuk. A jelenlévő antitestek azonban életveszélyes hemolitikus sokkot okozhatnak nem megfelelő vér átömlesztésekor.

Az antitestek megléte természetes folyamat eredménye, de a specificitások nem génikusan meghatározottak. Minden ember csecsemőként találozik olyan, betegséget alkalmasint nem is okozó baktériumokkal, amelyek felszínén az A vagy B antigénhez hasonló molekula(részlet) van. Az anti-A ill. anti-B ellenanyag tulajdonképpen ezek ellen termelődik, betartva azt a szabályt, hogy saját molekula ellen nem szabad ellenanyagot termelnie az immunrendszernek. (Ez utóbbi sajnos nem mindig érvényesül, l. autoimmun betegségek.)

Az AB0 rendszer anitgénjeit a 9-es kromoszóma egy lokuszának 3 allélje határozza meg: az I^A, I^B és az i. Az előbbi kettő kodomináns egymással, az i pedig recesszív mindkettővel szemben, így a lehetséges 6 genotípus 4-féle fenotípust alakít ki: I^AI^A vagy $I^Ai \rightarrow \mathbf{A}$; I^BI^B vagy $I^Bi \rightarrow \mathbf{B}$; $I^AI^B \rightarrow \mathbf{AB}$; $ii \rightarrow \mathbf{0}$.

Az A vagy B fenotípust jelentő antigén lényegi része egy oligoszaharid, melynek alapja egy H-antigénnek nevezett váz, amelyre az esetlegesen jelen levő I^A, ill. az I^B allél által meghatározott különböző specificitású glikozil-transzferáz enzim variánsok egy-egy további monoszaharid egységet kapcsolnak (A esetén N-acetil-galaktózamint, B esetén D-galaktózt), így a H alapanyagból A ill. B antigén lesz. A 0 vércsoportúakban csak a H-antigén van meg, mivel az i allél hibás, azaz transzferáz enzimként nem működő fehérjét kódol.

A H antigén hiányában megnyilvánuló Bombay vércsoportra vonatkozóan (*hh* genotípus) l. az 5. fejezetben a génkölcsönhatásokról írottakat: recesszív episztázis.

Az I^A és I^B allélek közötti minimális különbség felelős az eltérő enzimatikus aktivitásért, míg az i allél egy nukleotid deléciója miatt frameshift mutációt szenvedett. (Az i allélnek egyébként elég jelentős polimorfizmusa van, mely változatok közös tulajdonsága, hogy nem határoznak meg működőképes glikozil transzferáz enzimet.) A törvényszéki orvosszakértői vizsgálatokban (pl. apasági perek) régen

az AB0 fenotípus meghatározását végezték el és kizárásos alapon értékeltek. Pl. 0-s anyának B vagy 0 csoportú férfitől nem születhet A-s gyermeke stb. Ma már a DNS szintjén folyik a genotipizálás.

Az AB0 vércsoport rendszer elsődleges orvosi jelentősége a transzfúziókban és transzplantációkban van. Lehetőség szerint a recipiens és a vért adó donor egyező vércsoportú kell legyen. Ha ez nem lehetséges, akkor is a kompatibilitásnak érvényesülnie kell, azaz a donor A és/vagy B antigénje nem kerülhet olyan recipiensbe, akinek az ezt/ezeket kicsapó antitestjei vannak[30]. A transzplantációk esetében ezen kívül a HLA antigének (l. alább) kompatibilitása is követelmény.

Az Rh vércsoport. Főleg az újszülöttek hemolitikus betegsége és a transzfúziós inkompatibilitás lehetősége miatt ugyanolyan jelentős orvosilag, mint az AB0 rendszer. Ha vvt-k felszínén megtalálható az – 1-es kromoszóma *RHD* lokusza által meghatározott – D (fehérje) antigén, akkor az illető Rh-pozitív. Rh-negatív fenotípust általában az okoz, ha e lokusz homozigóta a fehérjét nem kódoló *d* allélre. (Az allélgyakoriságok etnikai különbségeket mutatnak, pl. a kaukázusi [fehér bőrű, európai származású] észak-amerikaiak között az Rh-negatívok gyakorisága 17%, az afro-amerikaiak körében 7%, míg a japánokban mindössze 0,5%.

Az újszülöttek hemolitikus betegsége. Az Rh rendszer gyakorlatilag legnagyobb jelentősége, hogy az Rh^- személyek Rh^+ vvt-kkel immunizálódva – addig egyáltalán nem termelt – anti-D ellenanyagokat képeznek. Ez olyan Rh^- anyáknál fordulhat elő leginkább, akik férje *DD* vagy *Dd* genotípusú, és lesz gyermekük 100%-os, ill. 50% valószínűséggel Rh^+. Az első Rh-inkompatibilis terhességben ez még nem szokott problémát okozni, de akik másodszor is Rh^+ magzattal várandósak, azoknál igen. Mind a terhesség idején, mind pedig – főként – a szülés alatt az anyai keringésbe Rh^+ magzati vvt-k kerülhetnek be. Az erre válaszként termelt ellenanyagok a placentán átjutva – általában csak a második vagy későbbi – magzatban vvt-ket lizálnak, így az újszülöttben alkalmasint igen súlyos vérszegénységet is okozhatnak. Ezt megelőzendő az ilyen Rh-inkompatibilis esetekben a várandósoknak egyszer a 28-32 héten, majd közvetlenül a szülés után ismét anti-D immunglobulin injekciót adnak, ami – az anya keringésébe jutott Rh^+ vvt-ket bevonva – megakadályozza az immunizációt. (Ezt a kezelést a spontán vagy művi vetéléseknél, ill. az invazív prenatális diagnosztikai eljárásoknál is el kell végezni!)

Az MHC (*Major Histocompatibility Complex* **= fő hisztokompatibilitási rendszer)** egy nagy géncsoport (klaszter) az emberi 6-os kromoszóma rövid karján (7-1. ábra). Három osztálya közül az első kettő (MHC I és II) a már korábban felfedezett **humán leukocita antigén (HLA)** géneknek felel meg, melyek a szerv- és szövetátültetések szempontjából fontosak. Az immunválaszhoz nélkülözhetetlen az antigén „prezentációja" (megfelelő bemutatása) a limfociták-nak, mert azok csak akkor reagálnak, ha az idegen anyag egy HLA molekulával komplexben jelenik

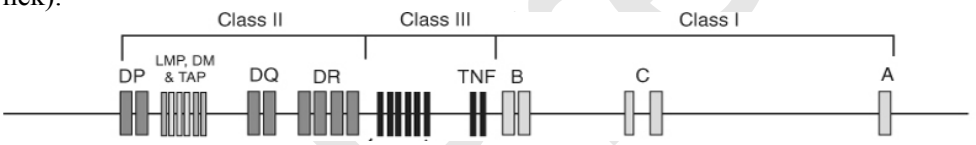
[30] Teljes vér átömlesztésekor arra is figyelemmel kell lenni, hogy a donor vérében ne legyen a recipiens vvt-it kicsapó antitest. Ma már – a tervezhető esetek (műtétek) többségében – mosott vörösvérsejt szuszpenziót használnak, ami enyhíti az említett problémát.

meg a prezentáló sejt felszínén. A HLA gének polimorfizmusa igen nagyfokú, alléljeik százszámra fordulnak elő.

Az I-es osztály génjei (HLA-A, HLA-B és HLA-C) által meghatározott fehérje antigének minden magvas sejt membránjában megtalálhatók. Az antigén prezentáló sejtekben a sejten belüli fehérjék feldarabolásával létrejött peptidek bemutatását végzik a citotoxikus T sejtek számára.

A II-es osztály kromoszomális régiójába sok lokusz között olyanok tartoznak mint a HLA-DP, HLA-DQ és HLA-DR, melyek szintén felszíni integrális membrán fehérjéket kódolnak. Ezek extracelluláris eredetű, majd endocitózis után a lizoszómákba került és ott elhasított fehérjék peptid darabjait mutatják be a T sejteknek.

A HLA allélek és haplotípusok. Már a hagyományos szerológiai (immunsavókkal végzett) módszerrel is kb. 100 HLA (A, B, C, DR, DQ és DP) variánst tudtak elkülöníteni, ezek száma azonban a ma alkalmazott DNS szekvenálással immár 1300 fölé került. Pl. a korábban szerológiailag csak HLA-B27-nek nevezett allélnek ma több mint 24 DNS szekvencia variánsa ismert. Ma azok kapnak eltérő kezdő számot, amelyek aminosav kodon változással is járnak, az ezen belüli további változatokat alszámozással különítik el (pl. HLA-B*2701, HLA-B*2702 stb). **Az allélek egymással kodominánsak** (azaz heterozigótákban egyaránt kifejeződnek).



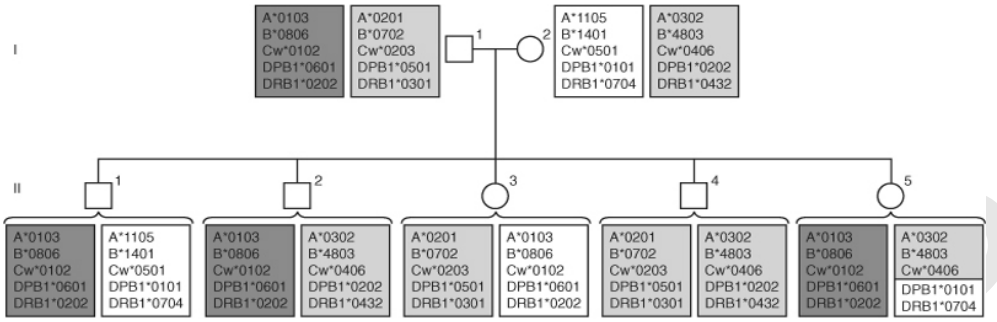
7-1. ábra

A HLA lokuszok az emberi hatos kromoszóma rövid karján
(Az ábrázolt régiótól a centromer balra, a telomer jobbra van.)

A kapcsolt lokuszoknak a kromoszómapár egyik tagján egy sorban elhelyezkedő alléljeit haplotípusnak nevezzük. Így az I-es és II-es HLA lokuszok alléljei is mindenkiben két haplotípusba csoportosulnak (a két homológ 6-os kromoszómának megfelelően), mindkét szülőnktől kapunk egyet-egyet (7-2. ábra). Ezek a lokuszok olyan közel vannak egymáshoz, hogy rekombináció nem valószínű az átadásnál, következésképpen a szülő és gyermek egy haplotípusban megegyezik, **haplo-identikus**. A testvérek HLA egyezése lehet teljes, 50%-os vagy 0 is, a teljes egyezés, a **HLA identitás** valószínűsége 25%. (Az egypetéjű ikrek természetesen HLA identikusak.) Nem rokonok között a nagyfokú polimorfizmus miatt igen csekély az egyezés esélye. Mivel a transzplantáció során a beültetett sejtek elfogadása annál jobb, minél nagyobb az egyezés, a HLA-identikus (és AB0 vércsoportjukban is megegyező) testvérek közti szerv-/csontvelő átültetés kecsegtet a legjobb eredménnyel.

A különböző népcsoportokban az allélek, valamint a haplotípusok előfordulása és gyakorisága eltér. Az elméletileg várható 3×10^7 különböző haplotípus többsége

elő sem fordul. Ez az ún. *linkage disequilibrium*mal (l. a következő fejezetben) magyarázható, aminek oka összetett (alacsony rekombinációs %, egyes haplotípusok szelekciós előnye vagy hátránya, hány generációval korábban és hány egyedből keletkezett a populáció, volt-e bevándorlás stb.).



7-2. ábra

HLA haplotípusok öröklődése egy családban

A HLA rendszer kapcsolata egyes betegségekkel. Néhány HLA allél ill. haplotípus kimutatható asszociációt mutat bizonyos betegségekkel, igen gyakran autoimmun kórképekkel, amelyek esetén az immunrendszer saját molekulákat támad meg, azaz ilyenek válnak antigénné. A *spondylosis ankylopoetica* (Behtyerev kór, a gerinc- és a szakro-iliakális ízületek krónikus gyulladásos betegsége) az egyik legismertebb HLA-kapcsolt kór. A B27 (szerológiai) antigén jelenléte kb. 150-szeresre növeli a relatív rizikót erre a betegségre, azaz azoknak a kockázata, akikben megvan a B27-es antigén, ennyiszerese azokéhoz viszonyítva, akikben nincs. De az ilyen antigénnel rendelkezőknek is csak kis hányada lesz beteg; valószínűleg nem mindegy, melyik DNS szekvencia-variáns van jelen.

Vannak asszociációk, amelyeknél semmilyen funkcionális kapcsolat nem állapítható meg a betegség és a HLA allélek vagy haplotípusok között, az összefüggés tisztán egyes betegség-géneknek az MHC lokuszokkal fennálló szoros kapcsoltsága miatt keletkezik. Ilyen betegségek a kongenitális adrenális hiperplázia és a primer hemokromatózis. Ezen esetekben a (21-hidroxiláz ill. a *HFE* gén) mutációk olyan HLA haplotípusok ill. allélek mellé kerültek, melyekkel sok generáció óta is megtartották kapcsolatukat.

Mivel a HLA antigének az immunrendszerben fontos szerepet játszanak, allél variációik módosult immunfolyamatokat eredményezhetnek az antigén felismerésben. Azonban a HLA rendszer és a betegségek közti asszociációk funkcionális alapja eddig kevéssé ismert.

A HLA rendszer és a transzplantációk. A szerv- és szövet-transzplantációk csak tökéletes antigén egyezés esetén (pl. egypetéjű ikrek) vezetnek garantálható sikerre (kifogástalan sebészi technika esetén is) immunszuppresszív terápia nélkül. A HLA-C lokusz alléljei ebből a szempontból alárendeltek, nem kell tökéletes – de akárha nagyfokú – hasonlóságra sem törekedni. A helyzet valamivel kedvezőbb az

elhatárolt szervek (pl. vese) esetén, de a 10 éves szerv-túlélés a hatékony immungátló terápia ellenére is alig több mint 50%, ha csak haplo-identikus testvérekről van szó. A csontvelő átültetés azért is nehezebb probléma, mert azzal immunkompetens sejteket viszünk be, és ilyenkor nem csak a recipiens támadja a bekerült sejteket (*host versus graft*), hanem azok is a gazdát. (*graft versus host* reakció) Az igen nagyfokú polimorfizmus miatt azonban nem könnyű megfelelő egyezésű donort találni, ezért a HLA-tipizált donor jelöltek adatait milliószámra viszik be kereshető adatbázisokba a minél jobb egyezés elérésének sikere érdekében.

(Csak zárójelben jegyezzük meg, de fontos, hogy a klinikumban inkább a HLA, mintsem az MHC megjelölést használják.)

Mutációk hatásainak kísérletes tanulmányozása

emberen – értelemszerűen – nem lehetséges. Sok génünk azonban olyan evolúciós konzervativizmust mutat fel, hogy mutációja – avagy funkciójának teljes hiánya – jól vizsgálható akárha élesztősejtekben is. Ilyen esetekben pl. az ép (vad típusú) emberi gén bevitele a kísérleti organizmusba kompenzálhatja abban a génikus hibát, értékes adatokkal szolgálva az adott humán gén funkciójára vonatkozóan. Az ilyen, mesterségesen bevitt DNS szakasz megjelölése a **transzgén**, a recipiens sejté/szervezeté a **transzgénikus organizmus**, pl. transzgénikus egér. Arra is van már mód, hogy a kísérleti objektumban egy meghatározott gént „kiüssenek", megszakítsanak, elnémítsanak. Így hozható létre pl. ún. **knock out** egér. Ebben egyfelől a génhiány következményei, másrészt az ezt kompenzálni, helyrehozni képes emberi gén bevitele révén ez utóbbi funkció/ja/i tanulmányozhatók.

Laboratóriumi beltenyésztett egerek blasztocisztáiból (pl. fekete törzsből) izolálnak embrionális őssejteket, *in vitro* tenyészetbe viszik azokat, és létrehozzák a megfelelő genetikai módosítás(okat), heterozigóta állapotban. Ha van mód rá, még az *in vitro* körülmények között szelektálják a kívánatos embrionális őssejteket. Majd az így nyert transzgénikus sejteket másik (fehér törzsből származó) állatok blasztocisztáiba injektálják, s azokat álterhes nőstények uterusába ültetik. A megszületett kisegerek között kimérák is vannak (fehérek fekete foltokkal), ezek további beltenyészetében megjelennek a kívánt homozigóták is, de fenntarthatók rekombináns heterozigóta vonalak is.

DUPLICATE

8. fejezet

Emberi géntérképezés és betegség-gén azonosítás

A Humán Genom Projekt befejezése óta sok mindent tudunk az ember génjeiről. Egyes gének közvetlenül, magukban is képesek kóros állapotokat okozni, mások csak hajlamosítanak betegségekre. Az előbbieket viszonylag könnyebb azonosítani, ugyanakkor, bár a genom szekvenciákban milliószámra találtak polimorf helyeket, a leggyakoribb, nyilvánvaló genetikai háttérrel (magasabb fokú heritabilitás) rendelkező ún. komplex betegségek esetében mégsem rendelkezünk elég ismerettel a genetikai hajlamosító tényezőkről.

Ebben a fejezetben – miután vázoljuk az emberi genom néhány sajátságát és a kromoszómák génjeinek fizikai viszonyát – sorra veszünk két alapvető megközelítést a betegség-gének azonosítására. Az első, a **kapcsoltsági analízis** *családvizsgálatok*on alapszik, és annak a kromoszomális régiónak a behatárolását célozza, amely a betegség örökítésében szerepel. A másik, az **asszociációs vizsgálat** *populáció-alapú*, és bizonyos variáns(ok) gyakoriságának eltéréseit vizsgálja a betegek és az egészséges kontrollok csoportjaiban, ily módon ez a megközelítés túllép a családi esetlegességeken. E két módszertől sokat várunk a betegségek génikus hajlamának megértésében, ami lényegesen javíthatja sok fontos kórkép megelőzését, ellátását és gén- ill. fehérjeszintű (l. 10. fejezet) vagy gyógyszeres kezelését, ill. a genetikai tanácsadást.

A gének térképezése a következő módokon segíti az orvosi genetikát:

- Közvetlen klinikai haszonnal jár a **prenatális diagnosztika**, a **heterozigóta szűrés**, és a **preszimptomatikus** (a tünetek megjelenése előtti) **diagnózis** számára.
- A betegség-gének azonosításában az első fontos lépés, mivel leszűkíti a szisztematikus mutációs ill. polimorfizmus, valamint gén vizsgálatokat egy adott régióra (**pozícionális klónozás**).
- Ez megteremti a lehetőségét a **lokusz-** és **allél-heterogenitás**, a **penetrancia**, továbbá a mutációk **pozitív predikciós értéke** meghatározásának, megtörténhet annak tisztázása, az egyes lokuszok variánsai mekkora szereppel bírnak a betegség kockázata szempontjából.
- Az így megszerzett ismeretek alapján számos, a megelőzést, szűrést, rizikó-becslést, és terápiát szolgáló módszer fejleszthető.

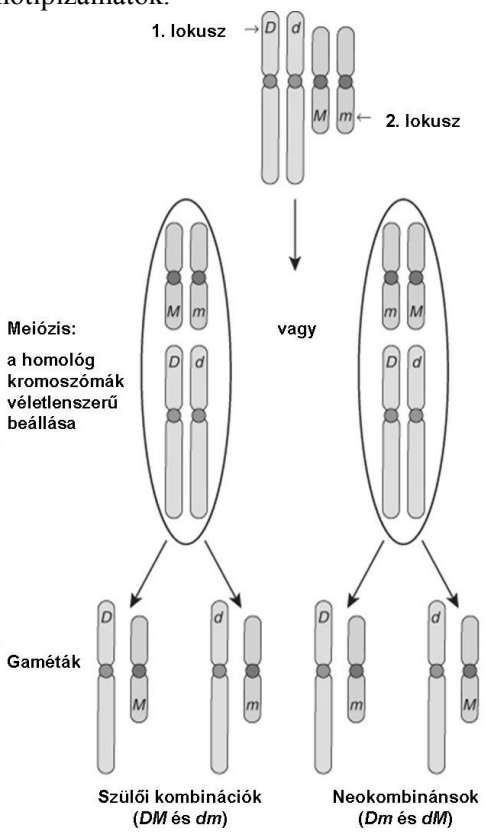
DUPRESS

A kromoszómák szerepe és viselkedése a gének öröklődése folyamatában

Mindezt alapvetően már áttekintettük az előzőkben, lásd az 1., 2. és 5. fejezetet. Itt az általános orvosi praxis szempontjából fontos megközelítéseket emeljük ki bővebben, ismételjük át.

Öröklődésünk egyik alapja, hogy a 23 pár kromoszómás diploid sejtjeinkből meiózissal haploid gamétákat képzünk a kromoszómák független kombinálódása és a homológ kromoszómák rekombinációja révén..

Független kombinálódás és a homológok rekombinációja a meiózisban. Mivel a kromoszómapárok tagjai (a homológ kromoszómák) külsőleg egyformák, akkor tudjuk azokat megkülönböztetni egymástól, ha markereket találunk rajtuk és ezeket, ill. ilyenekkel megjelöljük őket. Erre a célra a polimorf helyek millióiból válogathatunk (pl. SNP vagy STR helyek), amelyek PCR-el (polimeráz láncreakcióval) egyszerűen genotipizálhatók.



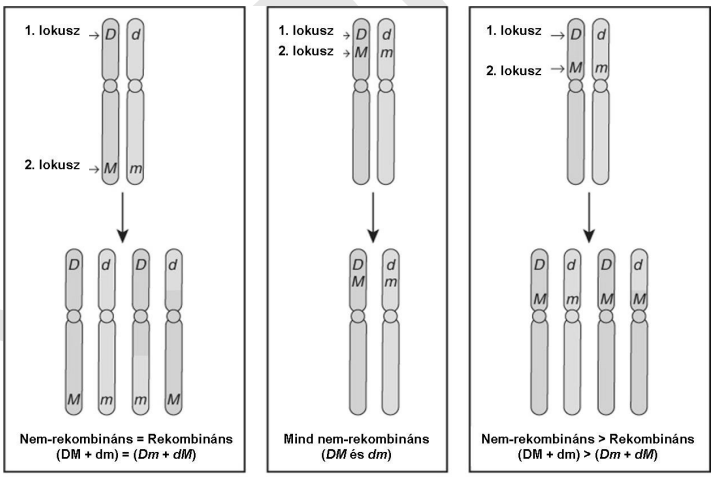
8-1. ábra

Független kombinálódás (független hasadás)

A különböző kromoszómákon levő lokuszok alléljeinek független kombinálódása (hasadása). Vegyünk két lokuszt (dihibrid keresztezés), mindkettőnek 2-2 alléljével. Az egyik lokusz legyen az 5-ös kromoszómán *D* ill. *d*, a másik a 9-

esen *M* ill. *m* allélekkel. Egy kettős heterozigóta egyed (*DdMm*) meiózisakor a két kromoszómapár szétválása kétféleképpen is megtörténhet, az egyik *DM* és *dm*, a másik *Dm* és *dM* ivarsejteket eredményez (8-1. ábra). Mivel a kétféle szétválás azonos eséllyel fordulhat elő, sok meiózist összegezve mind a négyféle gaméta egyenlő arányban keletkezik. Ez jelenti a **független** (vagy másképpen: szabad) **kombinálódás**t, ami a **második Mendel-szabály**ként ismert[31]. Ha a példánkban szereplő heterozigóta a *D* és *M* alléleket kapta az egyik szülőjétől, a *d* és *m* alléleket pedig a másiktól, akkor a keletkező gamétái közül a *DM* és *dm* felelnek meg a **szülői, parentális kombináció**knak, a másik kettő (a *Dm* és a *dM*) **új kombináció** (**neokombináns**). Az előzőek szerint a szülői típusok és a neokombinánsok is 50- 50%-ot tesznek ki. (A kromoszómák képe az ábrákon nem az emberi idiogram szerinti.)

Az egy kromoszómán elhelyezkedő lokuszok kapcsolt öröklődése és esetleges szabad kombinálódása. (L. az 5. fejezetben is, bizonyos mértékben eltérő szempontok szerint tárgyalva.) Lássuk, mi történik, ha az előbbi két gén ugyanazon a kromoszómán van (pl. mindkettő az 5-ösön), és egy kettős heterozigóta most is a *D* és *M* alléleket kapja az apjától, a d és m alléleket pedig az anyjától (8-2. ábra). A két gént ekkor **szintenikus**nak hívjuk, mivel fizikailag össze vannak kapcsolódva ugyanazon a kromatid szalagon. Az ilyen gének gyakran **kapcsolt öröklődés**t mutatnak, mivel ha összekötve maradnak, az eredetileg együtt levő allélek az utódsejtekbe (gamétákba) is együtt kerülnek és **nem kombinálódnak szabadon**.



8-2. ábra

Kapcsolt öröklődés

[31] Más terminológia szerint – dihibrid keresztezéseket vizsgálva – ez a **harmadik Mendel-szabály**, ahol monohibrid keresztezésben az uniformitás szabálya és a gaméták tisztaságának törvénye két (**első** és **második**) mendeli törvényszerűségként jelenik meg.

Szélső esetben, teljesen megmaradó kapcsolat esetén csak szülői (példánkban *DM* és *dm*) gaméták képződnek (8-2/B ábra). Tudjuk azonban, hogy a meiózis I profázisában a (korábban már két testvérkromatidossá duplázódott) homológ kromoszómák párba állnak (szinapszis), így 4 kromatidos tetrádokat alkotnak, és köztük ***crossing over*** (átkereszteződés, **rekombináció**) játszódhat le. Két vizsgált gén alléljeinek kombinálódását a gamétákban végül is az határozza meg, hogy milyen valószínűséggel történik crossing over a közöttük lévő kromoszóma területen, mert a szülőitől eltérő új (itt **rekombináns**nak nevezett) kombinációk aránya ettől függ. (Ha nem köztük történik crossing over, az nem változtat az elrendezésen, azaz marad a szülői típus.)

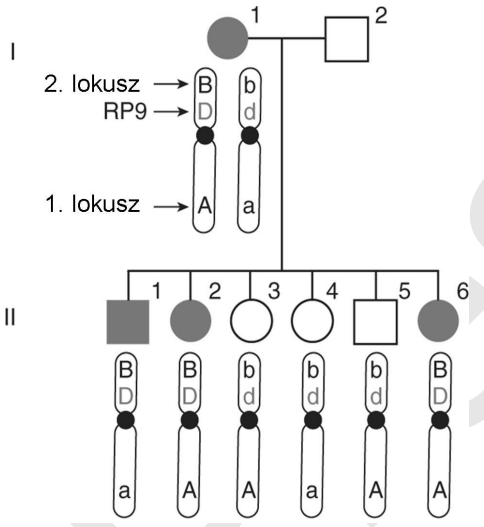
Emberben kromoszómánként 1-4 crossing over szokott történni egy meiózisban. Ez(ek) véletlenszerűen bárhol előfordulhatnak. Könnyű belátni, hogy ha két gén közel van egymáshoz, kicsi az esélye, hogy pont köztük menjen végbe átkereszteződés, így végül nem érvényesül a szabad kombinálódás, és több szülői típusú gaméta (a példában *DM* és *dm*) képződik, mint rekombináns (*Dm* és *dM*). Éppen ezáltal lehet leggyakrabban felismerni a kapcsolt öröklődést (8-2/C ábra).

Ha azonban két gén elég messze esik egymástól (pl. a kromoszóma két ellenkező végéhez közel), akkor már biztosan legalább 1 crossing over várható közöttük a tetrád állapotban. Egy átkereszteződés esetén a 4 kromatid közül kettő rekombinánssá alakul, a másik kettő szülői marad, tehát a szülői/rekombináns arány 1:1 lesz, vagyis olyan, mint a független kombinálódáskor. Többszörös crossing overnél is kimutatható, hogy az összesített eredmény 50% szülői : 50% rekombináns. (50% a rekombinánsok maximálisan lehetséges aránya. Vegyük észre, hogy két lokusz között a páros crossing overek nem okoznak genetikai rekombinációt, azaz lehetséges crossing over rekombináció nélkül is.) Mindez azt jelenti, hogy két, azonos kromoszómán egymástól távol levő gén, ugyanúgy viselkedhet függetlenként, mintha eltérő kromoszómákon lennének (8-2/A ábra).

A rekombinációs ráta és a térképtávolság

A rekombinációs ráta/frekvencia mint két lokusz távolságának mérőszáma. A fentiekben láttuk, hogy ha két lokusz nagyon közel van egy kromoszómán, és nincs köztük crossing over, a rekombináció 0%-os, míg ha messze esnek egymástól, 50% rekombináció is lehet. Ha a gének távolsága e két szélső eset közé esik, vagy bekövetkezik köztük crossing over, vagy nem, de az esély erre a távolsággal növekszik. A rekombinációs frekvencia ilyenkor 0% és 50% közötti értékű, és nagysága kifejezi a gének távolságát. Ezen az alapon a **rekombinációs ráta** a genetikában **távolság mérésre** is használatos. Kifejezhetjük hányad formában – ekkor a θ (téta) jelölést alkalmazzuk –, vagy %-ban is. A genetikai térképezésben **1% rekombinációt** 1 **térkép egységnek** vesznek, neve 1 centimorgan (cM), Thomas H. Morgan, a nagy genetikus tiszteletére, aki először észlelte (Drosophilában) a crossing overt. (L. még az 5. fejezetben.) A lokuszok távolsága alapján – tekintve, hogy azok a kromoszóma mentén lineáris sorrendben helyezkednek el – a gének a kromoszómákon elhelyezhetők, ezt hívjuk **genetikai térképezés**nek.

A heterozigótaság és a fázis szerepe a rekombináció kimutatásában. A rekombináció észleléséhez az kell, hogy a vizsgált lokuszok informatív, azaz heterozigóta állapotban legyenek. Azonban az is fontos, hogy az allélek milyen **fázis**úak, azaz milyen leosztásúak a két homológon. Ha pl. az egyik homológon a *D* és *M* van, a másikon a *d* és *m*, akkor a *D* és *M* **kapcsolt (cisz)** fázisú (akárcsak a *d* és *m*), míg ha mondjuk az apai kromoszómán *D* és *m* van, az anyain pedig *d* és *M*, akkor *D* és *M* **repulziós (transz)** fázisban vannak (és ugyanígy *d* és *m* is). A **haplotípus** tehát úgy is definiálható, mint a **kapcsolt fázisú allélek sorozata**.



8-3. ábra

Retinitis pigmentosa családfa

A 8-3. ábrán bemutatott családban a *retinitis pigmentosa* (egy vaksághoz vezető, a retina degenerációjával és elszíneződésével járó autoszomális domináns betegség) követhető az anya oldaláról (az apa genotípusa *BBddAA*, tehát ő mindig ugyanazokat az alléleket adja). *D* a betegségért felelős, *d* a normális allél, a másik két lokusz markerként szerepel. A *D* alléllal együtt mindhárom beteg gyerek örökölte a *B* marker allélt, az egészségesek pedig mind a *bd* haplotípust kapták, tehát e két lokusz között nem történt rekombináció. Az *RP9* betegség lokusz és a másik marker között viszont a II-1, II-3 és II-5 gyereknél rekombináció történt. Az, hogy hol történt rekombináció és hol nem, nem lenne megválaszolható a heterozigótaság és a fázisok ismerete nélkül.

A kapcsoltság és a rekombinációs frekvencia statisztikai szemlélete. Amint azt a fentiekben láttuk, az egy kromoszómán szomszédos (egy haplotípusba tartozó) gének alléljei nem kombinálódnak függetlenül, hanem inkább együtt adódnak tovább a meiózis során, amit kapcsoltságnak nevezünk. A távolságuktól függően rekombinációs rátájuk θ = 0-0,5 között változhat, de ha eléri a 0,5-et, akkor már nem minősülnek kapcsoltnak (mert ugyanezt az értéket adhatja a neokombináció is), jóllehet szinténikusak lehetnek. Ezek az értékek azonban csak megfelelően nagy

számú utód esetén lehetnek pontosak. Pl. a rekombináció 20%-osnak adódhat egy családban 5 utódból 1, több családban 50-ből 10 vagy 1000-ből 200 rekombináns esetén is. A legelső esetben a kis számok miatt nyilvánvalóan még abban sem lehetünk biztosak, vajon nem csupán véletlen okokból kaptunk eltérést az 1:1 aránytól, hasonlóan ahhoz, mint ha egy családban 4 lány és 1 fiú születne (ami könnyen előfordulhat, holott a várható arány 1:1). A második esetben már valószínű a kapcsoltság, de a 20%-os becslés csak hozzávetőleges lehet. A harmadik esetben a 20%-os rekombinációs értéket már közel reálisnak érezzük. Minél nagyobb számú utódot vizsgálunk, annál biztosabb alapú a meghatározás. De a megbízható értékelés érdekében statisztikai próbákat kell végeznünk ahhoz, hogy az eltérés szignifikanciáját meghatározhassuk. A családi adatok statisztikai értékelésére szolgál a LOD érték meghatározása (l. alább).

Ahhoz is nagy számok szükségesek, hogy a szorosan kapcsolt lokuszok alacsony rekombinációs rátáit megkülönböztethessük a 0-tól, ill. pontos értéküket megmérhessük. Az embernél általában a 0,01-nél kisebb θ értékeket igen nehéz meghatározni, erre csak kevés, nagyszabású humángenetikai vizsgálatnak van lehetősége.

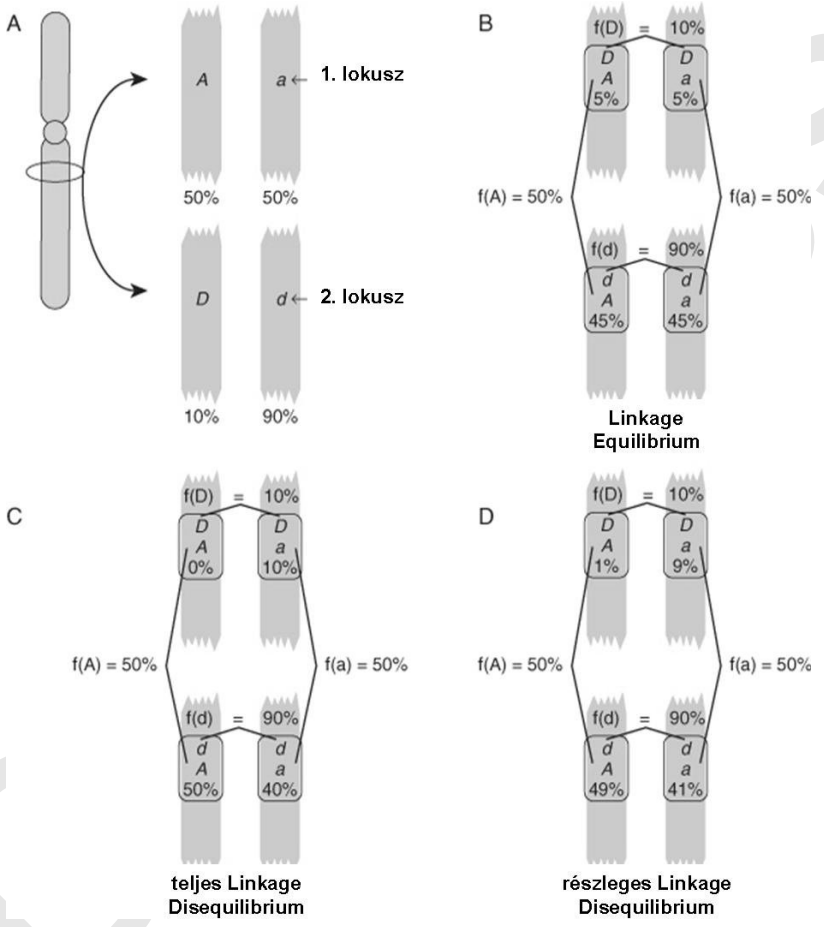
Genetikai és fizikai térképek. A fentiekben láttuk, hogy két lokusz távolsága és köztük a rekombináció gyakorisága összefügg. Azonban a rekombinációs frekvencia csak igen közeli gének esetén arányos a távolsággal. Minél nagyobb távolságokat vizsgálunk, annál kevésbé észlelünk egyenes arányosságot. Ez azért van, mert minél messzebbre esik két gén, annál nagyobb köztük az átkereszteződés esélye, és egyben nő a dupla crossoverek valószínűsége is. Márpedig ez utóbbiak nem járnak genetikai rekombinációval, azaz a crossing overek számával nem arányosan nő a rekombinánsok száma. Így a rekombinációs ráta a növekvő távolsággal egyre inkább alulbecsült értéket ad.

Ezért, ha pontosabban akarjuk megadni a nem túl közeli gének genetikai távolságát, a kromoszómát sűrűn lefedő, egymáshoz közeli markerek közti kis rekombinációs %-okat külön-külön meghatározzuk, majd ezeket (a két vizsgált gén között) összeadogatjuk. Így pl. a kromoszóma két végén elhelyezkedő gének között – közvetlenül vizsgálva – 50% rekombinációt kapunk, ami független öröklődésnek, azaz végtelen távolságnak felel meg, így a valóságos távolságukat nem lehetséges meghatározni. A kromoszóma kis szakaszainak távolság adatait összegezve viszont megadható ez a távolság. A legnagyobb emberi kromoszóma (az 1-es) teljes hossza 270 cM, a legkisebb (a 21-es) hosszú karja 62 cM. Ezen kromoszómák fizikai hossza 283 Mbp ill. 30 Mbp. A teljes genom genetikai hossza nagyobb populáció átlagában 3615 cM, mely 3200 Mbp fizikai hossznak felel meg. A két adat hányadosa az előbbi két kromoszómára és a genomra rendre 0,95, 2,1, ill. 1,13 cM/Mbp. Látható, hogy a genetikai és fizikai távolságok nem pontosan felelnek meg egymásnak.

A térképtávolságok nemek szerinti különbségei. Nem csak a mutációs rátákban van különbség női és férfi gametogenezisben, de a rekombinációs frekvenciákban is. A nőknél a genom 4460 cM genetikai hosszúságú, míg a férfiaknál ez csak 2590 cM (a nőké 72%-al „hosszabb"). A jelenség oka nem ismert, de összefügghet azzal, hogy a női ivarsejt képzésben a meiózis I profázisa hosszú évekig tart.

Kapcsoltsági egyensúly és kiegyensúlyozatlanság

A genetikai térképek összeállításához – mint láttuk – meg kell határozni, átlagosan milyen arányban keletkeznek rekombinánsok az utódok közt. Ha módunk van néhány száz vagy ezer meiózist figyelembe venni, ez akkor is csak mintegy 0,5-1 cM vagy nagyobb távolságok esetén alkalmazható. Egy másik módszer, a **kapcsoltsági kiegyensúlyozatlanság (linkage disequilibrium, LD)** vizsgálata a sokkal ritkább rekombinációk kimutatására, egyúttal sok-sok generációra visszamenő történeti elemzésre is módot ad.



8-4. ábra

Kapcsoltsági kiegyensúlyozatlanság (*Linkage Disequilibrium*, LD)

Ennek megértéséhez előbb tisztáznunk kell az ellenkezőjét : mi a **kapcsoltsági egyensúly** (*linkage equilibrium*). Vegyünk egy domináns betegség allélt (*D*), mely 10% gyakoriságú a 90%-os előfordulású *d* alléllel szemben. Legyen szorosan mellette egy marker lokusz, melynek *A* és *a* alléljei egyaránt 50-50% gyakoriságúak (8-4/A ábra). Megvizsgálható, milyen a *D* és *d* allélek megoszlása külön az *A*-t ill.

a-t tartalmazó haplotípusokban, továbbá milyen az *A* és *a* allélek gyakorisága a *D*-t ill. *d*-t tartalmazó haplotípusokban. Kapcsoltsági egyensúlyban bármelyik gén bármely alléljét tartalmazó haplotípust választjuk is, a másik gén alléljeinek megoszlását ugyanolyan arányban észleljük, mint a teljes populációban (8-4/B ábra). A tapasztalatok szerint, ha két gén legalább 1 cM távolságra esik egymástól, általában egyensúlyt találunk.

Ha azonban olyan lokuszokat tesztelünk, amelyek a fentinél közelebb vannak, sok esetben tapasztaljuk, hogy bizonyos allélek egyes haplotípusokban a várhatónál gyakoribbak vagy ritkábbak. Hogyan alakulhat ez ki? Amikor egy betegség-allél először megjelenik (mutációval vagy migrációval) a populációban, akkor nyilván csak egy bizonyos haplotípusban lesz jelen. Az, hogy ez a betegség-allél tartalmú haplotípus meddig marad változatlan, attól függ, hogy a betegség-allél milyen sebességgel kerül át más haplotípusba rekombinációval. Két tényező fontos ebben: (*1*) a generációk száma (minden generáció újabb lehetőség a rekombinációra), (*2*) a rekombinációs frekvencia a két lokusz között. (Elvileg egy harmadik faktor is számíthat: egy esetleges szelekciós hatás, de ezt embernél nehéz kimutatni.) Az eredeti haplotípus változatlan továbbadása annál valószínűbb, minél kevesebb generáció óta keletkezett, és minél közelebb van a betegség-lokusz a marker(ek)hez (azaz, minél kisebb a rekombinációs ráta).

Ha egy vizsgálat adatai szerint az összes *D* betegség allél kizárólag az egyik marker alléllal együtt fordul elő közös haplotípusban (8-4/C ábra), akkor erős **kapcsoltsági kiegyensúlyozatlanság (*Linkage Disequilibrium*, LD)** áll fenn. A helyzet nem mindig ilyen szélsőséges, azaz megvan az összes lehetséges haplotípus, csak egyesek ritkábbak, mások gyakoribbak a populációs allélgyakoriságok alapján várhatónál (8-4/D ábra).

A Humán Genom Projekt befejezése után megkezdődött egy emberi **haplotípus térkép** (***HapMap***) összeállítása. Több millió SNP összegyűjtése, olcsó és nagy tételben kivitelezhető genotipizálási módszerek kifejlesztése után a szomszédos SNP-ket páronként – az egész genomot lefedően – LD vizsgálatnak vetették alá. A vizsgálatot rokonságban nem álló egyének populációs mintáiban, valamint gyermekből és két szülejéből álló családi csoportokban is elvégezték a Föld 4 különböző helyén kiválasztott etnikum: egy-egy európai, nyugat-afrikai, Han kínai és japán népességre.

Mit tudtunk meg a HapMap projektből? Először is, az SNP-k több mint 90%-a különböző népességekben közös, még az allél frekvenciáik is hasonlóak. Ez arra utal, hogy a legtöbb SNP még az előttről származik, hogy a mai ember kivándorolt volna Afrikából. Más SNP-k jelen vannak egyes populációkban, míg másokból hiányoznak, vagy lényeges gyakoriság különbségekkel fordulnak elő. Ez utóbbiak feltehetően az Afrikából történt kivándorlás után keletkeztek drift, alapító hatás vagy szelekció révén. Ezek az emberek származásáról, migrációjáról adnak felvilágosítást (olykor törvényszéki orvostani alkalmazást is nyernek).

Másrészt, az LD adatokból kiderült, hogy az SNP-k haplotípus blokkokat alkotnak, melyeken belül a markerek rekombinációja kisfokú (magas LD), a blokkok között viszont sokkal nagyobb (kisebb LD). Egy jellemző példában a blokk 9 tagja 2^9=512 haplotípust

tudna létrehozni, de a valóságban csak 5 létezik. A haplotípus blokkok mérete változó, az átlagos méret az afrikaiaknál a legkisebb (7,3 kbp), az európaiaknál a legnagyobb (16,3 kbp), a távolkeletiek között 13,2 kbp. Ezek a különbségek legvalószínűbben azzal függnek össze, hogy az Afrikán kívülieknél kevesebb generáció állt rendelkezésre a rekombinációs eseményekre. Harmadrészt, a csak pár kbp-nyi távolságokra levő markerek között a rekombináció mértéke óriási eltéréseket mutat – jóval kevesebb, mint 0,01 cM/Mbp-tól mintegy 60 cM/Mbp értékekig. (Ez az egyenlőtlenség még magyarázatra vár.)

Végül, a más módszerrel korábban megismert rekombinációs forró pontok gyakran egybeesnek a HapMap projektben feltárt LD blokkok határaival. Számos esetben azonban az ilyen egybeesés teljesen hiányzik. Ez nem váratlan, ha meggondoljuk, hogy az LD nem csak a rekombinációtól függ, hanem más tényezőktől is, pl. hogy hány generáció telt el a kialakulása óta.

De a HapMap projekt célja nem csak adatok gyűjtése volt az emberi genom genetikai szerkezetéről és történetéről. Elsősorban olyan genetikai variánsok keresését kívánta szolgálni, amelyek betegségekkel kapcsolatosak. Alább ennek a tárgyalására is kitérünk.

Géntérképezés kapcsoltsági elemzéssel

Lokuszok kapcsoltságának kimutatása. A kapcsoltság kimutatásához az első bizonyság, hogy a rekombinációs rátát 50%-nál kisebbnek találjuk, majd lehetőleg minél pontosabb értéket nyerjünk róla, hogy a lokuszok távolságát is megbecsülhessük. Mindkét célra megfelel az **esély hányados** (***odds ratio***) számítása. Ez a valószínűségtől abban különbözik, hogy valószínűségek hányadosát adja meg. A számítás során először családfa elemzések alapján megszámoljuk a rekombinációval keletkezett és a nem rekombináns utódokat, majd kiszámítjuk, mi a valószínűsége a tapasztaltaknak több különböző feltételezett rekombinációs ráta ($\theta = 0$ és $\theta = 0{,}5$ közötti értékek) mellett is. Annak a valószínűségét is meghatározzuk, hogy – a null hipotézisnek megfelelően – mi a valószínűség nem kapcsolt esetben ($\theta = 0{,}5$), majd a kapcsolt génekre számított valószínűségeket (egyenként) elosztjuk a nem kapcsolt esetre kapott valószínűséggel, így:

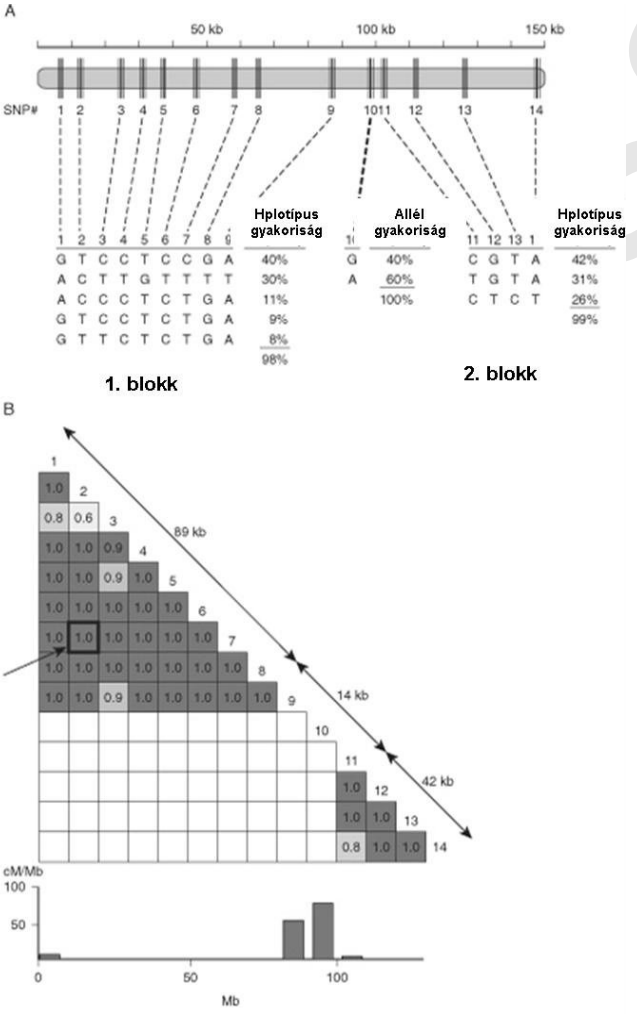
$$\frac{\text{az adatok valószínűsége, ha a lokuszok egy bizonyos } \theta \text{ értékkel kapcsoltak}}{\text{az adatok valószínűsége, ha a lokuszok nem kapcsoltak } (\theta = 0{,}5)}$$

E hányados 10-es alapú logaritmusát Z-vel jelölik, és **LOD érték**nek nevezik (*logarithm of the odds*). (A logaritmus számítása azért fontos, hogy a különböző családok adatait egyszerűen összeadással kombinálhassuk.)

A LOD érték két módon is informatív. Először is megkeresve, melyik θ értéknél kapjuk a legnagyobb Z értéket (θ_{max}), egy statisztikailag megbízható becslést ad a rekombinációs rátáról. Ha a $\theta_{max}<0{,}5$, akkor az kapcsoltságot mutat. Másrészt, azt is megállapíthatjuk, milyen erős a bizonyíték. Pozitív LOD értékek kapcsoltságra utalnak, a negatívak viszont annak hiányára. *Megegyezés szerint, ha a* (több család alapján) *kombinált LOD érték +3 vagy nagyobb, akkor elfogadható a kapcsoltság bizonyítására*. (A 3-as logaritmus érték azt jelenti, hogy a kapcsoltság 1000-szer valószínűbb a független öröklődésnél.)

A kapcsoltsági analízissel vizsgált orvosilag fontos gének és polimorf markerek viszonya segít lokalizálni az előbbieket. A 8-3. ábrán bemutatott családban a *retinitis pigmentosa* egyik formája öröklődik. E betegség különböző formáit tucatszámra ismerjük, és nem lehet eleve tudni, melyik gén tehető felelőssé a kórképért az adott családban. Egyik lehetőség az

RP9 lokusz, hiszen a betegség együtt látszik öröklődni a *B* marker alléllal. Számoljuk ki a LOD értéket! Ha kapcsoltság állna fenn és a rekombinációs hányad θ lenne, minden rekombináns utód θ valószínűséggel, és minden nem rekombináns 1-θ valószínűséggel születik. Mivel 6 gyermek esetén egynél sem észleltünk rekombinációt, *kapcsoltság esetén* az észlelt adatok valószínűsége: $\theta^0(1-\theta)^6$. *Függetlenség esetén* a „rekombináns" és a „nem rekombináns" valószínűség is 1/2, tehát a 6 gyerekre nézve: $(1/2)^0(1/2)^6$. A kapcsoltság és a függetlenség feltételezésével számolt fenti valószínűségeket elosztva és a hányados logaritmusát véve kapjuk meg a Z értéket. A számítást több konkrét θ értékre elvégezve Z=1,81 maximumot kapunk, mégpedig θ=0 (teljes kapcsoltság) esetén. Mivel ez a maximum is kisebb mint 3, a kapcsoltság gyanítható, de nem egyértelműen bizonyított ebben az esetben.



8-5. ábra

A HapMap LD blokkjai

(Az – irodalmi – ábrán kb van feltüntetve. Mivel DNS-ről van szó, helyesebb a kbp.)

Különböző családok LOD értékeinek kombinálása. A családokban történt rekombinációs események nem csupán családon belül, de a különböző családok között is függetlenek egymástól. Ezért több családra vonatkozó kombinált valószínűségeket az egyes családokra kiszámított (kapcsoltsági vagy függetlenségi) valószínűségek szorzatával kalkulálhatunk. Ilyenkor az egyes családok (adott rekombinációs rátára vonatkozó) esély hányadosait összeszorozzuk. Ennél kényelmesebb a logaritmusok használata, mert akkor szorzás helyett egyszerű összeadást kell végezni (a Z értékeket összeadni).

Ha a *retinitis pigmentosa*-val sújtott példa családhoz hasonló másik két családot is találnánk, és azok Z értékei is hasonlóak lennének, akkor ezeket összeadva könnyen előállhatna a 3-nál nagyobb LOD érték, erős érvet szolgáltatva betegség-gén és a marker kapcsoltságára nézve. Mivel a marker lokusz helye ismert, és a betegség-génnek a közelében kell lennie, ez erősen alátámasztja az ismerten ugyanebben a régióban levő (és korábban ezzel a betegséggel már kapcsolatba hozott) *RP9* lokusz kóroki szerepét e családok betegeiben.

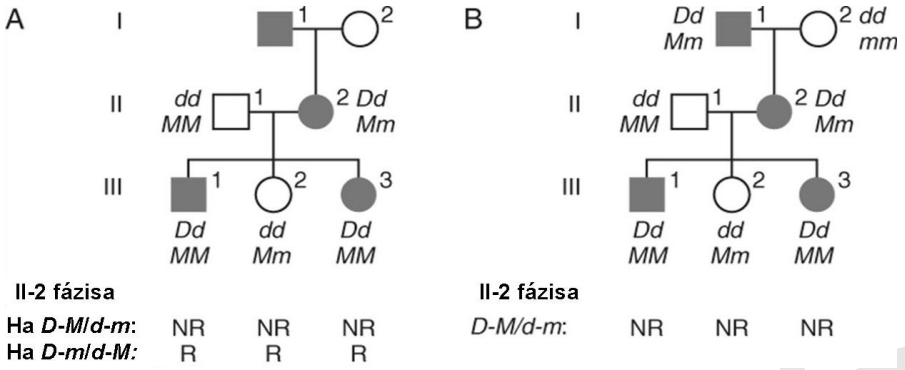
Azonban az is előfordulhat, hogy a bevont újabb családoknál más gének hibája miatt alakul ki a betegség, és náluk a $\theta=0$ esetre negatív Z értékek jönnek ki, így a kombinált LOD érték teljesen elfedi a kapcsoltságot, ahelyett, hogy megerősítené. Erre gondolni kell, amikor hasonló lokusz heterogenitás áll egy betegség hátterében, mint amit a *retinitis pigmentosa*-nál is látunk.

A lokuszok fázisa a kapcsoltsági elemzésben

Ismert és ismeretlen fázisú családfák. A 8-6/A ábrán látható családban – mivel a II-1 apa homozigóta mind a *neurofibromatózis 1* (*NF1*) nevű autoszomális domináns betegséggénre, mind a markerre, teljesen egyértelmű, hogy a II-2 anya mely alléljeit adja a három gyermekének. De az, hogy a gyermekekbe rekombinációval, vagy anélkül kerültek ezen allélek, az anyai fázis (*D-M* és *d-m* az eredeti, nem rekombináns fázis, vagy *D-m* és *d-M*?) ismerete nélkül (és a kis számok miatt) nem dönthető el. Végezzük el a maximális esély hányados, és a LOD számítást! Mivel a fázist nem ismerjük, a két lehetséges elosztás egyformán 1/2 valószínűséggel vehető figyelembe (ellentmondó adat, pl. LD hiányában). Így egy bizonyos θ értéknél az esetek felében a kapcsoltság valószínűsége az $1/2\ \theta^0(1-\theta)^3$ módon, a másik felében az $1/2\ \theta^3(1-\theta)^0$ képlettel írható le. A kettő összege adja meg a teljes valószínűséget, amely $\theta=0$ esetén: $1/2\ (1-\theta)^3 + 1/2\ (\theta)^3$. A függetlenségre vonatkozó valószínűség $1/2^3$, ami alapján az esély hányados értéke 4 (más θ értékeket is megvizsgálva ez a maximális), a LOD pedig 0,602. Ezek alapján kapcsoltság feltételezése gyenge alapokon áll.

Tegyük most fel, hogy egy kiegészítő vizsgálattal megállapítják az I. generáció szülői egyedeinek genotípusát (l. a 8-6/B ábrán). Ezzel a II-2 anyának **ismertté vált** a **fázis**a, hiszen apjától csak *D-M* kromoszómát kaphatott (és anyjától kapta a d-*m* haplotípusút). Következésképpen mindhárom gyermek egyértelműen nem rekombináns. Így most nem kell a kapcsoltsági valószínűséget két részre bontani (mindkét lehetőséggel számolva), mint az ismeretlen fázisú esetben. Elvégezve a számításokat, $\theta=0$ mellett (ami most is a maximális hányadost adja) az esély hányados értéke 8, a LOD pedig 0,903. Bár ez még mindig nem elég a kapcsoltság kimondásához, a nagyobb érték mellett kevesebb további család adatai lehetnek szükségesek a bizonyításhoz, mint az előző (ismeretlen fázisú) esetben.

Olykor a családfa alapján egyértelműsíthető a fázis, máskor viszont nem. Informatív családfák leginkább az X-hez kötött öröklődésnél találhatók. Egy nő az apjától annak egyetlen X-kromoszómáját kapja, és amely allélt nem találunk meg az apjában, azt az anyjától kellett kapnia.



8-6. ábra

A lokuszok fázisa (R: rekombináns; NR: nem-rekombináns)

Térképezés komplex jellegeknél

Az ún. genetikailag komplex jellegek (röviden csak komplex jellegek) multifaktoriális meghatározottságúak. Még ha a heritábilitási adatokból tudjuk is, hogy egy komplex jelleg nagy részben örökletes, komoly feladat kiedríteni, hogy ebben mely gének mely variánsai milyen szerepet játszanak Az egyik gyakran alkalmazott módszer a **nagyfokú allél-közösség** vizsgálata a betegség által érintett családokban. Egy másik megközelítés az **allél-aszszociációs** vizsgálatok populációs mintákban. Mindkettőnek vannak előnyei és hátrányai. A következőkben e módszereket ismertetjük.

Komplex betegségek modell-mentes kapcsoltsági elemzése. A fenti esetekben monogénes betegségeket vizsgáltunk, vagyis mindig egyetlen gén valamely allélje okozta a betegséget (bár ez a gén nem minden családban ugyanaz, pl. a *retinitis pigmentosa* esetén). Ilyenkor hipotéziseket (modelleket) állíthattunk fel és tesztelhettünk az öröklődésre vonatkozóan. A multifaktoriális öröklődésű komplex betegségeknél ez a megközelítés túl kevés pontra tud támaszkodni ahhoz, hogy hatékony legyen, mivel jórészt nem ismerjük a résztvevő géneket, ezek polimorfizmusait, az allélek hatását, penetranciáját stb.. Ezért modellmentes, ún. nonparametrikus módszereket fejlesztettek ki, amelyek lényege, hogy azon rokonoknál, akik egyaránt betegek, olyan közös alléleket találjanak, amelyek közös előfordulása a véletlennél nagyobb fokú. Itt tehát az egyetlen feltételezés az, hogy ezek azért előszeretettel közösek a betegekben, mert a betegség kialakulásában valamilyen szerepet játszanak.

A minőségi multifaktoriális jellegek (betegségek) modell-mentes kapcsoltsági elemzése. Az ismert, hogy a testvérek véletlenszerűen (a szülőkben heterozigóta lokuszokra) átlagosan 50%-ban rendelkeznek közös allélekkel. Az **érintett testvérpár módszer**, az egyaránt beteg testvérpárok DNS-ében százszámra elemzi a genom-szerte előforduló polimorf markereket (**genom szken**) olyan régiókat keresve, amelyekre a testvérpárok sokasága feltűnő (a véletlenszerű megoszlásnál nagyobb) egyezést mutat. Az ilyen közös szakaszokon várható olyan gének jelenléte, amelyek a betegség kialakulásában fontosak. Azt, hogy az egyezés mennyire tér el a véletlentől, a **nonparametrikus LOD (NPL) érték** alapján valószínűsítik.

Hibák, hátrányok. Minél több markert vizsgálunk, annál nagyobb az esélye, hogy alkalmanként olyan allél-közösséget találjunk, ami pusztán a véletlen műve. (Egy 400 markerre kiterjedő vizsgálatban egy adott lokuszra az itt alkalmazott LOD érték 3,6-os mérő-

száma mellett a véletlenül kialakult allél-közösség 1/20, az 5,4-es LOD értéknél pedig 1/1000 eséllyel várható.)

Hátránya ennek a módszernek, hogy ha a megtalálni kívánt betegség allél ritka és/vagy a betegség rizikóját csak kevéssé növeli (pl. a heterozigótákban kevesebb, mint 4-szeresre), akkor több ezer vagy több tízezer testvérpár megvizsgálása esetén várható csak megbízható eredmény.

A modell-mentes kapcsoltági elemzés által behatárolt régió meglehetősen széles, így ezen belül megtalálni a betegséggel tényleg funkcionális viszonyban álló gént, még további vizsgálatokat igényel, pl. a kapcsoltsági kiegyensúlyozatlanságok tanulmányozását. Ilyen kombinált vizsgálattal már sikerült betegség alléleket találni a *Crohn betegség* (*ulcerativ colitis*) és az *időskori makuláris retinadegeneráció* esetén.

A mennyiségi jellegek modell-mentes kapcsoltsági elemzése. Ennek egyik ismertebb eszköze az **erősen diszkordáns testvérpár módszer**. Ez az előzőnek mintegy az ellenkezője: olyan testvérpárokat vizsgál, akik egy kvantitatív tulajdonságra nézve nagyon eltérnek (a populációs Gauss-féle eloszlási görbe két ellentétes szélén találhatók). A markerek között ilyenkor azokat keresik, amelyekre a vizsgált testvérpárok között a legkevesebb egyezés van, feltételezve, hogy azok közelében az illető jellegre lényeges hatást gyakorolni képes lokuszok találhatók.

Betegség-asszociáció

Az előbbiektől különböző megközelítés, amelyben **meghatározott allélek asszszociációját keressük egy betegséggel**. Ha található olyan allél bizonyos lokuszokon, amely lényegesen magasabb vagy éppen alacsonyabb gyakoriságú a betegek között, mint az egészséges kontroll csoportban, akkor **betegség-asszociáció**ról beszélünk. (Egy ilyen tanulmányban nem csak egyedi allélek, hanem jellegzetes haplotípusok is vizsgálhatók.) A vizsgálat adatait egy-egy allélre a 8-1. táblázathoz hasonlóan összegezhetjük. A vizsgálatok egyik típusa az ún. **eset-kontroll (*case-control*) tanulmány**, amelyben külön-külön alakítják ki a betegek és a kontrollok csoportját úgy, hogy azok számban, korban, a nemek arányában stb. megfelelőek legyenek. Ilyenkor az adatokból egy asszociációs esély-hányadost számíthatunk. A betegek között a/b, az egészségeseknél c/d adja meg, milyen eséllyel vezet az allél betegséghez. Az ún. **betegségi esély hányadost (***odds ratio***)** úgy számítják, hogy az előbbit osztják az utóbbival: $(a/b) / (c/d) = ad/bc$.

A vizsgálatok egyéb típusai a „kereszmetszeti" (***cross-sectional***) ill. a „követő" (***cohort***) tanulmány, amelyeknél a populációból vett egyetlen mintát elemeznek. Az előbbinél ez egy véletlenszerű minta, amit betegekre és az egészségesekre választanak szét az összehasonlításhoz. Az utóbbi azt vizsgálja (a véletlenszerűen vagy valamely gentotípus, környezeti tényező szempontjából célzottan választott mintában), hogy valamennyi idő alatt kikben (mely genotípusúakban, milyen környezeti tényezők mellett) fejlődik ki a betegség. A betegség-allél asszociáció erősségét ezeknél a **relatív rizikó hányados (***relative risk ratio***, *RRR*)** segítségével állapítják meg. Veszik a betegség gyakoriságát mindazokban, akik egy vélt hajlamosító allélt hordoznak: $a/(a+b)$, és ezt elosztják az allélt nem hordozók közti betegség gyakorisággal, ami: $c/(c+d)$. (Alacsony betegség gyakoriságoknál az RRR és az eset-kontroll tanulmányoknál ismertetett esély-hányados közel megegyezik.) Az itt

ismertetett RRR-t ne tévesszük össze a – 6. fejezetben leírt – rokonok közti rizikó hányadossal!

Az asszociációk szignifikanciáját statisztikai próbákkal lehet elbírálni. A bemutatott táblázat a, b, c és d értékeinek eltérése a véletlentől vizsgálható a χ^2 próbával. Az RRR érték ellenőrzésére a 95% konfidencia intervallum vizsgálat ajánlott. Utóbbi azokat az értékeket tartalmazza, amelyek 95% valószínűséggel véletlenül is előfordulhatnak. Az asszociáció teljes hiánya esetén, amikor a paciensek és a kontrollok allél frekvenciái megegyeznek, RRR=1. Ha tehát a 95% konfidencia intervallumba az 1-es érték nem esik bele, akkor az asszociáció P=0,05 szinten szignifikáns.

8-1. táblázat

A betegség–allél asszociációs vizsgálat

	Páciensek	Kontrollok	Összes
A kérdéses alléllel	a	b	a+b
A kérdéses allél nélkül	c	d	c+d
Összesen	a+c	b+d	

Az asszociációs vizsgálatok gyengéi és erősségei. Egy vizsgálatban olyan allélekkel is találhatunk asszociációt, amelyek semmi módon nem vesznek részt a betegség kialakulásában. Ennek egyik oka lehet a populáció rétegződése (elkülönült etnikai, vallási stb. alpopulációkra). Ha ezekben a csoportokban eltér a betegség gyakorisága, akkor – kontroll csoport nem elég körültekintő választásakor – nagy az esélye, hogy olyan allélek is asszociációt mutassanak a betegséggel, amelyek valójában nincsenek kapcsolatban vele, csupán szintén gyakoribbak az illető alpopulációban. Továbbá az ilyen hibák elkerülésére hasznos, ha olyan módszert választunk, ami családi kapcsoltsági elemzést is végez, mert ekkor kiesik a rétegződés hatása.

A másik gyakori ok, amiért funkcionálisan irreleváns allélekre is betegség- asszociációt kaphatunk, a kapcsoltsági kiegyensúlyozatlanság (LD). Ebben az esetben csak abban lehetünk biztosak, hogy az asszociációt mutató allél ugyanabban a haplotípus blokkban van, amelyikben egy betegség-gén, de már ez is hasznos információ.

Az asszociációs megközelítéseknek azonban mindenképpen előnye, hogy viszonylag könnyű mintát gyűjteni (ha nem kombináljuk családfa elemzéssel).

A teljes genom asszociációs vizsgálat és a Haplotípus Térkép

Az emberi genom szekvencia felderítése előtt az asszociációs vizsgálatokat viszonylag nem sok kiválasztott génre és gyakran a HLA rendszer lokuszain könnyen genotipizálható polimorfizmusokra koncentrálva végezték. A 10 milliós nagyságrendű SNP lokusz megismerése után lehetővé vált a teljes genomot sűrűn lefedve vizsgálni az asszociációt, mindenféle, a funkciót illető prekoncepció nélkül. Ezt **teljes genom asszociációs vizsgálat**nak (*Genom-Wide Association Study*, *GWAS*) hívják.

Világos, hogy ebben a vizsgálatban is várható, hogy az asszociációt mutató polimorfizmusok sokszor nem maguk a betegséget okozók, inkább csak szoros kapcsoltságban állnak azokkal. Azonban ez is nagy lépést jelent, hiszen utána már csak a „közelben" kell célzott vizsgálatokat folytatni, hogy a valódi betegség-gént azonosítsuk. A **HapMap Projekt** jelentős segítséget adott e régiók – az LD adatok alapján történt – behatárolásában.

8-2. táblázat

A kapcsoltsági és az asszociációs vizsgálatok összehasonlítása

Kapcsoltság	Asszociáció
Egy betegség és genomi *régiók* öröklődésének családi követése	*Allélek és haplotípusok* gyakoriságának összehasonlítása betegek és kontrollok populációs mintáiban
Azon genomi *régiókat* keresi, amelyek betegség alléleket tartalmaznak; markereket csak a régiók követésére vizsgál	Az *alléleket és haplotípusokat* egyenesen a betegség-okozó képességük szempontjából vizsgálja
Néhány száz vagy néhány ezer polimorf markert követ a genomban	Kevés (csak bizonyos géneket célzó) számútól a százezres nagyságrendig terjed a használt markerek száma
Nem magát a specifikus betegség allélt célozza, hanem *néhány Mbp*-ra próbálja szűkíteni genomi helyét	Néha megtalálja a betegség allélt is, de inkább az azt tartalmazó haplotípust azonosítja (*1-10 kbp* pontosság)
A családokban néhány generáción át észlelt *rekombinációk* becslésével megadja a betegség-gén és a markerek genetikai távolságát	A *rekombináció hiánya* miatt sok generáció óta együtt öröklődő alléleket (köztük a betegség allélt) tartalmazó haplotípusokat ad meg
Családok (paciensek és egészséges családtagok) vizsgálatát igényli	*Populációs minták* eset-kontroll vagy követő vizsgálatát igényli
Kevéssé alkalmas a sok, alacsony penetranciájú gént magában foglaló komplex betegségek elemzésére	A populáció-rétegződés miatt félrevezető lehet, ami kiküszöbölhető megfelelő tervezéssel és család-alapú vizsgálatokkal
Inkább a nagy hatású, monolokuszos öröklődésű betegség-gének térképezésére használatos	A komplex betegségek kis hatású gén-variánsainak megtalálására alkalmazzák

Másik haszna a HapMap Projektnek, hogy a haplotípus blokkok – amelyekben lévő lokuszok kevés rekombinációval, együtt szeretnek tovább adódni – segítségével egy ilyen vizsgálat munka- és költségigényét csökkenteni lehet. Nem szükséges ui. egy LD blokkon belül minden markert bevenni a vizsgálatba. Elég csak azokat, amelyek reprezentálják az egész haplotípust (hiszen az esetleg itt levő betegség lokusz a blokk minden tagjával hasonló viszonyban áll). Az ilyen, az LD blokkban előforduló haplotípusokat jellemző minimális számú SNP-t **„címke" (*tag*) SNP-**

nek nevezzük. Így a teljes genomot csaknem olyan hatékonysággal lefedhetjük pár százezer jól megválasztott címke SNP-vel, mintha 10 milliót használnánk.

A HapMap alapján végzett GWAS korlátai. A siker két alapvető feltételtől függ: A betegséggel asszociált variáns legyen viszonylag gyakori, és ne legyen főként újabb mutációk eredménye. A betegség-allél gyakorisága azért lényeges, mert a címke SNP-ket a HapMap blokkokban leggyakoribb haplotípusok szerint válogatják, másrészt ha ugyanaz a haplotípus, amelyben a betegség általában található túl gyakran fordul elő nélküle is, akkor könnyen észrevétlen maradhat. Ha pedig a betegséghez vezető mutációk jelentős hányada viszonylag frissen, más-más haplotípusokban keletkezik, nem várhatunk szoros asszociációt egyik haplotípussal sem.

A géntérképezéstől a gén azonosításig

A géntérképezés az orvosi genetikában már számos látványos sikert könyvelhet el. Azt a stratégiát, amely szerint előbb lokalizáljuk a betegség-gént (kapcsoltsági elemzéssel vagy más módszerrel) a genom egy bizonyos részére, majd ezt a térkép helyzetet felhasználva azonosítjuk a gént magát, **pozícionális klónozás**nak hívjuk. Így a mendeli öröklődésű monolokuszos kórképeket okozó gének százait, a komplex betegség-géneknek pedig kisebb, de egyre növekvő számát sikerült már azonosítani. A következőkben a *cisztikus fibrózis* (CF) génje, továbbá a *Crohn-betegség*gel és az *időskori retina makula-degeneráció*val asszociált gének pozícionális klónozását mutatjuk be.

Pozícionális klónozás autoszomális recesszív betegségben modell-alapú kapcsoltsági térképezéssel*:* cisztikus fibrózis. Mivel a betegség (különösen a kaukázusi nagyrasszba tartozó etnikumok között) elég gyakori, és kezdetben a kórélettana is tisztázatlan volt, az elsők között próbálták megtalálni a génjét. Mintegy 50 családot analizáltak a CF és több száz, a genomban szétszórt marker közötti kapcsoltságra, így sikerült előbb a 7-es kromoszómára, majd további markerek bevonásával a 7q31 és q32 közötti, kerekítve 500 kbp méretű régióra lokalizálni a gént. (L. még a 10. fejezetben.)

Kapcsoltsági kiegyensúlyozatlanság a CF-ben. Bár az előző vizsgálati fázisban legszorosabban kapcsoltnak talált marker sem volt egészen közel, a szerencse folytán mégis jelentős LD mutatkozott a CF lokusz és egyes haplotípusok között. A legnagyobb LD-vel rendelkező haplotípus környékén végzett DNS szekvenálás végül 1989-ben a *CFTR*[32] gén azonosításához vezetett. A siker jórészt köszönhető annak, hogy bár a génnek sok száz mutáns allélje van szerte a világon, a vizsgált észak-európai populációkban az esetek 70%-ában ugyanaz a mutáció (az 508-as fenilalanin kiesését eredményező 3 bp deléció, ΔF508) fordul elő, így az asszociációt könnyebb volt kimutatni.

A gén megtalálása után lehetővé vált a prenatális (preimplantációs) diagnózis, állati betegség-modellek kifejlesztése, gén- és fehérje terápiás módszerek kidolgo-

[32] Cisztikus fibrózis transzmembrán regulátor.

zása, a heterozigóta szűrés, a mutációk és hatásuk tanulmányozása, valamint az ezeken alapuló gyógyszer fejlesztés.

Komplex betegség génjének pozícionális klónozása modell-mentes kapcsoltsági térképezéssel: Crohn betegség. Egy krónikus gyulladásos bélbetegségnek (angol nevén *Inflammatory Bowel Disease,* IBD), mely fiatal korban jelentkezik, két formája ismert: a *Crohn betegség* és a *colitis ulcerosa*. A családi és iker vizsgálatok komplex (poligénes) meghatározottságra utalnak.

Sok modell-mentes kapcsoltsági vizsgálatot, genom szkent végeztek olyan családokon, melyekben több beteg is előfordult. Az ezekben kitűnt 11 genomi régió közül a legnagyobb NPL értékkel (>5) szereplő csak a *Crohn betegség*gel mutatott kapcsoltságot, a *colitis ulcerosa*-val nem (a többi régió mindkettővel). Az itt feltételezett betegség-gént *IBD1*-nek nevezték, és elkezdték az LD vizsgálatokat a régióban. A 3 legerősebb LD-t mutató hely mindegyike a *NOD2* (más nevén *CARD15*) gén exonjaiban volt, amely génről tudták, hogy a baktérium sejtfalhoz kötődő fehérjét kódol, és részt vesz a baktériumok elleni immunválaszban. A gén szerepét a betegségben megerősítették további (követéses típusú) vizsgálatok és a géndózissal talált összefüggés: egy hajlamosító variánsra heterozigótákban 1,5-4-szeres, a homozigótákban 15-40-szeres rizikó-növekedés volt kimutatható.

A *NOD2* példája segítségével jobban megérthetjük a komplex betegségek genetikai hátterét. E gén nem szükséges, de nem is elegendő a betegség kifejlődéséhez. Nem szükséges, mert a Crohn paciensek fele nem hordoz hajlamosító variánst, az IBD-ben pedig a *NOD2* az eseteknek mindössze 20%-ában felelős. Az ázsiai és afrikai populációkban a *NOD2* nem is mutat asszociációt a *Crohn betegség*gel. Másrészt, e gén variánsai legtöbbször nem is elegendőek a betegség kialakulásához, hiszen még a legerősebb asszociációt mutató variánsokra homozigótákban is csak kb. 10%-os a penetrancia. Ez más genetikai és környezeti tényezők szerepére utal. Mégis, tudva a *NOD2* allélek betegség-asszociációjáról, és hogy a gén képes a bélbaktériumokkal szembeni immunválasz befolyásolására, nagy segítséget nyújthat abban, hol is keressük az egyéb génikus és környezeti faktorokat, és egyszer majd teljességében is megértsük e betegséget.

Komplex betegség génjének pozícionális klónozása teljes genom asszociációs vizsgálattal: időskori makuláris retina degeneráció

Az *age-related macular degeneration* (AMD-nek rövidített) betegség a retina sárgafoltjának degenerációjával jár, amit a retina mögötti extracelluláris fehérje lerakódás (drusen) okoz. Több mint 1 millió 50 éven felüli USA polgár vakságának az oka. Nem mutat klasszikus men-deli öröklődést, de a kiterjedt vizsgálatok szerint mind génikus, mind környezeti tényezők (pl. dohányzás) fontosak.

Eset-kontroll típusú teljes genom asszociációs vizsgálatban (100 ezer SNP-t használva) 2 elterjedt SNP mutatott erős asszociációt. A HapMap adatokkal összevetve mindkettő egy 41 kbp hosszú LD blokkban van, a komplement faktor H (*CFH*) génjében. E blokk részletes átvizsgálásával egy még erősebben asszociált

SNP (Tyr402His) is előkerült, amely a fehér és színesbőrű lakosságban 26-29%-os gyakoriságot mutatott, és az AMD esetekben az allélek 43%-át képviselte.

A drusen körüli szövetekben kimutatták a CFH-t (és a drusen-ben más komplement faktorok is találhatók), így feltételezhető volt, hogy a Tyr402His CFH variáns hibás funkciója miatti gyulladás a kór oka.

Mivel ezáltal a figyelem a komplement rendszerre terelődött, más komplement faktorokat is asszociációs vizsgálatnak vetettek alá. Így találtak meg két további SNP-t (2 másik génben), amelyek viszont erőteljesen védő hatásúak voltak az AMD-vel szemben. A 3 gén együtt már az esetek döntő többségében felelőssé tehető a betegség génikus hátteréért.

Remélhető, hogy a teljes genom asszociációs vizsgálatok a HapMap blokkok segítségével lehetővé teszik a komplex betegségek hátterében álló hajlamosító vagy éppenséggel védő génikus tényezők fokozatos felderítését.

DUPress

9. fejezet

Génikus betegségek molekuláris mechanizmusai, molekuláris betegségek

Molekuláris betegségről akkor beszélünk, ha egy betegség elsődleges oka mutáció, ami lehet öröklött, vagy szerzett. Ebben a fejezetben az örökletes betegségekért felelős genetikai és biokémiai mechanizmusokat tekintjük át. Ennek során először a hemoglobin rendellenességeit használjuk példaként, mivel ezekről és molekuláris okaikról relatíve sok adat áll a tudomány rendelkezésére. A fejezet második felében kitérünk más ismert örökletes betegségekre is, melyek mindegyike egy-egy fontos genetikai mechanizmust képvisel.

A betegségek molekuláris mechanizmusának (a molekuláris patológiának) az ismerete nélkülözhetetlen feltétele ezen betegségek racionális terápiájának, de gyakran felvilágosítást ad a normál funkcióra vonatkozóan is. A fenotípust a fehérjemolekulák és a biokémiai folyamatok szintjén tanulmányozó tudományág a **biokémiai genetika.** Örökletes (génikus) betegségről akkor beszélünk, ha egy esszenciális gén DNS-ében bekövetkező változás (pl. mutáció) megváltoztatja a géntermék (mRNS és fehérje) mennyiségét, funkcióját, vagy mindkettőt. A monolokuszosként diagnosztizált rendellenességek majdnem mindig olyan mutációk következményei, melyek valamely fehérjemolekula funkcióját változtatják meg. Természetesen ismertek példák RNS-kódoló gének mutációira is (pl. mitokondriális tRNS gének, melyek idegrendszeri tüneteket okoznak).

A genetikai betegségek patogenezisének megértése nem lehetséges a megváltozott génfunkció következtében előálló abnormális biokémiai folyamat megismerése nélkül. Az online elérhető OMIM adatbázis (Online Mendelian Inheritance in Man, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim) több mint 3900 mendeli öröklődésű betegséget sorol fel. Közülük 3310-et 1990 gén mutációi okoznak. Bár impresszionáló, hogy ilyen sok betegség esetében ismert a mögötte álló génikus defektus, kijózanító tény, hogy egyetlen betegségnek sem ismert a patofiziológiája teljes egészében. Mindazonáltal, a genetikai betegségek különböző fenotípusos szinteken (gén, protein, sejt, szövet, szervezet) történő tanulmányozása nemcsak hasznos ismereteket adott az orvostudománynak, de olyan új, ígéretes terápiás lehetőségekhez is vezetett, mint a gén- és protein-terápia.

Fontosnak tartjuk megjegyezni, hogy egy-egy génikus betegség (-típus) más fejezetekben is megjelenik, az azokban való tárgyalás speciális szempontjai szerint. E jegyzet használójának privilégiuma ezen ismeretek komplett tudássá integrálása.

Mutációk hatása a fehérjefunkciókra

A mutációk többféleképpen befolyásolhatják a fehérjefunkciót: a leggyakoribb a fehérje funkcióvesztése, de előfordulhat funkciónyerés, új tulajdonságot eredményezhet a mutáció, ill. a génkifejeződés történhet rossz időben (heterokrón expresszió) vagy rossz helyen (ektópiás expresszió).

Funkcióvesztéses mutációk keletkezhetnek, ha egy gén kódoló, szabályozó, vagy más fontos szekvenciái megváltoznak nukleotid szubsztitúció, deléció, inszerció, vagy átrendeződés miatt, s ennek következtében az eredeti fiziológiás funkció elvész, vagy jelentősen lecsökken. Deléció okozta géndózis csökkenést látunk ***α-thalassemia***-ban, ahol az α-globin gén delécója okoz funkcióvesztést (l. alább). Tumor-szupresszor gének élet folyamán szerzett szomatikus mutációi – pl. delécióri – előfordulhatnak különböző daganatokban, pl. ***retinoblastoma*** esetén. Misszensz mutáció, vagy egy korai stop kodon keletkezése teljesen megszüntetheti, vagy károsíthatja a protein funkciót, instabillá – rövidebb életűvé – teheti a fehérjét (pl. hőérzékeny mutáns), így csökkentve a mennyiségét. Mindezekre jó példát szolgáltatnak a ***β-thalassemia*** különböző esetei, melyekben a lecsökkent β-globin szintézis okozza a tüneteket. **Enzimdefektus** is okozhat a szubsztrát felszaporodása miatt súlyos tüneteket (pl. a hiperfenilalaninémia **fenilketonúriá**ban, részletesebben l. alább). Érthető, hogy funkcióvesztéses mutációknál a betegség súlyossága függ a funkcióvesztés mértékétől. Sok esetben a mutáns fehérje ún. „maradék" funkciója csökkenti a betegség súlyosságát. Külön meg kell említenünk a nem enzim funkciójú fehérjék, pl. **receptor**ok aktivitásának elvesztését (l. *testicularis feminisatio*).

Funkciónyeréses mutációk úgy változtatják meg a biokémiai fenotípust, hogy felerősítik egy-egy fehérje normál funkcióját. A gén megnövekedett expressziójának következtében az adott fehérjéből több termelődik, vagy nagyobb aktivitással tudja végezni a biológiai feladatát. Felismerése azért fontos, mert a következményes betegség kezelése szükségszerűen különbözik a funkcióvesztéses mutációk következményeinek kezelésétől, továbbá mert rávilágít az érintett gén vagy fehérje szabályozására és a fehérje funkciójának molekuláris mechanizmusára.

A funkciónyeréses mutációk egyik válfaja, ha a mutáció az adott fehérjének csak egy funkcióját erősíti. Ez a helyzet a **hemoglobin Kempsey** esetében, amely fixálja a hemoglobin molekulát a nagy oxigénaffinitású állapotában, csökkentve a szövetekhez történő oxigénleadást. Egy másik példa a törpeséget okozó ***achondroplasia***, amelyben az *FGFR3* (*Fibroblast Growth Factor Receptor 3*) szenved funkciónyeréses mutációt. Ez egy transzmembrán tirozin kináz molekula, amely megkötve ligandját, az FGF-et, elindít egy szignalizációs kaszkádot, aminek eredménye a chondrocyták proliferációjának gátlása lesz. Ennek fontos szerepe van a csontosodás szabályozásában. A mutáció következtében az FGFR3 fehérje a ligand kötődése nélkül is állandóan aktív lesz, gátolja a porcsejtek osztódását az epifízis fugákban, ami a csöves csontok rövidüléséhez, és más csontok abnormális fejlődéséhez vezet.

A funkciónyeréses mutációk egy másik csoportjánál a normál fehérjéből több termelődik. Oka lehet géndózis növekedés, ha az autoszomális génből kettő helyett három vagy több kópia van jelen, ami rendszerint génduplikáció következménye. Erre példa a familiáris **Alzheimer betegség** egyik formája, amelyben az amyloid precursor protein (βAPP) génje duplikálódik. Ezzel függhet össze, hogy a Down szindrómás betegek is az euploidokhoz képest évtizedekkel korábban mutatják az Alzheimer betegség tüneteit, hiszen a triszómia miatt az amyloid precursor protein génjéből 2 helyett 3 kópia van jelen (a 21-es kromoszóma hosszú karján). A perifériás myelin protein 22 (*PMP22*) gén duplikációja okozza a **Charcot-Marie-Tooth betegség 1A** típusát (CMT1), ami a perifériás idegek degenerációjával jár.

Új tulajdonságot eredményező mutációk

Egyes betegségeknél az aminosavszekvencia megváltozása a fehérje új tulajdonságát eredményezi, emellett azonban az nem szükségszerűen veszíti el az eredeti funkcióját. Klasszikus példa erre a **sarlósejtes vérszegénység**, melynél az aminosav-szubsztitúció nincs hatással az oxigénszállítás képességére. Ugyanakkor a sarlósejtes hemoglobin láncok aggregálódva polimer rostokat (tactoidokat) képeznek, melyek deformálják a vörösvértestek alakját.

A mutációk besorolása egyik vagy másik említett kategóriába gyakran nem egyszerű. Ezt jól demonstrálja egy újabban felfedezett csoport, amelynél a mutáció **új glikozilációs hely**et hoz létre. Ez mindenképpen *új tulajdonságnak* számít, azonban *funkcióvesztést* is eredményez. Példa erre a γ-interferon receptor R2 alegységének mutációja, amely fogékonnyá tesz mycobakteriális fertőzésre (l. alább).

Ektópiás vagy heterokrón expressziót eredményező mutációkról

akkor beszélünk, ha szabályozó régiók mutációja azt eredményezi, hogy a gén nem megfelelő helyen vagy időben fejeződik ki. A globin gének szabályozó elemeinek egyes mutációi a magzati γ-globin gén tovább fennmaradó kifejeződéséhez vezetnek felnőttben. A rosszindulatú daganatok keletkezésénél gyakran előfordul, hogy egy **onkogén** abnormális expressziója olyan sejtekben, ahol normálisan nem fejeződik ki, malignus sejtproliferációt indukál.

Milyen módon károsítják a mutációk a fehérjék biológiai aktivitását?

Egy biológiailag aktív fehérje létrejötte soklépéses folyamat. A gén nukleotidszekvenciája átíródik a hnRNS-re (pre-mRNS), ezt követi az érés (*processing*) és az átszabás (*splicing*), melyek eredménye az érett, funkcióképes mRNS. Az mRNS transzlációja polipeptidet eredményez, amely kovalens módosításokon, érési- és transzport folyamatokon megy át, esetenként beépül egy több polipeptidből álló komplexbe. Mutációk megzavarhatják ezen lépések bármelyikét. A hemoglobinopátiák és más betegségek példáival kívánjuk illusztrálni azokat a lépéseket, ahol a mutációk károsíthatják egy fehérje biológiai aktivitását (9-1. táblázat).

PUPress

9-1. táblázat

Nyolc lépés, melynél a mutáció megakadályozhatja funkcióképes fehérjetermék keletkezését

	Lépés	Betegség
1.	Transzkripció	***Thalassemiá*k**: Deléciók, regulációs vagy splicing mutációk miatt csökkent vagy hiányzó globin mRNS szintézis. **Perzisztáló magzati hemoglobin**: γ-globin gének fokozott posztnatális átírása.
2.	Transzláció	***Thalassemiá*k**: Nonszensz vagy kereteltolásos mutációk az mRNS funkcióképtelenségét okozzák.
3.	Megfelelő térszerkezet kialakulása	**Hemoglobinopátiák**: Aminosavcserék és deléciók instabil globin molekulákat eredményeznek, melyek könnyen lebomlanak.
4.	Poszttranszlációs módosítás	**I-sejt betegség**: Tárolási betegség, a mannózból nem lesz mannóz-6-P, ami lizoszomális enzimek e sejtorganellumba irányításához szükséges.
5.	Összeszerelődés alegységekből	***Osteogenesis imperfecta***: A prokollagénben történt aminosavcsere megakadályozza a normál kollagén tripla hélix kialakulását.
6.	Szubcelluláris lokalizáció	**Familiáris hiperkoleszterinémia** (4-es típus): Az LDL receptor C-terminálisának mutációja megakadályozza a receptor burkos gödörbe kerülését.
7.	Kofaktor kötés	**Homocisztinúria:** A kofaktor (piridoxál-P) nem kötődik a cisztation szintáz apoenzimhez.
8.	1-7. lépés sikeres, de…	a mutáns protein majdnem minden szempontból normális, de egy aminosavcsere megváltoztatja a fehérje egy fontos biológiai aktivitását. Pl. **Hb Kempsey** esetén fixálja azt a nagy oxigénaffinitású állapotában.

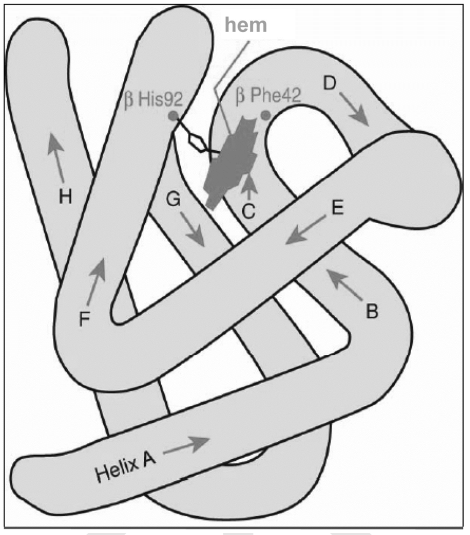
A hemoglobin

A hemoglobin volt az első fehérje, amelynek megismerhettük a szerkezetét, továbbá ennek génje volt az első, betegséghez köthető, amit klónoztak, ezért a hemoglobin betegségei molekuláris szinten jobban ismertek, mint bármely más örökletes betegség.

A hemoglobin molekula felnőtt emberben (HbA, ahol az A az *adult* típusra utal) 2 α és 2 β globin láncból (alegységből) áll. Mindegyik alegység egy vastartalmú hem csoportot köt, ennek köszönhető a molekula oxigénszállító képessége. Az α és a β lánc egymáshoz nagyon hasonló, mind az aminosavsorrendet, mind a harmadlagos szerkezetet illetően. A térszerkezet fő jellegzetességei megőrződtek az evolúció során, minden globin lánc 7 vagy 8 α-helikális régiót tartalmaz. Az

DUPress

aminosavsorrend azonban variabilitást mutat: mindössze két olyan pozíció van, ami minden globinban azonos (9-1. ábra). A szerkezet ismerete alapján meg lehet előre mondani, milyen mutáció-típusok okozhatnak betegséget. Így azok a mutációk, amelyek megváltoztatják a konformációt, vagy egy erősen konzervált aminosav cseréjét okozzák, avagy egy, a hem hidrofób burkának részét képező apoláros aminosav szubsztitúcióját idézik elő, nagy valószínűséggel hemoglobinopátiát okoznak.



9-1. ábra

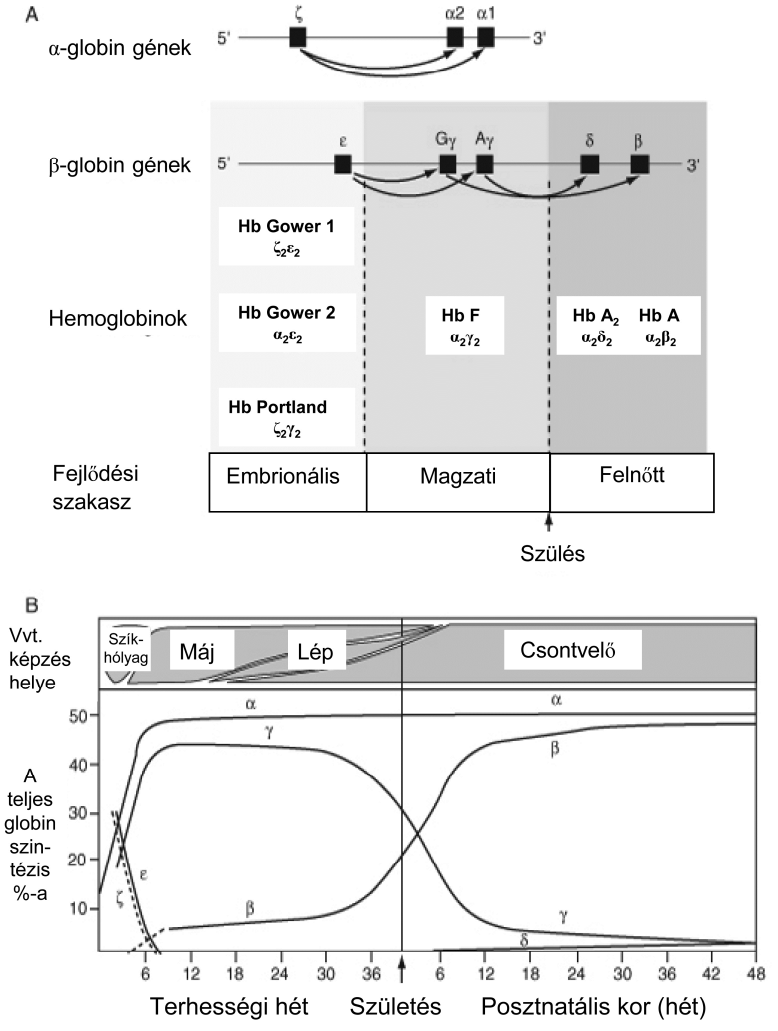
A β-globin molekula (a hemoglobin egyik alegységének) térszerkezete

Az alfa-helikális régiók vannak feltüntetve (A-tól H-ig). A két legerősebben konzervált aminosavmaradék egyike a His92, amihez a vas kovalensen kötött, a másik a Phe42, ami a hem kötésében játszik szerepet.

A HbA-n kívül van még öt további humán hemoglobin, mindegyik 2 α (vagy α-szerű), és 2 β (vagy β-szerű) láncból áll. Az α-globin géncsoport a 16-os, a β-globin géncsoport pedig a 11-es kromoszómán helyezkedik el (9-2. ábra A). Az α-géncsoportban két teljesen azonos α-globin gén van, az α1 és α2. A β-géncsoport (l. még a 4-12. ábrát) tagjai között nagyfokú a homológia, a β és a δ-globin pl. csak 10 aminosav-maradékban különbözik a 146-ból. Vitathatatlan, hogy az összes globin gén egy közös ős-globin génből származott.

Az egyedfejlődés során a globin-láncok szintézise változik, mind időben, mind pedig a szintézis helyét illetően (9-2. ábra B). Az embrionális globin a szíkhólyagban termelődik a 3-8. gesztációs héten, de kb. az 5. héttől a vérképzést a magzati máj végzi, itt termelődik a HbF ($\alpha_2\gamma_2$), a magzati (*foetalis*) hemoglobin, amely az összes hemoglobin 70%-át teszi ki születéskor (9-2. ábra). Felnőttkorban a HbF csak 1%-ban van meg a domináló HbA mellett. Ezen kívül a δ-láncot tartalmazó HbA2 is jelen van 2%-os, vagy az alatti mennyiségben. Ha *β-thalassemia*-ban ke-

vesebb β-globin termelődik, a γ- és δ- láncok termelése ezt nem képes kompenzálni. Sok olyan transzkripciós faktort azonosítottak, amelyeknek szerepe van a globin gének szabályozásában. Ezért nyilvánvaló, hogy a globin-szintézis regulációjának ismerete nagy gyakorlati jelentőséggel bír, hiszen a γ- és δ-láncok termelésének növelésével a *β-thalassemia* kezelhető lenne (l. a következő fejezetet).



9-2. ábra

A: A humán globin gének kromoszomális elhelyezkedése és a különböző hemoglobin-féleségek összetétele. A nyilak a fejlődés folyamán egyik génről a másikra történő átkapcsolást jelzik. (Kétféle γ-globin van, amelyek egyetlen aminosavban [glicin ill. alanin] térnek el egymástól.) **B**: A vörösvérsejtképzés helyének változása és az egyes globin láncok szintézisének alakulása a fejlődés folyamán.

A globin gének kifejeződéséhez szükség van promoterre és enhancerekre, de ezen kívül van még más szabályozó elem is. Találtak olyan betegeket, akikben a β-globin géncsoport egyik tagja sem fejeződött ki, miközben kódoló és szabályozó szekvenciáik teljesen intaktnak bizonyultak. A géncsoport előtt 5′ irányban viszont találtak egy 20 kbp-nyi deléciót, ami eltávolított egy fontos szekvenciát, a ***Locus Control Regio*t (LCR).** Ez a szekvencia a hozzá kötődő fehérjékkel együtt kölcsönhatásba lép a β-globin géncsoport génjeivel, és olyan kromatinszerkezetet hoz lére, ami lehetővé teszi az itt elhelyezkedő gének kifejeződését. Az így létrejövő magi struktúrát **aktív kromatin központ**nak (*active chromatin hub*) nevezik. Ez a fejlődés sorrendjében végighalad a β-globin géncsoporton és szekvenciálisan aktiválja a géneket. Az LCR fontos szerepet kaphat a jövőben a β-globin géncsoportot érintő génterápiás beavatkozásokban.

A globin gének kópiaszáma és a fejlődésben játszott szerepe magyarázatot ad a hemoglobin betegségeinek néhány sajátosságára. Mivel 4 α-globin és csak 2 β-globin génünk van, a β-globin mutációk nagyobb valószínűséggel okoznak betegséget, mint az α lánc mutációi. Mivel a magzati életben a HbF ($\alpha_2\gamma_2$), a domináns hemoglobin, a β-globin mutációk a magzati életben nem okoznak tüneteket, míg az α-globin mutációk mind a magzati, mind a posztnatális életben súlyos betegség okozói lehetnek.

Hemoglobinopátiák

A hemoglobin rendellenességei három nagy csoportra oszthatók, aszerint, hogy a mutációk a globin láncok aminosav-szekvenciáját, szintézisének mértékét, vagy a fejlődés során bekövetkező átkapcsolást érintik.

1. ***Strukturális hemoglobin variánsok***: melyek szekvenciája megváltozott, de a szintézisük mértéke nem.

2. ***Thalassemiá*k**: Egy vagy több globin láncféleség szintézise lecsökken (vagy a fehérje instabillá válik), ami az α és β láncok mennyiségi egyensúlyát megbontja.

3. ***A magzati hemoglobin perzisztálása*:** perinatálisan nem történik meg az átkapcsolás a magzati γ-globinról a β-globinra.

A s**trukturális hemoglobin variánsok** többsége pontmutáció eredménye. Több mint 400-at ismerünk, kb. a felének orvosi jelentősége is van. A csoport a klinikai fenotípus alapján tovább osztható:

1a. **Hemolitikus anémiát okozó variánsok.** Ezek a vörösvérsejtek lízisét okozzák, melynek következménye vérszegénység. Közülük a legismertebbek a sarlósejtes anémia és a hemoglobin C betegség.

1b. **A hemoglobin oxigénszállítását megváltoztató variánsok** csökkentik, vagy növelik az oxigén iránti affinitást.

1c. A kódoló régió egyes mutációi ***thalassemiá*t** okoznak, mivel csökkentik a globin láncok mennyiségét. Ezen esetek egy részében csökken az mRNS vagy a fehérjeszintézis rátája, más – ritkább – esetekben a globin monomer nagyon instabillá válik.

Hemolitikus anémiák, sarlósejtes vérszegénység. A sarlósejtes hemoglobin (HbS) volt az elsőként felfedezett abnormális hemoglobin, amelynek nagy a klinikai jelentősége. Az oka egyetlen bázis szubsztitúciója, ami megváltoztatja a β-globin 6. aminosavának kodonját (GAG → GTG), ezért glutaminsav helyett valin kerül a 6. pozícióba. Az erre a mutációra homozigóták szenvednek sarlósejtes vérszegénységben, amely leggyakoribb az egyenlítői Afrikában, de előfordul a Földközi tenger mellékén és Indiában is. Figyeljük meg: a glutaminsav hidrofil oldalláncú aminosav, a valin hidrofób. Az aminosav szubsztitúció jelentős konformációváltozással jár.

A betegségre jellemző, hogy a vénákban jelentkező alacsony oxigéntenzió mellett a vörösvértestek alakja nagymértékben deformálódik, sarlóra emlékeztető formát vesz fel. A heterozigóták orvosi szempontból egészségesek, de nagyon alacsony oxigéntenziónál (pl. repülés nagy magasságban, légnyomás-kiegyenlítés nélkül, magashegyi túrán, vagy egyéb O_2-hiányos állapotban, ami, mondjuk, rossz légzéstechnika mellett szülés közben léphet fel) az ő vörösvértestjeik is sarló alakot vesznek fel. Ezt a fenotípust nevezzük **sarlósejtes jelleg**nek, ami nem tévesztendő össze a betegséggel. (A jelleg *in vitro* kimutatható.)

A betegség molekuláris mivoltának felismerése tudománytörténeti szempontból is jelentős: Ingram 1956-ban a világon elsőként bizonyította, hogy a gén mutációja aminosav-cserét okoz a gén által kódolt fehérjében, a β-globinban. Mivel a HbS-ben csak a β-láncok abnormálisak, annak „képlete" a következő: $\alpha_2\beta^S{}_2$. A heterozigóták hemoglobinjában mindkét féle β-lánc megtalálható: $\alpha_2\beta^A\beta^S$.

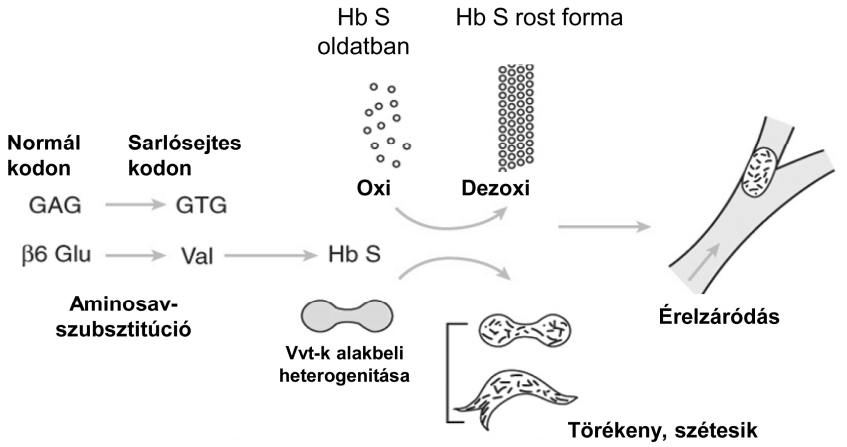
A betegség kialakulásának molekuláris és celluláris mechanizmusát illusztrálja a 9-3. ábra. A HbS molekulák normálisan kötik az oxigént, de a csökkent oxigéntenziójú vérben oldékonyságuk egyötödére csökken. A dezoxihemoglobin S relatív oldhatatlansága okozza a sarlósejtesedést. A HbS pálcika vagy rost formájú aggregátumokat (tactoidokat) képez, melyek deformálják az egyébként fánkra hasonlító vörösvértesteket. A nem rugalmas sarlósejtek nem képesek átpréselődni a szűk kapillárisokon, a hajszálerek „eldugulnak", ennek következménye lokális vérellátási zavar (*ischaemia*[33]), következményes szövetelhalásokkal, fájdalommal. Ugyanakkor a deformált sejtek könnyen szétesnek, élettartamuk lerövidül, ez okozza a vérszegénységet. A vérplazmába kerülő kiszabaduló hemoglobin további kóros folyamatokhoz vezet. Mindebből levezethető, hogy **a** β^S **allél pleiotróp hatású**.

A β-globin gén közelében RFLP-t[34] találtak. A sarlósejtes allél gyakran fordul elő asszociáltan egy 13 kilobázispár méretű HpaI restrikciós fragmentummal (míg a vad típusú allél 7,6 kbp fragmentumon van). Feltehetően a 13 kbp-os fragmentumon jött létre a mutáció és terjedt el Nyugat-Afrikában és Észak-Amerikában

[33] NB! Helyes kiejtése nem „isémia", hanem „iszkémia".

[34] Restriction fragment length polymorphism = restrikciós fragmentum hossz polimorfizmus. A bakteriális restrikciós endonukleázok (l. a 4. fejezetben) specifikus hasítóhelyekkel rendelkezvén, bármilyen DNS-szakaszt jellegzetes hosszúságú töredékekre hasítanak. Ennek mintázatát mutációk és SNP-k megváltoztat(hat)ják.

(ahová az oda behurcolt rabszolgákkal került). A sarlósejtes mutáció és a 13 kbp RFLP allél között kapcsoltsági kiegyensúlyozatlanság áll fenn. A mutáns allél terjedéséhez nagymértékben hozzájárult, hogy a heterozigótáknak védettséget biztosít maláriával szemben. A teljes képhez hozzátartozik, hogy Kelet-Afrikában viszont a 7,6 kbp-os fragmentummal asszociáltan alakult ki és terjedt el a sarlósejtes allél.



9-3. ábra

A sarlósejtes anémia patogenézise

A **hemoglobin C** volt a második felfedezett hemoglobin-variáns, amely betegséget okoz. A β-globin 6. aminosava változik glutaminsavról lizinre (Glu6Lys). A HbC oldékonysága csökkent, ezért az a vörösvérsejtekben kikristályosodik, csökkenti a sejtek rugalmasságát és enyhe hemolitikus anémiát okoz. A β^C allél együtt is előfordulhat a β^S-sel. Az ilyen **compound heterozigóta** betegeknek a sarlósejtes anémiánál enyhébb tüneteik vannak.

Mutáció okozhatja a monomerek vagy a tetramerek instabilitását is. **A Hb Hammersmith** esetében pedig a β-lánc konzervált 42-es pozíciójú fenilalaninja szerinre cserélődik, ezért gyengébben köti a hemet, ami miatt alacsony oxigénaffinitású lesz a hemoglobin. Ez cianózist eredményez.

A hemoglobin oxigénszállítását befolyásoló mutánsok közé tartozik a fentebb már említett **Hb Kempsey**, amely fixálja a molekula nagy oxigénaffinitású állapotát, így kevesebb oxigén jut el a szövetekhez. A vörösvérsejtszám kóros emelkedését okozza (*polycythaemia*).

Ha a mutációk csökkentik a globin láncok szintézisét vagy stabilitását, és az α és β láncok nem ekvimolárisan termelődnek, ***thalassaemia*** alakul ki. Ez a leggyakoribb emberi monolokuszos rendellenesség. Az egyik lánc feleslegben lesz, ezek a láncok precipitálódnak a sejtben, károsítják a sejtmembránt és a vörösvérsejtek korai pusztulásához vezetnek. Előfordul a Fölközi tenger mellékén, a Közel-Keleten, Afrika és Ázsia egyes részein. Heterozigóta hordozók védettek maláriával szemben.

Az ***α-thalassemia*-ban** az α-globin szintézis csökkent, az okozott betegség kiterjed a prenatális és posztnatális életre egyaránt. A γ-láncok feleslegéből kialakuló homotetramer a Bart hemoglobin, a β-láncok feleslegéből képződő tetramer a HbH. Ezek teljességgel alkalmatlanok oxigénszállításra. Az *α-thalassemia*s újszülöttek súlyos rendellenességgel születnek (*hydrops foetalis*). Enyhébb esetekben anémia alakul ki. A HbH kicsapódik a sejtekben, zárványokat hoz létre, az így károsodott sejteket a lép eltávolítja.

Az *α-thalassemia* leggyakrabban az α-globin gén deléciói miatt alakul ki. A homológ kromoszómapáron 2-2 tandem elhelyezkedésű identikus α-globin gén található. Ha a meiózis profázisában a homológ kromoszómák párosodása nem pontos, hanem az α1 gén az α2-vel képez párt, egyenlőtlen crossing over következik be, egy deléciós és egy 3 génkópiát hordozó kromoszómát eredményezve. Egy gén deléciója a négyből még nem okoz tüneteket. 2 gén deléciója okozza az *α-thalassemia*s jelleget (enyhe anémia). Két α gén elvesztése kétféleképpen történhet. A genotípus lehet -α/-α, vagy --/αα. Utóbbi genotípus gyakori Délkelet-Ázsiában. Két ilyen szülő házasságából születhet --/-- genotípusú utód *hydrops foetalis*-szal, míg két -α/-α genotípusú szülőnek viszont nem lehet *hydrops*-os gyermeke.

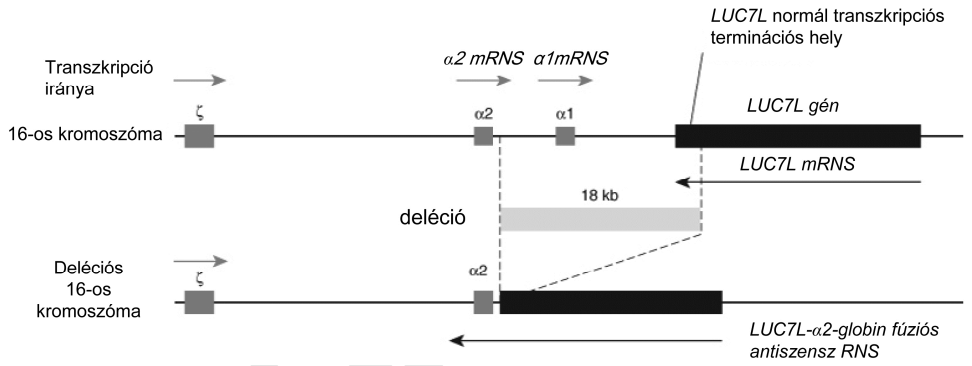
9-2. táblázat

Az α-*thalassemia*s genotípusokhoz tartozó fenotípusok

Fenotípus	Funkcióképes α-globin gének száma	α-globin genotípus	α-lánc szintézis
Egészséges	4	αα / αα	100%
Hordozó α-*thalassemia*s jelleg (enyhe anémia)	3	αα /α-	75%
	2	α-/α-, vagy --/αα	50%
HbH betegség (hemolitikus anémia)	1	α-/--	25%
Hydrops foetalis	0	--/--	0%
Homozigóta α-*thalassemia*			

DUPress

Az α-*thalassemia* más formái ritkábban fordulnak elő. Az említésük mégis azért tanulságos, mert a patomechanizmusuk megértése nem lenne lehetséges a génkifejeződés molekuláris eseményeinek ismerete nélkül. Az egyik ritka forma esetén – mint fentebb említettük – az α-globin struktúrgének hiánytalanul megvannak, de a ***Locus Control Regio*** (LCR) szenved deléciót. Egy másik esetet mutat be a 9-4. ábra. Ennél az α1 gén deléciója társul a fordított orientációjú szomszédos gén (*LUC7L*) 3′-végének deléciójával, ami magában foglalja a transzkripciós terminációs helyet is. Ennek következtében létrejön egy olyan fúziós mRNS, amely az α2-globin mRNS szekvenciáinak a komplementerét tartalmazza, röviden megfogalmazva: antiszensz RNS. Hordozókban ez az antiszensz RNS gátolja a delécios kromoszómán levő α2 globin gén expresszióját, ráadásul a gén előtti CpG szekvenciák metilációja is bekövetkezik, ami ugyancsak inaktiváló hatású. Ez az eset azt mutatja, hogy az **antiszensz transzkripció patogenitási faktor lehet örökletes betegségekben**.



9-4 ábra

α-talasszémiához vezető deléció

Egy másik, betegséget okozó molekuláris mechanizmust jelent a *chromatin remodeling protein* mutációja. Három észak-európai családban HbH képződést, mint az α-*thalassemia* jelét észlelték, miközben Észak-Európában gyakorlatilag elő sem fordul az α-globin gének deléciója. Kimutatták, hogy ezekben a betegekben az ATRX kromatin remodelláló fehérje génje szenvedett mutációt. Ezek a fehérjék multiprotein komplexek részeként képesek a kromatin szerkezetében változásokat előidézni, pl. a nukleoszómák DNS-en elfoglalt helyét befolyásolják. Ezáltal szükségesek lehetnek a genom egyes részei metilációs mintázatának fenntartásához. A betegek DNS metilációs mintázata abnormális volt, feltehetően ez a metilációs változás okozhatta az α-globin szintézisben bekövetkező, egyébként nem nagyfokú csökkenést.

A ***β-thalassemia***knál a lecsökkent β-globin szintézis okoz anémiát és a feleslegben levő α-láncok precipitálódnak és membránkárosodáshoz vezetnek. A β-globin szintézis lényegében csak a születés után kezdődik, a tünetek is ekkor jelentkeznek. Mivel a δ-gén és a γ-gén intakt, a HbA_2 és a HbF termelése fokozódik, de nem tudja ellensúlyozni a felnőtt hemoglobin, a HbA hiányát.

A két *β-thalassemia* alléllel rendelkezők általában compound heterozigóták (olyan sokféle van ezekből a génekből) és ***thalassemia major-***ban szenvednek, ami az egész életen át orvosi ellátást igénylő súlyos anémiát jelent. Ha olyan kevés β-lánc szintetizálódik, hogy a HbA nem kimutatható, β^0 *thalassemia*-ról, míg ha van detektálható β-globin szintézis, β^+*-thalassemia*-ról beszélünk. Súlyossága miatt ritka, hogy az érintettek a felnőttkort megérik. Kezelésében legfontosabb a vérátömlesztés és a felhalmozódó vas megkötése kelátképzőkkel. Csontvelő-átültetés is hatásos lehet, ha van HLA-identikus donor családtag.

A heterozigóták fenotípusát ***thalassemia minor***-nak nevezik. Klinikailag tünetmentesek, vagy enyhe vérszegénységben szenvednek, amit vashiányos anémiával szoktak összetéveszteni. A *thalassemia minor* diagnózisában fontos a hemoglobin elektroforézise, ami jelzi a HbA_2 ($\alpha_2\delta_2$) szintjének megnövekedését.

A *β-thalassemia* oka molekuláris szinten általában egy pontmutáció, ami a β-globin mRNS-szint csökkenéséhez vezet. Ezekből nagyon sokféle ismert. Vannak promoter mutánsok, splicing (átszabási) mutánsok, mRNS processing (sapka- vagy poliA farok képzésben defektív) mutánsok, kereteltolásos és nonszensz mutánsok, melyek korai terminációt okoznak a kódoló régión belül.

A *β-thalassemia*t okozó mutációk nagyobb része **splicing mutáció**, ami az mRNS abnormális átszabását idézi elő. Ezek érinthetnek

1. egy átszabási helyet (*splice junction*),
2. lehetnek egy intron belsejében,
3. lehetnek kódoló szekvenciában, de mégis megváltoztatva a splicingot.

Az átszabásban kulcsfontosságú az intron 5′-végén levő donor hely (GT) és a 3′-végén levő akceptor hely (AG). Ha az utóbbi megváltozik, pl. GG-re, akkor a splicing nem a „normális" helyen megy végbe, hanem máshol, mert aktiválódik egy rejtett (kriptikus) átszabási hely, amely lehet exonban vagy intronban is (9-5. ábra B).

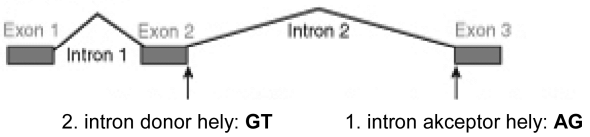
Intronban keletkezhet olyan mutáció, amely létrehoz egy új átszabási helyet, amely verseng a normál átszabási hellyel, ily módon csökkentve a funkcióképes mRNS mennyiségét. A kriptikus átszabási helyek használata rendszerint megengedi a normál helyek csökkent mértékű használatát is, így β^+*-thalassemia* fenotípust kapunk (9-5. ábra C).

Exonban is bekövetkezhet olyan mutáció, amely megváltoztatja a splicingot. A 24-es kodon (GGT) glicint kódol. Ha ez GGA-ra változik (ami egyébként szinonim kodon), aktivál egy kriptikus donor átszabási helyet. Hasonló ehhez a HbE, melyben a 26-os kodon GAG-ról AAG-re mutálva (Glu→Lys) aktivál egy alternatív splicing donor helyet, meghagyva az eredetit is, így egy enyhe β^+*-thalassemiá*t okoz (9-5. ábra D).

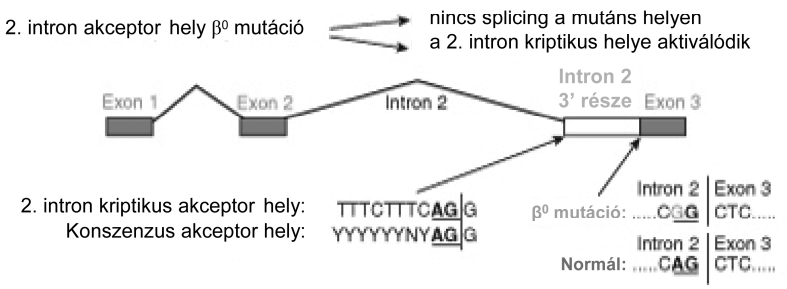
Mutáció vezethet **funkcióképtelen mRNS** szintéziséhez. **Nonszensz mutációk** stop kodont hoznak létre, egy nukleotid deléciója esetén a **kereteltolódás** miatt hamar következik egy korai stop kodon. Ha ez a lánc elején történik, nincs β-globin szintézis, β^0*-thalassemia* az eredmény. A nonszensz mutációk gyakran vezetnek a

funkcióképtelen mRNS gyors lebomlásához. Ennek a mechanizmusát még nem értjük.

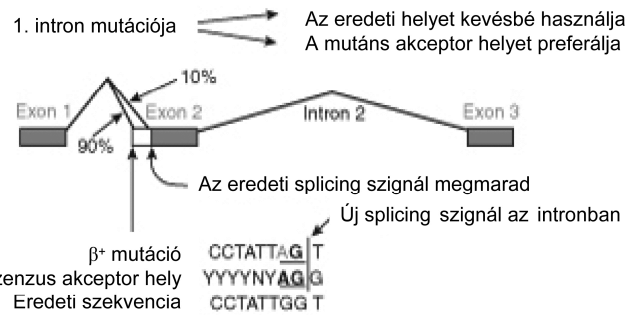
A Normál splicing



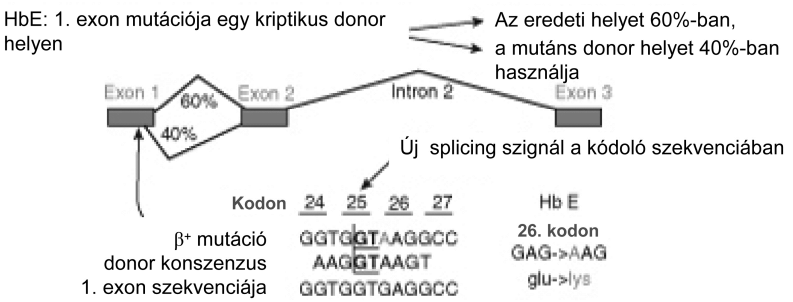
B Egy mutáció megszüntet egy normál akceptor helyet és aktivál egy kriptikus helyet.



C Egy mutáció új akceptor helyet hoz létre intronon belül.



D Egy mutáció aktivál egy kriptikus donor helyet exonban.



9-5. ábra

Példák a β-globin splicing mutációira (a magyarázatot l. a köv. oldalon)

A 9-5. ábra (l. az előző oldalon) magyarázata. **A**: A splicing normál folyamata. **B**: A mutáció megszüntet egy akceptor helyet, és aktivál egy kriptikus átszabási helyet. **C**: A mutáció új akceptor helyet hoz létre intronban. **D**: Egy misszensz mutáció aktivál egy kriptikus átszabási helyet exonban (HbE).

Ha a mutáció az **RNS processing**et, azaz a sapkaképzést és a poliA farok szintézisét gátolja, károsítja, az az mRNS következményes instabilitása miatt kóros. Az mRNS 5′ végi nukleotidjának A→C transzverziója megakadályozza a sapka (*cap*) hozzáadását, az mRNS degradációját okozva. A 3′ hely közelében található poliA hely, AAUAAA szekvencia megváltozása AACAAA-ra a poliA farok szintézisét akadályozza, így szintén instabilitást okoz. Ezek a rendellenességek *β*$^{+}$*-thalassemiá*t eredményeznek.

A magzati hemoglobin perzisztálását okozhatja deléció vagy pontmutáció. A δ és β globin génekre kiterjedő deléció meggátolhatja ezek megfelelő szintű kifejeződését, ezzel együtt megnő a magzati γ-globin gén expressziója (hogy hogyan, az egyelőre nem tisztázott). A magzati hemoglobin kompenzálja a HbA hiányát. Egy másik esetben a γ-globin gén 5′ szabályozó régiójában bekövetkező pontmutáció feltehetően megakadályozza egy gátló transzkripciós faktor kötődését és a gén represszióját. Az érintett egyének általában tünetmentesek, többnyire véletlenül derül fény a rendellenességre. A magzatiról a felnőtt hemoglobinra való átkapcsolás megértése potenciálisan lehetőséget adna arra, hogy a γ-gének bekapcsolását felhasználják a *β-thalassemia* kezelésére.

A *thalassemiá*k súlyos kórképek, a kezelés, ellátás nagy terhet jelent a társadalomnak a Földközi-tenger mellékén. Ezért előtérbe került a hordozók detektálása és a prenatális diagnózis. Az önkéntes szűrővizsgálat és a hordozók családjának kiterjedt vizsgálata azt eredményezte, hogy pl. Szardínia szigetén a *β-thalassemiá*s[35] újszülöttek gyakorisága 25 év alatt a huszadára csökkent.

Egyéb fehérjekódoló gének mutációi

A fehérjék rendkívül sokféle feladatot látnak el az élő szervezetben, s bármilyen funkciót ellátó fehérje mutációja eredményezhet génikus betegséget. Annak a felismerése, hogy egy betegség milyen funkcionális csoportba tartozó fehérje megváltozásának tulajdonítható, gyakran fontos a patomechanizmus és az öröklődés megértésében, valamint a megfelelő terápia megtervezése szempontjából. A fehérjéket expressziós mintázatuk alapján alapvetően két nagy csoportra oszthatjuk: „**háztartási**” **(***housekeeping***) fehérjék**re melyek minden sejtben jelen vannak, és alapvető szerepük van a sejtek szerkezetének és működésének fenntartásában, és **sejt-** vagy **szövetspecifikus fehérjék**re melyek csak egy vagy néhány sejttípusban termelődnek, egyedi funkcióik vannak, melyek jellemzőek azon sejtekre, amelyekben kifejeződnek. Sejtjeinkben 10-15 000 gén fejeződik ki. A sejtben jelenlevő

[35] Thalassa (gör) = tenger. Az ókori ismeretek szerint a Földközi-tenger.

mRNS-féleségek kb. 90%-a háztartási génekről íródik át, s csak kb. 10%-a kódol sejt- v. szövetspecifikus fehérjéket. A patomechanizmus megértése szempontjából gyakran hasznos annak ismerete, hogy egy fehérje milyen szövetekben fejeződik ki. Fontos tényező az is, hogy az illető protein csak sejtekben található, vagy onnan kiválasztva szövetnedvben, ill. – gyakrabban – a vérplazmában. A fehérje-expresszió és a betegség lokalizációja szempontjából két általános megállapítást tehetünk:

(1) A szövetspecifikus fehérjék mutációi által okozott betegség többnyire arra a szövetre korlátozódik, amelyben a fehérje szintetizálódik, de lehetnek másodlagos hatásai másutt. A szintézis helye és a patológiás elváltozás lokalizációja azonban nem mindig esik egybe. Erre a legjobb példa a **fenilketonúria**. A fenilalanin hidroxiláz a májban szintetizálódik, de a hiánya nem a májat károsítja, hanem a központi idegrendszert, ahol ki sem fejeződik. Nem szükségszerű tehát, hogy valamely szerv elváltozása, betegsége olyan gén mutációjának legyen a következménye, amely csak abban, vagy elsősorban abban a szervben fejeződik ki.

(2) A háztartási gének mutációi ritkán okoznak patológiás elváltozást minden szövetben, a klinikai tüneteket eredményező változások rendszerint csak egy, vagy néhány szövetben jelennek meg. Ennek egyik oka az lehet, hogy más gének átfedő biológiai aktivitása csökkenti a mutáció okozta funkcióvesztést. Másrészt, egy szövet azért válhat érintetté, mert ott az adott fehérje kifejeződése magas szintű és ugyanakkor egyfajta szövetspecifikus funkciót is ellát. Ez a helyzet a **Tay-Sachs betegség**nél: A mutáns enzim itt a hexozaminidáz A, amely minden sejtben kifejeződik, hiánya fatális neurodegenerációhoz vezet, viszont a nem-neuronális típusú sejtek nem érintettek.

Gyakran látjuk, hogy egy-egy örökletes betegség klinikai fenotípusa variábilis. Ennek oka lehet a genetikai variabilitás három típusa: az allélikus heterogenitás, a lokusz-heterogenitás és a módosító gének hatásai.

Az **allélikus heterogenitás** lehet egy lokusz többszörös alléliájának a következménye. Sok esetben egyértelmű genotípus-fenotípus összefüggést tapasztalunk egy allél és egy fenotípus között. A legkézenfekvőbb magyarázat az allélikus heterogenitásra, hogy a **reziduális (maradék) funkcióért felelős allélek a betegség enyhébb változatáért felelősek**.

A **lokusz-heterogenitás** azt jelenti, hogy egynél több lokusz lehet felelős egy sajátos klinikai fenotípusért. Erre jó példa a hiperfenilalaninémia, amelyet egyrészt okozhat a fenilalanin hidroxiláz (PAH) fehérjekomponensét kódoló gén mutációja, másrészt az enzim prosztetikus csoportjának (tetrahidrobiopterin, BH_4) bioszintézisében szerepet játszó enzimek génjeinek mutációi. Ismert példa a hemofília A és B esete is: a fenotípus mögött az első esetben a VIII-as, a másodikban a IX-es véralvadási faktor defektje áll, mindkettő génje az X kromoszómán van.

Néha a nyilvánvaló genotípus-fenotípus összefüggés ellenére sem nyilvánul meg egy gén a fenotípusban. Ilyenkor felmerül a környezeti tényezők és a **módosító** (*modifier*) **gének** szerepe. Pl. ha homozigóta *β-thalassemiá*s örököl egy α-*thalassemia* allélt is, az utóbbi módosító génként szerepel, mivel csökkentve az α-láncok feleslegét, enyhíti a tüneteket.

Enzimdefektus és betegség

A humán genom több mint 5000 enzimet kódoló gént tartalmaz. Nem csoda, hogy több száz enzimdefektust vagy enzimopátiát ismer a tudomány. Ezek közül a legismertebb veleszületett anyagcserebetegség a **fenilketonúria (PKU)**, amit viszonylag részletesen tárgyalunk, mivel jól illusztrálja az enzimdefektusok biokémiai genetikájának főbb elveit.

Az ún. **klasszikus** (vagy I-es típusú) **fenilketonúria** a fenilalanint tirozinná átalakító enzimet (PAH) kódoló gén mutációjának eredménye, autoszomális recesszíven öröklődő betegség. 1934-ben Følling közleménye jelentette annak első leírását, hogy egy genetikai defektus mentális retardációt okoz. Mivel nem képesek a fenilalanint tirozinná alakítani, a PKU betegek vérében és testfolyadékaiban felszaporodik ez az aminosav. A hiperfenilalaninémia kora gyermekkorban károsítja a fejlődő központi idegrendszert és interferál az érett agy működésével is. A fenilalanin egy kis része átalakul neurotoxikus fenilpiruváttá és más minor metabolitokká (fenilketonok) amelyek megjelennek a vizeletben. Annak a pontos mechanizmusa, hogy a túl magas fenilalanin-szint végülis hogyan okoz idegrendszeri tüneteket, még nem ismert. Fontos tudni azonban, hogy időben elkezdett fenilalanin-szegény[36] diétával a magas aminosav-szint és a következményes mentális retardáció megelőzhető. (L. még a 9. fejezetben is.) A PKU betegek kezelése az anyagcsere-betegségek ezen típusa terápiájának paradigmája is egyben: a szubsztrátbevitel korlátozásával az anyagcsere-betegségek tünetei enyhíthetők.

Az érintettek felismerése újszülöttkorban kell, hogy történjen, ezt szolgálja az **újszülöttek szűrése**. Néhány napos korban egy csepp vért vesznek az újszülöttől, ezt egy szűrőpapíron beszárítva elküldik egy országos központba, ahol meghatározzák a vér fenilalanin-tartalmát és a fenilalanin-tirozin arányt. A meghatározás eleinte mikrobiológiai módszerrel történt (az ún. Guthrie teszttel), ma azonban már gázkromatográf-tömegspektrográf (GC-MS) révén. Ezzel egyidejűleg egyéb anyagcserebetegségek diagnózisa is felállítható, pl. galaktozémia, aminoaciduria stb. Fontos, hogy a vérvétel ne 24 órán belül történjen, hiszen a fenilalanin az anyatej fehérjéiből származik, időt kell adni a felhalmozódásához, normális szopási aktivitás mellett. (Az intrauterin életben a Phe→Tyr átalakulást az anya PAH enzimaktivitása biztosítja.) A pozitív esetekben – megerősítő vizsgálat után – 4 hétnél tovább nem szabad várni a diéta megkezdésével a kezdődő agykárosodás miatt.

Míg a PKU a PAH enzimaktivitás teljes hiányát jelenti (az aktivitás a kontrollokénak 1%-át sem éri el), vannak kevésbé súlyos esetek, mint a **PKU nélküli hiperfenilalaninémia** és a **variáns PKU**. Ezekben az a közös, hogy a mutáns PAH enzimnek van maradék aktivitása. Az előbbi tünetmentes, csak a szűrés hozza felszínre, és nem igényel diétát, vagy csak annak kevésbé szigorú formáját. Utóbbi átmenetet képez a klasszikus és a tünetmentes forma között. A tünetek variabilitása tükrözi a PAH mutációk allélikus heterogenitását. Összesen több mint 400 mutáció

[36] A fenilalanin esszenciális a fehérjeszintézishez, ezért a megengedett mennyiségét a táplálékban mindig a gyermek adott testi fejlettségi szintjének megfelelően kell beállítani.

ismert, közülük hat az összes eset 2/3-át teszi ki az európai populációban. A jelenlevő sok mutáció-féleség miatt **a PKU betegek többsége compound heterozigóta,** azaz két különböző allélt hordoz, melyek mindegyike betegséget okoz. Ha az allélikus heterogenitáshoz hozzávesszük a módosító gének hatását, érthető a fenotípus nagyfokú variabilitása. Ebből is látható, hogy még a monolokuszosként mutatkozó jellegek sem tekinthetők genetikai szempontból egyszerűnek.

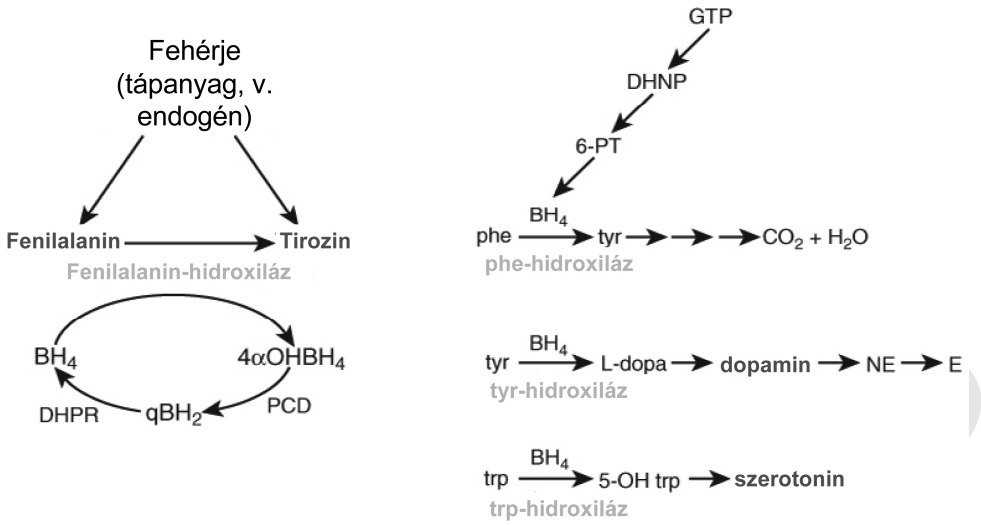
Diéta-rezisztens PKU (II-es és III-as típus). A PKU esetek 1-3 %-ában a diéta ellenére súlyos idegrendszeri tünetek alakultak ki. Ezeknél a PAH gén ép, a génikus defektus a PAH kofaktorának, a tetrahidrobiopterinnek (BH_4) a szintéziséért felelős gének egyikében van (9-6. ábra). Ezek a ritka formák is autoszomális recesszív öröklődésűek. A diétával szembeni rezisztenciát az okozza, hogy a BH_4 a tirozin bioszintézisén kívül szükséges neurotranszmitterek (dopamin, noradrenalin, adrenalin és szerotonin) bioszintéziséhez is. Mivel a PAH gén ép, a BH_4 adásával a betegek plazma-fenilalanin szintje csökkenthető. A neurotranszmitterek szintézisét elősegítendő, a kofaktorhiány miatt kieső tirozin hidroxiláz és triptofán hidroxiláz termékeit, L-dopa-t, ill. 5-hidroxi-triptofánt kell adni a betegnek. Mivel a kezelés alapvetően más, fontos ezen formák elkülönítése a hiperfenilalaninémiákon belül.

Érdekes, hogy a BH_4 adása hasznosnak bizonyul a klasszikus PKU esetek egy kis részében is. A kofaktor stabilizálja az enzimet, vagy védi a degradációtól.

Maternális PKU. A PKU diétás kezelése lehetővé teszi, hogy az érintettek normális életet éljenek és gyermekük szülessen. Régebben a kezelést abbahagyták a gyermekkor közepe táján azon az alapon, hogy a kialakult idegrendszert már nem károsítja a magas fenilalanin szint[37]. A diétát abbahagyó nők gyermekei között azonban előfordult mentális retardáció, microcephalia, elmaradás a növekedésben és szívfejlődési rendellenesség. A gyermekek genotípusa heterozigóta, tehát nem a saját genetikai konstitúciójuk, hanem a magas intrauterin fenilalanin szint okozta a retardációt. Ezért a terhességet tervező PKU-s nőknek diétát kell kezdeniük, vagy – helyesebben (!) – a gyermekkori diétát fenn kell tartaniuk[38].

[37] Ezt a felfogást újabban sokan nem fogadják el, férfi betegek esetén is javasolják a diéta fenntartását. A kérdést nem tekinthetjük lezártnak, l. a fentiekben, részletesebben pedig még a 10. fejezetben és – főleg – a gyermekgyógyászati és neurológiai stúdiumokban.

[38] Úgy hírlik, a normál táplálkozáshoz szokottak számára a diéta ehetetlen, így a betartatása nehézséget jelent, még egyébként jól kooperáló betegek esetén is. Ezért is helyesebb a fenilalanin-szegény diétát nőknél a reproduktív kor (szándékolt) végéig fenntartani. L. még a megelőző megjegyzést is.



9-6. ábra

A hiperfenilalaninémiákban érintett anyagcsereutak

BH_4, tetrahydrobiopterin; 4αOHBH4, 4alfa hydroxitetrahydrobiopterin; qBH_2, quininoid dihidrobiopterin, a hidoxilációs reakció oxidációs terméke, amit a dihidropteridin reduktáz (DHPR) BH_4-gyé alakít; PCD, pterin 4alfa-carbinolamin dehidratáz; phe, fenilalanin; tyr, tirozin; trp, triptofán; GTP, guanozin trifoszfát; DHNP, dihidroneopterin trifoszfát; 6-PT, 6-piruvoiltetrahydropterin; l-dopa, l-dihidroxifenilalanin; NE, noradrenalin (norepinephrin); E, adrenalin (epinephrin); 5-OH trp, 5-hidroxitriptofán. (Illusztráció, nem tananyag!)

Lizoszomális tárolási betegségek

A lizoszómák membránnal határolt sejtorganellumok, melyek egy sor hidrolitikus (bontó-) enzimet tartalmaznak. Az enzimek génikus defektusai esetén a szubsztrátok felhalmozódnak a lizoszómában a sejtfunkciókat megzavarva, sőt a sejt pusztulását eredményezve. Közös jellemzője a tárolási betegségeknek a feltartóztathatatlan progresszió. Ha az agy érintett, neurodegeneráció az eredmény. Több mint 50 lizoszomális tárolási betegséget ismerünk, többségük autoszomális recesszív. A legutóbbi időkig nem állt rendelkezésre terápia, de újabban az enzimhelyettesítő terápia nagymértékben javította egyes betegségek hosszútávú prognózisát. Bizonyos lizoszomális enzimek felvétele ugyanis a sejtközötti térből lehetséges a sejtek számára.

A ***Tay-Sachs betegség*** egyike a legismertebb és legsúlyosabb tárolási betegségeknek. A sejtek képtelenek lebontani a GM_2 gangliozid nevű szfingolipidet. A defektív enzim a hexózaminidáz A (hexA). Az enzim 3 alegységből tevődik össze, az α alegységet a *HEXA,* a β alegységet a *HEXB,* az aktivátort egy harmadik autoszomális gén kódolja. A tünetek alapján a 3 gén mutációi megkülönböztethetetlenek.

A Tay-Sachs betegséget a *HEXA* gén, azaz az α alegység mutációi okozzák. A betegség a 3-6. hónapban kezdődik, és progresszív idegrendszeri degenerációt követően 2-4 éves korban vakságot, majd halált okoz. Később kezdődő varánsai is vannak, melyek a gerincvelői mozgató neuronok diszfunkcióját és mozgáskoordinációs zavart (*ataxia*) okoznak, de a látás és az intelligencia nem sérül, viszont pszichózis alakulhat ki.

Mint sok más monolokuszosként számontartott betegség esetén, egyes allélek gyakrabban fordulnak elő bizonyos populációkban. Askenázi zsidó népességben a betegség igen gyakori, az incidencia százszorosa a más populációkban találtnak, a három leggyakoribb mutáns allél egyike e populáció minden huszonhetedik tagjában megtalálható. Az allélek molekuláris szintű ismerete nagymértékben megkönnyíti a hordozók kiszűrését a betegségnek leginkább kitett népességben. Az elvégzett hordozó-szűrések eredménye volt az ún. pszeudodeficiencia allélek megtalálása. A név is mutatja, hogy ezek benignusak. Pl. egy Tay-Sachs és egy **pszeudodeficiencia allél**lel rendelkező compound heterozigóta leukocitáiban 20%-os maradék aktivitást mértek, ami még elegendő a szubsztrátmolekulák lebontásához. Jelentőségük egyrészt az, hogy megnehezítik a prenatális diagnózist, mivel a pszeudodeficiens magzatot hibásan érintettnek diagnosztizálhatják. Másrészt a többi génikus betegségnél is lehetnek hasonlóan viselkedő allélek, amelyek megzavarhatják a szűrés vagy diagnosztikus teszt korrekt értékelését.

Mukopoliszacharidózisok**.** A mukopoliszacharidok – modernebb nevükön **glükózaminoglikán**ok (GAG) – a kötőszöveti sejtek által szintetizált poliszacharidok. Egy glükózamin- és egy glükuronsav-származékból álló diszacharid egységek ismétlődnek bennük. Enzimatikus lebontásuk a lizoszómákban történik. Egy-egy ilyen enzim defektusa a mukopoliszacharid felhalmozódását és tárolási betegséget eredményez. A legrégebben ismert tárolási betegségek az X-hez kötött recesszív **Hunter szindróma** és az autoszomális recesszív **Hurler szindróma.** Közös néven *gargoylismus*ként ismertek. Ez a név onnan ered, hogy a betegek arca hasonlít a gótikus katedrálisokról ismert vízköpő figurákéhoz (*gargoyl*okhoz). A betegek alacsony növésűek, mentálisan retardáltak, vázrendszerük is eltér a normálistól; idegrendszeri tünetek és korai halál jellemző. A Hurler szindrómában a hiányzó enzim az α-L-iduronidáz. Kiderült, hogy ugyanez az enzim érintett a klinikailag eltérő és enyhébb lefolyású **Scheie szindróm**ában is, csak ezért egy alternatív mutáns allél felelős és az általa kódolt enzimnek reziduális aktivitása van. Megfigyelték, hogy a Hunter és Hurler szindrómás betegek fibroblasztjait *in vitr*o együtt tenyésztve azok egymás defektusait korrigálták, mivel felvették a közegből a másik sejttípus által kiválasztott funkcióképes enzimet. A két különböző lokuszon bekövetkezett mutáció között **genetikai komplementáció** volt megfigyelhető. Ennek a jelenségnek terápiás jelentősége van, mivel vad típusú gént tartalmazó sejtek bevitelével, pl. csontvelőátültetéssel, a defektus javítható volt Hurler szindróma esetén. A lizoszomális enzimek extracelluláris folyadékból való felvétele pedig lehetőséget ad a tárolási betegségek enzimpótló terápiájára.

Abnormális poszttranszlációs módosítás. A fehérjék szintézisük helyéről el kell hogy jussanak oda, ahol működésüket kifejtik a sejten belül. Sok fehérje esetén ez az információ a kódolva van a fehérje elsődleges szerkezetében (azaz aminosavsorrendjében). Más fehérjék esetén a sejten belüli lokalizációt a poszttranszlációs módosítás szabja meg. Ezt az **I-sejt betegség** molekuláris okának feltárása óta tudjuk. Ez autoszomális recesszív tárolási betegség, melynél a lizoszomális hidroláz enzimek bár megszintetizálódnak, nem kerülnek be a lizoszómákba, hanem nagy mennyiségben megjelennek a testfolyadékokban. A glikoprotein jellegű enzimek mannóz oldalláncai egy enzimdefektus következtében nem foszforilálódnak. A *mannóz-6-foszfát* csoportok elengedhetetlenek ahhoz, hogy a lizoszómák és a sejtmembrán felszíni receptorai felismerjék a lizoszomális hidrolázokat, így azok a rendeltetési helyükre kerüljenek. A megfelelő poszttranszlációs módosítás hiányában sokféle enzim érintett, ami tükröződik a tünetek sokféleségében.

Nem csak a glikoziláció hiánya, de a nem kívánt, abnormális glikoziláció is betegséget okoz. Erre jó példa az interferon-γ receptor 2, amely egy missense mutáció következtében „túlglikozilálttá" válik, és emiatt elveszíti eredeti funkcióját, az interferon-γ megkötését, ami fontos lépése a fertőzések elleni védekezésnek. Ennek az lesz a következménye, hogy egyébként ártalmatlan baktériumok, mint például a – tbc elleni védőoltásra használt – BCG baktérium (Bacillus Calmette-Guérin) is betegséget okoznak. Ez a **familiáris atípusos mycobacteriosis**, vagy más néven **MSDS** (*mendelian susceptibility to mycobacterial disease*). Ez a kórkép autoszomális recesszív öröklődésű. (Ugyanakkor említenünk kell, hogy más gének mutációi is okozhatnak ilyen fenotípust.)

Nem csak egy enzim hiánya, de egy enzim túlműködése is káros lehet. Az autoszomális recesszív öröklődésű **α1-antitripszin (α1AT) hiány** pl. nagymértékben megnöveli az *emphysema* (tüdőtágulás) kockázatát. Több allél is okozhatja ezt, de a Z allél (Glu342Lys) a leggyakoribb. A bajt az okozza, hogy megbomlik az egyensúly a fehérjebontó elasztáz enzim és inhibitora között, aminek az lesz az eredménye, hogy a túlzottan aktív elasztáz lebontja a tüdőalveolusok falát, ami emphysemahoz vezet. A betegek túlélését tovább rontja a dohányzás, a dohányfüst hatására ugyanis az aktív helyen levő metionin oxidációja miatt az α1AT elasztáz iránti affinitása három nagyságrenddel csökken. Ezzel magyarázható, hogy míg a nemdohányzó Z/Z homozigóták túlélési aránya 60 éves korban 60%, addig a dohányzó homozigótáké mindössze 10%. Ez az összefüggés az **ökogenetika** körébe helyezi az α1-antitripszin hiányt. Ez jól mutatja, hogy egy meghatározott genotípus megnöveli a betegség kockázatát bizonyos környezeti hatásnak kitett egyéneknél.

Receptorfehérjék hibái

Az örökletes betegségeknek ezt a válfaját 1974-ben írták le először, azóta tudjuk, hogy a kisdenzitású lipoprotein (*low density lipoprotein*, LDL) részecskék receptora szenved mutációt a **familiáris hiperkoleszterinémia (FH)** leggyakoribb formájában. Az LDL részecske kb. 22 nm ármérőjű, vázát egy nagyméretű apolipoprotein B fehérjemolekula alkotja, belsejében egyrétegű membránnal borítva kb.

1500 koleszerin-észter molekula van. A részecske a sejtmembránban elhelyezkedő LDL receptorhoz kötődik, a receptorok összegyűlnek egy clathrin-burokkal rendelkező „tüskés gödör"-ben, ami azután lefűződve a sejtmembránról „tüskés hólyag"-gá alakul. Ez a **receptor-mediált endocitózis** egyik legismertebb példája. Az LDL receptor gén mutációin kívül van három másik gén, melyek mutációi szintén hiperkoleszterinémiát eredményezhetnek. (1) Ezek egyike az apolipoprotein B-100, ha a receptorkötő doménje mutációt szenved, az LDL részecske nem tud kötődni a receptorhoz. (2) Egy másik protein szükséges ahhoz, hogy a receptort a clathrin burokhoz kapcsolja az LDL kötődése után. Ez az LDL receptor adaptor protein (LDLRAP). Ha ez mutáció következtében elveszti funkcióját, nem gyűlnek össze az LDL-receptor komplexek a tüskés gödörben, ezért nem történhet meg az endocitózis. (3) Felfedeztek egy proteázt (PCSK9), amely sejten belül bontja az LDL receptort, fokozott aktivitása emeli a koleszterin szintet. Fontosabb azonban, hogy egyes variánsai csökkentik a koleszterin szintet, azaz védelmet biztosítanak a szívinfarktussal szemben.

A familiáris hiperkoleszterinémia receptor-mutáció által okozott formája formális genetikai szempontból autoszomális dominánsnak tekinthető, mivel a heterozigótáknak is magas a koleszterin szintje (a „normális" kétszerese). Atheromás plakkok formájában rakódik le a koleszterin a szívkoszorúerek falán, ami előbb-utóbb szívinfarktust okoz. A homozigóták már gyermekkorban szívbetegek, ritkán élik túl a 30 évet. A heterozigóták prevalenciája 1/500, ez az egyik leggyakoribb emberi monolokuszos betegség. Az örökletesség miatt fontos a betegség diagnosztizálása. Meg kell azonban jegyezzük, hogy a népességben magas koleszterin szinttel és hiper-lipoproteinémiával rendelkezők közül csak minden huszadik eset familiáris hiperkoleszterinémia, a többi multifaktoriális eredetű. (Ez utóbbi körbe beleértendő az egészségtelen táplálkozás is.)

Transzportfehérjék mutációi

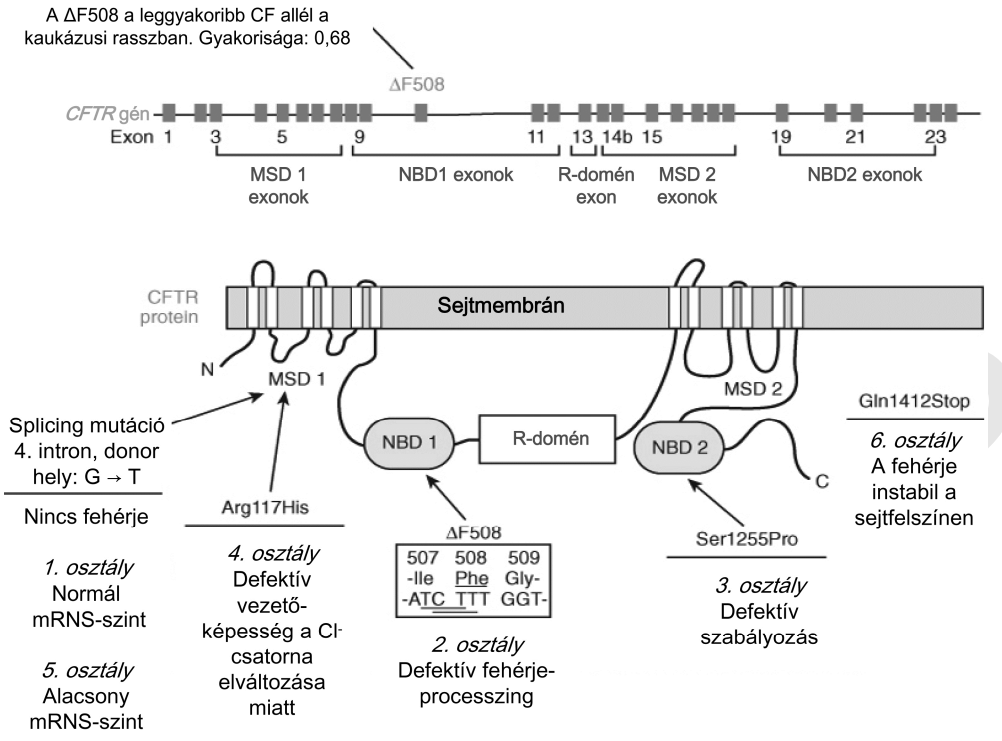
A ***cisztikus fibrózis*** **(CF) –** régebbi nevén **mucoviscidosis** – a közvélemény számára egyik legismertebb emberi örökletes betegség. (L. az 5. fejezetben is.) Autoszomális recesszív öröklődésű, születéskori gyakorisága 1/2500, a heterozigóta hordozók frekvenciája 1/25. A betegségben szerepet játszó gén klónozása és részletes megismerése a molekuláris genetika révén vált lehetővé 1989-ben. Ennek kapcsán megállapították, hogy a *CFTR* (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*) gén terméke egy szabályozott klorid-ion csatorna, amely az epiteliális sejtek apikális (a lumen felőli felszín) membránjában helyezkedik el.

A betegségben a leginkább érintett két szerv a tüdő és a hasnyálmirigy, de a legnyilvánvalóbb tünet a verejték emelkedett nátrium- és klorid-koncentrációja. A pulmonális tünetek oka az, hogy a felszíni hámsejtek váladéka rendkívül viszkózus, ez gátolja a csillómozgás által biztosított öntisztulást és táptalaja az opportunista patogén *Pseudomonas* baktériumnak, ami krónikus fertőzés forrása. A halálok a légzésfunkció károsodása és tüdőgyulladás. A betegek fele éli túl 33. életévét. A pankreász enzimek (lipáz, tripszin, kimotripszin) szekréciója is defektív, ez azon-

ban nagyrészt helyreállítható az enzimek pótlásával. Az esetek 10-20%-ában megfigyelnek újszülöttkori bélelzáródást (*meconium ileus*). Az érintett fiúknál 95%-ban előfordul az ondóvezeték kétoldali veleszületett hiánya, ami infertilitással jár. Érdekesség, hogy ez önálló kórkép is lehet a CF többi tünete nélkül, amit a *CFTR* gén egyik allélvariánsa okoz. A női fertilitást ronthatja a méhnyakban megtapadó sűrű váladék. A verejték magas sótartalmát az okozza, hogy a verejtékmirigy kivezetőcsövében a klorid ionok nem szívódnak vissza.

A *CFTR* gént kromoszómán elfoglalt pozíciója alapján klónozták (innen a *pozíciós [vagy pozícionális] klónozás* elnevezés, l. még a 8. fejezetben). Az ABC transzporterek családjába tartozik, ATP-kötő kazetta van benne. A fehérje 5 domént tartalmaz: két membránon (többszörösen) átérőt, két nukleotid- (ATP)-kötőt és egy szabályozó domént, több foszforilációs hellyel (9-7. ábra). A Cl^--csatorna pórusát a 12 transzmembrán régió képezi, a nukleotidkötő domén köti meg és hidrolizálja az ATP-t, a felszabaduló energia hasznosul a csatorna nyitására, vagy zárására, az R-domén foszforilációja reguláló hatású. Az elsőnek azonosított és leggyakrabban előforduló mutáció, a **ΔF508** az egyik nukleotidkötő doménben van, egy triplet deléciója az 508. pozícióban levő fenilalanin kiesését eredményezi. Kb. 1200, a betegséggel asszociált szekvencia-variánst találtak, ezek közül a legnépesebb a misszensz mutációk csoportja. Több különböző mechanizmussal okozhat a mutáció funkcióvesztést. *(1)* Korai stop kodon, vagy az RNS instabilitását eredményező mutációk a CFTR fehérje teljes hiányához vezetnek. *(2)* A mutáció következtében megváltozott térszerkezet (*misfolding*), ami hibás poszttranszlációs módosításhoz és *processing*-hez vezet. Ide tartozik a ΔF508 is, amelynél a kóros fehérje nem is tudja elhagyni a RER-t a megváltozott térszerkezete miatt. *(3)* A reguláció is zavart szenvedhet, vagy *(4)* a membrán-domén mutációja miatt magának a klorid-csatornának a vezetőképessége csökken. *(5)* Mutáció következtében csökkenhet az elsődleges transzkriptum mennyisége, vagy *(6)* a fehérjék rendben megszintetizálódnak, de a sejtfelszínen instabillá válnak.

A *CFTR* mutáns allélek frekvenciája a kaukázusi nagyrasszba tartozóknál 1/50, más rasszoknál ennél kb. ezerszer ritkább. A ΔF508 megtalálható az összes fehérbőrű populációban, haplotípus-analízissel kimutatták, hogy egyedi mutációs eseményre vezethető vissza. Az érintettek 50%-a homozigóta erre az allélre, míg 40%-uk compound heterozigóta. A PKU-hoz hasonló újszülöttkori szűrést – bár a korai diagnózis szempontjából indokolt lenne – még nem vezettek be. Ha családi előzmény nélkül jelentkezik a betegség, a ΔF508 gyakori volta hasznos lehet a DNS-szintű diagnózisban. Ennek az allélnek és 22 másik, kevésbé gyakori variánsnak a direkt kimutatása jól használható a betegség diagnózisának megerősítésére, hordozó kimutatására, vagy prenatális diagnózisra. Ha nem ismert, hogy konkrétan melyik mutáció okozza a betegséget, a betegséggel asszociált DNS-markerek segítenek a diagnózisban.



9-7. ábra

A *CFTR* gén és az általa kódolt fehérje szerkezete

Az ábrán a leggyakrabban előforduló mutációk vannak kiemelve. Az exonok, intronok és protein domének ábrázolása nem méretarányos. MSD: membránon átérő domén (*membrane-spanning domain*), NBD: nukleotid-kötő domén (*nucleotide-binding domain*), R-domain: regulációs domén.

Strukturális fehérjék rendellenességei

***Duchenne muscularis dystrophia* (DMD)** a CF-hez hasonlóan eléggé közismert örökletes betegség, mivel súlyos, jelenleg nem gyógyítható és viszonylag gyakori rendellenesség, melynek klinikai képét a folyamatos rosszabbodás jellemzi. Az X-hez kötött recesszív rendellenesség génjének izolálása és az általa kódolt fehérje, a **disztrofin** jellemzése nagymértékben segítette a betegség megértését, a genetikai tanácsadást, és stratégiát is sugallt a betegség kidolgozandó kezelésére. (L. még az 5. fejezetben.)

Az érintett fiúk 1-2 éves korig egészségesnek tűnnek, 3-5 éves korban azonban izomgyengeség alakul ki. 12 éves korra kerekesszékhez kötöttek lesznek, és valószínűleg nem élik túl a huszadik életévüket. A halálok légzési és keringési elégtelenség (mivel a szívizom is érintett). Kreatin kináz szabadul fel az izmokból, ezért megemelkedik a vérszintje. Az agy is érintett, az IQ átlagosan 20 ponttal csökken. A betegség enyhébb formája a ***Becker muscularis dystrophia* (BMD)**. Jellemzője,

hogy 16 éves korukban a betegek még járóképesek, és kimutatható bizonyos szintű disztrofin expresszió, míg a DMD-nél nagyon kevés, vagy egyáltalán semmi.

A disztrofin gén mutációs rátája 10^{-4}/gén/generáció, azaz egy nagyságrenddel nagyobb, mint a többi géné. Ez valószínűleg a gén hatalmas méretével magyarázható (2300 kbp). A betegek egyharmadánál új mutáció fordul elő, kétharmaduk pedig hordozó anyától örökli a mutáns gént. A hordozó nők esetében is előfordul mintegy 19%-ban izomgyengeség, 8%-ban szívizom-rendellenesség. Ez a normál allélt hordozó X kromoszóma 50% feletti inaktivációjának tulajdonítható. Ritkán nőknél is előfordulhat DMD (X és autoszóma közötti transzlokáció, vagy Turner szindróma esetén). Míg a DMD a génátadás szempontjából letális, a BMD-t az érintettek továbbörökíthetik (0,7 a fitness értéke).

A DMD gén, amely 79 exonból áll egy 427 kD méretű fehérjét kódol, amely magas szinten fejeződik ki a váz- és szívizomban, valamint az agyban, de a legtöbb szövetféleségben jelen van legalább egy izoformája. A disztrofin strukturális fehérje, amely összeköti az aktin citoszkeletont az izommembránnal, a membránban levő glikoprotein molekulákon keresztül pedig az extracelluláris matrixszal. A mutáció oka az esetek 60%-ában deléció, ami a gén első felére, vagy a centrális régiójára terjed ki, míg kb. az esetek egyharmadában pontmutáció felelős a betegségért.

A modern molekuláris genetikai technikákkal a hordozók detektálása és a prenatális diagnózis megoldható a legtöbb családban, ahol már előfordult a betegség. A családok 60-70 %-ában, ahol deléció, vagy duplikáció ment végbe, az elváltozás kimutatható egy exonokra specifikus multiplex PCR-reakcióval. A többi esetben az exonok és az exon-intron határok szekvenálása szükséges a mutáció detektálására, ami a szekvenálás automatizálása révén egyre inkább elérhetővé válik mint diagnosztikai módszer. Ha a mutáció direkt kimutatása nem lehetséges, akkor a mutáns génnel asszociált DNS markereket kell alkalmazni. A hordozó kimutatását és a prenatális diagnózist akadályozó tényező, hogy a jelenlegi módszerek olyan családoknál használhatók, ahol már előfordult a DMD. Ez utóbbi esetben a preimplantációs génvizsgálat – de akárha csak a leendő utód nemének meghatározása – is eredményes lehet. Ezzel szemben az új mutációk nagy gyakorisága miatt az esetek 80%-a olyan családban születik ahol még nem fordult elő a betegség. Ezért a DMD gyakorisága (1/3300) addig nem fog jelentősen csökkenni, amíg az általános prenatális szűrés meg nem valósul. A fent említett adatokkal (a betegek egyharmadánál fordul elő új mutáció) való látszólagos ellentmondás oka az lehet, hogy a férfiakban és nőkben létrejövő új mutációk érvényre jutása az X-hez kötöttség miatt különböző.

A kollagén rendellenessége, az **osteogenesis imperfecta (OI)** autoszomális domináns kórkép, amelyet gyakori csonttörések és vázdeformitás jellemez. Egyes esetekben a kollagén mennyiségének csökkenése az ok, más esetekben misszensz mutáció következtében jön létre strukturálisan defektív kollagén. A prokollagén láncok tripla hélixet alkotnak, így szekretálja őket a kötőszöveti sejt. Ha egyetlen lánc hibás a háromból, az már abnormális kollagént eredményez. **Domináns nega-**

tív hatásnak nevezzük azt az esetet, ha egyetlen mutáns gén abnormális terméke „elrontja" a több láncból álló polimert, az ilyen variáns neve **domináns negatív allél**. További részleteket illetően utalunk az OMIM-ra az interneten.

Neurodegeneratív rendellenességek

Triplet-expanzió okozta betegségek. (L. még a 3. és 5. fejezetben is.) Azokat a mutációkat, amelyeket egy-egy trinukleotid sokszoros tandem ismétlődése okoz, közös néven triplet-expanziós, vagy dinamikus mutációknak nevezzük. A dinamikus elnevezés onnan származik, hogy a tripletek kópiaszáma nemzedékről nemzedékre dinamikusan változhat, növekedhet (ritkán csökkenhet). Ennek oka valószínűleg a replikációban keresendő, mégpedig a tandem ismétlődő tripletek DNS szálainak egymáshoz képest elcsúszó, hibás párosodásában (9-8. ábra).

Az ilyen mutációk okozta betegségeket három csoportra oszthatjuk:

1/ Nem-kódoló szekvenciák expanziója, amely egy fehérje funkcióvesztését eredményezi, amiatt, mert az adott gén transzkripciója gátolt, pl. a **fragilis-X szindróma.**

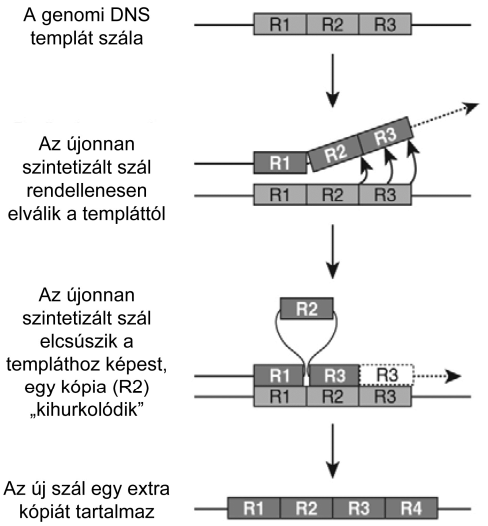
2/ Nem-kódoló szekvenciák expanziója, amely a kódolt mRNS tulajdonságait változtatja meg, pl. a **myotoniás dystrophia 1 és 2**.

3/ Egy kodon expanziója, ami az érintett fehérjemolekula tulajdonságait változtatja meg, pl. a **Huntington betegség** és a **spinocerebelláris ataxia**.

A ***fragilis-X szindróma***nál az X-hez kötött *FMR1* gén (vö. familiáris mentális retardáció) 5′ nem-kódoló szabályozó régiójában egy CGG triplet 200-nál is többször ismétlődik. Ez a citozinok nagymértékű metilációjához vezet a promoter régióban, ami a DNS egyfajta **epigenetikai módosítás**a, és a génről történő transzkripció „csendesítését" okozza. A géntermék, az FMRP protein RNS-kötő fehérje, amely idegsejtekben magas szintű kifejeződést mutat. Transzlációs szintű szabályozó hatása van a citoszkeletális struktúra, a szinaptikus ingerületátvitel és a neuronok érése területén, a kiesése ezért mentális retardációhoz, tanulási rendellenességekhez vezet. Az ismétlődés 6-55 közötti példányszámban egészséges egyénekben is jelen van. Ilyen, **normál allélből** közvetlenül nem alakulhat ki mutáns allél. Először 56-200 közötti kópiaszámú **premutációs allél keletkezik**, általában nőkben, majd **a fiúkra továbbörökített változat lesz a valóban mutáns allél**.

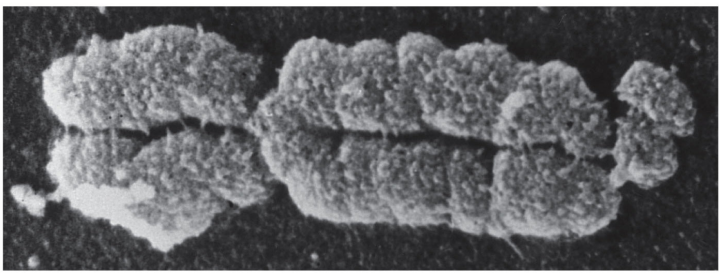
A betegség neve onnan ered, hogy – *in vitro* bizonyos körülmények között, fólsavszegény médiumban tartott – limfocita sejtkultúrából kariogram készítésekor az X-kromoszóma hosszú karjának végén egy befűződés látható. Ezt régen törésnek vélték, innen a név: fragilis X. Ennek alapján a tankönyvek egy része a kromoszóma-rendellenességek közé sorolja. Ugyanakkor, mivel egy gén érintett, joggal tartjuk X-hez kötötten öröklődő betegségnek. A heterozigóta nők mintegy egyharmada mutat klinikai tüneteket, és csak akkor, ha a mutációt anyjától örökölte. Ez utóbbi egészséges, de premutációval rendelkező férfi unokái lesznek nagy valószínűséggel érintettek, bennük emelkedik a kópiaszám 200 fölé. Ebből látható, hogy a kórkép nem nevezhető egyértelműen dominánsnak vagy recesszívnek, a klinikai kép a családfán elfoglalt helytől függ. A betegség a későbbi generációknál egyre

korábban kezdődik és súlyosabb, ami összefügghet a kópiaszám növekedésével. Ezt nevezzük **anticipáció**nak.



9-8. ábra

Elcsúszó hibás párosodás,
amely feltehetően szerepet játszik a tandem ismétlődő szekvenciák felszaporodásában, pl. fargilis-X (fraX) szindrómánál és Huntington betegségnél.



9-9. ábra

Metafázisos fragilis X kromoszóma scanning elektronmikroszkópos képe
A hosszú kar végén (jobbra) látható, hogy nem törésről, hanem erőteljes elvékonyodásról van szó.

A ***Huntington betegség*** **(HD)** autoszomális domináns neurodegeneratív rendellenesség. Általában későn, a 40. életév után kezdődnek a tünetek: akaratlan (nem kontrollált) mozgások (*chorea*), memóriazavar, depresszió és más pszichiátriai tünetek jellemzik. A még ismeretlen funkciójú huntingtin gén első exonjában van egy poliglutamint kódoló CAG triplet-ismétlődés. Egészséges egyénekben a kópiaszám 10-től 26-ig terjed, a mutáns allél ismétlődésszáma 35 feletti. A kópiaszám

erőteljesebben nő, ha az apa örökíti a betegséget okozó gént, és ilyenkor gyakrabban előfordul a korábbi kezdet (anticipáció), mint az anya által örökítettnél. A késői manifesztáció miatt a szelekció nem hat a génre, hiszen a tünetek jelentkezésekor a génátadás már megtörtént.

Alzheimer betegség. A legutóbbi időkig nem volt a betegségnek semmilyen molekuláris szintű magyarázata. Általában az ötvenes és nyolcvanas életévek között kezdődik, de vannak monolokuszos formák, amelyek már hamarabb, a harmadik évtizedben megnyilvánulnak. Jellemzi a memória és a magasabb kognitív funkciók, mint pl. a gondolkodás elvesztése, a viselkedés megváltozása. Ez az agykéreg és a hippocampus területén végbemenő neuron-degeneráció eredménye. Genetikai szempontból alapvetően a betegek három nagy csoportba sorolhatók: (1) Familiáris halmozódású komplex betegség, az öröklött forma nagy többsége ide tartozik, (2) ugyancsak familiáris, de monogénes, autoszomális domináns forma, 7-10% tartozik ide. (3) nem-familiáris vagy sporadikus forma. (Vö. még a 6. fejezettel!)

A legfontosabb patológiás esemény két fibrilláris fehérje, a **β-amyloid peptid (Aβ)** és a **tau protein** lerakódása az agyban. Az Aβ peptid a **β-amyloid precursor protein**ből (βAPP) alakul ki, lehetséges formái az $A\beta_{40}$ és $A\beta_{42}$. Az utóbbi rostokat képez és extracellulárisan lerakódik az amyloid-, vagy más néven szenilis plakkokban. A másik, a mikrotubulus-asszociált tau fehérje hiperfoszforilált formában a neurofibrillumok „összegabalyodását" okozza, ami a neuronokon belül jön létre és a neuron-degeneráció egyik oka.

Az utóbbi évek kutatásai négy gént azonosítottak, melyek fontosak az Alzheimer betegség patogenezisében. Ezek egyike a β-amyloid precursor protein (βAPP) génje. A gén bizonyos mutációi megnövelik annak esélyét, hogy proteolitikus hasításra a neurotoxikus hatású β-amyloid peptid, az $A\beta_{42}$ keletkezzen. Ez a fő tényező a betegség létrejöttében, tekintet nélkül annak eredetére. Ezzel jól összeegyeztethető az a megfigyelés, hogy a Down szindrómások, akik a gén 3 kópiájával rendelkeznek (mivel az a 21-es kromoszóma hosszú karján van), 40 éves korukra az Alzheimer betegség tüneteit mutatják. További két gén, a *presenilin 1* és *presenilin 2* mutációi szintén megemelik a neurotoxikus $A\beta_{42}$ szintjét. Ez a három gén okolható az autoszomális domináns formáért.

Van egy negyedik gén, ami ugyan nem tehető közvetlenül felelőssé a familiáris Alzheimer betegségért, de mint hajlamosító tényező igen jelentős. Ez az **apolipoprotein E (*APOE*)** gén. A gén kódolta protein szérumfehérje, a VLDL (*very low density lipoprotein*) alkotórésze. Ennek a génnek egyik allélvariánsa az ε4, ami fontos, Alzheimer betegségre hajlamosító polimorfizmus. Ezt bizonyító adatok: ez az allél megtalálható a betegek átlagosan 40%-ában (míg a teljes populációban csak 15%-ban reprezentált), az ApoE fehérje a szenilis plakkok alkotórésze, továbbá kötődik az Aβ peptidhez. Az ε4 allélre homozigótáknál a betegség 10-15 évvel hamarabb kezdődik, mint a teljes populációban.

Mitokondriális betegségek

Az emberi mitokondriális DNS (mtDNS) 16,5 kbp méretű és 37 gén helyezkedik el rajta. Közülük 22 tRNS-t, 2 rRNS-t, 13 pedig fehérjét kódol, a légzési lánc enzimeit. Sejtenként legalább 1000 mtDNS molekula van, egy mitokondriumban is több. Az mtDNS-ek, így a bennük létrejövő mutációk is anyai öröklődésűek, vagy új, szomatikus mutációs esemény eredményei. Ebben a sejtorganellumban DNS javítás nincs. A hibás – mutáns – mtDNS-től csak az azt hordozó mitokondriummal együtt tud megszabadulni a sejt. Mintegy 1500 mitokondriális fehérjét (azaz a túlnyomó többséget), köztük az oxidatív foszforiláció 74 polipeptidláncát a sejtmag kódolja. Ezért az oxidatív foszforiláció folyamatát érintő mitokondriális betegségek mutathatják a kromoszomális (autoszomális) öröklődés sajátságait is. A részleteket illetően utalunk az 5. fejezetben olvasható összefoglalóra. Mivel az mtDNS sok kópiában van jelen egy-egy mitokondriumban, a DNS replikáció termékei véletlenszerűen oszlanak meg az utód-organellumok és az utódsejtek között. Ezt a jelenséget nevezzük **replikatív szegregáció**nak. Ha egy sejt csak egyfajta mtDNS-t tartalmaz (csak vad típusút, vagy csak mutánst), **homoplazmiá**ról beszélünk, míg **heteroplazmiá**nak nevezzük a vad típusú és mutáns mtDNS molekulák keverékének jelenlétét a sejtben. A mutáció eredményezte fenotípus megjelenése függ a vad típusú és mutáns mtDNS sejten, ill. szöveten belüli arányától. Ezért van az, hogy a mitokondriális rendellenességekre jellemző a csökkent penetrancia, változó expresszivitás és a pleiotrópia. A **maternális (anyai) öröklődés** (más nevén **extrakromoszomális** öröklődés) pedig annak tulajdonítható, hogy a zigóta mitokondriumai, így az mtDNS-e is kizárólag a petesejtből származnak. (Növényeknél ugyanezt elmondhatjuk a kloroplaszt DNS öröklődéséről is.)

Három mitokondriális mutáció-típust különböztetünk meg: *(1)* oxidatív foszforilációban szereplő fehérjék génjeinek misszensz mutációi, *(2)* tRNS, vagy rRNS gének pontmutációi, melyek érintik a mitokondriális fehérjeszintézist, *(3)* deléciók és duplikációk az mtDNS molekulában. A deléciók többnyire szomatikus mutációk eredményei.

A mitokondriális mutációk hatásai általában azokat a szöveteket érintik, melyek nagy energiaigényűek, nagymértékben függnek a metabolikus energiatermeléstől. A csökkent ATP termelés nagy valószínűséggel a sejtműködés elégtelenségéhez és sejthalálhoz vezethet. A reaktív oxigén-gyökök keletkezése egy másik lehetséges kóroki tényező. A mutáció fenotípusos megjelenését a **fenotípusos küszöbhatás** határozza meg, ami a heteroplazmiával kapcsolatos. A mutáció hatása csak akkor jelenik meg, ha a káros hatású mutációt hordozó mtDNS molekulák részaránya meghalad egy kritikus értéket. Ez a küszöbérték 60% a deléciók esetén, 90% más mutációtípusoknál. (Nem tévesztendő össze a multifaktoriális öröklődésnél leírt küszöbhatással, l. 6. fejezet!)

Az mtDNS mutációi okozta betegségek nagy része a neuromuszkuláris rendszert érinti: agykárosodás (*encephalopathia*), izomkárosodás (*myopathia*), mozgáskoordinációs zavar (*ataxia*), a retina degenerációja és a külső szemizmok funkcióvesztése lehet a következmény. Példaként említjük a **MERRF**-et (*myoclonic epilepsy with ragged-red muscle fibers*, mioklónusos epilepszia, „rongyos” vörös

izomrostokkal), amit az abnormális mitokondriumok proliferációja következtében előálló szövettani kép jellemez, és egy mitokondriális tRNS pontmutációja okoz. A legtöbb mitokondriális betegségre a heteroplazmia jellemző. Kivételt képez a **Leber-féle (herediter) opticus neuropathia (LHON)**, amelyre a homoplazmia jellemző. Ez látóidegsorvadás következtében fiatal felnőttkori vaksággal jár, férfiaknál gyakrabban, mint nőknél. Oka egy pontmutáció a NADH dehidrogenáz (I. komplex) ND4 alegységében.

A heteroplazmia sajátossága, hogy a mutáns mtDNS részaránya különböző szövetekben, szervekben nem várt, variábilis módon változhat. Ez pleiotróp hatáshoz és változó expresszivitáshoz vezet. Így egyetlen utódnemzedékben előfordulhatnak nagyon különböző tünetek, mindez ugyanazon mutáció eredményeképpen.

DUPress

DUPress

10. fejezet

Öröklődő betegségek terápiája

Az örökletes betegségek gyógyításának első előfeltétele ezen betegségek molekuláris mechanizmusának megértése. A soron következő évtizedekben a humán genom szekvenciájának az eddigieknél részletesebb megismerése, továbbá a molekuláris biológiai és a génsebészeti technikák fejlődése jelentős hatással lesz az öröklődő betegségek terápiájára. Ebben a fejezetben áttekintjük a genetikai betegségek kezelésének jelenleg alkalmazott elveit és felvázoljuk azokat az új stratégiákat, melyek még többnyire kísérleti stádiumban vannak, de a jövőben alkalmazhatónak tűnnek.

A herediter betegségek esetében a fő kóroki tényező a mutáns gén. Érthető, hogy ezen betegségek oki terápiája a vad típusú gén bejuttatása, vagy a mutáns gén funkcióképesre cserélése, röviden a **génterápia** lenne. Ez a szomatikus sejtek genotípusának a módosítását jelenti. Jelenleg még nem tartunk ott, hogy ez a megoldás széles körben a gyakorlati életben megvalósuljon, ezért kötelességünk számba venni mindazokat a hagyományos orvostudomány nyújtotta lehetőségeket, melyek a fenotípust befolyásolják, azaz a betegség tüneteit enyhítik, a betegek életminőségét javítják.

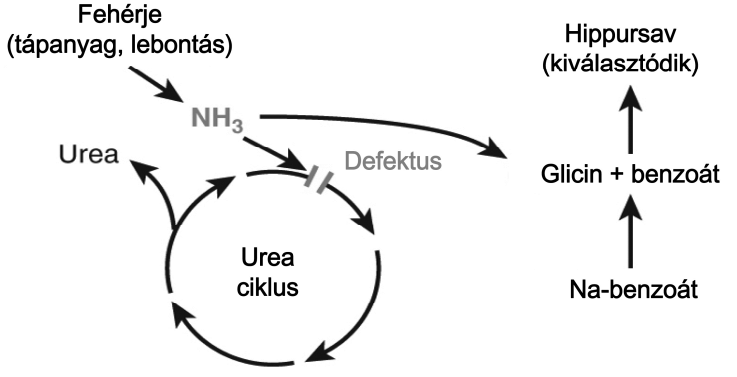
Megvizsgáltak 372 monolokuszos rendellenességet a terápia sikere szempontjából. A betegségek 12 %-ában találták a hagyományos terápiát egyértelműen hatásosnak, a kezelés a betegségek 54 %-ában részlegesen hatásosnak és 34 %-ában teljesen hatástalannak bizonyult. Ez a kedvezőtlen arány három fő okra vezethető vissza. (*1*) A betegségért felelős gén nem ismert, vagy nem értjük a kórfolyamat pathofiziológiáját. (*2*) A betegség még diagnosztizálás előtt, a magzati korban károsodást okoz. (*3*) A súlyos esetek kevésbé jól reagálnak a terápiára, mint az enyhébbek. Ez utóbbiaknál ugyanis lehet a mutáns fehérjének reziduális aktivitása, ennek növelésére lehet esély.

A leggyakrabban használt hagyományos módszerek többsége az anyagcserébe történő beavatkozás. Ilyenek: pl. a szubsztrátbevitel korlátozása (diéta PKU-ban), hiányzó bioaktív kismolekula pótlása (pajzsmirigyhormon), alternatív anyagcsereút felhasználása toxikus metabolit eltávolítására, metabolikus gátlószerek alkalmazása (koleszterin bioszintézis gátlása), protein terápia (hemophilia A) stb. Az újabb, komplex módszerek közé tartoznak a génexpresszió módosítása, a terápiás klónozás, az őssejt-terápia, a különböző szerv- és szövetátültetések és a génterápia. Ezeknek a módszereknek a lényegét tekintjük át az alábbiakban.

Terápiás stratégiák

Anyagcserebetegségek

A szubsztrátbevitel korlátozása (fiziológiai terápia). Ha egy anyagcserelépést katalizáló enzim mutáció miatt nem funkcionál, az át nem alakított szubsztrát mennyisége a szervezetben felszaporodik. PKU esetén a fenilalanin magas szintje, ill. a belőle keletkező toxikus származékok, a fenilketonok felelősek az idegsejtkárosodásért. A terápia: fenilalanin-szegény diéta. Ez az aminosav esszenciális a szervezet számára, ezért teljes kihagyása a diétából nem megengedhető. (Ha azonban egy szubsztrát nem esszenciális, amilyen pl. a galaktóz, akkor teljesen el lehet hagyni [laktóz-mentes diéta galaktozémiában], mivel a szervezet képes a szükséges galaktózt megszintetizálni glükózból.) A PKU esetén a korai diagnózis és a diéta mielőbbi elkezdése kritikus, mert ha a csecsemő egy hónapos koráig nem részesül diétában, már irreverzibilis agykárosodás lép fel. A korábbiakkal szemben a mai álláspont szerint általánosan ajánlott a diéta egész életen át történő fenntartása, mert elhagyása esetén idegrendszeri tünetek, viselkedészavar léphet fel (l. a megelőző fejezetben is). A diéta mellett is előfordulhatnak neuropszichológiai tünetek, a kezeltek mentális állapota azonban össze sem hasonlítható a kezeletlenekével. A genetikai diagnózis pontossága is elsőrendű fontosságú, hiszen ha nem a fenilalanin-hidroxiláz (PAH) génben van a mutáció, hanem kofaktor hiánya miatt alakul ki a magas fenilalanin szint, a diéta nem lesz hatásos.



10-1. ábra

Példa alternatív anyagcsereút felhasználására

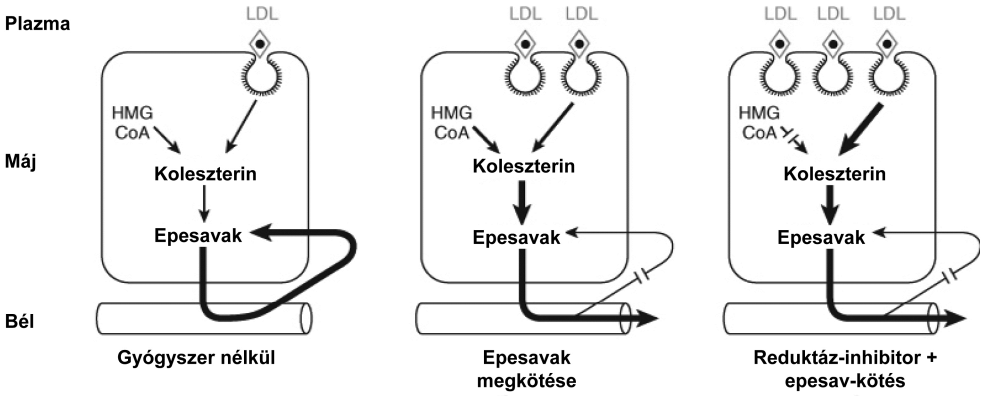
Az ammóniát nem tudja eltávolítani a szervezet egy urea-ciklus enzim hiánya miatt. Na-benzoát alkalmazása eltéríti az ammóniát a glicin-szintézis irányába, így az ammónia végül hippursav formájában fog kiürülni.

Bioaktív kismolekula pótlása. Genetikai hiba miatt hiányozhat egy fontos metabolit, kofaktor, vagy hormon, amit egyszerűen pótolni kell. Ilyen pl. a **veleszületett pajzsmirigyhormon-hiány** (*congenitalis hypothyreoidismus*), amely 10-15%-ban monolokuszos eredetű. Ilyenkor vagy a pajzsmirigy fejlődése tér el a normális-

tól, vagy a *thyroxin* szintézise érintett. Mivel elég gyakori (4000 újszülöttre esik egy), számos országban – köztük hazánkban – szűrővizsgálat is van rá. Így a diagnosztizált pajzsmirigyhormon-hiányt thyroxin adásával ki lehet küszöbölni, és a várható súlyos mentális defektust meg lehet előzni.

Alternatív anyagcsereút felhasználása (diverzió). Ez akkor kerül előtérbe, ha el kell távolítani egy toxikus metabolitot, pl. az ammóniát. Normál esetben ez az urea ciklus feladata. Ha azonban enzimhiány okán, pl. **ornitin transzkarbamiláz deficiencia** miatt az urea ciklus működésképtelen, egyrészt a fehérjebevitelt korlátozni kell, másrészt egy alternatív anyagcsereutat kell találni, mely révén a toxikus molekula egy másik, ártalmatlan metabolit szintéziséhez vezet. A feleslegben levő ammónia ekvimolárisan felhasználódik glicin szintéziséhez, és ha a beteg nátrium-benzoátot szed, az glicinnel kapcsolódva hippursavat képez, ami a vizelettel kiürül (10-1. ábra).

Egy hasonló megközelítés révén sikerült a **familiáris hiperkoleszterinémiá**-ban szenvedő heterozigóták koleszterin szintjét csökkenteni. A koleszterinből történő epesav-szintézis fokozása révén a májsejtek több LDL-receptort állítanak elő. Ez csökkenti a plazma koleszterinszintjét, mivel a májsejtek több LDL részecskét vesznek fel a vérből. Ugyanakkor az epesav-szintézis azért növekszik, mert a bélbe kiválasztott epesavat egy fel nem szívódó gyanta (*cholestyramine*) megköti, meggátolva a felszívódását, s az a széklettel kiürül (10-2. ábra).



10-2. ábra

Az epesav-kötő gyanta és a koleszterin szintézis kulcsenzime (HMG CoA reduktáz) gátlószerének együttes felhasználása a familiáris hiperkoleszterinémiás heterozigóták kezelésére

Metabolikus inhibitorok felhasználása. Enzimek aktivitásának gyógyszeres gátlása is sikeres lehet örökletes betegségeknél. Erre is a familiáris hiperkoleszterinémia a legjobb példa. Ha a magas koleszterinszint csökkentése érdekében az epesav-szintézis irányába térítjük el a folyamatot, a májsejtek kompenzációképpen megnövelik a saját koleszterin-szintézisüket. Következésképpen a terápia eredményesebb lesz, ha a koleszterin-szintézist gátoljuk sztatinnal, ami erős gátlószere a

HMG CoA reduktáznak (3-hidroxi-3-metilglutaril koenzim A reduktáz), a koleszterin bioszintézis sebességét meghatározó enzimnek. A metabolikus inhibitor és az alternatív anyagcsereút felhasználása tehát együtt jobb eredménnyel jár (10-2. ábra).

Molekuláris terápiák

Terápia a mutáns fehérjemolekula szintjén

Ha mutáns fehérje szintetizálódik, előfordulhat olyan eset, hogy a fehérje aktivitása bizonyos mértékig helyreállítható, pl. a fehérjemolekula „folding"-ja, azaz a natív térszerkezet (konformáció) felvételének folyamata serkenthető. Ha a fehérjének maradék aktivitása van, lehetséges, hogy ez növelhető. Enzimopátiák esetén az aktivitás ilyen módon történő növelése rendszerint csak néhány százalékos, de ez is gyakran elegendő a biokémiai homeosztázis helyreállításához. Ha a mutáció miatt nincs fehérjeszintézis, természetesen ez a megközelítés nem alkalmazható.

Mutáns fehérje funkciójának javítása kis molekulákkal. Vitaminok, nem peptid típusú hormonok, gyógyszerek tartoznak ebbe a körbe. Ismert a cystathionin szintáz enzim deficienciája miatt kialakuló ***homocystinuria*.** Betegek mintegy 50%-a jól reagál az enzim kofaktorának, a piridoxinnak (B_6 vitamin) a nagy dózisú alkalmazására. A kofaktor magas koncentrációja ugyanis kompenzálja a mutáns enzim kofaktor iránti csökkent affinitását, vagy stabilizálja az enzimet. Az aktivitás növekedése csak néhányszoros, az egészségesekben mért aktivitáshoz viszonyítva csak 1,5-4,5%, de ez is elég ahhoz, hogy a homocisztin eltűnjön a vérplazmából. Ha nincs reziduális enzimaktivitás, a terápia hatástalan.

Sok mutáció interferálhat a natív térszerkezet kialakulásával (*folding*). Ha a natív térszerkezet helyreállítható, akkor a fehérje visszanyerheti aktivitását. Ilyen eset az, amelyben a mutáns membránfehérjék nem tudnak kijutni az endoplazmatikus retikulumból (ER) és lebomlanak. Példa erre a cisztikus fibrózist okozó ΔF508-as mutáció. A mutáns fehérjét egy kalcium-függő chaperon felismeri, visszatartja az ER-ben, ahol az lebomlik. Egér kísérletben egy egyedi módszerrel sikerült ezt a hibát korrigálni. A kurkumin, ami a curry fűszernövényből izolált készítmény, gátolja az ER-ben a kalcium-pumpát, és így megakadályozza, hogy a kalcium-függő chaperon megkösse a mutáns ΔF508 proteint. A klorid transzport helyreáll, és a kísérleti állatok túlélési rátája megnő. Ez a példa rámutat a kis molekuláknak a mutáns fehérje szintjén történő alkalmazásában rejlő lehetőségekre mendeli öröklődésű betegségekben.

Nonszensz kodonok kihagyását eredményező kis molekulák. Mutációval keletkezett nonszensz kodon gyakran okozza csonka, funkcióképtelen fehérje szintézisét, pl. cisztikus fibrózisban. Bizonyos népcsoportoknál a betegek nagy része hordoz nonszensz mutációt a *CFTR* génben (Arg553Stop). Kimutatták, hogy amino-glükozid antibiotikumok, mint pl. a gentamycin, elősegítik az ilyen korai stop kodonok „átugrását" azáltal, hogy egy aminosav beépülését idézik elő a szintézis terminációja helyett. Az így szintetizált fehérjében tirozin van az 553. pozíci-

óban arginin helyett, és a fehérje funkcióképes. Hogy az elv klinikailag alkalmazható-e, még bizonyításra szorul, főleg a gentamycin toxicitása miatt. Az elv azonban igen hasznos lehet más betegségeknél is, gyógyszeripari laboratóriumokban vegyületek ezreit vizsgálják abból a szempontból, hogy lehetővé teszik-e stop kodonok átugrását.

Protein terápia

Ha a mutáció következtében hiányzik egy fehérje, amely elsődlegesen a vérplazmában vagy az extracelluláris folyadékban fejti ki hatását, akkor ez a fehérje kívülről pótolható. Ez ma rutin terápiás eljárás, pl. a *hemofília A*-s betegek esetén, akik infúzióban kapnak VIII-as véralvadási faktort tartalmazó plazmakészítményeket. Miután ezt a terápiát viszonylag régen alkalmazzák, az évek során szerzett tapasztalatok jól illusztrálják azokat a problémákat, melyekkel szembesülünk a protein terápia kapcsán. Így problémát jelent a kezelésekhez szükséges megfelelő mennyiségű fehérje előállítása, és ennek rövid, 8-10 órás fél-életideje, egyes betegeknél a fehérje által kiváltott immunválasz[39] és a készítmény esetleges vírusszennyezettsége (hepatitis, HIV). Utóbbi probléma a VIII-as faktor rekombináns DNS technikával történő előállítása révén kiküszöbölhető, a készítményt otthon magának adja be a beteg. A VIII-as faktor életideje pedig egy aminosav cseréjével megnövelhető (ami ugyanakkor nem csökkenti az aktivitást).

Az ***α1-antitripszin* (α1AT*) hiány*** esetében is egy extracelluláris fehérje pótlása szükséges. Helyre kell állítani a megbomlott egyensúlyt az elasztáz és az α1AT között olymódon, hogy α1AT-t juttatunk a tüdő hámszövetébe és az alveoláris intersticiális folyadékba. A fehérje infúzióban való adásával legalább egy hétig tartó gátló hatást sikerült elérni, elsősorban olyan betegeknél, akiknél a tüdőkárosodás mérsékelt fokú volt. Súlyosabb esetekben nem volt a kezelésnek hatása. Egy további lehetőség az α1AT inhalációs aeroszol formában való bejuttatása, ennek a módszernek a hatásosságát még nem igazolták.

Intracelluláris fehérje extracelluláris pótlása. Az **adenozin dezamináz (ADA) hiány** esetében a purin anyagcsere egy fontos enzime hiányzik, amely az adenozint és a dezoxiadenozint dezaminálja inozinná, ill. dezoxiinozinná. Az enzim hiányában felszaporodnak a sejtekben a szubsztrát molekulák, melyek közül a dezoxiadenozin toxikus a limfocitákra, ezért az ADA hiány súlyos kombinált immundeficienciához (*Severe Combined Immunodeficiency*, **SCID**) vezet. Kezelése történhet génterápiával (l. alább), csontvelőátültetéssel, ill. az enzim pótlásával. A polietilénglikolhoz (PEG) kovalensen kötött, szarvasmarhából származó (bovin) ADA enzimet infúzióval juttatják be. A módosított (pegilált) enzimnek (PEG-ADA) több előnye is van a nem-módosított enzimmel szemben. *(1)* Csak a betegek

[39] Az immunválasz kialakulásának többféle oka is lehet. A pótlandó fehérje oldaláról nézve: ha az illető molekula egyáltalán nem termelődik a mutáció következtében, akkor az a kezelt szervezet számára idegenként jelentkezik. Ilyen esetben a nem kívánatos immunválasz megelőzhető lehet – a pontos és nagyon korai diagnózis birtokában – a minél korábban (újszülött, még immuntoleráns korban) megkezdett adagolással.

kis százalékában vált ki immunválaszt. *(2)* A módosított enzim az extracelluláris folyadékban marad, s átalakítja a toxikus szubsztrátjait. *(3)* Féléletideje a vérplazmában sokkal hosszabb (3-6 nap), mint a nem-módosított enzimének. Bár a kezelés nem teljesen állítja helyre az immunfunkciót, a védettség visszatér és drámai klinikai javulás áll be. Ez a megközelítés egy új általános elvet reprezentál. Eszerint **a gyógyszerként használt fehérjék kémiailag módosíthatók a hatásosság növelése céljából, másrészt pedig egy intracelluláris enzim lehet hatásos extracellulárisan is, ha a szubsztrátja egyensúlyban van az extracelluláris térrel és termékét felveszik azok a sejtek amelyeknek szükségük van rá.**

Az enzimpótló kezelés (***Enzyme Replacement Therapy*, ERT**) már működik két lizoszomális tárolási betegségben, a Gaucher- és a Fabry betegségnél, hat további esetben folynak a klinikai kísérletek. Két tényező korlátozza a módszer sikerét, egyrészt az, hogy az infúzióval bejuttatott enzimnek csak kis hányada jut át a vér-agy gáton, hogy elérje a betegség által érintett agysejteket, másrészt pedig a kezelés igen költséges.

Intracelluláris fehérje pótlása célzott sejtekben. A **Gaucher betegség** a leggyakoribb lizoszomális tárolási betegség. Autoszomális recesszív öröklődésű, a glükocerebrozidáz enzim hiánya okozza. A glükocerebrozid egy összetett lipid, amely a lizoszómákban bomlik le. Az enzimhiányos betegeknél a lipid elsősorban a retikuloendoteliális rendszer makrofágjaiban halmozódik fel, ami a máj és a lép megnagyobbodásához vezet. A funkcionáló csontvelőt kiszorítják a lipidet felhalmozó makrofágok, ami vérszegénységhez és csökkent trombocita-számhoz vezet. A kezelés lényege, hogy a glikoprotein jellegű glükocerebrozidázt úgy módosítják, hogy a szénhidrát részről a terminális cukormolekulákat eltávolítják, hogy α-mannóz maradjon, mint végcsoport. Ez az enzimmolekulákat a makrofágokhoz irányítja, melyeknek van mannóz receptora a felszínen. A sejten belül a mannóz foszforilálódik (mannóz-6-P), ami a lizoszómába irányítja a felvett enzimet. Ezt a terápiát ma már betegek ezreinél alkalmazzák sikeresen. 4 éves kortól 18 hónapon át hetente alkalmazva az ERT-t a máj és a lép mérete csökkent, a hemoglobin mennyisége és a vérlemezkék száma emelkedett, a gyermekek növekedése gyorsult. Ez az eljárás demonstrálja, hogy egy intracelluláris enzim biológiailag releváns sejtbe és sejtorganellumba való célzott bejuttatása ésszerű és célravezető terápiás lehetőség, ami klinikailag jelentős hatású.

A génexpresszió megváltoztatása

Az a lehetőség, hogy egy génikus betegséget a génexpresszióra ható gyógszermolekulával kezeljünk, 10 éve még csak vágyálom volt. A génkifejeződés egyre mélyebb megismerése azonban mára lehetővé tette ezt.

A **génexpresszió serkentésé**t használják ki az ún. ***herediter angioödéma***nál. AD öröklődésű, lényege, hogy a nyálkahártya és a bőr alatt hirtelen vizenyő alakul ki, ami ha a felső légutakban keletkezik, halálos is lehet. A komplement 1 (C1) észteráz inhibitort kódoló gén mutációi okozzák. A rohamok megelőzésére egy gyengített hatású androgént (férfi nemi hormont), danazolt használnak, amely nö-

veli a C1 inhibitor mRNS szintézisét, valószínűleg mind a vad típusú, mind a mutáns génről, és csökkenti a rohamok gyakoriságát.

Hasonló terápiás megközelítés egy olyan, egyébként funkcióképes, vad típusú gén expressziójának serkentése, amely kompenzálni tudja egy másik lokusz mutációjának hatását. Ez a megoldás ígéretesnek látszik sarlósejtes anémia és β-talasszémia esetén. A **DNS hipometilációjá**t indukáló gyógyszerrel növelik a magzati hemoglobin (HbF, $\alpha_2\gamma_2$) mennyiségét, melynek részaránya felnőttekben 1%-os. A HbF egyrészt tökéletesen alkalmas oxigén szállítására, másrészt gátolja a hemoglobin S molekulák polimerizációját. A γ-globin gén expressziójának csökkenése a születés után részben annak tulajdonítható, hogy promoter régiójában a CpG szekvenciák metilálódnak. A metiláció gátlása egy citidin analóggal, az 5-aza-dezoxicitinnel (*decitabine*), jelentősen megnöveli a γ-globin gén expresszióját és a HbF részarányát. Az első tapasztalatok alapján a kezelés hatására javult a sarlósejtes betegek állapota, de a hosszú távú alkalmazás hatásosságát és biztonságos voltát még vizsgálni kell.

Domináns mutáns gén expressziójának csökkentése RNS interferenciával. Ha egy domináns mutáns gén terméke toxikus a sejtre, mint pl. a triplet expanzió okozta Huntington betegség és a spinocerebelláris ataxia esetén, vagy domináns negatív hatású (pl. abnormális kollagén láncok *osteogenesis imperfecta*-ban), a terápia célja a mutáns protein mennyiségének csökkentése, anélkül, hogy a normál allél expresszióját érintenénk. A megcélzott mRNS szekvenciájának megfelelő (antiszensz) rövid RNS molekulákat juttatnak be a sejtbe, pl. vírus vektorral. Az interferáló RNS hozzákötődik a célzott mRNS-hez és annak lebomlását indítja meg. Bár ez a technológia még korai stádiumban van, emberi betegségek állatmodelljein biztató eredményeket értek el.

A szomatikus genom módosítása transzplantációval

Az átültetett szervek megtartják a donor genotípusát, ezért a transzplantációt tekinthetjük a génterápia egyik formájának is, mivel az a szomatikus genom módosításához vezet. A transzplantáció felhasználásának a genetikai betegségek kezelésében két indikációja van. Az egyik az, amelyben egy alapjában véve jól működő szervet kell eltávolítani, mivel annak biokémiai működése károsít más szöveteket. Ilyen a familiáris hiperkoleszterinémia homozigóta formája, melyben a májátültetés hatásos, de magas kockázatú eljárás. Ezt a jövőben felváltja majd a részleges transzplantáció és a génterápia. A másik indikáció: egy genetikai betegség által károsított szerv pótlása, pl. cirrótikus máj α1AT deficienciánál.

Őssejt transzplantáció. Az őssejteket[40] az jellemzi, hogy egyrészt belőlük indul ki valamely szövet sejtjeinek a differenciációja, másrészt pedig, hogy önmeg-

[40] Egy őssejt osztódása során vagy két őssejt, vagy egy őssejt és egy elkötelezettebb sejt: **progenitor sejt**, avagy egy már **differenciált sejt** keletkezik. A differenciálódott sejtek csak magukkal megegyező specializált sejteket képesek produkálni (pl. hámsejtek), vagy

újításra képesek, kialakulhat belőlük egy másik őssejt. Az embrionális őssejtek a teljes szervezet kialakítására képesek, de ezek terápiás felhasználása jelenleg tudományos, etikai és politikai vita tárgyát képezi. Ha azonban sikerül az embrionális őssejteket olyan sejtekké differenciáltatni, amelyek felhasználhatók hiányzó, vagy a betegség által károsított sejtek pótlására, a társadalom véleménye kedvező irányba változhat.

Magátültetés, más néven élőlény klónozás, olyan új technika, amelyben nagy lehetőségek rejlenek a helyreállító orvostudomány számára, ugyanakkor óriási polémia áll fenn az etikai vonatkozásokat illetően. Azt jelenti, hogy egy felnőtt élőlény szomatikus sejtjének diploid magját átültetik egy oocitába, melyből előzőleg eltávolították a magot, és így egy klónozott élőlényt állítanak elő. A t**erápiás klónozás** azt jelenti, hogy a magátültetéssel létrehozott embrióból kivett embrionális őssejteket sejttenyészetben különböző sejttípusokká differenciáltatják. Mivel ezeknek a sejteknek a nukleáris genomja megegyezik a donor genomjával, a donornak immunológiailag kompatibilis, beültethető szövetei, szervei lennének létrehozhatók. Ez alkalmas lenne rengeteg mendeli módon öröklődő és komplex betegség eredményes kezelésére. Jelenleg azonban még sok tényező akadályozza a technológia alkalmazását. Egyrészt vannak biológiai korlátok, többek között az a tény, hogy a génexpresszió a klónozott sejtekben nagymértékben aberráns, a klónozott állatok nagy része rendellenességekkel születik. Másrészt a humán embriók terápiás klónozásra való felhasználását sokan elutasítják etikai alapokon. A **reproduktív klónozás** azt jelenti, hogy a magáltültetéssel létrehozott embriót beültetik a méhbe, hogy abból humán klón fejlődjön. Ezt az eljárást minden ország törvényei tiltják.

Magasabbrendű állatok klónozása már évtizedekkel ezelőtt napirendre került. Gurdonnak és munkatársainak az 1960-as években sikerült béka petesejtekbe ültetni ebihal bélnyálkahártya sejtek magját, az eredeti sejtmag egyidejű eltávolításával. Az így létrejött „zigótákból" keletkeztek kifejlett, szaporodóképes békák is, nem kevés torzképződmény, ill. egyéb sikertelenség mellett. Ezeknek a kísérleteknek a tulajdonképpeni célja nem is a klónozás technikájának megteremtése volt, hanem annak bizonyítása, hogy egy testi sejt magjában a DNS a fajra jellemző teljes genetikai információt tartalmazza. Az első sikeres emlős klónozás, amit már erre a célra rendelt kísérletben hoztak létre, Dolly bárány születése volt, 1996-ban. A donor egy felnőtt állat volt, amelynek kidifferenciálódott (emlőmirigy) sejtjéből származott maggal cserélték le a petesejt pronukleuszát. Azóta számos emlős fajban végztek sikeresen hasonló kísérletet, de nem szabad elfelejtenünk, hogy Dolly bárány a 278-ik próbálkozásból született és lényegesen rövidebb volt az élete, mint a fajra jellemző átlag.

Őssejtterápia. Jelenleg kétféle őssejtet használnak a klinikai gyakorlatban, a vérképzőrendszeri őssejteket, melyek a vér sejtes elemeit képzik újra és a szaruhártya-őssejteket, melyek a szaruhártya (*cornea*) hámját képesek pótolni. Őssejteket azonosítottak sok felnőtt szövetben, így pl. a bőrben és az agyban is, és remény van arra, hogy ezek képesek lesznek regenerálni a hiányzó, vagy károsodott szöveteket.

A csontvelői őssejtek átültetését sikerrel használják a leukémiák, továbbá immunhiányt okozó mendeli öröklődésű megbetegedések kezelésére. Az őssejtterápia

---

nem képesek osztódni (pl. idegsejtek). A **progenitor sejtek egy közbenső helyet foglalnak el**: közvetlenül ezekből alakulnak ki a differenciált sejtek.

genetikai betegségek gyógyításában betöltött általános szerepéről még nem beszélhetünk, bár a csontvelő-átültetést sikerrel alkalmazták fiatal β-talasszémiás betegeknél.

Figyelemmel kell lennünk arra, hogy idegen donor őssejtjei alkalmasint immunológiailag elfogadhatatlanok a recipiens számára, a saját őssejtek pedig ugyanabban a genetikai hibában szenvednek, mint ami miatt a kezelés gondolata felmerül.

A **csontvelő-átültetés** hatásosnak bizonyult a lizoszomális tárolási betegségek esetében, mégpedig két különböző mechanizmussal. *(1)* Az átültetett sejtek által termelt lizoszomális enzimeket a defektív sejtek fel tudják venni az extracelluláris folyadékból. Mivel az emberi test sejtjeinek kb. 10 %-a csontvelői eredetű, az általuk termelt enzimek nagy mennyisége jelentős hatással van a betegségre. *(2)* A mononukleáris fagociták a legtöbb szövetben csontvelői eredetűek, így ezek a sejtek a recipiensben a csontevelő-donortól származnak. Ilyenek pl. az agyi erek körül található mikroglia sejtek, melyeknek a csontvelői eredete magyarázatot ad az idegrendszeri tünetek javulására egyes tárolási betegségeknél. Pl. a Krabbe betegség (globoid sejtes leukodisztrófia) az agyi fehérállomány degenerációját jelenti, oka a galakto-cerebrozidáz enzim hiánya. Idejében elvégzett csontvelő-átültetéssel sikeresen kezelték a szervi és idegrendszeri tüneteket Gaucher betegségnél és Hurler szindrómánál is.

Az a felfedezés, hogy a **köldökzsinórvér** igen sok vérképzőrendszeri őssejtet tartalmaz, jelentős hatással volt a génikus betegségek kezelésére. A köldökzsinórvérnek, mint átültethető sejtforrásnak számos előnye van a csontvelővel szemben. *(1)* A recipiensek sokkal jobban tolerálják az MHC inkompatibilis köldökzsinórvér sejteket, mint az egyéb idegen sejttípusokat. *(2)* A köldökzsinórvér relatíve szélesebb körű hozzáférhetősége a magasabb toleranciával együtt megnöveli a lehetséges donorok számát. *(3)* Az átültetett szövet kilökődésének esélye sokkal alacsonyabb, mint csontvelő-átültetésnél.

Ennek az eljárásnak is megvannak az etikai buktatói. Egyebek között nevezetesen: szabad-e egy szülőpárnak újabb gyermeket vállalnia kifejezetten azzal a céllal, hogy génikusan beteg gyermekük számára átütltethető őssejt-forrást kreáljanak. Erre a kérdésre a 14. fejezetben visszatérünk.

A nem rokon donoroktól származó köldökzsinórvér ugyanolyan hatásosnak bizonyult a Hurler szindróma kezelésére, mint az MHC-kompatibilis csontvelő-átültetés. A Krabbe betegség újszülöttkori formájánál csak a 45 napon belül történő transzplantáció esetén lehet megelőzni a kognitív fejlődés károsodását. Ilyen gyors beavatkozásra csak a köldökzsinórvér-sejtek alkalmazása ad lehetőséget, mivel a kompatibilis csontvelődonor keresése nehéz és időigényes.

10-1. táblázat

Génikus betegség génterápiájának legfontosabb előfeltételei

	Előfeltétel	Leírás
1.	A defektus azonosítása molekuláris szinten.	Ismerni kell az érintett gént és a betegség biokémiai hátterét.
2.	Rendelkezni kell a funkcióképes génkópiával.	cDNS klón, vagy genomi génkópia.
3.	A betegség patofiziológiájának ismerete.	Fontos tudni, hogy a génterápia befolyásolja-e a patológiás folyamatokat, megszünteti, vagy enyhíti-e a tüneteket.
4.	Kedvező kockázat-haszon arány.	A génterápia és az alternatív terápia összevetése a kockázat és a haszon szempontjából.
5.	A gén megfelelő szabályozó szekvenciákkal kell, hogy rendelkezzen.	Betegségtől függ. Talasszémiánál káros a túlzott expresszió, enzimopátiáknál a normál szint néhány %-a is elegendő lehet.
6.	Megfelelő célsejtre is szükség van.	Hosszú életidejű, szaporodóképes, *in vitro* tenyészthető sejtek, melyek a génbeviteli technikák számára hozzáférhetők és könnyen visszajuttathatók a szervezetbe.
7.	Igazolt hatásosság és biztonság.	Állatmodellen igazolandó, hogy a génterápia hatásos, nem káros és hatása tartós.
8.	Engedélyköteles.	Országos és intézményi szintű testületeknek kell engedélyezni az eljárást.

DUPress

A transzplantáció nehézségei és jövője. Két nagyobb probléma nehezíti a transzplantáció alkalmazását a génikus betegségek kezelésében. *(1)* A transzplantáció mortalitása jelentős, továbbá az immunszuppresszió miatt könnyebben alakulnak ki fertőzések. A jövőbeli cél az immunszuppresszió nélküli átültetés, melynek elérésében a köldökzsinórvér-sejtek iránti nagyobb tolerancia egy jelentős előrelépés lehet. *(2)* A transzplantációhoz szükséges szervek száma korlátozott, pl. csak az Amerikai Egyesült Államokban évente 4-5000 májátültetésre lenne szükség. Ezen kívül még azt is igazolni kell, hogy az átültetett szervek egy életen át képesek normálisan működni.

Egy lehetséges megoldás az őssejtterápia és a génterápia kombinációja. A beteg saját őssejtjeit lehetne *in vitro* (*ex vivo*) tenyészteni, a szükséges gént beültetni ezekbe a sejtekbe, majd visszajuttatni azokat a beteg szervezetébe.

Génterápia

A rekombináns DNS technológia tette lehetővé, hogy az örökletes betegségek kezelését az ezeket okozó genetikai hiba kiküszöbölésével, azaz egy funkcióképes génkópia bevitelével kíséreljük meg. Funkcióvesztéses mutáció okozta betegségeknél a releváns gén bevitele a megfelelő célsejtekbe, enyhítheti, vagy megszüntetheti a tüneteket, amennyiben a betegség még nem okozott irreverzibilis elváltozásokat a szervezetben. Ennek az egyszerű elvnek a gyakorlati alkalmazása azonban nehéznek bizonyult, mindeddig csak a veleszületett immunhiány két formája esetében beszélhetünk sikeres és hosszú távú korrekcióról, valamint emberi betegségek állatmodelljeinél. A génterápia alkalmazásához szükséges minimális követelményeket a 10-1. számú táblázatban foglaltuk össze.

A génterápia célja a beteg egészségi állapotának javítása a mutáns fenotípus korrekciója révén. Ehhez arra van szükség, hogy a funkcióképes génkópiát bejuttassuk a megfelelő szomatikus sejtekbe (**szomatikus sejt génterápia**). A csíravonal sejtjeibe (továbbá ivarsejtbe, zigótába) történő génbevitel egyrészt szükségtelen, másrészt tilos, mivel a géntranszfer magában hordozza új mutációk indukálásának lehetőségét is.

A szomatikus sejtekbe történő génbejuttatás alapvetően háromféle célt szolgál. *(1)* Funkcióvesztéses mutációk korrekcióját, *(2)* káros hatású domináns mutáns allél kicserélését, helyettesítését a normál génnel és *(3)* farmakológiai (gyógyszer-) hatás elérését, amely különösen fontos daganatos betegségeknél.

Funkcióvesztéses mutációk korrekciójánál (pl. PKU), elegendő a funkcióképes génkópia bevitele, nem lényeges szempont, hogy az a genomon belül hova épül be. A hosszú távú kifejeződéshez nem feltétlenül szükséges a kromoszómába való integráció, hosszú élettartamú sejtekben (neuron, izomsejtek, májsejtek) episzomálisan elhelyezkedő gének is jól működhetnek. Ez adenovírus- vagy adeno-asszociált vírus vektorral biztosítható (l. alább).

Funkciónyeréses mutációk esetén a domináns mutáns allélt inaktiválni, vagy helyettesíteni kell. *Huntington betegség*ben pl. célszerű lenne kicserélni a túl sok

CAG tripletet tartalmazó gént, vagy legalább eltávolítani a számfölötti tripleteket. Egy másik alternatíva lenne a mutáns mRNS degradációjával gátolni a génkifejeződést. *Osteogenesis imperfecta*-ban a domináns negatív mutáns kollagénláncot kódoló mRNS szelektív degradációja csökkentené a betegség csont-tüneteit. Ez a cél elérhető lenne kis **interferáló RNS**-t kódoló terápiás gén bejuttatásával.

A génbevitelre két alapvető stratégia létezik. Az ***ex vivo* génterápia** során *in vitro* tenyészthető sejteket nyernek ki a beteg szervezetéből, ezekkel elvégzik a géntranszfert, majd a módosított sejteket visszajuttatják a beteg szervezetébe. Az ***in vivo*** génterápia során a DNS-t közvetlenül az érintett szövetbe, vagy az extracelluláris folyadékba juttatják, ahonnan a célsejtek felveszik (10-3. ábra).

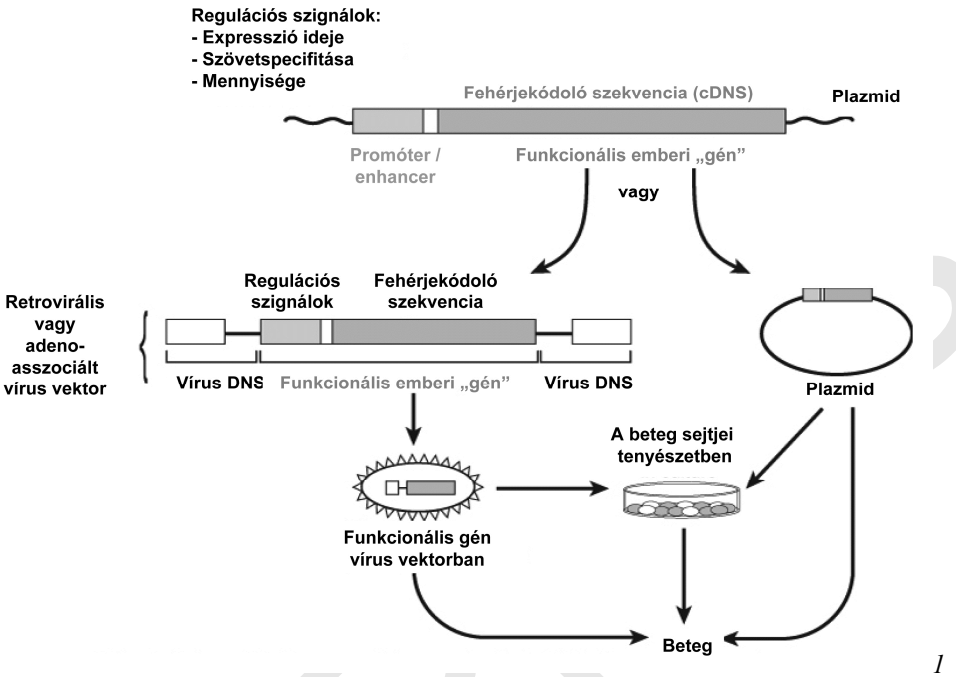
A génterápia ideális **célsejt**jei az őssejtek, vagy progenitor sejtek, amelyek élénken osztódnak. Az őssejtbe való génbevitel egyben azt is jelenti, hogy a belőle származó leánysejtek nagy populációjában is jelen lesz a gén. Jelenleg a csontvelő az egyetlen szövet, amelynek az őssejtjeit, ill. progenitor sejtjeit sikeresen használták génterápiára. Genetikailag módosított csontvelői őssejteket használtak a veleszületett immunhiány két formájának a gyógyítására, de elvileg alkalmasak lennének vérsejteket érintő betegségek, mint a talasszémia és a sarlósejtes anémia kezelésére is. A csontvelői őssejtek használhatók lesznek a PKU és a tárolási betegségek estén is, utóbbiaknál a csontvelő-átültetés már sikeresnek bizonyult.

Ha a célsejtek nem képesek extenzív osztódásra sejttenyészetben, nem ültethetők vissza a szervezetbe, vagy nem azonosíthatók őssejtjeik, progenitor sejtjeik, akkor más megközelítést kell alkalmazni. A májsejtek (hepatociták) rövid ideig fenntarthatók primer sejtkultúrában, a génbevitel elvégezhető rajtuk, majd visszajuttathatók a szervezetbe. Az endotél sejtek különösen hasznos célsejtek lehetnek, mivel ezek bélelik az ereket. Az endotél sejtekbe juttatott gén a hordozó sejtek keringésbe kerülése majd érfali letapadása révén szisztémás hatást fejthet ki.

Génbevitel vírus vektorokkal. A vektor hordozót jelent. Ez egy olyan DNS molekula, amelybe idegen DNS-t beépítve az bejuttatható egy célsejtbe, és ott vagy önálló replikációra képes, vagy beépül a gazdasejt kromoszómájába. A vektorok lehetnek mesterségesen konstruált plazmidok, módosított bakteriofágok vagy vírusok. Az ideális vírus vektor biztonságos, könnyen előállítható és juttatható be a megfelelő célsejtbe, melyben a bevitt gént kifejezi – élethosszig. Jelenleg nincs olyan vektor, amely megfelelne minden említett kritériumnak. A következőkben röviden áttekintjük a leggyakrabban használt vektortípusokat.

A **retrovírus vektorok** patogenitásukat vesztett RNS vírusok, melyeknek három vírusspecifikus génjét (*gag, pol, env*) eltávolították és egy terápiás génnel helyettesítették. Önálló replikációra nem képesek, a megfertőzött sejtekben a genetikai anyaguk DNS kópiáját beépítik a genomba. 8 kbp méretű idegen DNS-t lehet a vektorban elhelyezni, ami sok gén cDNS kópiája esetében elegendő. Sajátossága, hogy csak osztódó sejteket képes stabilan fertőzni, ugyanis a magba való bejutás csak a maghártya lebomlása után lehetséges. Ezért nem lehet használni „nyugvó" sejtek, pl. neuronok fertőzésére. *In vivo* génterápiára nem alkalmas, mert a plazmában a komplement neutralizálja. A **lentivírusok** képesek integrációra a nem-

osztódó sejtekben, ezért ezek alkalmasak lehetnek a neurológiai megbetegedések kezelésére is.



1

10-3. ábra

A génterápia stratégiái génikus betegségek esetén

A humán cDNS-t vírus vektorba építik be, majd a betegből származó tenyésztett sejtekbe (*ex vivo* génterápia), vagy közvetlenül a betegbe juttatják be (*in vivo* génterápia). Egyes esetekben a cDNS-t plazmid vektorral juttatják be.

Adenovírus vektorral magas titert lehet elérni (nagy mennyiségben izolálható), sokféle sejttípust lehet fertőzni, legnagyobb az affinitása a hám eredetű sejtek iránt. 30-35 kbp méretű DNS szakaszt (inszertet) tud befogadni. Nem integrálódik a kromoszómába, a vírus DNS episzomális (extrakromoszomális) marad. Hátránya, hogy erősen immunogén és gyulladást indukál.

Az **adeno-asszociált vírus** vektor sajátossága, hogy emberre nincs káros hatása, osztódó és nem osztódó sejteket egyaránt fertőz. Integrálódik kromoszómába, de episzomálisan is előfordul. *A nem módosított vírus integrációja nem véletlenszerű, hanem egy meghatározott helyre történik, ami fontos biztonsági tényező lenne. Sajnos, mivel a vektor konstrukciók nem tartalmaznak vírus géneket, ezek véletlenszerűen integrálódnak.* Hátránya, hogy csak 5 kbp méretű inszertet képes befogadni.

A génbevitel egyéb módjai. A nem-virális vektorok előnye, hogy nincs biológiai kockázatuk (pl. betegséget okozó vírus kontamináció) és előállításuk is egyszerűbbnek tűnik. Négy formájukat soroljuk itt fel:

(1) **Tisztított nukleinsav,** pl. plazmidban klónozott, szabályozó szekvenciákkal ellátott cDNS, vagy kis interferáló RNS (siRNS).

(2) **Liposzóm**ába, mesterséges lipid membránba csomagolt DNS.

(3) **DNS-fehérje komplex**, melyben a DNS-t fehérjéhez, vagy más olyan molekulához kapcsolják, amely rendelkezik sejtfelszíni receptorral. Így a DNS receptor-mediált endocitózis révén bekerülhet a sejtbe.

(4) **Mesterséges eukarióta kromoszóma**, melyben a kromoszóma esszenciális funkcionális alkotórészeit (centromér, telomér, replikációs origó) összekapcsolják regulációs szekvenciákkal rendelkező génnel, vagy cDNS-sel.

Bár a nem-virális vektoroknak nagy a potenciális jelentősége, az eddigi alkalmazásuk kevésbé sikeresnek bizonyult. A bejuttatott DNS-t nagyrészt a lizoszomális enzimek lebontják, csak kis része kerül be a sejtmagba. A tisztított DNS felvétele kis hatásfokú, bár nagyon hasznos lehet, hogy közvetlenül injektálható a célszövetbe, ha csak átmeneti (tranziens) hatás szükséges, mint pl. a daganatok esetében.

A génterápia kockázatai. Mint minden terápiás beavatkozásnak, a génterápiának is lehetnek káros mellékhatásai. Az egyik kísérleti génterápiás eljárás során a nagy mennyiségben alkalmazott adenovírus vektor gyulladást indukált, és a beteg tüdőgyulladásban meghalt. Ezért különös gondot kell fordítani a megfelelő vektor kiválasztására.

Inszerciós mutagenezis: A bevitt gén véletlenszerű integrációja a genomba protoonkogént aktiválva, vagy tumor szupresszor gént inaktiválva malignus elváltozást okozhat. A protoonkogén aktiválás ritkán történhet meg, mivel a vírus vektorokat úgy alakították ki, hogy promotereikről ne indulhasson el a szomszédos gazda gének expressziója.

Esszenciális gén megszakítása is bekövetkezhet, de ennek szomatikus génterápia esetén nincs nagy jelentősége, hiszen mindössze egyetlen sejt pusztulását okozza. Annak a valószínűsége, hogy ugyanazon gén inaktiválása több sejtben is bekövetkezzen, nagyon kicsi. Ha viszont a bevitt gén a csíravonalba bekerülve okoz génmegszakítást, ez a kezelt beteg utódaiban okozhat domináns betegséget előidéző mutációt. Ez ritka esemény, és a kockázata is elfogadhatóan alacsony. Ezen ok miatt nem érdemes lemondani a gondosan megtervezett génterápiáról, ha a betegnek nincs más lehetősége a gyógyulásra. Hozzá kell tenni, hogy a csíravonal módosítása nem csak a génterápia során következhet be, hanem a széles körben alkalmazott daganat-kemoterápia során is, de a kockázatot elfogadjuk a terápiás eredmény miatt.

Konkrét betegségek, melyeknél a génterápia sikeres volt, vagy sikeres lehet. A veleszületett immunhiány két formáján kívül, melyeket eredményesen kezeltek, van egy sor betegség, amelyeknél a génterápia potenciálisan alkalmazható: a retina degeneráció (Leber féle veleszületett vakság), hemofília B, talasszémiák és

EURES

a májfehérjék egyes rendellenességei, mint pl. a PKU, az urea ciklus rendellenességei, familiáris hiperkoleszterinémia és az α1AT deficiencia.

Az X-hez kötött veleszületett immunhiány (*Severe combined immunodeficiency, SCID***).** Ez egy betegségcsoport, amelyet a limfociták éréséhez szükséges gének mutációi okoznak. A betegek kezelés hiányában kora gyermekkorban fertőzések áldozatául esnek, mivel nincsenek funkcionális B és T limfocitáik. A betegség egyik formájában az interleukin-2 (IL-2) receptor egyik alegységének génje szenvedett mutációt. Korábban bebizonyosodott, hogy a betegség csontvelő-átültetéssel gyógyítható. Később a betegből izolált hemopoetikus őssejteket *ex vivo* kezelték a terápiás gént tartalmazó retrovírus vektorral, szaporították, majd infúzióval visszajuttatták a betegbe. Nyolc beteg esetében az immunfunkció teljesen helyreállt, funkcióképes B és T limfociták jelentek meg a keringésben. 3 betegnél azonban extrém limfocitózis alakult ki, ami tulajdonképpen egy leukémia-szerű rendellenesség. Két betegnél kimutatták, hogy ezt a retrovirális vektor integrációja okozta az *LMO2* lokuszon, az *LMO2* protoonkogént aktiválva. Egy második génterápiás kísérletben a 10 kezelt beteg egyikénél sem léptek fel leukémiás komplikációk. Ez a példa jól demonstrálja a génterápia hatalmas lehetőségeit az örökletes betegségek gyógyításában. Azok számára, akiknek találnak HLA-identikus donort, ma még a csontvelői őssejt-átültetést javasolják. Ha ilyen nincs, a haploidentikus (pl. szülő-gyermek) csontvelői őssejt-átültetést ajánlják. Ha ilyen lehetőség sincs, akkor jön szóba a génterápia.

A SCID egy másik formáját az **adenozin dezamináz (ADA) hiány** okozza. Azért választották ezt a génterápiás kísérlethez, mert egyrészt korábban már sikeresen kezelték PEG-ADA-val (l. fentebb), másrészt pedig a transzdukált (transzgénikus) sejtekről feltételezték, hogy szelekciós előnnyel fognak rendelkezni a nemtranszdukált sejtekkel szemben. A kísérletben csontvelői őssejteket kezeltek *ex vivo* az ADA cDNS-t tartalmazó retovírus vektorral. A kezelt sejteket visszaültették a betegbe, akinek a csontvelőjét részlegesen kiiktatták, hogy nagyobb esélye legyen a transzgénikus sejtek megtapadásának. A kezelés eredményeként az immunfunkció helyreállt és a limfocitákban csökkent a toxikus dezoxinukleotid szint, leukémiát nem észleltek.

Más betegségeknél is értek el sikereket. **Hemofília B**-ben szenvedő betegek májsejtjeibe vitték be a IX-es faktor génjét adeno-asszociált vírus vektorral, és a véralvadási faktor terápiás szintjét érték el. A vírus kapszidfehérjéi elleni T-sejtes immunválasz azonban néhány hét után megakadályozta a további expressziót.

A Leber féle veleszületett vakságot (*congenitalis amaurosis*) a retina fotoreceptorainak degenerációja okozza. Több mint 10 gén mutációja okozhatja ezt a fenotípust, de jelenleg a kutatók elsősorban az *RPE65*-re koncentrálnak. Ez felelős a fotoreceptorok retinoiddal (A-vitamin származék) való ellátásáért. *RPE65* mutációval rendelkező kutyák retinájába adeno-asszociált vírus vektorral egyetlen alkalommal bevitt terápiás gén 6 évre visszaállította a látást. Humán klinikai kísérletek folyamatban vannak.

A **Duchenne muscularis dystrophia (DMD)** példája bemutatja, hogy milyen problémákkal kell szembenézniük a génterápia kutatóinak. Az egyik akadály a cDNS nagy mérete (14 kbp), ezt kellene bejuttatni olyan nagy számú izomrostba, melynek hatása már a terápia szempontjából jelentős lenne. Biztató előrelépés, hogy izoláltak egy kb. 6,5 kbp méretű „minigént", amely funkcióképes és felhasználható az első akadály elhárítására.

E sorok írásakor több mint 1200 klinikai kísérlet van folyamatban szerte a világon. Bár az eredmények gyakorlati alkalmazása területén viszonylag lassú a haladás, szakemberek szerint a génterápia sok betegségnél sikerrel jár majd a rengeteg nehézség ellenére is. A veleszületett immunhiány két formájánál elért eredmények alátámasztják ezt az optimizmust, bár aggodalomra ad okot, hogy a kezelés potenciálisan leukémiát okozhat. Reményeink szerint a következő évtizedekben mind a mendeli típusú öröklődésű, mind a genetikailag komplex betegségek génterápiája átalakítja a ritka és gyakori betegségek gyógyítását egyaránt.

DUPress

11. fejezet

Rosszindulatú daganatok genetikai háttere

A rosszindulatú daganatok gyakran előforduló és igen súlyos, az életet fenyegető, sok esetben viszonylag rövid idő alatt halállal végződő betegséget jelentenek. Kialakulásukat, burjánzásukat és szervezeten belüli romboló terjeszkedésüket. a sejtek minden gátlás és szabályozás alól elszabadult szaporodása okozza. A sejtosztódás kontrollja összeomlásának hátterében gének mutációja, a genetikai szabályozórendszer ennek következtében előálló és fokozatosan egyre növekvő zavara áll. A betegség természete egyértelműen génikus, csak a genetikai (és epigenetikai) szabályozó rendszerek ismeretében érthető meg és kereshető gyógyításának módja.

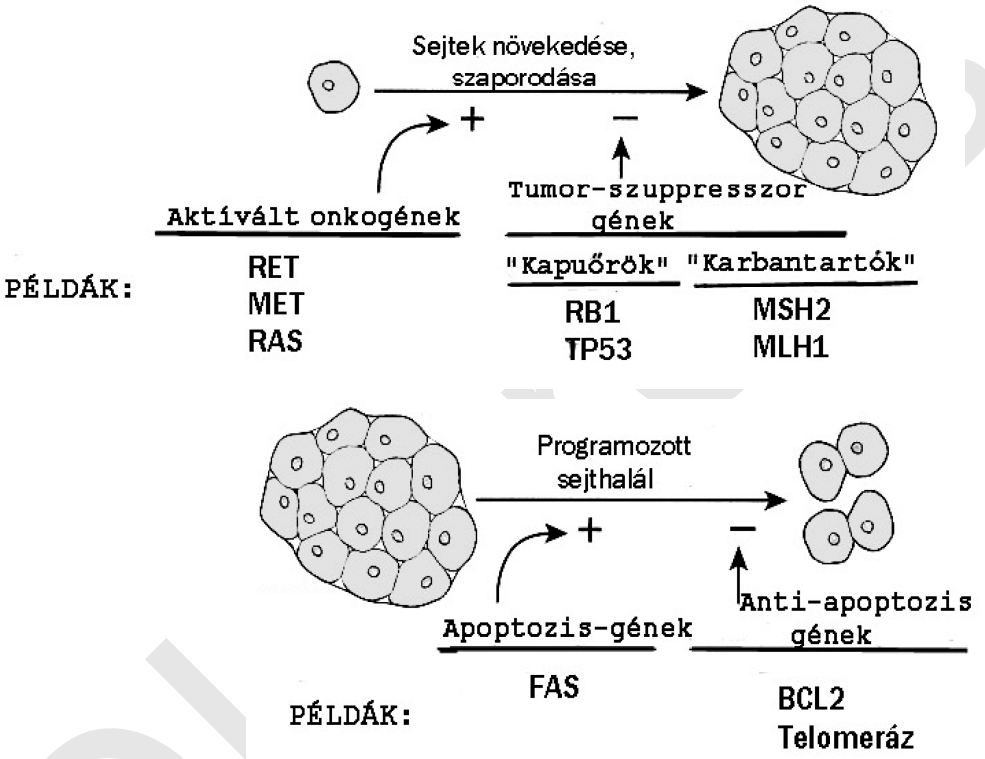
Ellentétben az élesztővel (a sejtosztódás vezérlését ezen az élőlényen fedezték fel) és más egysejtű eukariótákkal, a többsejtű élőlények, és nevezetesen az állatvilág képviselői sejtjeinek szaporodása szigorú korlátok közé van szorítva: csak azok a sejtek léphetnek be az osztódási ciklusba, amelyek osztódására a szervezet érdekében feltétlenül szükség van. Az egyes sejteknek a sejtciklus indítására az utasítást ún. **növekedési faktor**ok (pl. EGF [*epidermal growth factor*], FGF [*fibroblast GF*] stb., stb.) adott sejt számára szolgáló egyedi kombinációja adja ki, megfelelő **sejtfelszíni receptor**okhoz kapcsolódva. A stimulust a receptorok tirozinkináz aktivításukkal **jeltovábbító kaszkád**oknak adják tovább. Ezek a jelzést a sejtmagba juttatják, ahol **génszinten transzkripciós faktorok kapcsolják be a sejtciklus indításához szükséges RNS szintézist**. A jelfogó-továbbító rendszer fehéjéit és a velük kapcsolódó transzkripciós faktorokat, ill az ezeket kódoló géneket **protoonkogén**eknek nevezzük. Ezek mutációjával, ill. expressziójukat fokozó génikus vál-tozásokkal **onkogén**ek jöhetnek létre.

Megfelelő jelzés hiányában az ún. **tumorszuppresszor** fehérjék gátolják a sejtciklus indulását. Ha mégis feleslegben találhatók adott területen sejtek, vagy egyes sejtek génállománya, szabályozó rendszere annyira károsodott, hogy megjavítása valószínűtlen, programozott sejthalál: **apoptózis** küszöböli ki a felesleges, ill. károsodott sejteket. Ez a három rendszer (protoonkogének, tumorszuppresszorok, apoptózis) eredményezi, hogy a szervezetben a sejtek arányában, számában, funkciójában a fiziológiás működéshez szükséges összhang kialakul és megmarad.

A szabálytalan sejtszaporulatok új sejthalmazokat hoznak létre, melyek nem részei az ép szerveknek, szöveteknek. Ezt a növekményt nevezzük **daganat**nak/ **tumor**nak/ **neoplazmá**nak.

Jóindulatú (benignus) a daganat**,** ha lehatárolt marad, nem tör be az ép szövetek sejtjei közé, nem növekszik korlátlanul, nem képez áttétet. Az ilyen daganat is lehet azonban végzetes, ha pl. a koponyaüregben növekedve összenyomja az agyat.

Rosszindulatú (malignus) a daganat, ha korlátlan növekedésű, ha betör az ép szövetek sejtjei közé, károsítva azok működését, ha érpályába jutó sejtjei révén áttéteket képezve szétterjed az egész szervezetben. A szervezet a rosszindulatú daganat által okozott károsodások következtében elpusztul, ha nem sikerül a daganatot és áttéteit eltávolítani, vagy szelektíven elpusztítani.



11-1. ábra

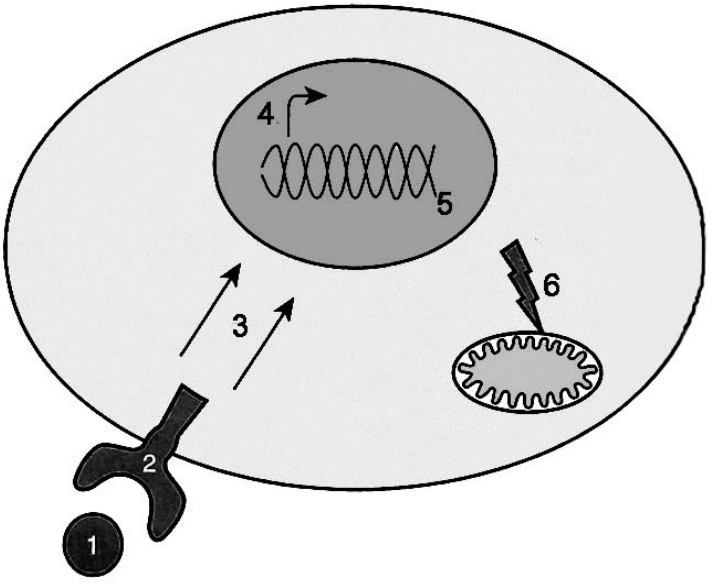
Tumorok kialakulásának kezdete

Génhibák, melyek a tumoros transzformációt elindítják (az ábra felső és alsó része folytatólagos)

A rosszindulatú daganatoknak három fő formáját különböztetjük meg: **szarkómák** a mezenchimális eredetű szövetekből (csont, izom stb.), a **karcinómák** (rákok) epiteliális szövetekből (bőr hámrétege, bélhám, bronchusok hámja, emlőben tejmirigyek stb.), **hemopoetikus** és **limfoid malignómák (**leukémiák és limfómák) a vér- és nyirokrendszerből indulnak ki.

A rosszindulatú növekmények egy-egy sejt daganatos transzformációjával kezdődnek. A daganatos transzformáció elindításában szerepet játszhat valamelyik

protoonkogén aktiválása, ill. túlzott expressziója, azaz onkogénné válása, avagy a tumorszuppresszorok valamelyikének inaktiválása, vagy az apoptózisban közreműködő gének, ill. termékeik meghibásodása. (A 11-1. ábra foglalja össze a tumorkeletkezésben résztvevő főbb géneket, géncsaládokat.)



11-2. ábra

Sejtosztódást indító jel továbbítása a sejt környezetéből a sejtmagba
(1) = GF (növekedési faktor), (2) = receptor tirozin kináz aktivitással, (3) = citoplazmában jeltovábbítók, (4) = transzkripciós faktor(ok) a magban, (5) = telomeráz, (6) = apoptózis indítása.

Az **onkogén**eket először bizonyos rákkeltő vírusokban találták meg. Kiderült, hogy a vírusokban előforduló onkogénekhez nagyon hasonló DNS-szakaszok minden sejtben megvannak, ezek a normális gének az ún. (celluláris) **protoonkogén**ek, melyek a sejtciklus indításában közreműködő jelfogó/jeltovábbító fehérjéket, és a hozzájuk kapcsolódó transzkripciós faktorokat kódolják. Bizonyos vírusokba ezeknek az mRNS-éről másolt cDNS épült be. A vírusban vagy egy nagy hatású expressziót fokozó *enhancer*hez csatlakozva, és/vagy mutációkkal megváltoztatva található a **virális onkogén**. A sejtekben lévő protoonkogének mutagén hatásokra, vagy transzlokációjuk következtében bármikor onkogénné alakulhatnak, és provokálhatják az érintett sejt szabályozatlan, korlátlan osztódását. – Gyakran az a hiba, mint pl. a mutáns RAS onkogén fehérjénél, hogy az aktív forma (RAS esetében GTP-vel kötött) nem képes inaktiválódni (a GTP-t lebontva). Ez a folyamatosan aktív állapot állandó késztetést jelent a sejtciklus újra és újra indítására. Hasonló hatása van a többi onkogén fehérjének is. A 11-2. ábra vázlatos képet mutat sejtciklust indító kaszkádokról. A valóságban sokkal bonyolultabbak a viszonyok. Ezt a

11-3. ábrán – még mindig csak vázlatosan – próbáljuk szemléltetni, a jel útjának variációit mutatva meg, a sejtmag génállományához.

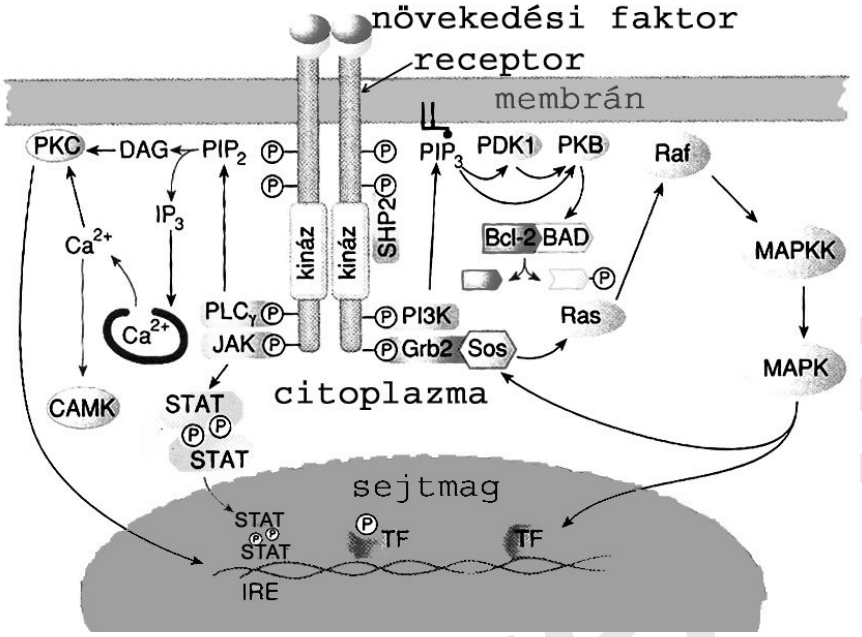
Növekedési faktor, vagy hasonló jelfehérje indítja a sejtciklust. Normális esetben ezek kombinációjára van szükség, ami sejttípusról sejttípusra változik. Kóros esetben a jelfogó-jeltovábbító rendszer egyetlen fokozott aktivitású tagja elég lehet a kaszkád – szükségtelen – működésben tartásához. A jelet a membránban lévő tirozinkináz aktivitású receptorok valamelyike érzékeli. (Onkogénként gyakrabban szereplő ilyen fehérjék a RET, MET stb.) A membrán külső oldalán van a molekula specifikus jelfogó része, a citoplazmában található a tirozinkináz aktivitás. A jel átadása a kapcsolódó jeltovábbító fehérjék tirozin oldalláncának foszforilálásával indul. Több egymással párhuzamosan működő út létezik a sejtekben. Egyik út jellegzetes fehérjéje a már említett RAS, egy viszonylag kis molekulájú G-fehérje, mely GTP-t kötve aktiválódik, és mindaddig aktív, míg a megkötött GTP egy foszfát lehasításával GDP-vé nem alakul. Azok a mutációk, melyek meggátolják a GTP hasítását, állandósítják a RAS aktív állapotát, s ezzel kiváltják a sejtciklus szünet nélkül ismétlődő újraindítását.

A **tumorszuppresszor**ok a ciklus indítását gátolják. Szerepüket tekintve két csoportba sorolhatók: az egyik csoportba a „**kapuőr**ök" (*gatekeepers*), a tulajdonképpeni osztódás-fékezők tartoznak, mint az RB1 és TP53. A másik csoport feladata többféle, ezek a „**karbantartók**" (*caretakers*). Ezek a DNS-javítást végzik, valamint gondoskodnak arról, hogy az ép kromoszómaszerkezet megőrződjék, mitózisban a kromoszómák pontosan váljanak szét.

A „**kapuőr**" RB1 fehérje – mint azt a 11-4. ábra mutatja – az E2F-DP transzkripciós faktorhoz kapcsolódva inaktiválja azt, és nem engedi, hogy a sejt G1-ből az S fázisba lépjen. A felszaporodó ciklinE a cdk2-vel foszforilálja az RB1 fehérjét, ezzel az inaktiválódik, nem tud tovább az E2F-DP faktorhoz kötődni. A szabaddá váló E2F-DP indítja az S-fázis kezdéséhez szükséges transzkripciót. A ciklinE RB1-et foszforiláló működését a p21 fehérje gátolja, melynek termelődését a p53 fehérje serkenti. Az RB1 és a p53 fehérje jelenti a legerősebb gátat az előkészítetlen, ill. túl korai sejtosztódások indításában.

A „**karbantartó**" rendszerek meghibásodása is indíthat tumorképződést. A ***repair* (javító) rendszerek** bármelyikének meghibásodása lehet erre ok. Nemcsak a legismertebb DNS-javítórendszerek játszanak fontos szerepet, hanem sok más kevésbé közismert rendszer meghibásodása is. A 11-1. ábrán szereplő MSH2 és MLH1 pl. a *mismatch repair* rendszer enzimei, BRCA1 és BRCA2 szintén a *repair*ben játszanak szerepet. A BRCA1 az MSH2-vel, MLH1-gyel és más fehérjékkel komplexet alkotva a DNS meghibásodásainak felismerésében és javításában játszik szerepet. Az MSH2 és MLH1 meghibásodása az öröklődő nem polipózisos vastagbélrák, a BRCA1 és 2 meghibásodása az emlőrákok kialakulásában szerepel. (*Mismatch* = hibás bázispárosodás.)

A **kromoszómák szerkezeti épségéért és mitózisban helyes kettéosztódásáért** felelős gének meghibásodásai inkább a szabálytalan sejtosztódások következté-

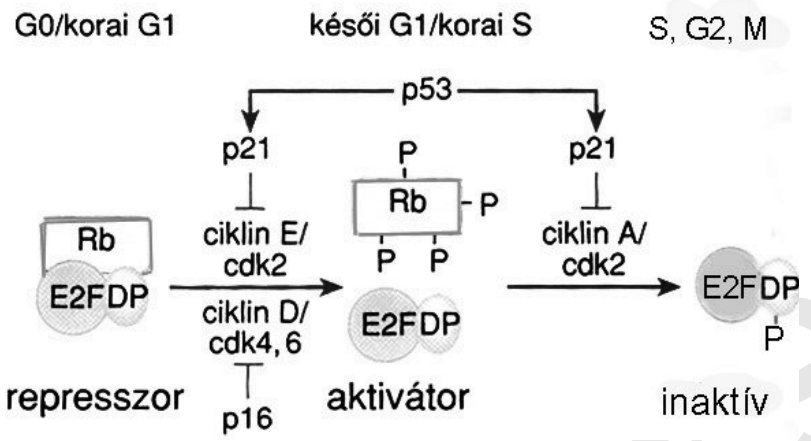


11-3. ábra

Sejtciklust indító jelek továbbítása a sejtmagba: **kaszkádok**

Kináz = a receptor tirozinkináz aktivitású része. A nyilak a jeltovábbítás lépéseit mutatják. A növekedési faktorok a sejtmembránban lévő receptor extracelluláris kötőhelyéhez kapcsolódnak. A ligand receptorhoz kötődése aktiválja a fehérje citoplazmatikus doménjében a tirozinkinázt. Az aktivált tirozinkináz jeltovábbító fehérjéket foszforilál és ezzel aktivál. Az ábra négy jeltovábbító utat mutat: **1**/ Grb2-Sos→Ras→Raf→MAPKK→MAPK→ sejtmag/transzkripciós faktorok. **2**/ JAK→STAT→sejtmag/transzkripciós faktorok. **3**/ PI3K →PIP_3→(PDK1)→PKB→ (AKT)→sejtmag/transzkripciós faktorok, ill. →Bcl-2/BAD (apoptozis gátlása). **4**/ PLC→ PIP_2→DAG→ PKC→ sejtmagi transzkripciós faktorok, ill. Ca^{2+}→ CAMK→transzkripció. (A részletek nem képeznek tananyagot!)

Egyes gének elnevezése alacsonyabb rendű élőlényekben betöltött szerepükre utal, melynek vizsgálata során felfedezték őket. Más gének ill. fehérjék biokémiai aktivitásukról kapták nevüket. – **GRB2** = „growth factor receptor bound" protein; **Sos** = „son of sevenless" (Drosophila egyedfejlődésében felfedezett jeltovábbító); **Ras** = GTP-vel működő 21 kDa, G-protein; **Raf** = a Ras által aktivált kináz; **MAPK**(**K**) = „mitogen-activated proteinkinase"; **JAK** = „Janus-kinase" (a tirozinkinázok családjába tartozik); **STAT** = „Signal transducer and activator of transcription"; **PI3K** = foszfatidil-inozitol-3-kináz; **PIP_2** = foszfatidil-inozitol-4,5-difoszfát; **PIP_3** = foszfatidil inozitol 3,4,5-triszfoszfát; **PDK** = 3-foszfoinozitid-dependens protein kináz; **PKB** = proteinkinázB; **AKT1** = (szintén) proteinkináz-B család fehérjéje, véd az apoptózistól; **Bcl-2** = antiapoptotikus fehérje; **BAD** = a Bcl-2-vel együttműködő fehérje; **PLC**= foszfolipázC; **DAG** = diacilglicerol; **PKC** = proteinkinázC; **CAMK** = Calcium/calmodulin-dependens proteinkináz.



11-4. ábra

Az RB1 és TP53 tumorszuppresszorok hatása a sejtciklusra
Rb = RB1 fehérje, -P = foszfát csoport; p53, p21 fehéjék.
⊥ = gátlás, → = serkentés.

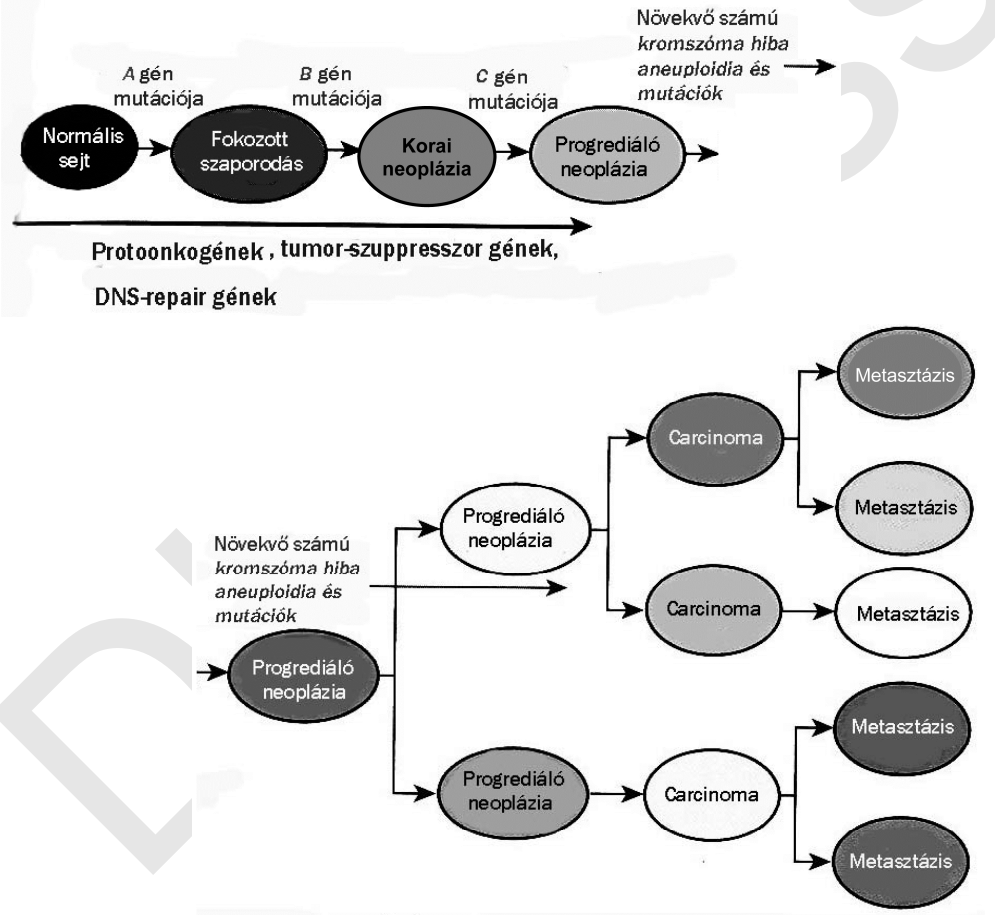
ben jönnek létre és a malignus daganatok egyre agresszívebbé válását, az újabb aneuploidiák, kromoszóma-vesztések kialakulását okozzák.

Az újabb ismeretek szerint nemcsak fehérjét kódoló gének hibája vezethet daganatképződéshez, hanem a gének expresszióját befolyásoló, nem kódoló kis méretű (mikro- [mi], ill. nem kódoló [nc]) RNS-ek mennyiségi és/vagy minőségi változása is. (Epigenetikai szabályozás.) A daganat létrejöttében szerepet játszó miRNS-eket **oncomir**eknek nevezik. Ezek közül az **miR-21** százszoros túltermelődése pl. glioblasztómát okoz (ami rendkivül malignus tumor!). Hatását a tumorképződésre valamelyik tumorszuppresszor kifejeződésének gátlásával fejtheti ki. Míg tumorszuppresszorok esetén a gátló miRNS-ek túltermelődése, onkogének esetében ezek hiánya lehet a hiba, vagyis a kis RNS-ek a fentebb felsorolt utak valamelyikén keresztül fejtik ki hatásukat a sejtosztódásra.

A rosszindulatú daganatok kialakulásának egymást követő lépései

Önmagában egyetlen szabályozó gén ill. fehérje meghibásodása miatt még nem lesz egy sejtből daganatsejt, csak elindul a tumorsejtté alakulás útján. (Mai ismereteink szerint neoplázia mindig egy sejtből alakul ki.) A malignus daganatok sejtjeiben a sejtosztódást szabályozó gének egyre nagyobb hányada hibásodik meg, ha másért nem, az egymást túl gyorsan követő sejtosztódásokkal szükségszerűen együtt járó kromoszóma szétválási hibák, kijavítatlan DNS-károsodások miatt is. Az idő előrehaladtával az egyes sejtek kromoszómakészletének és génállományának nagy változatossága alakul ki. Vannak az egyes daganatokra jellemző változatok, melyek az ugyanolyan típusú daganatokban csaknem mindig fellelhetők (lehet, hogy jelenlétükből adódik a típus). Hasonlóan a darwini szelekcióhoz, a különböző

génállományú daganatsejtek között is kiválogatódás zajlik: A leggyorsabban szaporodó daganatsejtek lesznek jelen legnagyobb számban ill. tömegben a tumorban. A sejthalmazból leváló sejtek sodródnak el a vérárammal vagy a nyirokkal, ezek közül az új helyen megkapaszkodókból lehet később daganatáttét (metasztázis). Mind az eredeti daganatra, mind a képződő áttétekre igaz, hogy csak akkor növekedhetnek nagyobb méretűre, ha vérerek újdonképződését és a malignus szövetbe való benövését tudják indukálni. A daganat- és áttétképzés tehát több lépésben bekövetkező, komplex génikus változások következményei. Ezenközben mindig a legéletképesebb, legerőteljesebb, a környezettel szemben különleges követelményeket nem támasztó változatok maradnak fent, vagyis a leginkább alkalmazkodó genotípusok (és az ezeket hordó kariotípusok) kerülnek előtérbe. Ez egyben az érintett sejtek dedifferenciálódását is jelenti.



11-5. ábra

Stádiumok a rákos daganat kifejlődésében

A rosszindulatú daganatok kialakulása egy gén mutációjával/elvesztésével vagy expressziójának jelentős megváltozásával kezdődik egy sejtben. A szabályozás meghibásodása további gének károsodásához (mutációjához) vezet. A sejtciklus regulációjának zavara minden mutációval fokozódik, a sejtosztódás egyre féktelenebb lesz, egyre előrehaladottabb stádiumú lesz a fejlődő daganat. A sejtekben egyre több és többféle mutáció és kromoszóma-rendellenesség halmozódik. Megjelennek az áttétek képzésére, növekedésére alkalmas daganatos sejtek és a kezdeti stádiumú tumor egyértelműen rákos daganattá válik.(11-5. ábra). Ezt nevezik a malignómák **klonális evolúció**jának. Más szavakkal ez úgy is kifejezhető, hogy egyetlen daganatban többféle (sokféle) genotípusú sejtcsoport lehet jelen. Ha ez így van, mindegyikük ellen egyidejűleg hatásos terápiát találni rendkívül nehéz, sokszor megoldhatatlan feladat. Azaz a daganatok gyógyszeres kezelésében komoly gondot okoz, hogy egyetlen daganat sejtjei is – mire észreveszik – génikusan sokfélék, és az idők során genetikai jellemzőik, biológiai természetük folytonosan változik.

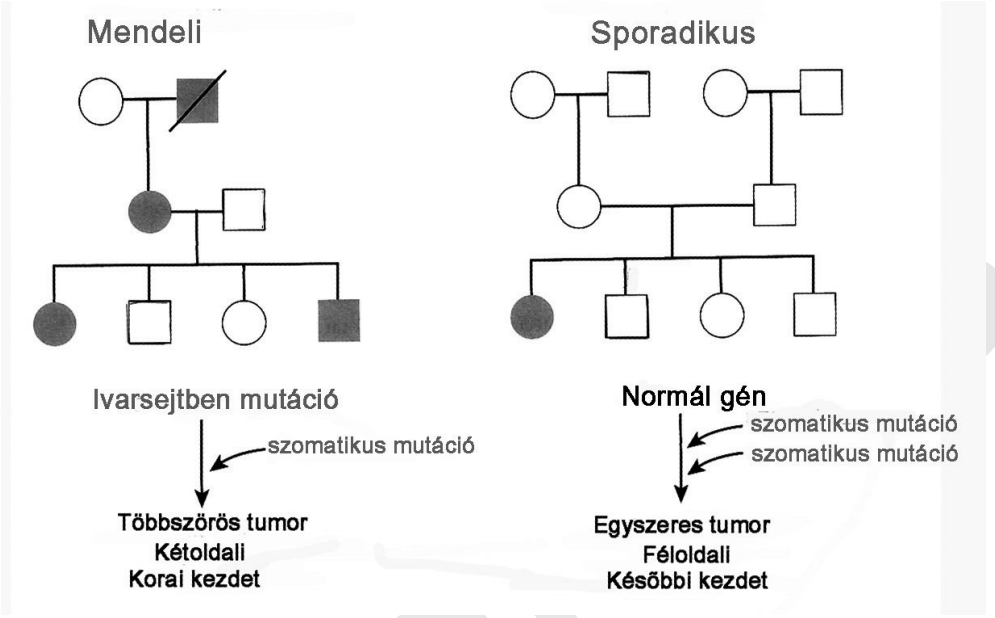
Családokban halmozottan jelentkező és szórványosan előforduló rosszindulatú daganatok

Vannak tumorok, melyek egy család több tagjában, ill. leszármazottaiban is kialakulnak. Ebben az öröklődés szerepét feltételezhetjük. A daganatok nagyobb hányada elszórtan jelenik meg a népességben, nem mutat halmozódást egy-egy rokonsági körben. Ezek esetében nem öröklött hibáról van szó, a háttérben álló génikus változások egy testi sejtben újonnan jöttek létre. Majdnem minden daganatféleség esetében előfordulhat családi halmozódás, de sokkal gyakoribb ezekben is a szórványos kialakulás.

Mint a 11-6. ábra mutatja, öröklődő daganat képződése esetén a megtermékenyítéskor csak egyik ivarsejtben van jelen egy tumorszuppresszor gén mutációja, azaz a létrejött zigóta, majd a belőle kifejlődő magzat, ill. egyed sejtjei, eltekintve attól, hogy egy tumorszuppresszor gén mutációjára heterozigóták, teljesen normálisak. A mutációt hordozó sejtek legtöbbjéből soha nem is lesz tumorsejt. (Ha a zigóta pl. az *RB1* mutációjára homozigóta volna, nem is fejlődhetne belőle magzat!) A tumoros átalakuláshoz a szervezet egy sejtjének el kell veszítenie a heterozigótaságát, homozigótává kell válnia a mutáns génre, azaz egy újabb mutációra van szükség daganatos átalakulás megindításához. Szórványosan kialakuló daganatok esetén az ivarsejtekben nincs tumorral kapcsolatos mutáció, a daganatos átalakulás elindításához két egymást követő mutáció kell ugyanannak a génnek a két példányában.

A daganatképződéshez vezető öröklődő hibák a tumorszuppresszor génekben találhatók. A **„kapuőrök" meghibásodása** domináns öröklődésűnek látszó daganatot eredményez, mivel a heterozigótában az ép allél biztosítja ugyan a kellő védelmet a sejtciklus megzavarásával szemben, de a sejtosztódások során előbb-utóbb lesz olyan sejt, amelyikben az ép allél mutációt szenved ill. elvész. Az egyetlen ép allélját elvesztő sejt elindul a daganatképződés útján. Több „karbantartó"

gén hibája – hasonlóan a kapuőrökhöz – szintén domináns öröklődésűnek látszik a családfán. Más karbantartók meghibásodása okozta daganatképződés egyértelműen recesszív öröklésmenetet mutat.



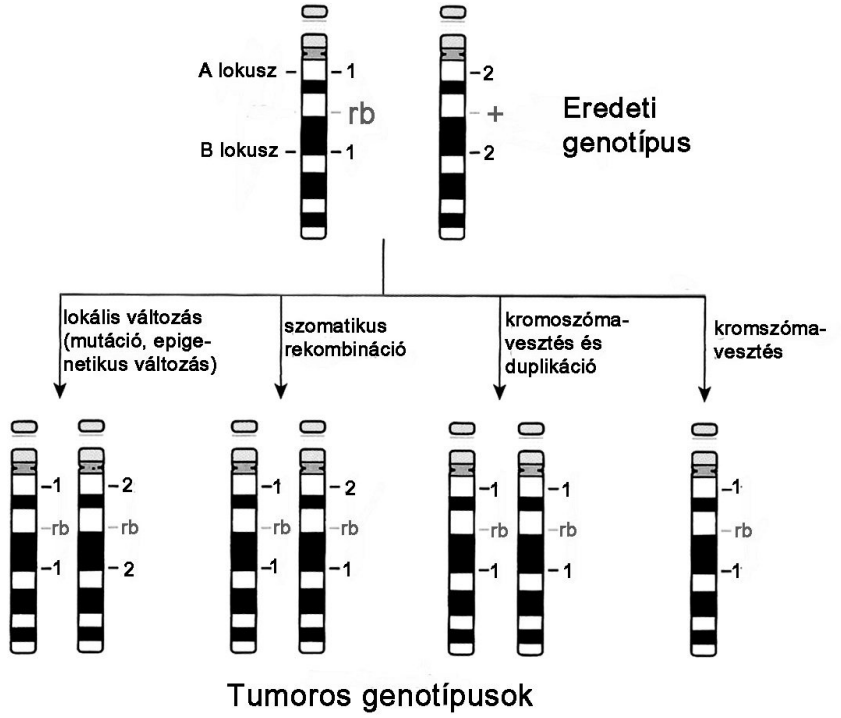
11-6. ábra

Öröklődő és sporadikus daganatok képződése

Figyeljük meg: nem az *rb1* (mutáns gén) domináns, hanem a családfa-kép!

Retinoblasztóma – dominánsan öröklődő rosszindultú daganat. Az estek 40%-a öröklődő, 60%-a sporadikus. Az öröklődő hiba az *RB1* (retinobasztóma1) gén funkcióképtelen alléljére heterozigóta állapot. Az ép allél nagy valószínűség szerint a fejlődő retina kb. 10^6 sejtjének valamelyikében mutációt szenved vagy más módon elvész (11-7. ábra): *loss of heterozygosity* (*LOH*). A mindkét allél funkciójának elvesztése megindítja az érintett sejt tumoros átalakulását, és ennek szaporodásával a szemben kialakul a **retinoblasztóma** nevű malignus daganat. Az öröklött esetek 30%-ában mindkét szemben, 70%-ban az egyik szemben jön létre tumor. A kétoldali daganat 1 éves kor előtt, az egyoldali 20 és 30 hónapos kor között szokott megjelenni. A sporadikus esetek később lépnek fel, de rendszerint 5 éves kor előtt diagnosztizálják. A kétoldali daganatok csaknem mind öröklöttek, de nem minden öröklött változat jár kétoldali daganattal. A retinoblasztómát operációval el kell távolítani, különben a gyermek halálát okozza (agyi metasztázis). A műtét kevés kivételtől eltekintve az érintett szem eltávolítását jelenti, de korai felfedezés esetén a daganat lézeres roncsolásával alkalmasint megőrizhető elég nagy látótér. (Ezen túlmenően szükség van a daganatoknál megszokott utókezelésekre, és fokozottan figyelni kell az érintetlen szemet, mert sokszor abban is kifejlődik újabb daganat. Az *RB1* gén hibája miatt nemcsak retinoblasztóma, hanem más tumorok (me-

zenchimális szövetekből induló: csontszarkóma, fibroszarkóma, melanoma) is kialakulhatnak, ezek rendszerint felnőtt korban jelennek meg.



11-7. ábra

Az *RB1* gén ép példánya elvesztésének mechanizmusai heterozigótákban

\+ = ép *RB1* allél, *rb* = mutáns, ill. funkcióképtelen allél. A felső sorban az *RB1* génre heterozigóta egyén két 13-as kromoszómája. A 13q14 régióban található alléleknek a két homológon eltérő környezetét az *A* és *B* lokuszokkal szemléltetjük. Az egyik kromoszómán 1 - 1, a másikon 2 - 2 jelzi, hogy a homológok *A* és *B* lokuszán különböző allélek lehetnek. Ezek segítségével tudjuk szemléltetni, hogy történt-e crossing over vagy sem. Az alsó sorban a heterozigóta állapot megváltozásának, a mutáns *rb1* homozigótává, ill. hemizigótává alakulásának lehetséges módozatait mutatjuk.

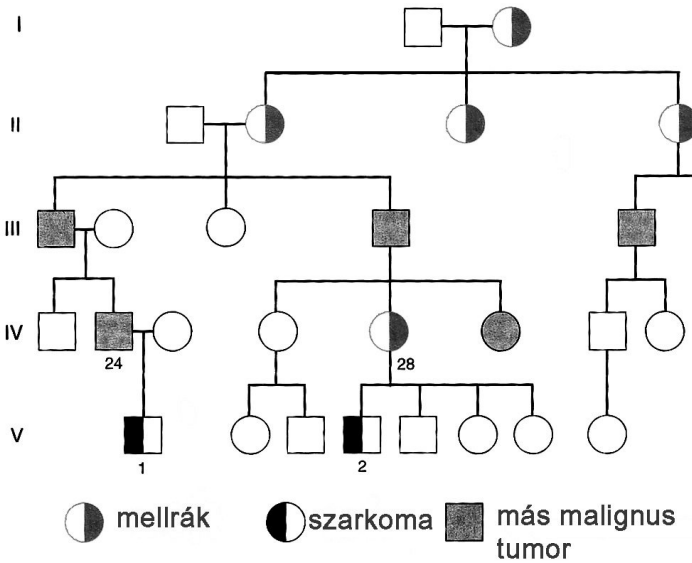
A lehetőségek:

1/ Lokálisan mutáció vagy epigenetikus elnémítás: *RB1→rb1*.

2/ Szomatikus rekombináció – a mutáns allélt hordozó kromoszómáról a mutáns *rb1* és *B1* allél átkerült a homológ kromoszómára, az ép *RB1* allél elveszett.

3/ Az ép *RB1* allélt hordozó kromoszóma elveszett, a másik megduplázódott. (UPD-nek [uniparentális diszómiának] megfelelő állapot.)

4/ Elveszett az ép *RB1* allélt hordozó kromoszóma, csak a homológ pár másik tagja maradt meg.



11-8. ábra

Li-Fraumeni szindróma családfája

(Nem abban az értelemben szindróma, mint azt a klinikumban szokás használni, hanem különböző manifesztációk azonos génikus alapon.)

Li-Fraumeni szindróma – a *TP53* gén károsodása. Vannak ritkán előforduló „rákos családok", akiknél a családtagok a malignus daganatok nagyon különböző formáiban szenvednek. Ezekre a családokra vonatkozóan használják a Li-Fraumeni szindróma megjelölést. (Míg a szokásos klinikai nyelvben a „szindróma" szó egy beteg tünetegyüttesét jelöli, itt egy furcsa, családi tumorhalmozódás elnevezése.) Oka a *TP53* gén funkcióképtelen mutáns változata, mely nagyon sokféle daganat kialakulásához vezet. Mivel tumorszuppresszor gén hibájáról van szó, ennek hatása is látszólag dominánsan öröklődik. Hasonlóan az *RB1* génhez a *TP53* gén heterozigóta állapota is a sejtosztódások során egyes sejtekben könnyen elvész, ezért a heterozigótákban az esetek nagy többségében előbb-utóbb malignus tumorok fejlődnek ki. Akik örökölték a hibás allélt azokban mellrák, szarkóma, és más rosszindulatú daganatok különféle formái alakulnak ki (11-8. ábra). A tumorok sokfélesége egyértelműen mutatja, hogy milyen sokféle sejtben milyen alapvetően fontos szerepe van a p53 fehérjének a sejtosztódás szabályos menetének biztosításában. Emberben a sporadikus malignómák nagyobb hányadában is kimutatható a p53 funkcióvesztése.

Familiáris emlőrák – mutációk a *BRCA1* és *BRCA2* génekben. (BRCA a *breast cancer*-ből.) Az észak-amerikai és nyugat-európai nők kb. 9%-ában fejlő-

dik ki emlőrák életük során. Vannak családok, melyekben halmozottan fordul elő ez a daganatféleség. Az emlőrákok kb. 20%-ában lehet génikus okból fokozott hajlamot feltételezni, de ezek döntő többsége multifaktoriális természetű. Csak egy kis hányadukban mutatkozik domináns mendeli öröklődésű génhiba. A fiatalabb korban kezdődő familiáris emlőrákok felében-harmadában két gén a *BRCA1* és a *BRCA2* egyikének a mutációja áll. A két gén öröklött mutációja együttesen az összes emlőrák kevesebb mint 5%-áért felelős.

A *BRCA1* és a *BRCA2* mutáns változatainak öröklődése a családfán dominánsnak látszik, éppúgy mint az *RB1* és *TP53* mutációjáé. A heterozigótaság elvesztése itt valamivel kisebb valószínűséggel következik be, mint az említett két gén esetében. A mutáns allélt hordozó nők 45-60%-ában fejlődik ki emlőrák (70 éves korig követve). A *BRCA1* gén öröklött mutációja miatt a nőkben emlőrák (40-87%), és/vagy petefészekrák (16-63%), férfiakban prosztatarák (kb.25%), a *BRCA2* gén öröklött mutációja miatt nőkben emlőrák (28-84%), ováriumrák (kb.27%), férfiakban emlőrák (! 6-14%), prosztatarák (kb.20%) szokott kialakulni.

A *BRCA* gének mutációja a sporadikusan kialakuló emlőrákokban is létrejön, de itt a génhiba nem öröklött, hanem szomatikus sejtekben történt mutáció következménye. Mivel két génről van szó, két független mutációnak kell létrehoznia a két mutáns allélt.

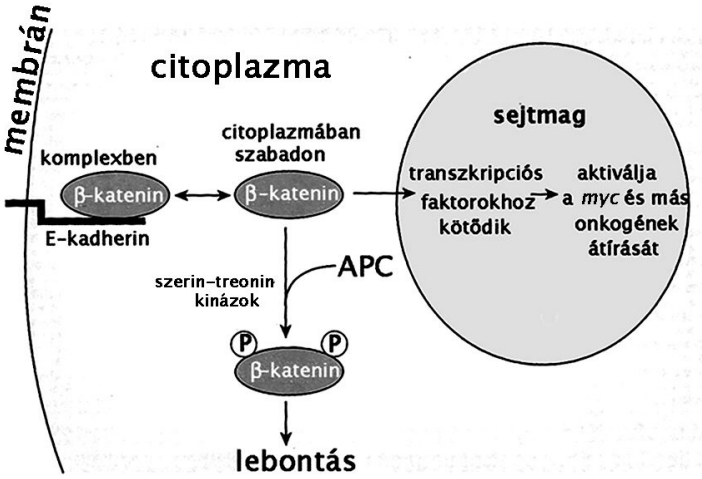
A *BRCA1* és a *BRCA2* gének által kódolt fehérjék, mint azt fentebb már említettük, a mismatch repair rendszer komponensei, azaz a „karbantartók" közé tartoznak.

Familiáris adenomatózus vastagbél polipózis

(*Familiar adenomatous polyposis* = FAP) – az *APC* gén funkcióvesztése. Az *APC* gén mutációjára heterozigótákban az élet első két évtizedében igen nagy számú (100-1000) adenomatózus polip alakul ki a vastagbélben. Ez prekancerózis (rákelőző) állapot, e polipok közül előbb vagy utóbb egy vagy több rákosan elfajul. Ezért az ilyen betegeknek a rák megelőzése érdekében kioperálják a vastagbelét. A családban előforduló hasonló kóros állapot esetén megvizsgálják az egészséges családtagokat is, hogy nincs-e polipózis a vastagbélben (100 vagy több polip előfordulása diagnosztikus). Ugyanezen gén hibájához egyes esetekben más rendellenességek is csatlakoznak: állcsont-oszteóma, dezmoidok (hasfalból kiinduló izomtumorok). Ezt a kórformát *Gardner szindróma*nak nevezik. Azt nem tudják, hogy ugyanazon génhibához miért kapcsolódik egyes esetekben ezeknek a járulékos daganatoknak a kialakulása, és más esetekben miért nem.

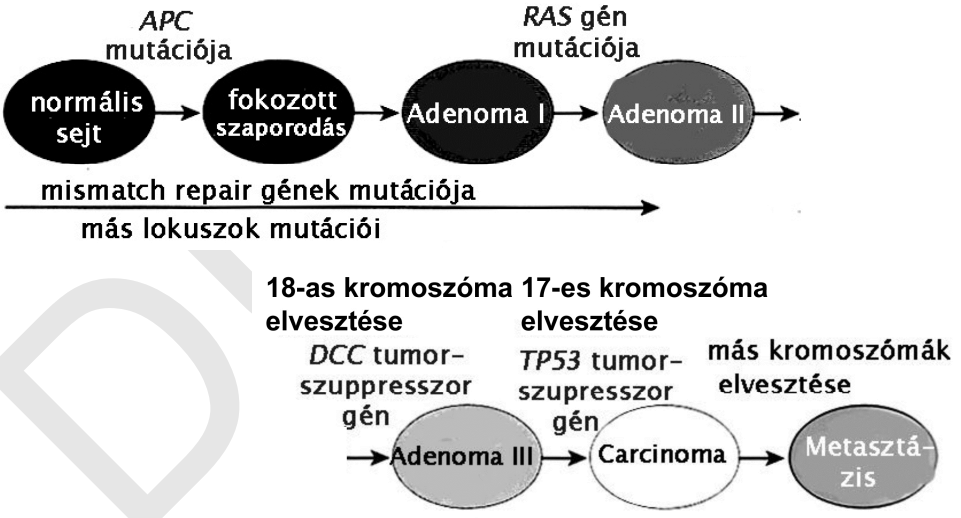
Az *APC* gén mutációjára heterozigóták esetén a vastagbél hámjának kriptáiban egy második mutáció következtében az ép allél is megváltozik, funkcióképtelenné válik. Ennek következtében túlszaporodnak a kripta sejtjei, adenomatózus polipokat hoznak létre. Ezek még jóindulatú tumornak felelnek meg. A sejtosztódás felgyorsulása azért következik be, mert a citoplazmában a szabad β-katenin a sejtmagba lépve aktiválja a *MYC* és hasonló protoonkogének transzkripcióját. Az APC fehérje kötődik az E-kadherinnel komplexben nem lévő szabad β-kateninhez és elősegíti annak foszforilációját, ezzel a

lebontását. A bontás elmaradása, ill. lassulása a szabad β-katenin felszaporodásához vezet és ez a felszaporodás indítja el a daganatképződést (11-9.ábra). Ennek megfelelően találtak olyan sporadikus eseteket, melyekben az *APC* gén ép volt, a hibát a β-katenin túlzott termelődése jelentette. A rákos elfajulás itt is egy újabb mutáció következménye, mely teljesen felborítja az osztódás szabályozását. (11-10. ábra).



11-9. ábra

Az APC fehérje szerepe a sejtosztódás fékezésében



11-10. ábra

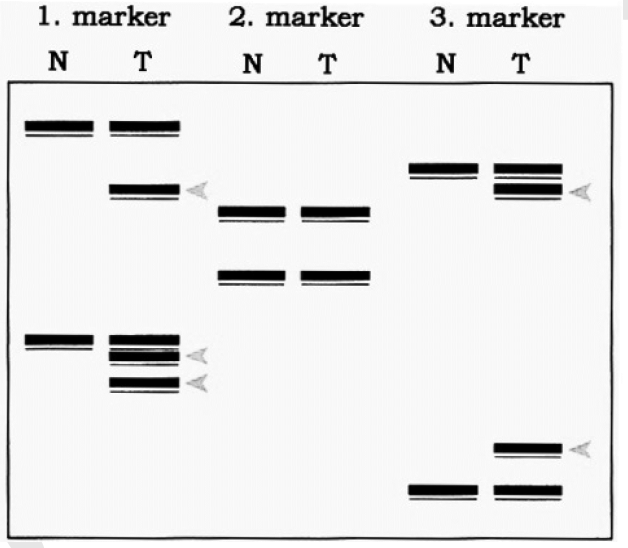
A vastagbélrák kifejlődése:familiáris vastagbél polipózisban

Az egymást követő főbb gén- ill. kromoszómaváltozások szerepe az egyre előrehaladottabb állapotok létrejöttében.

Herediter nem polipózus vastagbélrákban a

mismatch repair gének mutációi **(*hereditary nonpolyposis colon cancer* = HNPCC).** A vastagbélrákok 2-4%-át jelenti ez a forma. A rák felnőtt korban alakul ki. A családfa autoszomális domináns öröklődésre utal. Ugyanaz a helyzet mint a többi funkcióvesztéses mutáció látszólagos dominanciájával: a heterozigótaság elvesztése – mely egy-egy sejtben következik be –, indítja el a tumorképződést. Férfiaknál a heterozigótaság kb. 90% kockázatot jelent az élet folyamán a rákra, nők esetében ez a kockázat kb. 70%. Hat különböző mismatch repair gén mutációját találták az öröklődés hátterében. Ezek közül az esetek döntő többségében három szerepel: *MLH1, MSH2* és *MSH6.*

A mismatch repair működésének károsodása a rákosan elfajult sejtekben mutációk felszaporodásához vezet. Ezt a mikroszatellita DNS-ek esetén legkönnyebb kimutatni. Rákosan elfajult sejtekben új allélek jelennek meg az ép testi sejtekben található allélváltozatok mellett. A felszaporodó mutációk következtében felgyorsul a daganatsejtek génállományának eltérő irányokban történő változása. Egymástól különböző klónok sokasága jön létre, és a daganat egyre agresszívebbé válik.



11-11. ábra

3 mikroszatellita marker vizsgálata HNPCC-ben
N = normális testi sejt, T =tumorsejt. A nyílhegyek a tumormarkerekre mutatnak.

Recesszíven öröklődő daganatképződési hajlam más tumorszuppresszor „karbantartó" gének esetén

A ***xeroderma pigmentosum*** az excíziós repair valamelyik enzime/fehérjéje funkcióvesztéses mutációjának következménye. A hiba: a javítórendszer nem képes kivágni a DNS-ből az UV-sugárzás okozta pirimidin-diméreket tartalmazó láncszakaszt. (Az excíziós repair nemcsak az UV hatására létrejött károsodások,

hanem a sejteken belüli oxigén-szabadgyökök okozta DNS-sérülések javításában is nélkülözhetetlen.) A kijavítatlan károsodás miatt legtöbbször fontos gének transzkripciója szenved zavart és ez sejtpusztuláshoz vezet. (Kisebesedik a bőr, a seb heggel gyógyul, a bőr száraz, barnán pöttyözött.) Ez a kisebb baj. A károsodás kijavításának elmaradása egyes esetekben mutációkhoz vezet. A mutációk egy ré-sze a sejtosztódás szabályozásának megzavarodását okozza. Az ilyen mutációk következménye bőrrák. Rákosan elfajuló daganatkezdeményből több is lehet a napfénynek kitett bőrben.[41]

A látható bőrelváltozások mellett az esetek kb. egyötödében folyamatos neuron-degenerációs változások is zajlanak. (Mivel az idegrendszert nem éri napfény, a szabadgyökök okozta oxidációs károsodások állhatnak a háttérben.)

A xeroderma pigmentosum recesszíven öröklődik, a heterozigóták egészségesek. A mendeli genetika fogalomrendszerében a javító rendszer génjei felfoghatók mint komplementerek, de értelmezhetők recesszív episztatikus génekként is.

Kromszóma instabilitásos kórképek – kromoszómák épségét védő gének meghibásodása

Az ***ataxia-teleangiektázia*** idegrendszeri zavarokkal, ataxiával (összerendezetlen izommozgások), teleangiektáziával (kitágult, kanyargós kapillárisokból álló érdaganat a bőrben) jellemezhető kórkép. Az ebben szenvedő betegek kromoszómái törésekre hajlamosak, általában genetikai instabilitás jellemzi az egyént. Már korai életkorban jelentkeznek rosszindulatú daganatok, gyakran limfoid leukémia. Az öröklött változás az *ATM* génben van. (Az A,C, D és E komplementációs csoportba tartozó mutációk a 11q22.3 kromoszóma-régióban, feltehetően egyetlen génen belül vannak. – Génen belüli komplementáció?) γ-sugárzás hatására mutáns homozigótákban nem emelkedik meg – mint az a normális sejtekben megfigyelhető – a p53 fehérje koncentrációja, és a GADD45 fehérje szintjének emelkedése is elmarad. A vad típusú *ATM* gén terméke DNS károsodás esetén az őrpontok valamelyikével együttműködve a p53 fehérje indukciójával késleltetve a sejtciklus előrehaladását, időt biztosít a repairnek, óvja a kromoszómák épségét, gátolja mutációk bekövetkezését.

A ***Bloom-szindróma*** a növekedés arányos visszamaradásával, napfény iránti érzékenységgel, a bőrön hipo- és hiperpigmentált területekkel jár. Kromoszóma-instabilitás és ennek következtében malignus daganatok kifejlődése jellemzi. A hibás gén a *RECQL3* (15q26.1), mely az E.coli RecF rekombinációs rendszerének *RecQ* génjével rokon. Eukariótákban – így emberben is – a kromoszómák épségének megőrzéséhez szükséges egyik repair folyamatban játszhat szerepet.

A ***Fanconi anémia*** genetikailag és klinikailag is egyaránt heterogén kórkép. Legalább 8 különböző fehérjéből álló repair feladatokat ellátó komplex funkcióvesztése okozza (ezen fehérjék bármelyikének a kiesése az egész működését lerontja). A *FANCA* (16q24.3) gén működésének kiesése minden esetben kimutatható. A gén terméke ismereteink szerint a DNS két szála közötti keresztkötések kijavításában működik

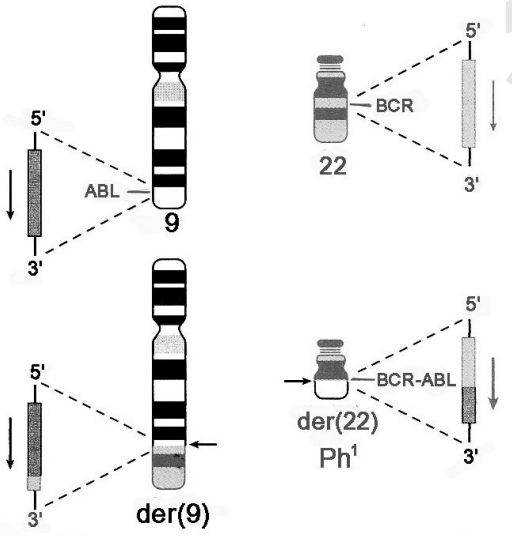
[41] A túlzott insolatio xeroderma pigmentosumban nem szenvedők bőrében is vezethet daganatok kialakulásához.

közre, mivel a beteg sejtjei (*in vitro*) fokozottan érzékenyek DNS-ben keresztkötéseket okozó ágensekre. Hibájának következménye a genom instabilitása. Fejlődési rendellenességek (csontváz, vesék, bőr, szív), 5 éves kor körül kezdődő fokozódó csontvelő alulműködés (páncitopénia = a vér minden alakos elemének csökkent száma) és korai életkortól kezdődően rosszindulatú daganatok (leukémia, rákok) kialakulása jellemzi.

A DNS javítás itt felsorolt rendellenességeinek közös jellemzője az **SCE** (*sister chromatid exchange* = testvérkromatid kicserélődés) **frekvencia megemelkedése** mitotikus sejtekben. (L. még a 2. fejezetben.)

Aktivált onkogének sporadikus daganatokban

Aktiválás kromoszóma transzlokációval. Az onkogének mutációval jönnek létre protoonkogénekből. Néhány esetben a protoonkogén megsokszorozódott kifejeződése kromoszóma-mutáció, rendszerint transzlokáció következménye. Eddig több mint 40 transzlokációt írtak le sporadikusan előforduló rosszindulatú daganatok okozójaként.



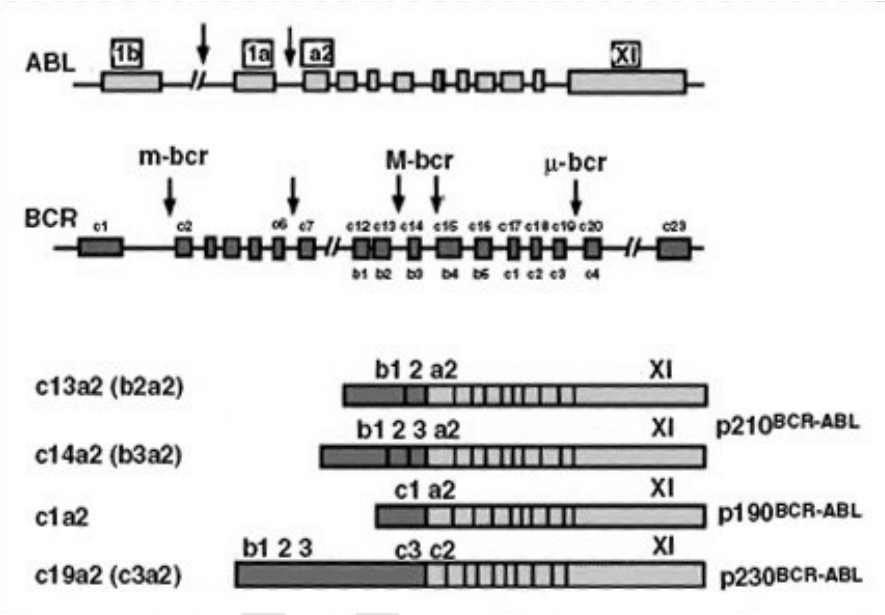
11-12. ábra

A Philadelphia (Ph) kromoszóma kialakulása a 9-es és a 22-es kromoszóma hosszú karja között végbemenő reciprok transzlokációval

Töréspontok az *ABL* és *BCR* génekben. *BCR-ABL* fúziós gén létrejötte. (A Ph^1 a Philadelphia kromoszóma régebbi jelölése, a der derivált származékra utal.)

Egyik legismertebb tumort okozó génátrendeződés a Philadelphia kromoszóma kialakulása a 22-es és 9-es kromoszóma között történt reciprok transzlokációval. A 9-es kromoszóma tirozinkináz aktivitással működő protoonkogénje az *ABL* és a 22-es ismeretlen funkciójú, nagy frekvenciával átírt *BCR* génje fuzionál a lehetséges töréspontok valamelyikénél kettészakadva és a másik kromoszóma törvégével összekapcsolódva (11-12. ábra). A fúziós (kiméra) fehérje hosszabb az eredeti proto-

onkogén fehérjénél (11-13. ábra), és tirozinkináz aktivítása fokozott, nem igényel ligandot a bekapcsolása. Az a sejt, amelyik ezt a Philadelphia kromoszómát hordozza és termeli a felfokozott tirozinkináz aktívítású onkogén fehérjét, tumorsejtté válik. A Philadelphia kromoszóma mieloid leukocitákban szokott kialakulni, és ez okozza a *chronicus myeloid leukaemiá*t (CML). A nem tumoros fehérvérsejtekben nincs transzlokációs kromoszóma, a Philadelphia kromoszóma csak a leukémiás tumorsejtekben található meg (a csontvelőben, de akárha a keringésben is), mint **marker kromoszóma**.



11-13. ábra

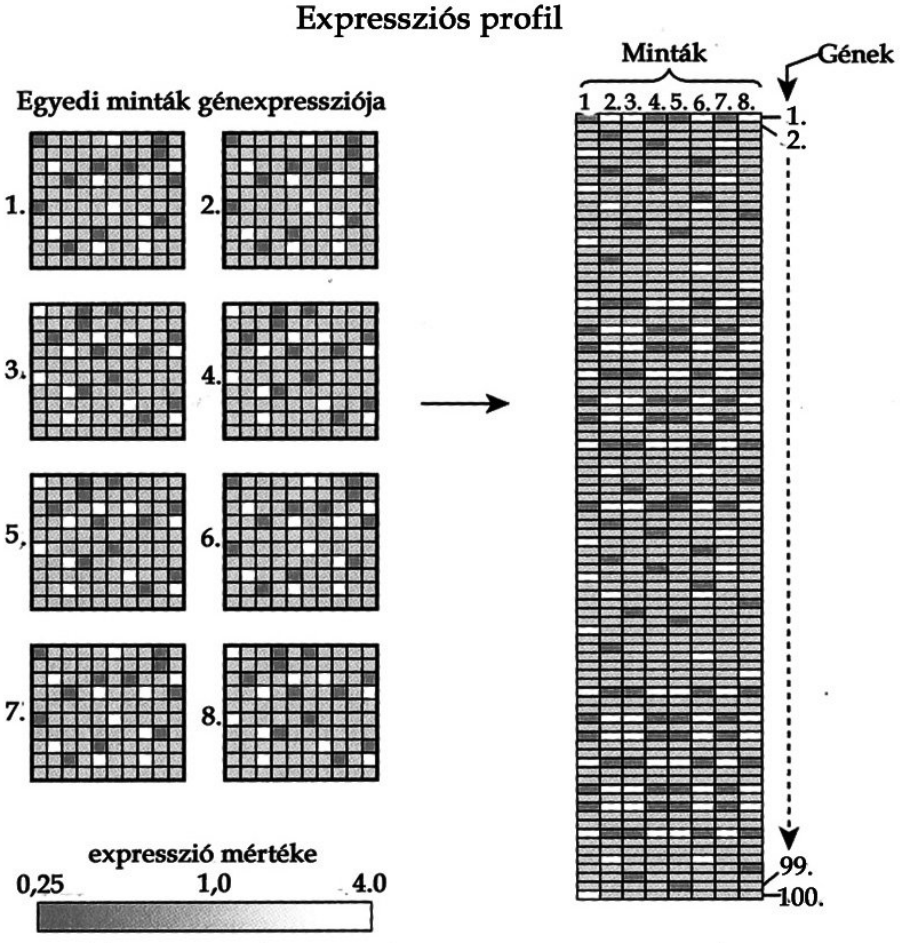
Az *ABL* és *BCR* gének fúziója a Philadelphia kromszómában

A nyílak a vágás-áttoldás lehetséges helyeit mutatják. Az *ABL* génben kettő, a *BCR* génben öt lehetséges hasítási-toldási pont van. Ennek megfelelően négy különböző fúziós fehérje jöhet létre.

***Burkitt limfóma* – t(8;14)(q24;q32).** Ez a transzlokáció a 8-as kromoszómán található *cMYC* protoonkogént helyezi a 14-es kromoszóma immunglobulin nehézlánc gén expressziót fokozó ellenőrzése alá, teszi ezáltal onkogénné. A MYC onkogén fehérje hatására B-sejt tumor fejlődik ki. Előbb a nyaki nyirokcsomók nagyobbodnak meg, majd a rosszindulatú daganat az állkapocsban fejlődik ki. Afrikában, gyermekekben gyakori, ezt összefüggésbe hozzák az Epstein-Barr vírussal. Észak-Amerikában egy vírussal kapcsolatba nem hozható változata fordul elő.

Antiapoptotikus fehérje túltermelődése a follikuláris B-sejt limfómában. Az is vezethet rosszindulatú sejtátalakuláshoz, ha egy apoptózist gátló fehérje hibája miatt nem pusztul el programozott sejthalállal az a sejt, amelyiknek szabályozó rendszere súlyosan károsodott. A 18-as kromoszóma 18q21 régiójában található

antiapoptotikus *BCL* gén transzlokációval áthelyeződhet a 14q32 régióba, és ott az immunglobulin nehéz lánc szabályozó régiója irányítása alá kerül. Ez nagymértékben fokozza expresszióját. A BCL fehérje fokozott expressziója nem engedi apoptózis által elpusztítani azokat a károsodott sejteket, melyek életben maradva tumorosan elfajulnak. Mivel ez a transzlokáció B-sejtekben következik be, **B-sejtes limfómá**t okoz. Ezt a leukémiát follikuláris B-sejt limfomának nevezzük.



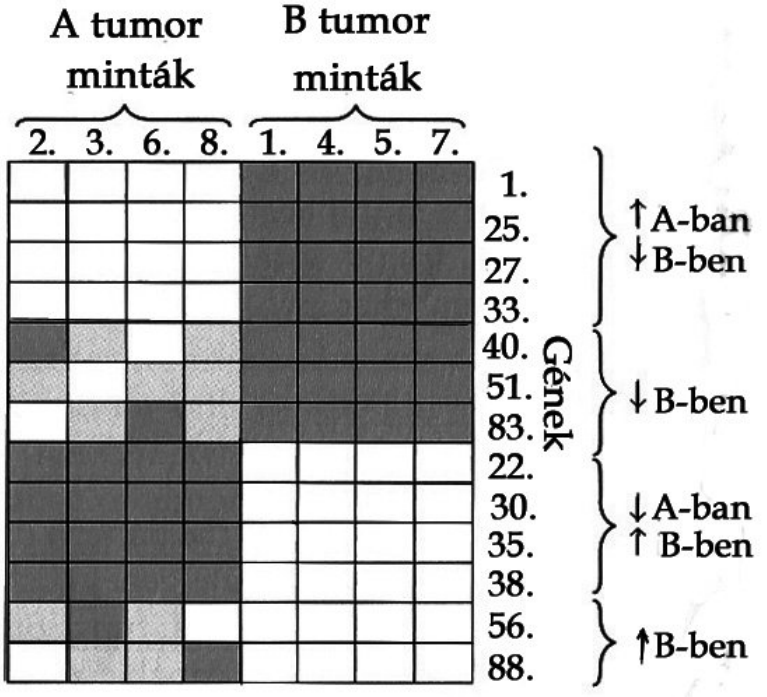
11-14. ábra

Expressziós profilok elkészítése daganatok mintáiból

Az egyes gének kifejeződésének mértéke. Bal oldalon az egyes DNS chipeken látható fluoreszcenciák; jobb oldalon az egyes gének sorba rendezett expressziója 1.-től 100.-ig.

Gén-szignatúra – A daganatok tipizálása az expresszált gének spektrumának vizsgálatával.

Tekintettel arra, hogy a daganatsejtek génállománya, kromoszómakészlete viszonylag gyorsan és eltérő irányokban változik, az állapot felméréséhez és a terápia tervezéséhez nem elegendő a daganatok szövettani vizsgálata. Jellegzetes genetikai állapotukról kell információt szereznünk. Legegyszerűbben a génexpressziós profil vizsgálatával nyerhetünk képet erről. Ez azt jelenti, hogy DNS chip segítségével vizsgáljuk milyen gének milyen mértékben fejeződnek ki a daganatban: A daganatból mintát veszünk, a minta sejtjeiből kivont teljes RNS-állományt fluoreszcens festékkel jelölve hibridizáltatjuk a chipen lévő génekkel, Az eredményt kiértékelve a fokozottan ill. csökkent mértékben kifejeződő gének spektruma alapján tipizáljuk az adott daganatot. A géneket kifejeződésük mértéke alapján csapatokba (*cluster*-ekbe) rendezzük A nagyobb ill. kisebb mértékben kifejeződő gének csapatai adják meg az egyes daganatok terápiás és prognosztikai jellemzését (ezt nevezik angol nyelvterületen „*signature*”-nek). Az egyes típusokat nem elméleti, hanem tapasztalati alapon értékeljük. Ha a tipizálásnak megfelelő eljárásokat alkalmazzuk a kezelésben, nagyobb eséllyel lesz eredményes a gyógyítás.



11-15. ábra

Expressziós profilokból összeállított A és B klaszterek

Ezek jellemezhetők azzal, hogy melyik géncsapat kifejeződése fokozott és melyiké csökkent a normális szövethez képest.

Összefoglaló táblázat:
A jegyzetben szereplő, daganatos transzformációt elindító gének

Géncsalád – gén	Funkciója	Változás iránya	Daganat
Protoonkogén/onkogén			
RET	tirozinkinázos receptor	funkciónyerés	multiplex endokrin tumor, pajzsmirigyrák
MET	hepatocita GF -- receptora	funkciónyerés	hepatocelluláris rák vesesejt rák
RAS	jeltovábbító G-protein	funkciónyerés	hólyagrák, pajzsmirigyrák
MYC	transzkripciós faktor (sejtosztódást serkentő)	funkciónyerés	Burkitt limfóma
ABL	nem-receptor tirozinkináz	funkciónyerés	krónikus mielogén leukémia
Tumorszuppresszor "kapuőr"			
RB1	sejtosztódást gátló	funkcióvesztés	retinoblasztóma, csontszarkóma, stb.
TP53	sejtosztódást szabályozó	funkcióvesztés	szarkómák, emlőrák, +más malignómák
Tumorszuppresszor "karbantartó"			
BRCA1	mismatch repair komponense	funkcióvesztés	emlőrák, petefészekrák, prosztatarák
BRCA2	mismatch repair -- komponense	funkcióvesztés	emlőrák, petefészekrák, prosztatarák
MLH1, MSH2, MSH6	mismatch repair komponensei	funkcióvesztés	nem polipzisos vastagbélrák
APC	szabad β-katenin inaktíválása, bontása	funkcióvesztés	polipozis+ vastagbálrák
Antiapoptotikus gén			
BCL	apoptózis gátlása	funkciónyerés	follikuláris B-sejt limfóma

12. fejezet

Populációgenetika

A populációgenetika kvantitatív tudomány, mely a genetikai variációk megoszlását, az allélek és genotípusok gyakoriságainak fenntartását vagy változását vizsgálja a populációkban. Tárgyal genetikai tényezőket, mint pl. a mutáció és a reprodukció, valamint környezeti, társadalmi tényezőket, mint pl. a szelekció és a migráció, amik együttesen határozzák meg az allélek és genotípusok eloszlását. A **gének populációbeli viselkedésének matematikai leírása** az **antropológiában** és **evolúció-biológiában** is használatos, a humángenetikában pedig olyan kérdések kutatására alkalmas, mint **az emberi populációk genetikai szerkezete és története**, a **gének áramlása a populációk ill. a generációk között**, továbbá a **gyakori betegségek iránti hajlam genetikai tényezőinek azonosítás**ára szolgáló optimális módszer megtalálása. **Genetikai tanácsadásban a kockázatok számítás**ában szintén szükséges.

A továbbiakban az ideális és reális populációkról, a populációgenetika központi elvéről, a **Hardy-Weinberg egyensúly**ról, ennek feltételeiről és az egyensúlytól való eltérést okozó tényezőkről, végül a betegség-gének egyes csoportokban észlelt eltérő gyakoriságához vezető okokról szólunk.

A HIV (Humán Immundeficiencia Vírus) rezisztencia allél gyakoriságának direkt számítása

E tulajdonság jó modell lehet, mivel a meghatározásában egyetlen autoszomális gén 2 allélje vesz részt. A HIV az AIDS (*Acquired Immunodeficiency Syndrome*) okozója. Az ép *CCR5* gén sejtfelszíni citokin receptort kódol, ami bizonyos HIV törzsek sejtbe jutásához szükséges. E génnek létezik egy 32 bp-nyi deléciós változata is (Δ*CCR5*), amely kereteltolás miatti korai termináció révén funkcióképtelen fehérjét eredményez. A Δ*CCR5* allélre homozigótákban nem expresszálódik a receptor, ezért rezisztensek a HIV fertőzésre. Úgy tűnik, ez a deléció benignus, mivel a HIV rezisztencia az egyetlen észlelt fenotípusos következménye.

A két allél PCR-rel könnyen megkülönböztethető, és 788 európai egyén vizsgálatával 647 *CCR5*/*CCR5*, 134 *CCR5*/Δ*CCR5*, és 7 Δ*CCR5*/Δ*CCR5* genotípust találtak. Ebből az allélgyakoriságokat közvetlenül meghatározhatjuk, egyszerűen csak összeszámlálva az alléleket. Az egyes allélek számát a génkészlethez viszonyítjuk, ami (erre a lokuszra) a populációban meglévő minden allél összegzett számát jelenti. Autoszomális lokusz esetén a génkészlet mérete az egyedszám kétszerese. Tehát a *CCR5* allél gyakorisága:

$$\frac{2 \times 647 + 1 \times 134}{2 \times 788} = 0{,}906$$

A Δ*CCR5* allél gyakoriságát kiszámíthatjuk hasonlóan, vagy egyszerűen az előzőét 1-ből kivonva is, mivel csak ez a 2 allél létezik, gyakoriságuk összege 1-gyel egyenlő.

A Hardy-Weinberg törvény

Az előzőek szerint a genotípusok szám szerinti megoszlásából meghatározhatók az allélfrekvenciák. Megtehetjük ezt fordítva is? Ha ismerjük az allélgyakoriságokat, meg tudjuk-e mondani, a populáció mely hányada tartozik egy adott genotípusba? Erre az egyszerű, ún. Hardy-Weinberg egyenletek akkor adnak lehetőséget, ha a populáció bizonyos feltételeknek megfelel. Ezeken az egyenleteken alapul a hasonló nevű törvény megfogalmazása.

A **Hardy-Weinberg törvényt az ún. ideális populációra vezették le**, ami a következő követelményeknek felel meg:

- A populáció egyedszáma végtelenül nagy.
- A nemek aránya egymással azonos és a párválasztás véletlenszerű.
- Nincs mutáció.
- Nincs szelekció (minden genotípus egyformán szaporodóképes).
- Nincs migráció (be- vagy kivándorlás).

A Hardy-Weinberg törvénynek az egyensúlyi ideális populációkra nézve két kritikus összetevője van.

Elsőként az, amely szerint **az ideális populáció allélfrekvenciái és genotípus-frekvenciái egyszerű matematikai összefüggésben** állnak. Ezt a Hardy-Weinberg egyenletek írják le. Az első: ha egy lokuszra csak 2 allél létezik: a ***p*** gyakoriságú *A* és a ***q*** gyakoriságú *a*, véletlenszerű párosodáskor annak esélye, hogy *AA* genotípusú utód keletkezzen: $\boldsymbol{p}^2$, az *aa* genotípusé $\boldsymbol{q}^2$, az *Aa* genotípusé pedig ***2pq***. (A 2-es szorzó itt azért van, mert ***pq*** eséllyel az *A* allél jöhet az apától, az *a* pedig az anyától, de ugyancsak ***pq*** eséllyel fordítva is lehet.)[42] Így itt a teljes eseményrendszert jelentő *AA*, *Aa* és *aa* genotípusok gyakorisága a binomiális eloszlás szerint $(\boldsymbol{p}+\boldsymbol{q})^2=\boldsymbol{p}^2+2\boldsymbol{pq}+\boldsymbol{q}^2=1$ formában adható meg. Egy másik Hardy-Weinberg egyenlet az allélgyakoriságokra vonatkozik, és azt fejezi ki, hogy az összegük 1 (a 2 alléles példában: $\boldsymbol{p}+\boldsymbol{q}=1$).

Maga **a törvény szerint** az egyensúlyi **ideális populációban az allél- és genotípus-gyakoriságok nem változnak a generációk egymásutániságában**. Másképpen: minden generáció genotípus-eloszlása ugyanazzal a képlettel írható le.

A *CCR5* gén példáját tekintve megvizsgálhatjuk, mennyire felel meg a vizsgált populációs minta a Hardy-Weinberg egyenleteknek. A korábban kiszámolt allél-

[42] Megjegyzendő, hogy ebben a fejezetben az „esély”-t a valószínűség szinonímájaként használjuk (mint a köznyelvben), bár a valószínűség-elméletben ezeknek eltérő definíciója van.

gyakoriságokat behelyettesítve a p^2, $2pq$ és q^2 kifejezésekbe, majd ezeket beszorozva 788-al, pontosan megkapjuk a mintában DNS vizsgálattal talált genotípusok számát! Ez azt jelenti, hogy bár az emberi populáció sok tekintetben nem felel meg egy ideális populációnak, mégis bizonyos esetekben elég jól közelítheti azt.

A Hardy-Weinberg egyenletek kiterjesztése több allélre nagyon egyszerű: 3 allélnél $(p+q+r)^2$, ahol p, q és r a 3 allél gyakorisága, tetszőleges (ismert) számú allélnél pedig $(p_1+p_2+p_3+...p_n)^2$, ahol $p_1, p_2, p_3, ...p_n$ jelöli az allélfrekvenciákat.

A Hardy-Weinberg törvény alkalmazása autoszomális recesszív betegségekben

Ha nem ismerjük az allélgyakoriságokat és a genotípus megoszlást sem, csupán a fenotípus gyakoriságok adottak (pl. egy bizonyos monogénes autoszomális recesszív betegségben, mondjuk az I-es típusú PKU-ban érintettek aránya a populációban), akkor is kiszámíthatjuk az előbbieket. Az újszülötteknél végzett PKU szűrésnek köszönhetően a magas fenilalanin vérszinttel rendelkezők gyakoriságáról pontos adataink vannak. Ezen fenotípusúak gyakorisága megegyezik a homozigóta recesszívek frekvenciájával, ami a Hardy-Weinberg képletek szerint q^2-tel egyenlő. Ebből számítható a q (a recesszív allél gyakorisága), és mivel $p = 1-q$, ezekből az összes genotípus egyensúlyi populációs frekvenciája meghatározható (ha nincs jelentős torzító tényező, amelyek hatását l. alább). Ez a tünetmentes heterozigóták számának becslése szempontjából fontos. Egyes országokban (etnikumokban) az allélgyakoriságok jelentősen eltérhetnek (pl. a PKU Írországban sokkal gyakoribb mint a finneknél), így a heterozigóták gyakorisága is jelentősen különbözhet. A PKU-ról még megjegyzendő, hogy a betegek inkább ún. „*compound*" heterozigóták szoktak lenni, azaz két eltérő hibás alléllel bírnak, mintsem valódi molekuláris homozigóták lennének. A populációban tehát több mint 2 allél van, de mivel hatásukban csak kétfélék, az összes hibás allélt egyetlen közös gyakoriság-értékbe összefoglalva is viszonylag kis hibával végezhetünk becsléseket.

A Hardy-Weinberg törvény alkalmazása X-hez kötött jellegek esetén

Ezen esetekben a nőknél a helyzet hasonló mint az autoszomális lokuszoknál, viszont a férfiaknak – hemizigóták lévén – csak kétféle genotípusuk lehet. A vörös-zöld színtévesztést X-hez kötött gének recesszív alléljei okozzák. A vasúti jelzőlámpáktól (és bizonyos elektrotechnikai jelzésektől) eltekintve nincs ismert szelekciós tényezője[43]. Az allélfrekvenciák azonosak a két nemben, hiszen az X kromoszómák szaporodáskor a férfiakból kizárólag a női utódokba, a nőkből pedig fele részben a fiaikba mennek. Az allélgyakoriságok meghatározása az X-hez kötött jellegeknél igen egyszerű, hiszen a férfiak fenotípus megoszlása megegyezik a genotípus megoszlásukkal (minden férfi egy-egy allélt reprezentál, ami ki is fejeződik). A férfiakra a $p+q=1$ egyenlet nem csupán az allélgyakoriságokra, hanem a genotípus-gyakoriságokra is érvényes. A férfiak fenotípusából kiszámolt allélfrek-

[43] A közutakon a jelzőfény elhelyezkedése (piros fent stb.) önmagában informatív.

venciák aztán alkalmazhatók a nőkre is, pl. a $2pq$ kifejezéssel megbecsülhető a hordozó nők aránya. Mivel 1-nél kisebb számok esetén $q>q^2$, az ilyen jellegekre jellemző, hogy sokkal gyakoribbak a férfiakban mint a nőkben.

A Hardy-Weinberg egyensúlyt megzavaró tényezők

Valóságos populációkban az ideális populáció számos kritériuma csorbulhat. Egyesek jelentősebben, mások csak kissé torzítják a populációs allél-, ill. genotípus frekvenciákat. Ha a párválasztás nem véletlenszerű, az pl. a homozigóta recesszívek gyakoriságára jelentősen kihat, míg a mutáció kevésbé, és sokszor a szelekció vagy migráció sem okoz markáns gyakoriság-változást. Ha a gyakoriságok szignifikánsan eltérnek a várhatótól, akkor igen tanulságos annak megértése, miért jönnek létre e különbségek.

Az irányított párválasztás hatása nagy populációkban. A véletlenszerű párosodás azt jelenti, hogy adott genotípusú egyedek a genotípusuk gyakoriságának megfelelő eséllyel párosodnak egymással. Haszonállatok és növények esetén könnyen belátható, hogy ott emberi szempontok szerinti kiválogatódás játszik szerepet**: mesterséges szelekció**. Ettől az emberi populációkban a rétegződés, a válogató (asszortatív) és a rokonok közti (konszangvinikus) párválasztás miatt láthatunk eltérést.

Rétegződés. A teljes népesség gyakran alcsoportokból áll, pl. az USA-ban az afro-amerikaiak és kaukázusiak, továbbá számos spanyol ajkú és ázsiai közösség, valamint őslakos indián. Ha a házasodás előszeretettel történik az ilyen közösségeken belül, akkor az a homozigótáknak a számítottnál nagyobb, a heterozigótáknak pedig kisebb valóságos gyakoriságát eredményezi. Pl. ha feltesszük, hogy a sarlósejtes béta-globin allélfrekvenciája az amerikai feketék között q_{min}=0,05, a fehéreknél pedig gyakorlatilag nulla, továbbá, hogy a afroamerikaiak a lakosság 10%-át teszik ki, akkor a teljes lakosságra az allélgyakoriság q_{tot}=0,005, és véletlenszerű párválasztás esetén a sarlósejtes anémiával születetteket q_{tot}^2= $2{,}5\text{x}10^{-5}$ eséllyel várnánk. Ha viszont a feketék és a fehérek csak a csoportjukon belül házasodnak, akkor a betegek q_{min}^2=$2{,}5\text{x}10^{-3}$ gyakorisággal születnének, de csak az afroamerikaiak között, ami a teljes (10-szer nagyobb) populációra vetítve $2{,}5\text{x}10^{-4}$ gyakoriságot jelentene, tehát a véletlenszerű párválasztás esetén várható értéknek a 10-szeresét.

Válogató (asszortatív) párválasztás. Ebben az esetben a partner kiválasztását annak valamely tulajdonsága (testalkata, intelligenciája, bőrszíne, zenei – vagy mondjuk – atletikus képessége stb.) lényegesen befolyásolja. A válogatás legtöbbször pozitív, ami azt jelenti, hogy a választó a hozzá hasonlót részesíti előnyben. Ha a preferált tulajdonság örökletes, akkor ez is a homozigóták dúsulását, egyben a heterozigóták ritkulását eredményezi.

Az autoszomális domináns öröklődésű *achondroplasia* nevű törpenövés esetén gyakori, hogy az érintettek egymás között keresnek párt, és emiatt utódaik közt a homozigótaság – amely itt súlyos, letális állapottal jár – meglehetősen nagy valószínűségű, holott véletlenszerű párválasztásnál alig fordulna elő.

Az olyan recesszíven öröklődő betegségeknél is fontos lehet a pozitív válogatási tényező, mint pl. a süketnémaság. Az ilyen személyek általában a speciális képzésükről gondoskodó intézményekben, azaz magukhoz hasonlók társaságában élnek. Homozigóta süketnémák gyakrabban születnek így, mivel két süketnéma minden gyermeke szintén süketnéma lesz, hacsak nem különböző génekben mutánsok a szülők. A gyerekekre nézve szerencsés utóbbi esetben nem allélikus, ugyanakkor hasonló hatásuk miatt **pszeudoallél**nek nevezett génekről van szó, de a jelenségre a **lokusz heterogenitás** fogalma is használatos.

Rokonházasság és beltenyésztés. A rokonok közti utódnemzés is bizonyos, sokszor szokatlan recesszív betegségek gyakoribb felbukkanásával jár, de itt a rétegződéssel ellentétben az allélgyakoriság egységes és inkább alacsony. Mindenkiben van valamilyen káros recesszív allél, de a házastársaké legtöbbször különböző lokuszokon, és így az utódokban is maradnak heterozigóta állapotban. Viszont mivel a rokonok ugyanazt a ritka (ezért betegséget csak elvétve okozó) allélt hordozhatják (egy közös felmenőjüktől örökölve), utódaik erre nézve gyakran homozigóták (betegek).

Emlékeztetünk itt a növénytermesztésben és állattenyésztésben ismert beltenyésztéses leromlás fogalmára.

A *Homo sapiens* estén beltenyésztés genetikai izolátumokban fordul elő, ahol másutt ritka betegségek csaknem olyan gyakorisággal jelentkezhetnek, mint az unokatestvérek házasságából. A beltenyésztésre a Tay-Sachs betegségnek az askenázi zsidók közti kb. 100-szor gyakoribb előfordulása szolgáltathat példát, de számos más közösség is ismert, amelyben bizonyos örökletes jellegek feltűnő gyakorisággal fordulnak elő (pl. Amishok az USA Pennsylvania államában).

Változó allélgyakoriságok. Genetikai sodródás (drift) kis populációkban. Kis populációkban egy adott genotípusú egyed túlélését, szaporodását az illető genotípus által meghatározott előnynél vagy hátránynál nagyobb mértékben befolyásolják egyéb, véletlen tényezők, események, amelyek hatása nagy populációknál kiegyenlítődik, itt viszont az allélgyakoriságok össze-vissza, tendencia nélküli ugrálását eredményezik generációról generációra, mígnem csupán az egyik (bármelyik) allél marad meg (fixálódik). Kis populációban tehát az allélgyakoriságok változnak, de nem szelekciós, hanem véletlen hatásra.

Ennek a jelenségnek szerepe volt (és alkalmasint máig lehet) a fajok kialakulásában, szétválásában. Ha egy alpopuláció egyedszáma jelentősen lecsökken, nem feltétlenül szelekciós tényezők változtatják meg benne a géngyakoriságokat, hanem alkalmasint a genetikai drift. Ennek oka sokféle természeti tényező lehet: egy kis részpopuláció elsodródik, elzáródik az anyapopulációtól, s már nem tud azzal visszakereszteződni, természeti katasztrófa (pl. éhezés) csökkenti minimálisra az alpopuláció egyedszámát stb. Ezt a jelenséget hívják az evolúció tanulmányozói **palacknyak** (*bottleneck*) **hatás**nak.

Mutáció és szelekció. Autoszomális recesszív jellegeknél mindkét tényező csak lassan, apránként változtatja az allélfrekvenciákat, így csak kis eltérést okoz a Hardy-Weinberg egyensúlytól. Ennek oka, hogy a legtöbb mutáns allél heterozigó-

tákban van, és a mutációs ráta általában sokkal alacsonyabb, mint a heterozigóták gyakorisága a populációban, ezért az új mutációk relatíve kis változást okoznak, a szelekció pedig a heterozigótákra nem hat. Így még igen súlyosan kóros jellegek esetén is közel állhat a populáció a Hardy-Weinberg egyensúlyhoz. A domináns és az X-hez kötött recesszív esetekben azonban a mutáció és a szelekció már jelentősebb eltéréseket okozhat.

A mutáció új, hibás alléleket hoz létre, míg a szelekció ezek eltávolítása irányában hat. A kettő (változatlan feltételek között) egyensúlyra, azaz állandó allélfrekvenciára vezet.

A szelekcióval kapcsolatos kulcsfogalom a ***fitness*** (***W***), vagy alkalmassági (rátermettségi) érték (l. még az 5. fejezetben), ami az egy adott genotípusú egyének által produkált utódszám és a populációban a legtöbb utódot létrehozó genotípusúak átlagos utódszámának a hányadosa. Értéke 0 és 1 között változhat, a legalkalmasabbak W=1 értékkel, a letális genotípusok W=0 értékkel jellemezhetők. Ebből a szempontból mindegy, hogy az illető genotípus már az embrió elvetélését okozza, vagy a felnőttek sterilitását, a lényeg, hogy ha utódot nem hoz létre, az allél továbbadása nem történik meg (= genetikailag letális). A **szelekciós koefficiens** (***s***) a fitness ellenkezője: az alkalmasság csökkenésének mérőszáma, definíciója s=1-W.

A szelekció hatékonysága recesszív kórképekben. A szelekció rövid távon elhanyagolható hatását a fenilketonuria (PKU) esetével szemléltethetjük. Az I-es típusú PKU allél (*pah*) frekvenciáját (***q***) vegyük 1%-nak, ekkor a heterozigóta gyakoriság (**2*pq***) kb. 2%, míg a homozigóta recesszíveké ($\boldsymbol{q^2}$) 1/10000. Adódik, hogy a káros allélek aránya a homozigóták és heterozigóták között kb. 0,01. A szelekció csak erre a pici hányadra (a homozigótákra) hat. Tehát még ha letális betegségnek vesszük, akkor is igen kis eltérést kapunk a Hardy-Weinberg egyensúlytól. Ugyanígy attól sem várhatunk lényeges változást (= az allélgyakoriság növekedését), hogy a megfelelő diétával az I-es típusú PKU kezelhető.

Szelekció a domináns rendellenességeknél. Mivel itt minden allél megjelenik a fenotípusban is, a szelekció azonnal és mindegyikre hat. Letális esetben a hibás allélek nem adódnak tovább, tehát minden beteg új mutáció eredménye. Ez egyes esetekben tényleg ki is mutatható, vagy ha a gén nem ismert, esetleg az apai életkori hatásból (l. a 7. fejezetben) sejthetjük. Tehát egy domináns letális beteg előfordulása nem jelent az átlagosnál nagyobb kockázatot a betegség további előbukkanására a családban, hacsak nem germinális mozaicizmus fordul elő.

Mutációs-szelekciós egyensúly domináns kórképeknél. A nem letális, csak csökkent alkalmassággal járó domináns allél esetén az új mutációval keletkező allélek száma egyensúlyba jut a szelekcióval eltávolított allélek számával. **Az egyensúly** tehát **a mutációs rátától (*μ*) és a szelekciós koefficienstől (*s*) függ:**

$$\mu = sp \quad \text{(ahol } p \text{ az allélgyakoriság)}$$

Az allélfrekvencia, a mutációs ráta és a fitness összefüggése miatt bármelyik kettő ismerete alapján a harmadik számítható.

Az achondroplasia esetén – mivel az érintettek utódszáma csupán 1/5-e az egészségesekének – s=0,8, tehát egyensúlyban (amikor is a betegek gyakorisága a generációkban állandó) az allélek 80%-a új mutációval keletkezik, és csak 20% öröklődik a szülőktől.

Ha a fitness megváltozik (pl. retinoblastoma esetén a sikeres orvosi megoldások hatására), akkor az allél gyakoriság és a betegség előfordulása is észrevehetően megemelkedik.

Mutációs-szelekciós egyensúly X-hez kötött recesszív kórképeknél. Ebben az esetben a szelekció csak a hemizigóta férfiakra hat (elhanyagolva a kis számú homozigóta női pacienst). Mivel az X kromoszómák 1/3-a található a férfiakban, és egyensúlyban a szelekcióval elveszett alléleket a mutáció pótolja,

$$\mu = sq/3 \quad \text{(ahol } q \text{ az allélfrekvencia)}$$

Egy így öröklődő genetikailag letális betegségben s=1, így a hibás allélek 1/3-a új mutációból származik, azaz a beteg fiúgyermekek harmada nem az anyjától örökölt allél miatt szenved, így esetükben a családi ismétlődés alacsony kockázatú. A kevésbé végzetes betegségeknél (pl. hemofília A) az érintetteknek kisebb százaléka hordoz új mutációt (a példa esetén jelenleg kb. 15%), és a kezelés javulása miatt ez az arány tovább csökken, bár a betegek incidenciája növekszik (az allélfrekvencia ugyanis nő). Ezek a változások a genetikai tanácsadás gyakorlatában is folyamatos változtatást igényelnek.

Migráció és génáramlás. Ehhez populációgenetikai értelemben nem szükséges fizikai vándorlás (bár az is egyike a lehetőségeknek), inkább egy reprodukciós határ, gát átlépése a lényeg (amely lehet etnikai, kulturális, földrajzi stb.). A migráló és a befogadó közösségre jellemző allélgyakoriságok fokozatosan és kölcsönösen változnak.

A HIV rezisztenciát okozó deléciós citokin receptor gén variáns (Δ*CCR5*, l. fentebb) frekvenciája Európában a legmagasabb (kb. 10%, de 20%-hoz közeli Izlandon és a Brit szigeteken, valamint az askenázi zsidók közt), a Közel-Kelet és India felé csökken, Afrikából és a Távol-Keletről pedig szinte hiányzik. Ez arra utal, hogy a mutáció Európából származik, és onnan terjedt más térségekbe.

A PKU egy speciális allélvariánsáról erős bizonyítékok alapján azt tartják, hogy kelta eredetű. A kelták migrációjával összefüggésben gyakorisága Írországban 1/4500, É- és D-Európában sokkal alacsonyabb, Japánban pedig mindössze 1/109000.

Etnikai különbségek egyes öröklődő betegségek gyakoriságában

A Hardy-Weinberg törvény nem ad választ arra a kérdésre, miért léteznek eleve lényeges különbségek az allélgyakoriságokban egyes etnikumok között.

A Földet benépesítő 7 milliárd ember néhány nagyrasszra, de számtalan alpopulációra, etnikai csoportra oszlik, amelyek külső jegyeik, földrajzi származásuk, történelmük alapján különböznek. Bár a kb. 25 000 gén, ezek kromoszomális helye, sorrendje szinte mindenkiben azonos, rengeteg változat létezik. Sok polimor-

DUPress

fizmusnak hasonló frekvenciája van minden populációban, másoké különbözik, de olyan allélvariánsokat is ismerünk, amelyek csak egyes népcsoportokban fordulnak elő (ott sem mindenkiben). Nagyon valószínű, hogy a különbségek összefüggnek azzal, hogy az emberiség többsége egészen a közelmúltig leginkább viszonylag kis, izolált csoportokban, telepekben élt, így a mutáns allélek elterjedtségében, gyakoriságában kialakult különbségek megmaradhattak, esetleg még növekedhettek is. A mechanizmusok, amelyek a különbségekhez vezettek, többfélék lehetnek; ezek közül a genetikai sodródást (hozzá véve a populációt nem reprezentáló egyedek által létrehozott alpopulációk esetét, az alapító hatást is), továbbá a heterozigóta előnyt tárgyaljuk.

A szelekciós szempontból neutrális variánsok eltérő különbségeit a populációgenetikusok és antropológusok jól hasznosíthatják az emberiség történetének kutatására. Pl. a szubszaharai afrikai népességen belül lényegesen nagyobb különbségeket találtak, mint ezen népesség és a világ bármely egyéb népcsoportja között, ami arra mutat, hogy ezen különbségek hosszabb idő alatt fejlődtek ki Afrikában, jóval azelőtt, hogy 40-100 ezer éve egyes modern embercsoportok kivándoroltak onnan más kontinensekre.

A sajátos etnikai gyakoriságokkal (Tay-Sachs betegség az askenázi zsidóknál, sarlósejtes anémia az afroamerikaiaknál, PKU az íreknél stb.) a genetikai tanácsadást végzőknek is tisztában kell lenniük, mert lényegesen befolyásolják a kockázati becsléseket. A béta-talasszémia példája tanulságos, mert ott nem csak a betegség gyakoriságokban észlelünk lényeges különbségeket, hanem az allélekben is. A betegség gyakori a mediterrán térségben és Kelet-Ázsiában, míg máshol ritka. Az ismert több tucat allél közül az, amelyik a Mediterráneumban az esetek 90%-át okozza, Ázsiában igen ritka, ugyanakkor az Indiában gyakori allélek alig találhatók meg másutt, és hasonló érvényes a Délkelet-Ázsiában jellemző variánsokra is. Ha tehát pl. egy észak-amerikai kórházban tudják egy családról, hogy európai mediterrán eredetű, csupán 7 allélre végzett DNS vizsgálat több mint 90%-os bizonyossággal engedi meg az eredményes prenatális diagnózist.

A genetikai drift kis méretű populációkban jut szerephez, ahol egy mutáció – még ha kezdetben egyetlen kópiában létezik is – véletlen eseményeknek köszönhetően elszaporodhat, vagy ellenkezőleg: egy eredetileg nem túl ritka variáns visszaszorulhat, akár el is veszhet.

Az **alapító hatás** a sodródás egy formája: egy kis csoport kiválik egy nagyobb populációból, és már az elszakadásnál eltérhet az allélösszetétele a nagyobb populációétól. Ha a kevés egyén között véletlenül egy ritka betegség hordozója is van, ez a betegség az utódokban sokkal gyakoribb lehet (pl. a *Huntington chorea* gyakorisága a venezuelai Maracaibo tó környékén, vagy egyes, az USA Pennsylvania államában letelepedett, európai eredetű, zárt vallásos közösségekben élő, gyakran rokonházasságokat kötő Amish csoportok körében elterjedt, másutt nem jellemző veleszületett szívrendellenességek és egyéb örökletes betegségek). A francia telepesektől származó, Kanada egy bizonyos területén élő népességben az I-es típusú tirozinémia (a tirozin lebontás hibája miatti máj- és vesefunkció zavarokkal járó

kórkép) előfordulása 1/685, míg másutt 1/100000. Ahogy az az alapító hatás esetén várható, az összes ottani betegben ugyanaz a mutáció található. A ritka betegségeknek az elszaporodása az izoláción kívül általában összefügg az alapított populáció expanziójával is, amint az Finnország esetében jól látható. A finnek viszonylag elszigetelten élve 300 év alatt 400 ezerről 5 millióra szaporodtak, és legalább 20 monogénes betegség ismert, amely náluk viszonylag gyakori, míg másutt igen ritka. Viszont néhány egyéb kórkép, pl. a PKU Finnországban sokkal ritkább, mint más európai országokban.

A heterozigóta előny. Előfordul, hogy egy káros (recesszív) allél súlyos betegséghez vezet homozigóta formában, ugyanakkor a vad típusú vagy „normális" allélre homozigótáknak is kisebb a fitness értéke mint a heterozigótáké. Viszonylag csekély heterozigóta előny is elég lehet az egyébként káros allél gyakoriságának (és így a betegség előfordulásának) jelentős növekedéséhez, hiszen a heterozigóták száma sokkal nagyobb, mint a (beteg) homozigótáké. Adott fitness értékek mellett beáll az egyensúly a szelekcióval eltávolított és a kedvezményezett allélek számában, amit kiegyensúlyozott polimorfizmusnak nevezünk.

A hemoglobinopathiák és a malária. Jól ismert példája a heterozigóta előnynek a sarlósejtes anémia, amely homozigótákban közel letális, allélgyakorisága mégis magas szinten stabilizálódott (q=0,15) olyan területeken (pl. Nyugat-Afrika), ahol a malária endémiás. A dolog magyarázatát az adja, hogy bár a Hb^SHb^S homozigóták szelekciós koefficiense közel 1, a Hb^AHb^A homozigótáké is nagyobb 0-nál (a maláriás megbetegedések ill. halálozások miatt). A maláriának ellenálló, továbbá normális oxigén tenzió mellett tünetmentes Hb^AHb^S heterozigóták fitnesse a legmagasabb. Ha a tényleges allélfrekvenciákkal számítást végzünk, azt tapasztaljuk, hogy a valódi genotípus arányok messze eltérnek a Hardy-Weinberg egyenlet alapján várhatótól, a valóságban a heterozigóták többen, míg a homozigóták kevesebben vannak.

Ha változás jön a szelekcióban, az allélgyakoriságok is elmozdulnak, amíg be nem áll egy új egyensúly. A Ny-Afrikából származó észak-amerikai rabszolgák utódait a malária nem fenyegeti (mert azon a kontinensen az nem fordul elő), ennek is köszönhetően körükben a Hb^S allél gyakoriság csökkent (bár ebben nyilván a fehér lakosságtól származó génáramlás is szerepel).

Néhány más, a vvt-ket károsan érintő allél (hemoglobin C, thalasszémiák, G6PD-hiány) gyakoriságát is hasonlóan magyarázzák, de szintén valamelyes heterozigóta előnyt feltételeznek a cisztikus fibrózissal és a Tay-Sachs betegséggel kapcsolatban is.

Sodródás vagy szelekció (heterozigóta előny)? Nem könnyű megállapítani, aktuálisan melyik vezetett egy allél sajátosan magas/alacsony frekvenciájához. Egyes esetekben lehetett szelekció a múltban, ami ma már nem mutatható ki. A Δ*CCR5* allél esetén pl. – mivel a HIV-nek mint szelekciós tényezőnek még nem volt ideje, hogy a különbségeket létrehozza – inkább a drift és a migráció tűnik valószínűnek, bár lehetséges, hogy egy múltbeli szelekciós tényező (a bubópestis) lényeges szerepet játszott.

Amellett, hogy a humán populációgenetika kvantitatív módszereivel megpróbálja értelmezni a betegségek és alléljeik gyakoriságait, fontos segítséget nyújt ahhoz is, hogy azonosítsuk a gyakori, komplex betegségekre hajlamosító genetikai faktorokat a populáció-alapú asszociációs vizsgálatokkal (l. a 8. fejezetben). A genetikai heterogenitás és a betegségek kapcsolatának mélyebb megértése vezet majd a **személyre szabott orvoslás** érzékeny és hatékony műveléséhez. (L. még a 4., 5., 7., a következő és a 14. fejezetben.)

DUPress

13. fejezet

Farmakogenetika, farmakogenomika, ökogenetika és ökogenomika

Az Amerikai Egyesült Államokban évente mintegy 100 000 haláleset következik be gyógyszermellékhatás következtében. Hasonló arányok feltételezhetők más, fejlett egészségüggyel rendelkező országokban is. Szükségszerű végzet ez? Az alábbiakban megismerjük a genotípus alapján előírható, személyre szabott gyógyszeres terápia néhány alapelvét.

Mi a farmakogenetika? Történetileg a genetikának, pontosabban a biokémiai genetikának az a résztudománya – mára már önálló tudományág –, amelyik **a gyógyszerek szervezeten belüli sorsát és hatását befolyásoló géneket vizsgálja, az általuk meghatározott enzimekkel és egyéb fehérjékkel együtt**. (***Figyelem! Nem a gyógyszerek esetleges hatását a génekre! De ebbe a körbe tartozhat egyes gének működésének befolyásolása.***) Érdeklődés szerint mondhatjuk úgy is, hogy **a szokásostól eltérő gyógyszerhatás genetikája**. Relatíve új diszciplina, mert ugyan az orvoslás tudományának kezdeteitől voltak olyan felismerések, hogy egy adott kezelés nem hat mindig egyformán minden páciensre, de amíg nem gyártottak és alkalmaztak olyan nagy számú és mennyiségű, széles körben használt gyógyszert, mint ahogy azt a XX. század második felétől tapasztaljuk, igen kevéssé tűnt fel, hogy a medikamentumokra adott válaszok nagyon is egyéniek és így – minden bizonnyal – génikusan, egyéni genom alapján meghatározottak.

Azt jelentheti ez, hogy a gyógyszerfejlesztés másodlagos evolúciós eredménye lenne az említett gének és enzimek feltűnése? A legkevésbé sem! Az ide sorolható gének működése azért maradt rejtve előttünk hosszabb ideig, szemben az ismert anyagcsereutakban szereplőkkel, amelyekről már korábban megállapították, hogy hibáik anyagcserebetegséget okozhatnak, mert a szaporodó gyógyszermolekulák (farmakonok) olyan reakciókat válthattak ki az emberi szervezet részéről, amelyeket más molekulaféleségek, anyagcsere intermedierek korábban nem. Tehát tulajdonképpen a megelőző időszakokban árnyékban maradó gének, ill. az általuk meghatározott enzimek és egyéb fehérjék újonnan történt felfedezéséről, tanulmányozásáról és rendszerezéséről van szó.

Felvethető az evolúciós eredet kérdése úgy is: van-e a szóban forgó (CYP) enzimeknek fiziológiás szerepük a sejtek életében? Számosról kimutatták már, hogy van. Pl. bizonyos szervekben szteránvázas vegyületek bioszintézise vagy hidrolízise, tesztoszteron-képzés, androgén hormonok ösztrogénné való átalakítása, zsírsavak anyagcseréje, arahidonsav átalakítás, D vitamin lebontás, retinsav szintézis.

A hagyományos gyógyszerfejlesztés során, nagyobb mintán nyert adatok statisztikai kiértékelése után kap vagy nem kap zöld utat a következő szintre lépés, ill. alkalmazási engedélyezés. Mára előtérbe került az egyedi megítélés a hatásosságról, ill. hatástalanságról, a személyre szóló orvoslás szemléletében. Régen, ha egy gyógyszer-jelölt molekula klinikai fázisban a vizsgáltak 10%-ában adta a várt eredményt, lemondtak róla mint – nem eléggé vagy egyáltalán nem – hatásosról. Ma azonban, ha az a 10% egy adott genotípushoz tartozik, amihez a másik 90%-ból senki, az eredmény: kiváló szert sikerült kifejleszteni az abba a bizonyos genotípusba tartozók számára. Előfeltétel a genotípus meghatározása, s máris ott vagyunk a farmakogenetika és a személyre szabott gyógyszerelés területén.

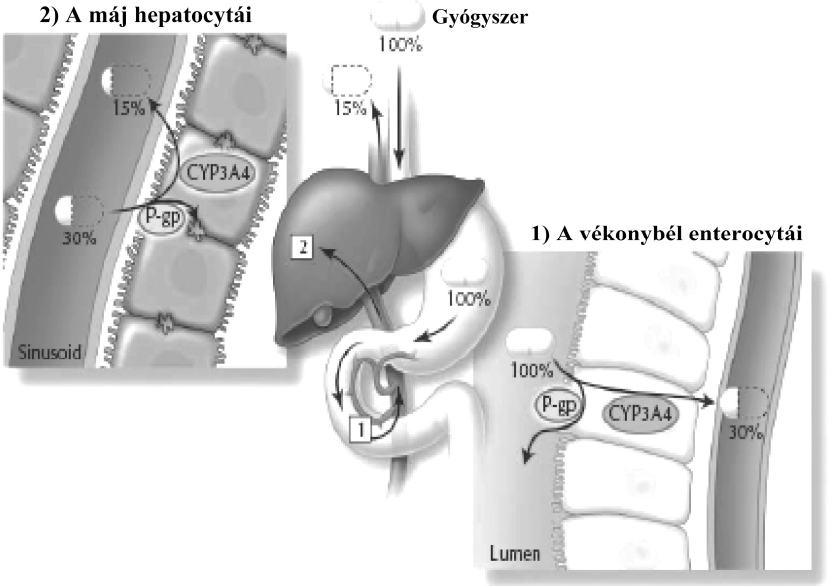
Nézzük meg először közelebbről, milyen összefüggések fedezhetők fel a legmodernebb gyógyszerek, és az emberi (állati) szervezetbe már régen is bekerülhetett természetes, és ott valamilyen hatást kiváltani képes anyagok között?

Az élő szervezet számára bármilyen idegen szerves anyag, amelyet nem ő állít elő és nem is szükséges számára táplálékként: **xenobiotikum**. Ebbe a körbe sorolhatók bizonyos természetes növényi vagy egyéb eu-, ill. prokariótákból származó anyagok (közöttük gyógyszerként már régebben használatosak is, pl. digitalis, strophantin, colchicin, taxol, atropin, papaverin, kodein, kinin, acetil-szalicilsav, morfin, teofillin, koffein, penicillin, streptomycin, ciklosporinok stb., függetlenül attól, hogy többségüket ma már nem természetes forrásukból nyerik, hanem kémiai szintézissel állítják elő, alkalmasint bizonyos módosításokkal), növényi eredetű drogok és hallucinogén kábítószerek (pl. marihuána, nikotin, ópium [és származékai], kokain stb.), különféle tervezett molekulájú (kizárólag ipari technológiákkal gyártható) medikamentumok, kártevőirtó szerek (peszticidek), élelmiszer adalékok, daganatokat okozó karcinogének, mutagének; akárha beültetett idegen szervek vagy szövetek (különös tekintettel a jövő humanizált [sertésben vagy más állatban előállított] transzplantátumaira), és így tovább.

A farmakogenetika kifejezést az 1950-es évek végén használták először, abból a felismerésből kiindulva, hogy az egyes gyógyszerek egyedi (egy népességben egyénekre lebontott) hatásainak, mint meghatározott fenotípusos jegyeknek különbözőségei mögött genotípusbeli eltérések kell hogy álljanak. Vagyis **a farmakogenetika egy bizonyos szempont szerint választott molekulaféleségekre: a gyógyszerek anyagcseréjére, biotranszformációjára és hatásaira vonatkozó ismereteinket összegzi**, **azok genotípus-függő hatását, megnyilvánulásait tanulmányozza** egy-egy egyénben, általános következtetések levonása céljából. Ugyanakkor meg kell jegyezzük, hogy itt nem egy gén–egy enzim–egy gyógyszer összefüggésben szabad és kell gondolkodnunk. Valamely medikamentum szervezeten belüli sorsát, hatékonyságát általában gén (azaz enzim és fehérje)-rendszerek befolyásolják.

Ismereteink bővülésével a farmakogenetika átalakul farmakogenomikává, azaz valóban nem az „egy gén – egy enzim” elvre támaszkodik, hanem a számtalan variáns vizsgálatát tűzi ki célul. Ezek a tanulmányok kiterjednek a különböző populációk e téren mutatott eltéréseire, mind minőségi, mind mennyiségi szempontból is.

Hiba lenne itt megfeledkezni az allergén testidegen anyagokról, ezek tárgyalása azonban inkább az immunológia, mintsem a farmakogenetika körébe tartozik, bár hatásuk megnyilvánulásai nem kevésbé génikus meghatározottságúak.



13-1. ábra.

Egy szájon át (*per os*) bevett gyógyszer tipikus útja

Az ábrán bemutatott (konstruált, de valós helyzetet leíró) példában azt látjuk, hogy egy gyógyszer teljes bevett dózisából (100%) mennyi kerül hatékony formában a nagyvérköri keringésbe. A szer sejtekbe való bejutásában (vagy onnan kizárásában) a sejtmembránhoz kötött P-glikoprotein (P-gp), míg biotranszformációjában mind a bélnyálkahártya hámsejtjeiben, mind a májsejtekben a SER-hez kapcsolt CYP3 A4 enzim szerepel. A végeredmény: a szisztémás keringésbe a bevitt mennyiség 15%-a kerül, alkalmasint módosítva, biotranszformáció után. Ha a dózist változtatjuk, vagy a közreműködő fehérjék más variánsai vannak jelen, az eredmény akár jelentősen is eltérhet. És vegyük észre: itt a gyógyszer hatásáról még szó sem esett.

A gyógyszertani ismeretek közül, amelyek későbbi tanulmányok tárgyát képezik, alkalmasint helyes itt megemlíteni a következő két alapfogalmat: a **farmakokinetiká**t és **farmakodinamiká**t. A **farmakokinetikai variánsok** esetén azokról a fehérje-változatokról van szó, amelyek **befolyásolják a gyógyszerek felvételét, abszorpcióját, megoszlását, metabolizmusát és eliminálását**. Leginkább májenzimek és gyógyszertranszport fehérjék tartoznak ebbe a körbe, valamint vesében működők. A **farmakodinamikai variánsok** esetén olyan fehérjékről van szó, amelyek **egy gyógyszer biológiai funkcióját annak hatóhelyén befolyásolják**.

Egy szájon át (*per os*) bevett gyógyszer lehetséges útja a szervezetben: felszívódás → véráram → metabolizmus → véráram → eloszlás → gyógyszer–sejt (ill. célmolekula) kölcsönhatás → lebomlás → kiválasztás. Más sorrend is lehetséges, egy-egy lépés ki is maradhat. (Egy intravénás injekcióban alkalmazott készítmény pl. közvetlenül a vérbe kerül.) Ezen út anatómiai megközelítésű vázlatát a 13-1. ábrán mutatjuk be. Bővebben és pontosabban pedig l. a gyógyszertanban.

Nagy általánosságban azt mondhatjuk a közreműködő enzimek, fehérjék génjeiről, hogy inkább többszörös (sokszoros!) allélia jellemzi e rendszerek tagjait, mintsem egy lokusz kétféle génváltozata. Más kifejezéssel ez azt jelenti, hogy **a szóban forgó enzimek, fehérjék rendkívül polimorfak**. Miből adódik ez? Génjeikben igen nagy számú SNP mutatható ki, és alkalmasint ezek jellegzetes haplotípusai. Egy-egy lokusz számos variánst (alloenzimet, izoformát) kódol – gondoljunk itt a többszörös promoterek lehetőségére és az alternatív splicing jelenségére és jelentőségére –, kissé vagy jobban eltérő szubsztrátspecificitással, -affinitással, kifejeződési hellyel, akár más szabályozhatósággal is, és a sejt, szerv vagy szervezet proteomjában jelentkező különféle kölcsönhatásokkal. Nagyon fontos: különböző populációkban más és más variánsok lehetnek jellemzők, ill. az egyes allélek gyakorisága igen eltérő lehet. Másrészt sokszor több lokusz által determinált fehérjék játszanak együttes szerepet egy gyógyszer hatásának/hatásainak realizálásában.

Mint fentebb már említettük ezen gének és enzimek működése, hatásai, jelentőségük az általános anyagcserében – legalábbis a múltban, szisztémás vizsgálatuk megkezdése előtt – rejtve maradtak előttünk, és az egyes gyógyszerhatások szokásostól eltérő jelentkezése kapcsán ismerték fel őket. Más megfogalmazásban: ezek a gének és az általuk meghatározott fehérjék hatásai csak valamely gyógyszer alkalmazása (ill. xenobiotikumnak a szervezetbe kerülése) nyomán váltak észlelhetőkké, láthatókká számunkra a fenotípusban.

Mindezekből következően az optimálisan egyénre szabott szükséges gyógyszeradagolás széles határok között mozoghat, amit jellemezhetünk pl. a vérplazmában mérhető eliminációs fél életidő interindividuális (különböző személyek közötti) variabilitásával:

Gyógyszer	Fél életidő (óra)	Használat
Isoniazid (INH)	0,5 – 7,5	Izonicid, *tbc* kezelésére használt antibiotikum
Tolbutamid	4 – 10	2-es típusú diabetes mellitus kezelésében
Phenytoin	10 – 42	Diphedan, epilepszia kezelésére
Warfarin	15 – 70	Véralvadásgátló[44]

Látható ebből az igencsak szűkre szabott összeállításból, hogy egy-egy szer hatásossága önmagában milyen széles alkalmazási skálán mozoghat, és a különböző szerek között milyen nagy eltérések mutatkozhatnak a populációban. Úgy tűnik fel, az itt levonható következtetések általánosíthatók. Például egy-egy gyógyszer kap-

[44] Gátolja egyes véralvadási faktorok K vitamin függő szintézisét. (Eredetileg patkánymérreg.)

csán fenotípus szerint megkülönböztethetünk **normál, lassú, gyors és – esetleg – ultragyors metabolizálók**at.

Egy-egy történeti példa a farmakogenetika első megfigyeléseiből:

Mendeli öröklődésű – elvileg két alléles meghatározottságú – jelleg homozigóta recesszív állapota által okozott, akár halált is hozó súlyos komplikáció.

A múlt század közepén bevezetett gépi anesztézia (műtéti altatás) a hatóanyag pontosan adagolt bejuttatásához és a légzés biztonságos fenntartásához megkívánta az intratrachealis (légcsőbe helyezett) tubus alkalmazását. Ennek bevezetése a hangrésen keresztül csakis az ottani harántcsíkolt izmok teljes ellazítása mellett volt lehetséges, ami együtt járt az egész vázizomzat rövid idejű bénításával. Az esetek túlnyomó többségében ez nem okozott komplikációt, mert az erre a célra alkalmazott Suxamethonium klorid (szukcinil kolin, a neurotranszmitter acetilkolin mesterséges analógja[45]) perceken belül elbomlott, izomellazító hatása – látszólag önmagától – megszűnt. Mintegy 1/2000 gyakorisággal azonban nem tért vissza a spontán légzés a műtéti altatás befejezése után. Az akkori magyarázat szerint a szukcinil kolin elbontásához szükséges pszeudo-kolineszteráz enzim génje homozigóta recesszív állapotában aktív enzim nem termelődik, a Suxamethonium nem bomlik el. Ha a gépi lélegeztetést a szokásos módon abbahagyták, ez a beteg fulladásos halálához vezethetett. (A szer eltávozása a szevezetből a veséken keresztül hosszú órákig tart.)

Az itt leírt légzésbénulás oki tanulmányozása volt a farmakogenetika létrejöttének egyik gyökere. Mára már kiderült, hogy a szóban forgó enzim tulajdonképpen butirilkolineszteráz. A gén jele *BCHE* (lokalizációja 3q26.1), és 15 allélvariánsa ismert. Ezek közül több homozigóta recesszív, vagy *compound* heterozigóta állapota[46] is felelős lehet a Suxamethonium-okozta tartós légzésbénulásért.

A másik tudománytörténeti forrás az INH inaktiválás gyors, ill. lassú acetiláló fenotípusának felismerése. A *NAT1* gén (8p22) csak egyféle N-acetil-transzferáz enzimet hoz létre, míg a vele közeli rokon *NAT2* (8p23.1) felelős két alléljével a lassú, ill. gyors acetilátor fenotípusért. Nevezetesen: a homozigóta „*lassú*" a lassú acetiláló, és a homozigóta „*gyors*", nemkülönben a heterozigóta a gyors acetiláló. (Ez azonban egyszerűsítés, a *NAT2* is polimorf!)

Ami itt a továbbiak szempontjából fontos: az N-acetil-traszferáz2-nek több egyéb, acetilálással inaktivált szer is szubsztrátja. Ha pl. INH-t együtt alkalmaznak az epilepszia-elleni phenytoinnal (l. fent), ez utóbbi – felhalmozódása miatt – toxikussá válhat a lassú acetilálók esetében, az enzimkapacitás nagyobb igénybevétele következtében. Ez a jelenség, tudniilik az, hogy **egy enzimnek több szubsztrátja is lehet**, valamint **egy farmakon anyagcseréjében több enzim is szerepet játsz-**

[45] Nem tartozik e fejezet tematikájába, de felhívjuk rá a figyelmet: egyes gyógyszerek az emberi szervezetben termelődő saját anyagok analógjai, hasonló metabolizmussal.

[46] Két különböző, de egyaránt működésképtelen (de legalábbis jelentősen csökkent működésű) fehérjét meghatározó allél.

hat, fontos megállapítás a farmakogenomikában: rávilágít számos gyógyszerkölcsönhatás eredetére. Tegyük hozzá: egyes, nem farmakon xenobiotikumokra is igaz ez a megfigyelés, vagyis **egy gyógyszer hatását valamilyen egyéb természetes vagy mesterséges szerves anyag is befolyásolhatja**.

A farmakogenetika és az ökogenetika kéz a kézben járnak. Ennek jó példája a G6PD defekt. A glükóz-6-foszfát dehidrogenáz enzim génje (*G6PD*) az X kromoszómán (Xq28) található. A G6PD fontos a vörösvérsejtek redukáló rendszere normális működésében, hiánya hemizigóta férfiakban, ill. homozigóta recesszív nőkben súlyos tüneteket okozhat. Bizonyos provokáló ágensek hatására a vörösvérsejtek érpályán belüli szétesése jelentkezik: *acut intravasalis haemolysis*. Ennek messzire ható káros következményei vannak: vérszegénység és a sejtekből kiszabadult hemoglobin szövetkárosító hatásai. A haemolysist általában oxidáló hatású ágensek váltják ki. A gyógyszerek közül ide sorolhatók különböző lázcsillapítók, Aspirin, antimaláriás szerek, szulfonamidok stb. Ugyanakkor azonos jelenségeket okoznak természetes anyagok is. A *favizmus*nak nevezett tünetegyüttest pl. a *Vicia faba* babból készült ételek váltják ki, de bizonyos virágporok belégzése is akut rosszullétet idéz elő. Míg a babfőzelék könnyen mellőzhető az étrendből, a virágporok kiszűrése már nehézségeket okoz. Hangsúlyozzuk: a legkevésbé sem virágpor-allergiáról van szó ebben az esetben (mint pl. a nálunk „megszokott" szénanátha stb.). Érdemben ugyanannak a jelenségnek van tehát farmako-, ill. ökogenetikai aspektusa.

A G6PD defekt gyakorisága Európa egyes régióiban, leginkább a mediterráneumban (pl. Szardinia szigetén) erősen megemelkedett az egyéb területekhez viszonyítva, leginkább ott, ahol a malária endémiás volt. Ez egyúttal fontos példája annak is, hogy különböző populációkban eltérő géngyakoriságok fixálódtak.

Ha követjük egy xenobiotikum, itt és most nevezetesen: gyógyszer „hagyományos" anatómiai útját a szervezetben, azt így foglalhatjuk össze (13-1. ábra):

Bevitel szájon át → nyelőcső → gyomor → vékonybél → *vena portae* → máj → *vena hepatica* → nagyvérkör → célszerv → nagyvérkör → vese → kiválasztás a külvilágba. A májból vezethet az út az epén át a vékonybélbe. Ma már azonban nem ritka az érpályába (intravénás injekció, infúzió) vagy akár közvetlenül a célszervbe[47] juttatás, avagy pl. transzdermális tapasz alkalmazása.

Melyek ezek közül a tárgyunk szempontjából legfontosabb helyek? Vékonybél (felszívódás), máj (metabolizmus), vese (kiválasztás). A felszívódás aktív és szelektív folyamat a vékonybél (duodenum, jejunum) nyálkahártya epitelialis sejtjeiben. Vannak medikamentumok, amelyek teljes bevitt mennyiségének csak kisebb hányada szívódik fel a többi marad vagy visszakerül a bél lumenébe. Vannak gyógyszerek, amelyeket átalakít/anak a nyálkahártyasejtekben levő enzim/ek. Ez a folyamat már a metabolizmus (**biotranszformáció**) része. A felszívódásban előnyt élveznek a hidrofób molekulák, a szervezetben való eloszlásban a hidrofilek. Ezt az ellentmondást oldja fel, ha a nem hidrofilek valamilyen szállító molekulához (fe-

[47] Pl. porított formában belélegeztetés a légutakba, tüdőkbe, mondjuk CF esetén.

hérjéhez) tudnak kapcsolódni (ami úgyszintén – alkalmasint polimorf – géntermék). De fontosabb a vízoldhatóvá tétel (l. bizonyos fázis II. reakciókat alább).

A farmakonok biotranszformációja (gyógyszermetabolizmus) legfőbb szerve a máj, a hepatociták, ezekben pedig a SER (sima felszínű endoplazmatikus retikulum), ahol a rendszerhez tartozó enzimek (l. alább) intracellulárisan elsődlegesen fordulnak elő.

Nézzük meg, milyen típusú reakciók szerepelnek a gyógyszerek biotranszformációjában! Ezeket két csoportra szokás osztani:

FÁZIS I. reakciók: hidrolízis, redukció és oxidáció, poláris csoport bevitele a molekulába.

FÁZIS II. reakciók: glükuronidálás, szulfonálás, acetilálás, metilálás, valamint glutation- és aminosav konjugációk.

Bár mindezek nem szorosan vett genetikai ismeretek, tárgyalásunk szempontjából fontos megjegyezni, hogy az I. és II. megjelölés bár lehet, de nem feltétlenül jelent sorrendiséget, az I. nem közvetlen előfeltétele a II. végbemenetelének, sőt akár az I., akár a II. el is maradhat.

Mely enzimek végzik a biotranszformációs feladatokat? Mindenekelőtt a **citokróm P450 rendszer** – újabbkori jelöléssel **CYP csoport** – tagjai. Ezek evolúciós eredetüket tekintve[48] méregtelenítő, hem prosztetikus csoportot (Fe^{3+}-t) tartalmazó citoplazmatikus, a SER-hez kapcsolódó oxidatív enzimek. Jelenleg emberben alapvetően 57-et tartanak nyilván közülük, amelyek 20 családba oszthatók be, az aminosav-sorrend rokonság alapján, az itt látható nómenklatúra szerint jelölve:

CYP + a család száma + alcsalád és géntermék jele + a génben (* után) a variáns száma

Példaként álljon itt a rendszer egyik nagyon fontos tagja génjének általános megnevezése és annak alléljei:

CYP2 D6.1.

A vad típus: ***CYP2 D6*1A***. Ennek egy variánsa: ***CYP2 D6*1B***.

A második gén egy olyan allélvariáns, amiben 3828G>A SNP van, az általa meghatározott enzim a vad típussal azonos aktivitású. (A CYP2 D6.1 enzim génjének további alléljei például: *CYP2 D6*1C*, *CYP2 D6*1D*, *CYP2 D6*1E*, *CYP2 D6*1XN*.) A CYP2D családnak mintegy 150 variáns alléljét írták le eddig, az ezekben szereplő SNP-k már ismertek. A fehérjék közül néhány eléri a vad típusú aktivitását (mint a fenti példából láthattuk), van, amelyiké magasabb (pl. a *CYP2 D6*1XN* által determinált enzimé, ahol génduplikációról vagy triplikációról van szó), de általában többé-kevésbé csökkent vagy – inkább – hiányzó aktivitásúak. (L. pl. 13-2. ábra.)

(Fontos elvi megállapítás, de hangsúlyozottan csak zárójelben. A *CYP1 A1*, *CYP1 A2*, *CYP2 C9*, *CYP2 C19*, *CYP2 D6* és *CYP3 A4* együttesen a ma használt

[48] A P450 rendszer több-kevesebb tagja megtalálható állatokban, növényekben, gombákban, sőt bizonyos prokariótákban is, és nem feltétlenül méregtelenítő funkcióval.

gyógyszerek mintegy 90%-ának fázis I metabolizmusában játszik szerepet, ezek közül egyedül a *CYP3 A4* 40%-ban, a *CYP2 D6* mintegy 70 gyógyszer esetében.)

A többi CYP családban hasonlóan nagyfokú polimorfizmust találtak. Újabban a CYP enzimek közé sorolják a P450 oxidoreduktáz enzimet is, a maga 41 *POR* allélvariánsával.

Az aktuálisan fontos és/vagy új ismeretek megkereshetők a http://drnelson.uthsc.edu/CytochromeP450.html, vagy a www.cypalleles.ki.se honlapon, ill. az OMIM adatbázisban. A rendszer bemutatása e helyen szemléleti célú, elvi alapokat kíván ismertetni, nem pedig lexikális ismeretek bő tárházát.

Ami alapvető fontosságú: egy-egy adott CYP enzim vonatkozásában: egy gyógyszer lehet *(1)* szubsztrát, *(2)* gátlószer és *(3)* induktor. A biotranszformáció egy-egy gyógyszer esetén jelenthet aktiválást: a ***prodrug***-ból a szervezetben keletkezik hatásos gyógyszer. (Ilyen a codeinből a morfin létrejötte, de pl. ebben a fejezetben alább a Terfenadin esetét is leírjuk, mint általános tanulsággal szolgáló történetet.) Ám akárha egy ***előtoxin***ból valamilyen méreg vagy karcinogén molekula is létrejöhet. Az esetek többségében azonban inaktiválásról van szó.

Amint fentebb láttuk, egy CYP enzimnek több (akár sok) szubsztrátja is lehet, amelyek kompetitív viszonyban állnak egymással. Egy gyógyszer lehet szubsztrátja több CYP enzimnek is (ennek megfelelően többféle metabolikus útja létezhet páthuzamosan a szervezetben), lehet egyidejűleg szubsztrát és induktor, de lehet valamely CYP enzim(ek) szubsztrátja és más enzim(ek) gátlószere is. És hogy a kép még bonyolultabb legyen, egyéb – nem medikamentum – xenobiotikumok is megjelenhetnek az elsorolt szerepekben, befolyásolva a gyógyszerhatást.

Annak, hogy a CYP enzimek génjeinek – amint a fentiekben említettük – igen sok allélikus variánsa van, azaz rendkívül nagyfokú a populációs polimorfizmus, messze ható farmakogenomikai következményei vannak, illetve lehetnek egyedi szinten. Ezek jelentkezhetnek a különböző gyógyszerekre való túlérzékenységben (**mellékhatás**ok[49], kisebb dózis szükséges, vagy más szerre kell áttérni), avagy csökkent érzékenységben (nagyobb dózis kell). Az akárha csak egyetlen betegben észlelt mellékhatások (adverz effektusok) bejelentése kötelező!

Különösen kiemelendő itt a **gyógyszerkölcsönhatás**ok lehetősége, ahol a szóban forgó molekulák nem kémiai mivoltukban érdekesek, hanem valamilyen CYP enzim(ek) közös szubsztrátjaiként (l. pl. fent az INH és Diphedan acetilációját). Ebben az esetben nem csak együtt alkalmazott medikamentumok, hanem bizonyos táplálkozási szokások is érdekesek, amelyekben valamely xenobiotikum bizonyos CYP enzim(ek) szubsztrátja vagy gátlószere.

Ugyanakkor nem feledkezhetünk meg arról sem, hogy a gyógyszerek biotranszformációjára egyéb enzim(rendszer)ek és más fehérjék is hatással vannak (lehetnek). Itt első helyen nem a felszívódás, transzport vagy kiválasztás stb. közreműködőire gondolunk, hanem a gyógyszermolekulák célfehérjéire, amelyeknek semmi közük a P450 rendszerhez, de alapvető jelentőségűek a gyógyszerhatás megjelenésében, minőségében, erősségében, és – más (polimorf) fehérjékhez vagy

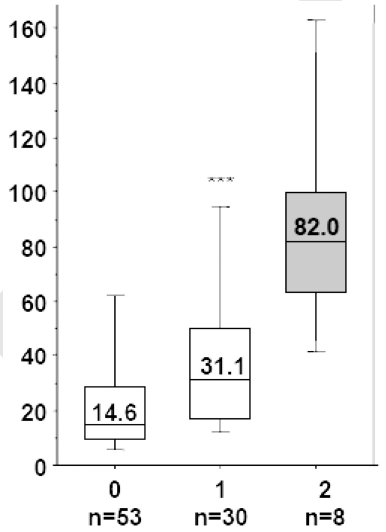
[49] L. a fejezet bevezető mondatát!

fehérjerendszerek tagjaihoz hasonlóan – génikus meghatározottságúak.

Mindezekből következik, hogy a genomika egyik, igen szép és perspektívikus jövő előtt álló ága a farmakogenomika, ami a személyre szabott (genotípus által meghatározott) gyógyszerelést (*personalized medicine*) ígéri a legközelebbi jövőben, egyes esetekben már napjainkban is. L. pl. a Metoprolol szükséges dózisának változását a CYP2 D6 genotípus (és az ettől függő fenotípus, azaz enzimaktivitás) függvényében (13-2. ábra.). És – hogy maradjunk a CYP2 D6 enzimnél – a genotípus és a triciklikus antidepresszánsok dózisának összefüggését is bemutatjuk. (Tematikailag részletesebben és egyéb – fontos! – szempontból vizsgálva l. még a 14. fejezetben.)

Mit kezdhet egy klinikus a sok CYP enzimmel és ezek kiterjedt polimorfizmusaival, ha a személyre szabott gyógyszerelés gyakorlatát kívánja alkalmazni betegeinél?

Ezek esetében a genetikai = lokusz-specifikus megközelítés nem elegendő, hanem genomikai analízisre van szükség, és ezen belül is a szóban forgó allélek, variánsok (izoformák) expressziójának meghatározására. Ma már ennek lehetősége adott (legfeljebb rendkívül drága.) micro-array technikával nem csak a gének és változataik megléte, azonosítása, hanem azok kifejeződésének mértéke is meghatározható (l. a 8. fejezetben). Ezek után egy gyógyszer helyes dózisának beállításához már nem a „próba–szerencse" elv alkalmazására lesz szükség, hanem objektív kiindulópontja lehet a kezelés személyre szabásának, ide értve az adott betegség genomikai hátterének feltárását is, amennyiben abban örökletes tényezők is szerepelnek.



13-2.ábra

A Metoprolol szintje a vérplazmában a CYP2 D6 genotípus függvényében

A Metoprolol kardioszelektív β-adrenerg receptor blokkoló gyógyszer, csökkenti a vérnyomást és a szívizom oxigén-igényét, ezáltal – egyebek között – az infarktus veszélyét. Az ábra szerzői a 0 allélek számának függvényében ábrázolják a szer vérplazma-szintjét. Az alacsony CYP2 D6 aktivitás magasabb koncentrációt eredményez a vérben = minél magasabb az enzim-koncentráció, annál gyorsabb a Metoprolol eliminálása.

A gyógyszerekhez mellékelt vagy azokról publikált gyári tájékoztatók egyre inkább áttekintik az illető szer hatásának farmakogenetikai, ill. farmakogenomikai hátterét, ide értve az esetleges gyógyszerkölcsönhatásokat csakúgy, mint az ismert

célmolekulák genetikáját.

Illusztráció: a **nortriptilin** antidepresszáns szükséges napi dózisa a CYP2 D6 fenotípus függvényében:

lassú metabolizálók esetén: 10-20 mg
gyors metabolizálóknál: 75-150 mg
ultragyors metabolizálóknál: ≈500 mg

Az adagolási dózis különbsége természetesen meghatározza a szer alkalmazásának időrendjét, frekvenciáját is.

Lássunk egy példát arra, hogy egy gyógyszer biotranszformációja több CYP enzim funkciója! E jegyzet írásának idején igen népszerű a **Paracetamol**. Ennek szervezeten belüli sorsa:

glükuronidálás 60%-ban,
szulfatálás 35%-ban,
a maradék 5% egy részét mérgező termékké alakítja át a CYP2 E1 enzim.

A CYP2 E1 aktivitás magasabb lehet *(1)* genotípusos okokból, *(2)* ill. kiválthatják egyéb gyógyszerek vagy xenobiotikumok, diétás szokások. (Az enzim egyik legismertebb induktora az etilalkohol[50].) Azaz a mérgező termék részaránya magasabb lehet az említett 5%-nál. Nem ritka a fokozott aktivitás hátterében a génduplikáció. (Ez egyéb CYP enzimek emelkedett szintje esetén is oki tényező, pl. a CYP2 D6 esetén a nortriptilin fent említett ultragyors metabolizálóinál.) A Paracetamol ilyen toxikus hatása mindenekelőtt a májra vonatkozik, így számos egyéb CYP enzim aktivitása csökkenhet. **A példa egyben felhívja a figyelmet a vény nélkül kapható szerek (étrendkiegészítők stb.) használatának adagolási és interakciós veszélyeire is**!

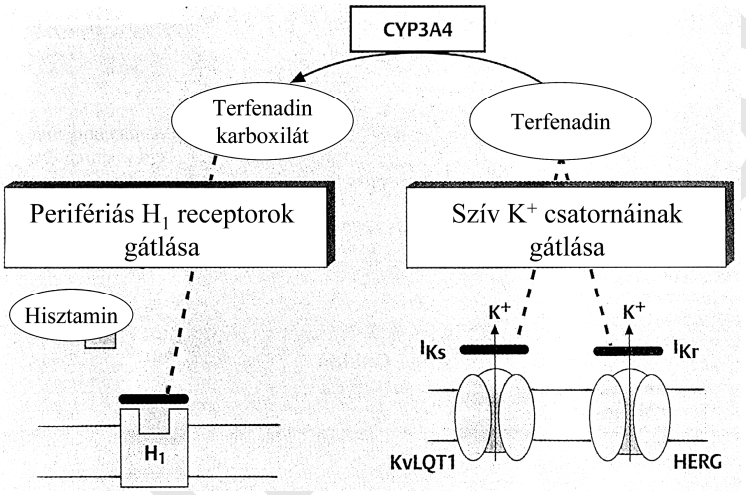
Érdekes farmakogenetikai példával szolgált a **Terfenadin** története. Ez volt az első olyan antihisztamin antiallergiás szer, amelynek nem volt szedatív hatása. Aligha kell hangsúlyoznunk, hogy bizonyos foglalkozások és tevékenységek (járművezető, darukezelő stb.) gyakorlását lehetetlenné teszi a leküzdhetetlen álmosság. Először akkor került a figyelem középpontjába a Terfenadin, amikor néhány betegben azok közül, akik erythromycinnel együtt szedték, szívműködési rendellenességet: arrhythmiát váltott ki. A részletes vizsgálatok kimutatták, hogy a Terfenadin (mint *prodrug*) maga antihisztaminként teljesen hatástalan és a CYP3 A4 enzim alakítja át a hatásos terfenadin karboxiláttá. Bármi, ami ennek az enzimnek az aktivitását gátolja/csökkenti, nevezetesen: *(1)* kórosan leromlott májfunkciók (hepatitis, krónikus alkoholizmus), *(2)* egyidejűleg adott xenobiotikumok, gyógyszerek (pl. erythromycin és más antibiotikumok, antimikotikumok stb.), *(3)* mutáns gén, a szer magas vérszintjét eredményezi. Ez pedig, bizonyos ioncsatorna-variánsok megléte esetén rendellenes szívműködést okoz (13-3. ábra). Röviden: bizonyos genotípus(ok) és/vagy bizonyos kórállapot(ok) egybeesése valamilyen gyógyszereléssel igen súlyos, akár halálhoz is vezető komplikációt okozhat. E felismerés(ek)

[50] Következtetés: sohase vegyünk be Paracetamolt (tartalmazó szert) alkoholos itallal!

nyomán ma már terfenadin karboxilát szerezhető be a gyógyszertárakban.

A Terfenadinon kívül számos más gyógyszer is ismert, amelyek inaktív formában, előgyógyszerként kerülnek forgalomba, s a szervezetben történő biotranszformációjuk nyomán alakulnak hatásos vegyületté. Az ismert köhögéscsillapító codein gyakorlatilag sokakban hatástalan, csak azokban aktív, akikben a CYP2 D6 átalakítja morfinná.

Nem lehet feladata ennek a jegyzetnek semmiféle gyógyszer ismertetésének átvétele a gyógyszertantól, vagy klinikai használatára vonatkozó eligazítás. Úgy gondoljuk, a felsorolt néhány példa segít abban, hogy a hallgatóság felsőbb éves tanulmányai, ill. a betegágy melletti vagy ambuláns orvosi tevékenysége során kellő farmako/genetikai/genomikai alapismeretekkel felvértezve, lássa majd az erdőt is, ne csak fákat, amelyek azt eltakarhatják.



13-3. ábra

Terfenadin hatás bizonyos ioncsatorna variánsok esetén a szívizomban (jobbra), ill. kívánatos antiallergiás hatás a terfenadin karboxilát esetén (balra)

Általában, de egyes medikamentumok esetén különösen tekintettel kell lenni az alkalmazáskor fennálló külső és belső környezeti körülményekre. Mik tartoznak legfőképpen ide? Étkezési szokások, preferenciák, élvezeti szerek stb. Mindenki előtt ismert, hogy egyes gyógyszerek étkezés előtt, mások közben, megint mások utána veendők be, alkalmasint nagyobb időtávolban. A grépfrút enzimgátló, a brokkoli, káposzta stb. enziminduktor, a nikotin és etilalkohol úgyszintén az. A szervezet kortól, génikus háttértől vagy valamely előrehaladott betegségtől befolyásolt állapota, különös tekintettel a májra és vesére, erősen módosíthatja a gyógyszer metabolizmust. Ilyen pl. a vérkeringés általános romlásán belül a máj, ill. a vese keringésének elégtelensége. A májfunkciók romlását előidézheti hepatitis, vagy előrehaladott alkoholizmus talaján kifejlődött májelégtelenség.

A gyógyszermellékhatások mindmáig legismertebb, mert legtragikusabb és sok embert, sok családot súlyosan érintő példája a **Thalidomid embriopátia**, egy **teratogén** (fejlődési rendellenességet okozó, de nem mutagén hatás), az ún. Contergan

bébik világrajöttének esete. Ennek legismertebb formája a phocomelia, végtagfejlődési rendellenesség, elégtelenség. Ugyanakkor ez már régen ismert volt spontán megjelenéssel is. Vagy mégsem spontán? Bizonyos, rendkívül ritka (vagy újonnan keletkezett mutáns) genotípus által meghatározottan? Avagy ritka genotípusos háttér mellett valamilyen külső hatás által indukáltan?

A Contergant (a Thalidomid egyik pátens neve) mint enyhe, de nagyon hatásos nyugtatót alkalmazták, leginkább várandós asszonyok kezelésére, 1957-től 1961-ig. Ez alatt az idő alatt mintegy 10 000 Contergan bébi világrajöttét regisztrálták. (Félreértések elkerülésére: a felismerés és a megnevezés is utólagos volt.) Nem csak phocomelia, hanem egyéb szervi rendellenességek is kimutathatók voltak, az organogenezis aktuális állapotának és a szer szedésének ideje függvényében, igencsak specifikusan. Utólag ezt a történetet meglehetősen jól meg lehetett érteni és leírni. Utólag!... Végtagfejlődési rendellenesség kialakulása a 4–8. embrionális hét eseménye volt. A Contergant e felismerés megszületése után azonnal betiltották. Ami viszont továbbra is rejtély maradt: lényegesen több várandós nő szedett terhessége első trimeszterében thalidomidot, mint ahányan rendellenes babát szültek. Anyai genotípus? Magzati genotípus? A kettő együtt, kölcsönhatásban? Egyéb – környezeti(?) – ártalom közrehatása?

A Thalidomid embriopátia jelenségéből más fontos tanulság is adódott. A molekula kémiai szintézise két sztereoizomér (enantiomer) változatot eredményez. Az S enyhe tranquillans (nyugtató hatású), az R súlyosan teratogén. Milyen „egyszerű" megoldás lenne csak az S változatot előállítani és használni… A biotranszformáció következtében azonban rendkívül rövid idő alatt kialakul a két változat 1:1 aránya a szervezetben.

Végezetül. A Thalidomid nagyon jó, hatásos gyógyszer, aminek forgalmazását újra engedélyezték, természetesen nem állapotos nők számára.

Mára pedig elterjedtté vált annak vizsgálata, hogy milyen kiralitású a molekula, amit gyógyszerként sikeresen vagy sikertelenül próbálnak fejleszteni.

Többször felmerült már a fentiekben, hogy a farmakogenetika a xenobiotikumoknak egy különös, érdemben csak az utóbbi évszázadban elterjedt csoportjával, a gyógyszerekkel foglalkozik, evolúciós eredete tulajdonképpen az ökogenetika/ökogenomika körébe tartozik. Erre szolgált példával a fentiekben a G6PD hiány, mint összekötő kapocs a két ág között. Itt az alábbiakban egy másik, fordított irányt mutatunk be: a teratogenitás bizonyos környezeti természetes anyagok alkalmazásával többé-kevésbé kivédhető.

A magzatvédő vitamin genetikája

Súlyos fejlődési rendellenesség kialakulásának megelőzése fólsav és egyéb vitaminok adásával. A **velőcsőzáródási rendellenességek** (**VZR**, az angol szaknyelvben NTD = *neural tube defects*) általában fatális kimenetelű veleszületett fejlődési hibák, amelyeket multifaktoriális meghatározottságúakként írtak le (poligénes öröklődésűek, valamint külső/belső környezeti tényezők befolyásolják kialakulásukat). Ezeket a defekteket fokozódó súlyossági sorrendben említve a követke-

ző sort kapjuk:

spina bifida (*-occulta*, *-tecta*, *-aperta*, *-cystica*),
craniorachischisis,
anencephalia,
acrania.

A nyitott gerinc enyhébb formái (spina bifida occulta, -tecta) nem járnak kóros tünetekkel, vagy sikerrel operálhatók, a súlyosabbak (amelyek általában a gerinc caudalis szakaszát érintik) alsó végtagi bénulásokat okoznak, az érintettek (többségükben nőneműek) csakis kerekes székben képesek önálló helyváltoztatásra (ha egyáltalán), székletüket, vizeletüket tartani nem tudják, azaz önálló életvitelre képtelenek. A legsúlyosabb formák összeegyeztethetetlenek az élettel. A prenatalis genetikai szűrés módszerének kidolgozása előtt a VZR csoport jelentette az egyik legjobban félt magzati fejlődési rendellenességet. Bővebben l. a 6. fejezetben.

A nyitott gerinc mellett megszaporodik a magzatvízben, majd innen az anyai vérben az α-foetoprotein (AFP), aminek magasabb szintje utalhat a rendellenesség fennállására[51]. Maga az elváltozás magzati ultrahangvizsgálattal diagnosztizálható. Súlyosabb, nem operálható esetben a terhesség megszakítása javallt.

A spina bifida megelőzésében hatalmas áttörést jelentett a **fólsav** alkalmazása. Ez legfőbb forrása, a zöld levelek révén benne van a normál táplálkozásunkban, de az év bizonyos szakában, nevezetesen télen, ill. megemelkedett szükséglet esetén (amilyen pl. a várandósság) nem elégséges a szokásos táplálékkal való bevitele, hanem emelt dózisára van szükség. Ha ezt profilaktikumként, megelőzésre alkalmazzák, azaz legalább három hónappal a tervezett fogamzás előtt elkezdik és a várandósság egész folyamata alatt adagolják, más vitaminokkal együtt (**terhességi multivitamin kezelés**), nagy statisztikai felmérések szerint a spina bifida populációs esetgyakorisága mintegy 70-75%-kal csökken. Kiterjedten alkalmazható a fólsav például úgy is, hogy liszthez keverik. Így az egész népességre érvényesül preventív hatása. Egyéb élettani folyamatokban is jelentős szereplő.

Szervezetünkben az aktív forma a tetrahidrofolát (FH4), ami a dihidrofolátból (FH2) regenerálódik. Az FH4 szükséges pl. a DNS replikációhoz (a purin és timin bioszintézishez), a glicin → szerin konverzióhoz, a kolin bioszintézishez, és – jelen tárgyalásunk szempontjából első helyen – a **homocisztein → metionin** átalakulás teljességének a biztosításához. Ebben az N5-metil-FH4 a metildonor, mely vegyület keletkezésének kulcsenzime az MTHFR, az 5,10-metilén-tetrahidrofolát reduktáz. A metilcsoport homociszteinre való átviteléhez B12 vitamin is szükséges.

A homocisztein a szervezetben keletkező mérgező molekula. Ami, ha nem alakul át gyorsan és hatékonyan metioninná, számos élettani folyamat megzavarására képes, pl. fokozott véralvadásra hajlamosít.

Hogyan került a képbe a MTHFR? Ennek génjében ismert egy variáns: a C677T, mely SNP az enzimet kissé hőlabilissá teszi. Mit jelent ez? Hogy 37 °C-on

[51] Kötelező szűrővizsgálat volt a terhesgondozás során, e jegyzet írásának idejére a kötelező jelleget hazánkban megszüntették a meglehetősen sok fals pozitív lelet okán.

az MTHFR aktivitás csökken. Ez a defekt azonban az esetek egy részében korrigálható, az érintett fehérje stabilizálható a fólsav kisebb fokú túladagolásával.

A VZR kialakulásának legmagasabb genetikai kockázatát az jelenti, ha mind az anya, mind magzata homozigóta az *MTHFR* (1p36.3) említett variánsára. Más megközelítésben: magas az anyai kockázat, ha *MTHFR* variáns homozigóta nőről van szó, akinek alacsony folátszint mérhető a vörösvérsejtjeiben. (A variáns allél meglehetősen gyakori a populációban.)

Ezen ismeretek birtokában könnyen juthatnánk arra a következtetésre, hogy a VZR nem multifaktoriális, hanem monolokuszos rendellenesség. Ez azonban nem így van. A fólsav adagolása valóban jelentős mértékben csökkentette ennek a fejlődési rendellenességnek az incidenciáját, de e mellett is relatíve magas maradt az előfordulási gyakoriság. Így továbbra is fenntarthatjuk azt a nézetet, miszerint a VZR multifaktoriális rendellenesség. A szívfejlődési rendellenességek után a spina bifida és acrania a második leggyakoribb fejlődési rendellenesség (nem feledve a prenatalis diagnosztikával felismert esetek szelektív eliminálását sem).

Más oldalról közelítve meg a problémát: vajon farmakogenetikai vagy ökogenetikai kérdéssel állunk-e szemben? A fólsavat tulajdonképpen mint medikamentumot adagolják, de alapvetően egy természetes, táplálékainkban előforduló anyagról, vitaminról van szó. Felesleges hely- és időpocsékolás lenne ennek elvi alapjait feszegetni. Ismét megállapíthatjuk, hogy a farmakogenetika és az ökogenetika tulajdonképpen kéz a kézben jár.

Környezetünkben rengeteg – és évről évre több – olyan kemikália jelenik meg, ami bekerülhet az emberi szervezetbe, sőt, alkalmasint pont arra hozzák létre, hogy oda bekerüljön. Gondoljunk a temérdek kozmetikumra, a megszámlálhatatlan élelmiszeradalékra (színezékek, ízfokozók, állományjavítók, tartósítószerek) és egyebekre. Mások a használatukhoz rendelt tiltó intézkedések és óvó rendszabályok ellenére jut(hat)nak be egyes emberek, vegyipari dolgozók, csomagolók, szállítók, avagy növényvédőszerek alkalmazói szervezetébe. A vegyiparban (itt a gyógyszeriparra is gondolnunk kell) se szeri, se száma a köztitermékeknek, amelyekkel az ott dolgozók érintkezhetnek. Ezek ökogenetikai szempontból történő analízise praktikusan megoldhatatlan. Örülnünk kell, ha a végtermékek mutagenitás-vizsgálata az előírások szerint megtörténik. (Ames teszt, metabolikus aktiválással[52] egybekötve.) Hogy melyik gyógyszer felszívódásával interferálnak, melyik CYP enzimet gátolják vagy éppen indukálják s befolyásolják ezzel egyik vagy másik gyógyszer biotranszformációját vagy kiválasztását, annak kiderítése legfeljebb ritka szerencsés konstellációban lehetséges. Említettük fentebb, de itt újra meg kell tennünk: hajlamosak vagyunk vizsgálódásainkat a CYP rendszerre koncentrálni, de ahogy a farmakogenetikában elsőrendű szerepe van a célmolekuláknak, úgy ezt a xenobiotikumok esetleges gyógyszerhatást befolyásoló tulajdonságaira is érvényesnek kell tekintenünk.

Előfordulhat, hogy a *Salmonella typhimurium* baktériumokon (amelyekben

[52] A vizsgálandó anyagot – egérből vagy patkányból származó – májhomogenizátummal kezelik, amelyben jelen vannak – az emberihez hasonló – CYP enzimek.

nincsenek módosító enzimek) végrehajtott **mutagenitási** (**Ames**) **teszt** negatív eredményt ad, de valamelyik CYP enzim(rendszer) a vizsgált anyagból karcinogént hoz létre. A tumorkeletkezés kezdetének pontos mozgatóit rendkívül kevés esetben ismerjük (bővebben l. a 11. fejezetben), de az sajnos biztonsággal állítható, hogy **a daganatos megbetegedések száma a világban folyamatosan nő**.

A mezőgazdaságban használt vegyszerek (pesticidek, műtrágyák, állati tápok stb.) a termesztett növények és/vagy tenyésztett állatok számára xenobiotikumok. Különösen tekintettel kell lenni azokra a növényvédőszerekre, amelyek a növényekben átalakulnak, majd, miután ezeket az állatok elfogyasztották, ott tovább módosulnak (a növényevő haszonállatok CYP rendszerei hasonlóak, de nem azonosak az emberi gének által meghatározottakkal), majd bizonyos termékekben (hús, tej, tojás stb.) feldúsulva kerülnek az emberi táplálékláncba.

Nem szabad megfeledkezni arról, hogy a szóban forgó szerves vegyületek legalább fele sztereoizomerek formájában keletkezik a szintézisük folyamatában, és az emberi enzimrendszerek csakúgy, mint a növényiek és állatiak ezek közül csak az egyik változat kezelésére képesek. Egy másik példa: a warfarin (véralvadás gátló, l. fentebb) is királis molekula, sztereoizomerjei közül az S-warfarin közelítőleg ötször aktívabb, mint az R-warfarin.

A környezeti hatások és a genotípus összefüggése terén már láttunk példát a 9. fejezetben. Az α1-antitripszin hiányban szenvedők túlélési esélyét nagyban rontja a dohányzás, a dohányfüst hatására ugyanis az aktív helyen lévő metionin oxidációja miatt az α1AT elasztáz iránti affinitása három nagyságrenddel csökken.

Ha a szervezetbe bekerülő xenobiotikumoknak a gyógyszerhatás(ok)ra gyakorolt esetleges befolyását akarná valaki alaposabban megvizsgálni, maximálisan lehetetlen feladatra vállalkozna. Ha csak egy medikamentum és egy CYP variáns viszonylatában kutakodna, akkor is ritka szerencsének tarthatná, ha egy jól meghatározott xenobiotikumra szűkíthetné le tanulmányait, amelyekbe sok pácienst tudna bevonni. A valóság az, hogy egy-egy paraméterbe sorolt genotípusok és fenotípusok, az ezekhez rendelhető gyógyszerek és környezeti xenobiotikumok egy-egy észlelhető hatása százezrek közül csak egy-két emberen realizálódik, s mint ilyen, észlelhetetlen, vagy az összefüggések felismerése nem jut el a bizonyító erőig.

E jegyzet írásának idején érkeznek hírek arról, hogy az emberiség újabb xenobiotikum-veszélyt kreált magának: a kémiailag módosított drogokat. Ezekről sem feltételezhető, hogy készítőik az illetékes laboratóriumokban öko/genetikai/genomikai vizsgálatukat kérnék a forgalomba hozatal előtt.

A szennyező anyagok, amelyeket az emberiség a környezetébe kibocsát, úgyszintén elkerülik az alapos ökogenetikai vizsgálatokat. Abban mára teljes az egyetértés, hogy a kipufogógázok súlyos egészségkárosítók. De nem teljesen tisztázott még a szennyvizekbe került emberi (!) szteroid hormonok, fogamzásgátlók sorsa a halakban, amelyeket alkalmasint nyersen fogyasztanak. A módosított szexhormonok bevitelét teszik felelőssé egyes szerzők az emberiség csökkenő reprodukciós képességéért, ahol ez releváns, és egyelőre nem lehet azt mondani, hogy biztosan nincs igazuk. (Módosított női hormonok hatása a férfiakra ivóvízben, tejben stb.)

DUPress

14. fejezet

Személyes és etikai megfontolások az orvosi genetikában

Néhány szó a személyre szabott genetikai medicináról

Több mint száz év telt el azóta, hogy a brit orvos kutató, Archibald Garrod leírta a metabolizmus veleszületett hibájának fogalmát, ezáltal örökre összekapcsolva a biokémia és a mendeli genetika addig jól elkülönülő területeit. 1902-ben ő vetette fel először a **kémiai individualitás** gondolatát: „… annak titka, hogy mely betegségekben szenvedünk, és melyeknek tudunk ellenállni, a saját kémiai szerkeztünkben rejlik."

Ma már közel állunk ahhoz, hogy az egyes ember genomi rizikófaktorait feltérképezve személyre szabott prevenciós tervet tudjunk készíteni, ill. a genotípus ismeretében az egyes betegségek kezelését is egyéni protokoll szerint végezhessük. Ez azt jelenti, hogy hamarosan belépünk a **személyre szabott genetikai medicina** korszakába – ezzel megvalósul majd a Humán Genom Projekt legfontosabb célkitűzése.

Noha mindez még a jövő zenéje, természetesen a jelenkor orvoslásában is érvényesülnek személyre vonatkozó szempontok. A fejezet első részében ezeket tekintjük át.

A családi előzmények fontossága

Az orvosok régóta tudják, milyen fontos feltérképezni, hogy egy adott betegség előfordult-e a páciens családjában. A monogénes rendellenességeket illetően pl. pontos kockázatbecslést végezhetünk az öröklődés mendeli szabályainak ismeretében – ezt a fentiekben már láttuk és az alábbiakban még visszatérünk rá.

A családi anamnézis akkor is elengedhetetlen, ha azt akarjuk meghatározni, hogy mekkora a betegünk rizikója egy komplex, multifaktoriális betegségre nézve, hiszen, ahogy a 6. fejezetben láttuk, a genetikai terheltség mellett nem ritkán a környezeti tényezők (pl. táplálkozási szokások, viselkedés stb.) is nagyfokú hasonlóságot mutatnak egy családon belül. Ha a kérdéses személy elsőfokú rokona szenved valamely gyakori, komplex megbetegedésben (cardiovascularis betegség, emlőrák, 2-es típusú diabetes stb.), akkor annak a személynek 2-3-szoros a kockázata az adott betegségre nézve a populáció átlagához képest. Bár ez csak enyhén emelkedett rizikót jelent, egyéb tényezők (környezet, több érintett rokon) ezt tovább

emelhetik: pl. egy férfi, akinek három elsőfokú férfirokonát kezelték prosztatarákkal, már 11-szeres kockázattal kell számoljon.

Természetesen – az egypetéjű ikreket leszámítva – senki sem rendelkezik pontosan ugyanazokkal a génekkel, mint valamely rokona. Ezért a családi anamnézis csak indirekt kockázatbecslésre alkalmas, és bizonyos esetekben szenzitívebb módszerre lehet szükség.

A genetikai szűrés

A genetikai szűrés célja, hogy azonosítsa a populáció azon tagjait, akik fokozott kockázattal bírnak egy adott génikus betegség szempontjából. Nem szabad összekevernünk a genetikai tesztekkel, melyeket pl. egy mutáns allél hordozóinak azonosítására végeznek egy olyan családon belül, ahol a betegség már felbukkant. A szűrést tehát a kijelölt célpopuláció minden tagján elvégzik, a családi előzményektől függetlenül.

Ahhoz, hogy meg tudjuk határozni, mennyire jól használható egy genetikai szűrővizsgálat, három tényezőt kell megvizsgálnunk: az analitikai validitást, a klinikai validitást és a klinikai hasznosságot.

Az **analitikai validitás** azt fejezi ki, mennyire gyors és gazdaságos a laboratóriumi módszer, amelyet az adott genotípus vagy metabolit kimutatására szeretnénk használni.

A **klinikai validitás** két további tényezőből tevődik össze: a szenzitivitásból, és a specificitásból. A szenzitivitás annak mércéje, hogy a teszt mennyire érzékeny az adott betegségre nézve – vagyis alacsony szenzitivitás esetén álnegatív eredményeket kaphatunk, ami azzal jár, hogy a teszt ellenére a betegségre hajlamos személyek egy részét csak a tünetek jelentkezése után ismerjük fel.

A specificitás ezzel szemben azt mutatja, hogy a teszteredmény mennyire jellemző a vizsgált betegségre (vagyis arra, és csak arra jellemző-e, vagy más esetben is pozitív lehet). Ha a specificitás alacsony, akkor álpozitív eredményeket kapunk, ezzel fölösleges aggodalmat okozva a betegnek, ill. (pl. újszülöttkori szűrővizsgálat esetén) a szülőknek.

A fentiekkel ellentétben a **klinikai hasznosság** nem közvetlenül a laboratóriumi teszthez kapcsolódik, hanem azt fejezi ki, hogy sikeres szűrés esetén a kezelőorvos (az orvostudomány aktuális állását figyelembe véve) mennyire lesz képes javítani a beteg állapotán. Itt több feltételt kell megemlítenünk:

- A szűrni kívánt betegség megfelelően kezelhető.
- A korán elkezdett kezelés (a tünetek jelentkezése előtt) elejét veszi a betegség súlyosbodásának.
- A betegség a rutinszerűen végzett vizsgálatokkal nem deríthető fel időben, így szükséges a szűrés.
- A betegség elég gyakori és súlyos ahhoz, hogy indokolja a szűrővizsgálat jelentette költséget; más szóval a szűrés költséghatékony.

Hogy jobban megértsük, mit is jelent a klinikai hasznosság a gyakorlatban, térjünk vissza az Alzheimer-kór 6. fejezetben tárgyalt példájára. Ha újra áttekintjük az

ott közölt táblázatot, látható, hogy az *APOE* gén ε4 allélja heterozigóta formában kb. 3-szoros, míg homozigóta formában kb. 20-szoros kockázatot jelent az Alzheimer-kór kialakulására nézve. Vajon ez elegendő-e ahhoz, hogy széles körben bevezessük a szűrővizsgálatot?

A válasz az, hogy természetesen nem. Egyrészt, még ha ki is mutatjuk az allélt, az Alzheimer-kór kialakulásának kockázata továbbra is alacsony: még azon személyekben is, akik homozigóták az ε4 allélre nézve (a populáció 1,5%-a), a betegség kialakulásának valószínűsége kevesebb, mint 1/4. Másrészt, mivel az Alzheimer-kór igen rosszul kezelhető, klinikai előny nem várható akkor sem, ha korán felismerjük a betegséget. Amennyiben tehát bevezetnénk a szűrést a fiatal populáció körében, annak egyetlen eredménye az lenne, hogy jelentős lelki megterhelést okozna mindazok számára, akikről kiderül, hogy homozigóta formában hordozzák az ε4 allélt.

Prenatális szűrővizsgálatok

Prenatális szűrésen a magzati (alkalmasint már az embrionális kori) élet során végzett vizsgálatokat értjük. Ide tartoznak a kromoszómavizsgálatok amnionfolyadékból vagy chorionboholy-mintából, az alfa-foetoprotein (AFP) kimutatása anyai szérumból, vagy az ún. „tripla szűrés" (AFP, hCG, ösztriol) a velőcsőzáródási rendellenességek és a kromoszomális aneuploidiák kiszűrésére. Pillanatnyilag nagy reményeket fűznek a magzati DNS anyai vérből történő vizsgálatához.

Újszülöttkori szűrővizsgálatok

A populáció-szintű szűrés legközismertebb példái azon programok, melyek az újszülöttek körében azonosítják a gyakoribb genetikai betegségeket, még a tünetek megjelenése előtt.

Ezen vizsgálatok közül is a legmintaszerűbbnek az I-es típusú **fenilketonúria** (PKU) szűrését tartják, amely maradéktalanul megfelel az analitikai és klinikai validitás, ill. a klinikai hasznosság kritériumainak. A szűrés lényege, hogy egy csepp vérből kimutatják a fenilalanin szintjét (ha emelkedett, a teszt pozitív). A vizsgálat azért fontos, mert a PKU korai diagnózisát követően beállítható a fenilalanin-szegény diéta, amely megelőzi az irreverzibilis mentális retardáció kialakulását (a részleteket illetően lásd a 10. fejezetet).

Hasonlóan fontos lehet a (legtöbbször monolokuszos) veleszületett süketség, a hypothyreosis (pajzsmirigy-elégtelenség), ill. egy sor egyéb betegség, mint pl. a galaktozémia, sarlósejtes anémia, biotinidáz-hiány stb. szűrése. Különböző populációkban más és más lehet a szűrővizsgálatok fontossági sorrendje – pl. az afroamerikaiak körében a sarlósejtes anémia prevalenciája lényegesen meghaladja a fenilketonúriáét, míg Magyarországon alig fordul elő a betegség.

Új lehetőség az újszülöttkori szűrővizsgálatokban a **tandem tömegspektrometria**. A módszer lényege, hogy több, időben vagy térben elválasztott tömegspektroszkópiás lépés segítségével egyazon vizsgálat számos különböző metabolit azonosítására alkalmas: így kimutatható, ha a vérben megemelkedett a fenilalanin

(PKU), a metionin (homocisztinúria) vagy az elágazó láncú aminosavak („jávorfaszörp-betegség"), galaktóz (galaktozémia) stb. koncentrációja.

Genetikai szűrés felnőttkorban

A felnőttkorban végzett szűrővizsgálatokat két fő csoportra oszthatjuk: a genetikai epidemiológia tárgykörébe tartozó vizsgálatokra, valamint a heterozigóta-szűrésre.

A **genetikai epidemiológia** azon rizikófaktorokkal foglalkozik, melyek szerepet játszanak egyes komplex betegségek patogenezisében. Ahhoz, hogy egy populációból ki tudjuk szűrni mindazon személyeket, akik genotípusuk alapján fokozott kockázattal bírnak pl. a magas vérnyomás, a *diabetes mellitus* stb. szempontjából, először azt kell meghatároznunk, hogy mely genotípusok jelentenek fokozott rizikót, ill. melyek védő hatásúak az adott betegségben. Ehhez epidemiológai vizsgálatra van szükség, melynek több formája ismeretes: (L. még 6. fejezet.)

- Eset-kontroll vizsgálat: kiválasztunk egy-egy csoport beteg és egészséges személyt, majd meghatározzuk és összehasonlítjuk genetikai és környezeti rizikófaktoraikat.
- Keresztmetszeti vizsgálat: kijelölünk egy véletlenszerű mintát a populációban, majd felosztjuk az egészségesek és a betegek csoportjára. Ezt követően az eset-kontroll vizsgálathoz hasonlóan vetjük össze a rizikótényezőket a két csoportban.
- Kohorsz-vizsgálat: választunk egy nagyszámú mintát a populációból, majd egy bizonyos időn keresztül megfigyeljük őket, és megállapítjuk, kiben alakult ki a betegség, és kiben nem. Ezután összehasonlítjuk a rizikófaktorokat. A kohorsz-vizsgálat drágább és időigényesebb, mint az előző két módszer, de előnye, hogy nem becsüli alul a betegség gyakoriságát azon esetekben, ahol a betegség gyorsan halálhoz vezet (tehát pl. egy keresztmetszeti vizsgálatban alig találnánk beteg egyéneket), ill. akkor, ha a betegség csak késői életkorban fejlődik ki.

A **heterozigóta-szűrés** a fentiekkel ellentétben nem a multifaktoriális betegségek, hanem a klasszikus, autoszomális vagy X-hez kötött recesszív öröklődésű genetikai betegségek frekvenciájának csökkentését tűzi ki célul.

A heterozigóta-szűrés kivételt képez a genetikai szűrővizsgálatok csoportján belül, hiszen nem a betegeket vagy a betegségre hajlamos személyeket szűrjük ki, hanem azon heterozigótákat, akik egymással házasságot kötve a gyermekeik körében jelentős (1/4) kockázattal kell számoljanak az adott megbetegedésre nézve. A szűrés önkéntes alapú, és a génikus betegségek nagy száma és ritkasága miatt természetesen nem végezhető általánosan: pusztán azon populációkban alkalmazzák, ahol az adott betegség kiemelt prevalenciával bír (ilyen pl. a Tay-Sachs kór szűrése az askenázi zsidók, a sarlósejtes anémiáé az afroamerikaiak között, vagy a β-talasszémiáé pl. Ciprus és Szardínia szigetén).

Noha egy vad típusú allélnek elméletileg korlátlan számú mutáns variánsa létezhet, a klinikai gyakorlatban jelentős sikereket értek el olyan allél-specifikus

oligonukleotidok alkalmazásával, melyek az adott populáció leggyakoribb mutáns alléljaira szűrnek. Lássuk példaként a cisztikus fibrózist: azt a 23 mutációt tesztelve, amelyek a legmagasabb frekvenciával fordulnak elő kaukázusi fehérekben, az összes mutáció 88, így a magas kockázatú fehér párok 80 százalékát ki tudták szűrni az Egyesült Államokban. Ugyanezt a 23 allélt vizsgálva a latin-amerikai származású hordozók 72, az afroamerikaiak 64, az ázsiai származású amerikai heterozigótáknak pedig mindössze 49%-a bizonyult pozitívnak a teszten.

A genetikai tanácsadásról

A genetika tanácsadás a laikusok körében is jól ismert orvosi tevékenység – sokan csak ennek kapcsán találkoznak a genetika területével. Egy pár számos okból megfordulhat ilyen tanácsadáson: gyakran azért, mert korábban született egy genetikai rendellenességben szenvedő gyermekük, vagy azért, mert ilyen betegség már előfordult valamelyikük (esetleg mindkettejük) családjában. Még gyakoribb, hogy a terhes nőt azért küldik a szakrendelésre, mert egy labor vagy ultrahanglelet alapján a magzat esetleges génikus károsodására lehet következtetni. A meddőség (ha egy éves próbálkozás után sem alakul ki sikeres terhesség), a habituális vetélés, ill. a rokonházasság szintén indok lehet.

Lássuk tehát, mi is a tanácsadó feladata. A legfontosabb, hogy a mai irányelvek szerint a genetikai tanácsadás **nondirektív**. Ez azt jelenti, hogy valójában nem adunk „definitív tanácsot": a döntést minden esetben a szülőkre bízzuk. Lényeges viszont, hogy a pár minden lehetséges információt megkapjon, ami segítheti őket a döntéshozatalban.

Az esetek nagy hányadában, a terhesség megfelelő szakaszában sokat segíthet a prenatális kromoszómavizsgálat. Ha azonban a terhes nő visszautasítja az invazív vizsgálatot, vagy nem kromoszóma-szintű betegségről van szó (pl. monogénes rendellenességek), akkor más módszert kell találnunk.

Ezen módszerek közé tartozik a kockázatbecslés családfa alapján, ill. a DNS-vizsgálat. Ha a szülők vagy a magzat vizsgálati eredménye jelentős kockázatra utal, a pár dönthet a **művi abortusz** mellett, amennyiben ennek jogi és szakmai lehetősége egyaránt fennáll. (Ilyen esetben alapvető a részletes tájékoztatás, és a pszichológiai támogatás.) Hosszabb távon sok ilyen pár a fogamzásgátlást vagy a sterilizációt választja, és az örökbefogadás mellett dönt. Más lehetőség pl. a mesterséges inszemináció, ha az apa hordozza egy autoszomális vagy X-hez kötött domináns betegség alléljét, vagy Robertson-féle transzlokációt. Hasonló esetben, ha az anya a hordozó, petesejt-donáció, majd ***in vitro*** **fertilizáció** (IVF) jöhet szóba.

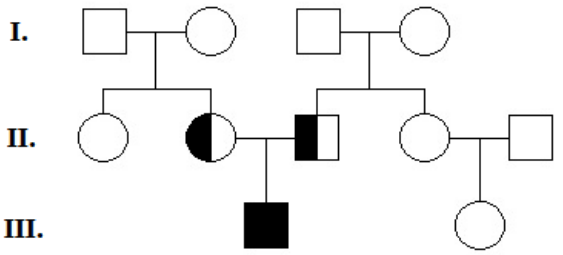
IVF kapcsán sok esetben elvégezhető a preimplantációs stádiumban lévő embrió DNS-vizsgálata PCR-es amplifikálást követően. Ha a vizsgálat fényt derít a betegségre, egy ilyen embrió implantációjának megelőzése sok pár számára elfogadhatóbb etikai szempontból, mint egy később elvégzett művi abortusz.

Komolyabb etikai problémát jelent, ha a szülők egyéb okból kérik az **embrió szelekcióját** az implantációt megelőzően, pl. olyan utódot szeretnének, akinek HLA genotípusa megegyezik egy gyógyíthatatlan betegségben szenvedő gyerme-

kükével, lehetővé téve pl. a hatékony csontvelő (őssejt) transzplantációt. Ilyenkor a beavatkozás nem az adott személy, hanem egy családtag javát szolgálja, és az orvosi irodalomban a mai napig nincs konszenzus arról, hogy mindez etikusnak tekinthető-e. A mellette érvelő szerzők szerint a megfelelő embrióból, ill. újszülöttből származó pluripotens sejtek beültetése olyan hatékony kezelést tesz lehetővé, amely nem csak a beteg, hanem az egész család (így a szelektált gyermek) életét is pozitívan befolyásolja. Ellenzői viszont úgy érvelnek, a „nem megfelelő" HLA-típussal rendelkező embriók kontraszelekciója nem etikus, a szelektált gyermek pedig nem emberi mivoltában, hanem a gyógyítás eszközeként érkezik a családba: azért fogan és születik meg, hogy élete során önmaga számára potenciálisan káros orvosi beavatkozások alanya legyen.[53]

Kockázatbecslés családfa alapján

Családfaelemzésre akkor van szükség a gyakorlatban, ha nincs lehetőségünk közvetlen laboratóriumi teszt (lásd alább) segítségével azonosítani a betegség hordozóit a családon belül. Monogénes öröklődésű rendellenességek esetén a mendeli elvek ismeretében gyakran egyszerűen kiszámítható annak valószínűsége, hogy pl. a probandus születendő gyermeke érintett lesz a betegségben. Vizsgáljuk meg a 14-1. ábrát!



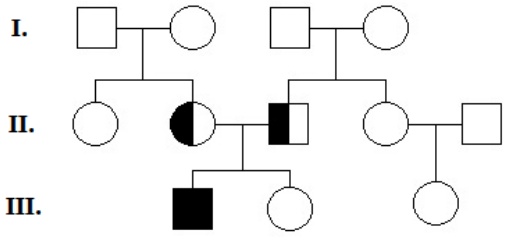
14-1. ábra

Autoszomális recesszív öröklődés családfája

Az ábrán egy ritka **autoszomális recesszív** betegség (pl. cisztikus fibrózis) előfordulását láthatjuk egy családban. Mivel III-1 érintett volt, értelemszerűen mindkét szülő (II-2 és II-3) heterozigóta (hordozó) kell legyen. Emiatt az I. generáció mindkét szülőpárjában egy-egy hordozó van, II-1 és II-4 esélye a heterozigótaságra pedig 1/2, hiszen a heterozigóta szülő 50%-os valószínűséggel örökíti tovább a mutáns allélt. III-2 ugyanakkor 1/2 × 1/2, azaz 1/4 eséllyel hordozó (hiszen össze kell szoroznunk annak valószínűségét, hogy II-4 rendelkezik a mutáns alléllal, annak esélyével, hogy az esetlegesen meglévő mutáns allélt tovább is örökítette III-2-re).

[53] Ugyanakkor ne feledkezzünk meg arról, hogy őssejtbankokat létrehozó és fenntartó, valamint ezekkel rokon tevékenységeket folytató vállalkozások marketingje az interneten sok téves elképzelést, indokolatlan és beválthatatlan reményt generálhat a laikusok körében.

Vajon milyen kockázattal kell számoljon II-2 és II-3, ha újabb gyermeket vállalnak? A születendő gyermek természetesen 1/4 eséllyel beteg, 1/2 eséllyel egészséges heterozigóta, 1/4 eséllyel pedig homozigóta domináns lesz (azaz mentes a mutáns alléltól). Másképp kell számolnunk azonban, ha az újabb gyermek már megszületett, és klinikai vizsgálatok alapján egészségesnek bizonyul (14-2. ábra).



14-2. ábra

A megelőző családfa bővített ismétlése II-2 és II-3 újabb, ezúttal egészséges gyermeke megszületése után

Ha ezen a családfán akarjuk meghatározni annak valószínűségét, hogy III-2 heterozigóta, akkor hiba lenne a fenti számítás alapján azt felelnünk, hogy ennek esélye 1/2. A terhesség előtt vagy során végzett becsléshez képest ugyanis rendelkezünk egy plusz információval*: a gyermek egészséges*. Ezért ki kell zárnunk azt a lehetőséget, hogy mindkét szülőtől a mutáns allélt örökölte – annak valószínűsége tehát, hogy a gyermek heterozigóta, 2/3. A gyorsabb megértés érdekében pillantsunk a Punnett táblára (14-3. ábra): a 4 lehetőségből 1-et kizárva 3 marad, így a Aa genotípus valószínűsége 2/3.

	A	a
A	AA	Aa
a	Aa	~~aa~~

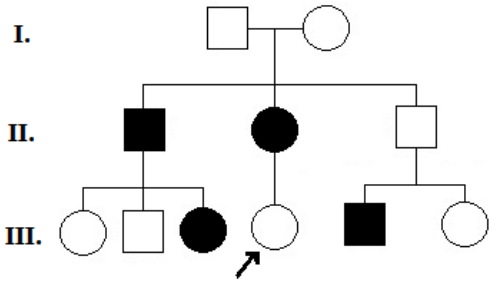
14-3. ábra

(Magyarázatát l. fent, a szövegben.)

A gyakorlatban persze ritkán találkozunk ilyen egyszerű esettel: számos betegségnél nem ritkák az új mutációk, vagy **inkomplett penetrancia** (a genotípus hordozóinak egy része nem mutatja a fenotípust), esetleg **változó expresszivitás** (a fenotípus egyénenként különböző mértékben nyilvánul meg) bonyolítja a képet. Ilyen esetekben szükség lehet a **feltételes valószínűség** kiszámítására, melyet

PUBLISS

Bayes-analízis (**Bayes tétel**) néven is ismerünk[54]. A feltételes valószínűség kiszámításának részletes tárgyalása azonban nem feladata e jegyzetnek, így ennek bemutatását illetően néhány egyszerű esetre szorítkozunk. Tekintsük meg a 14-4. ábrán látható családfát!



14-4. ábra

Autoszomális domináns, csökkent penetranciájú öröklődés családfája

A „hasadt kéz” (*ectrodactylia*) **autoszomális domináns** rendellenesség, melynek penetranciáját az eddig publikált esetek alapján 70 százalékra becsülik. Ez azt jelenti, hogy ha valaki hordozza a mutáns allélt (gyakorlatilag mindig heterozigóta formában, mivel igen ritka rendellenességről van szó, jelleghordozók egymással való házasodása valószínűtlen), akkor 70% eséllyel ectrodactyliás lesz, míg 30% eséllyel normális ujjakkal rendelkezik.

A családfán a probanda (III-4) arra kíváncsi, hogy vajon hordozza-e a mutáns allélt, vagy sem. Mivel ő maga nem mutatja a fenotípust, két lehetőséggel kell számolnunk:

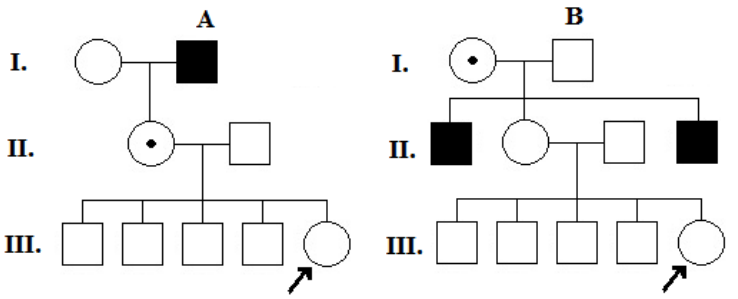
- Azért egészséges, mert nem örökölte a mutáns allélt: ennek esélye első megközelítésben 0,5
- Azért egészséges, mert, bár örökölte a mutáns allélt, az inkomplett penetrancia miatt az nem fejeződött ki fenotípusosan: ennek esélye 0,5 × 0,3 = 0,15

A Bayes-tétel alapján tehát nincs más dolgunk, mint az összes lehetőségen belül meghatározni annak valószínűségét, hogy a nő heterozigóta. Ennek esélye 0,15 / (0,5 + 0,15) = 0,15 / 0,65 = 0,23. Annak valószínűsége tehát, hogy a nő hordozza az ectrodactylia alléljét – a köznapi gyakorlatban elterjedtebb kifejezéssel – 23%.

A Bayes-analízis egy másik példáját láthatjuk, ha összehasonlítjuk a két fenti családfát (14-5/A és 14-5/B ábra). Ezek egy **X-hez kötött recesszív** betegség, a hemofília A öröklődését mutatják. A probanda mindkét esetben III-5, aki azt szeretné megtudni, mekkora valószínűséggel hordozója a mutáns allélnek. (Megjegyzés: egy olyan, molekulárisan is jól leírt betegség esetében, mint a hemofília A,

[54] (Bayes angol matematikus, halála után, 1763-ban közölték tételét a valószínűségszámításról.)

manapság már nem végzünk számítást, hanem az allél direkt kimutatását részesítjük előnyben, molekuláris genetikai módszerrel – lásd alább.)



14-5. ábra

Hemofília A két családban. (Részleteket l. alább.)

A 14-5/A ábrán egyszerű esettel állunk szemben: II-1 biztosan hordozója a betegségnek, hiszen apjától örökölt egy mutáns allélt. Ezért III-5 esélye a heterozigóta-ságra mindenképpen 1/2, *akárhány egészséges fiútestvére született* is.

A 14-5/B ábrán ugyanakkor II-2 nem biztosan hordozó. Ha még nem született volna fiúgyermeke, akkor azt mondhatnánk: 1/2 az esélye, hogy heterozigóta legyen, hiszen biztosan hordozó anyjától ilyen valószínűséggel kapja meg a mutációt hordozó X kromoszómát. Ugyanilyen megfontolásból II-2 egyetlen leánygyermeke 1/4 valószínűséggel lenne heterozigóta. Mivel azonban II-2-nek már született 4 egészséges fiúgyermeke, önkéntelenül is azt érezzük: nagy a valószínűsége, hogy nem hordozó. (Hiszen minden alkalommal, amikor fiút szül, valójában „teszteli karrier-státuszát".) A Bayes-analízis segítségével ezt a megérzést számokkal is kifejezhetjük, a fenti példához hasonlóan:

- 1. eset. II-2 nem örökölte a mutáns allélt: ennek elsődleges valószínűsége 1/2, azaz 0,5.
- 2. eset. II-2 hordozója ugyan az allélnak, de mind a 4 fia az egészséges kópiát örökölte: $1/2 \times (1/2)^4 = (1/2)^5 = 0{,}031$.

Tehát annak valószínűsége, hogy II-2 hordozó, 0,031 / (0,5 + 0,031) = 0,058. Vagyis 5,8% az esélye, hogy II-2 hordozó legyen, így 2,9%, hogy III-5 is heterozigóta. Természetesen, ha a 4 egészséges fiú után akár csak egyetlen beteg is születne, az alapvetően megváltoztatná az esélyeket: II-2 biztosan hordozó lenne, III-5-nek pedig 1/2 lenne az esélye rá.

Empirikus kockázatbecslés

A multifaktoriális betegségek és kromoszomális rendellenességek kockázatát nem lehet egyszerű matematikai elvek alapján megbecsülni, hiszen kialakulásukban összetett genetikai és környezeti tényezők (pl. életkor, nem, életmódbeli sajátosságok stb.) játszanak szerepet. Ilyen esetekben az ismétlődési kockázatot **empirikus módszerrel** becsüljük meg: korábban publikált esetekre alapozott statisztikákat vizsgálunk (a számítás részleteit illetően visszautalunk a 6. fejezetre).

Amennyiben pl. a párnak már született egy spina bifidás gyermeke, a második gyermek kockázata hozzávetőleg 4%, ám a terhesség előtt (a fogamzást három hónappal megelőzve) megkezdett folát-szupplementációval (és magzatvédő vitamin adagolásával) lényegesen csökkenthető. Triszómiás Down-szindróma esetében ugyanez a kockázat az anya életkorának a függvénye, de többnyire 1% körüli.

Noha a statisztika sokat segíthet a nehezen leírható, komplex betegségek ismétlődési kockázatának becslésében, mégis óvatosan kell kezelnünk. A komplex betegségek jelentős részénél ugyanis nem ismerjük megfelelően a patomechanizmust, így nem ritka, hogy egyazon megnevezés genetikailag és kórélettanilag heterogén rendellenességek sorát takarja, melyek mindegyike más és más ismétlődési gyakorisággal bír. (Így előfordulhat, hogy a család, melynek tanácsot adunk, lényegesen magasabb vagy alacsonyabb ismétlődési frekvenciát produkál, mint azt a statisztikák alapján feltételeznénk.) Azzal is számolnunk kell, hogy az adott betegséget okozó mutációk gyakorisága eltérő lehet az egyes népcsoportok között, így az is diszkrepanciát okozhat, ha a genetikai tanácsot kérő pár más etnikai csoportból származik, mint ahol a statisztikát leírták.

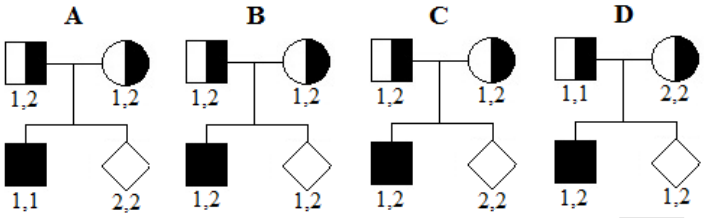
A mutáns allél kimutatása molekuláris genetikai módszerrel

Ma már számos betegség allélje kimutatható DNS-vizsgálati módszerek segítségével. Ez nagy előrelépést jelent a genetikai diagnosztikában, hiszen többnyire 100 százalékos pontossággal meg tudjuk határozni egy adott személy genotípusát, legyen bár szó egészséges hordozóról, betegről, vagy esetenként akár meg sem született magzatról (ilyenkor a DNS-minta amniocentesisből vagy chorionboholyból származik, ill. – legújabban – az anyai vérplazmából). Két fő módszer vezethet el minket a molekuláris diagnózis felállításához: a mutáns allél **közvetlen kimutatása**, vagy közvetett detektálás a mutációhoz közeli, ahhoz szorosan kapcsolt **genetikai marker** felhasználásával.

Közvetlen kimutatás esetén általában PCR-rel felszaporítják, majd megszekvenálják a gén azon szakaszát, amely nagy valószínűséggel hordozhatja a mutációt. Alternatív lehetőség az **allél-specifikus oligonukleotidok** alkalmazása: ezek olyan szondák, melyeknek szekvenciája komplementer egy-egy ismert mutáns alléllel, így jól használhatók azok kimutatására pl. Southern blot során. Ha deléció, vagy duplikáció áll a gén hibájának hátterében, akkor a fenti módszerek nem vezetnek eredményre: ilyenkor **kópiaszám-analízist** kell végeznünk, pl. quantitatív real-time PCR (qPCR) segítségével.

Vannak azonban olyan esetek, amelyekben a mutáció direkt kimutatása helyett a közvetett módszert (markerek) részesítjük előnyben. Ilyen helyzet pl., ha a gén igen nagy méretű, és számos exonnal rendelkezik, mint a disztrofin a Duchenne-féle muszkuláris disztrófiában, a neurofibromin az 1-es típusú *neurofibromatózis*-ban, vagy a kollagén I az *osteogenesis imperfecta* esetén. Különösen nehéz a pontmutációk azonosítása ilyen nagy génekben olyan rövid idő alatt, amit egy terhesség jelent. Ahhoz, hogy egy genetikai markert hatékonyan lehessen használni a mutáció követésére, természetesen szükséges, hogy közel legyen a mutáns szakaszhoz

(szoros kapcsoltság), így a rekombináció ne legyen túlságosan gyakori, valamint az is elengedhetetlen, hogy a vizsgált család „informatív" legyen (azaz találjunk olyan családtagokat, akik heterozigóták a markerre nézve, és meg tudjuk határozni, melyik marker allél kapcsolódik a mutációhoz). Annak megértéséhez, hogy milyen esetekben tekinthetjük informatívnak a családot, tekintsünk meg 4 egyszerű családfát (14-6. ábra)!



14-6. ábra

Az ábra magyarázatát l. az alábbi szövegben.

A szülők egy autoszomális recesszív betegség hordozói. II-1 a korábban született, beteg gyermek, míg csúcsára állított négyzettel jelöltük a születendő magzatot. A mutáció követésére használt marker két alléllel rendelkezik: 1 és 2.

Az A esetben egyértelmű, hogy a születendő gyermek egészséges lesz, hiszen mindkét szülőben az 1-es allél kapcsolódik a mutációhoz (vagyis a család informatív). A B esetben nem állíthatunk fel diagnózist: noha a magzat nem lehet heterozigóta, a homozigóta domináns és recesszív genotípusnak egyaránt 1/2 az esélye. A C esetben kijelenthetjük, hogy a magzat nem lesz beteg, ám arról nem tudunk nyilatkozni, vajon hordozza-e a mutáns allélt, vagy sem (abban az esetben lesz hordozó, ha a mutáció a 2-essel jelölt marker allélhez kapcsolódik). A D esetben a család nem informatív: a magzat genotípusáról semmit sem mondhatunk.

A prenatális vizsgálatok etikai vonatkozásai

A prenatális diagnózis minden előnye ellenére számos etikai problémát vet fel. Ennek oka, hogy esetenként nem teljesíthető maradéktalanul az orvosi etika 4 legfontosabb elve – azaz valamely elv csak egy másik kárára lenne érvényesíthető. Lássuk tehát ezeket az elveket:

- Az **autonómia** elve. Ez azt jelenti, hogy az egyén a kezelése minden pontján teljes döntési joggal rendelkezik: az orvosnak tájékoztatnia kell a kezelési lehetőségekről, de nem kényszerítheti, hogy az ő elgondolása szerint válasszon közülük.
- A **jótékonyság** elve. Az orvos feladata, hogy jót tegyen a beteggel: azaz csak akkor alkalmazhat egy kezelést, ha attól pozitív eredmény várható.
- A **„ne árts!"** elve (*nil nocere*). Az orvos nem élhet vissza a kezében lévő hatalommal.
- Az **igazságosság** elve. Az orvos minden betegét egyenlő elbánás szerint kell kezelje.

Azon örökletes betegségek, melyek rendkívül súlyos tüneteket eredményeznek, és kezelhetetlenek (pl. Tay-Sachs kór), egyértelműen indokolják a művi terhességmegszakítást, így etikai szempontból nem okoznak konfliktust. Ha azonban a betegség enyhébb, pl. testi vagy szellemi retardációt, süketséget okoz, akkor gyakran parázs viták középpontjába kerül, elsősorban azon közösségekben, melyeket az ilyen fogyatékkal élő betegek és családjaik alkotnak. Vajon indokolt-e egy ilyen betegség prenatális kiszűrése, majd a művi abortusz annak ellenére, hogy a magzat rendellenessége összeegyeztethető az élettel? Itt az autonómia elve (a szülők saját családtervezési döntése) kerül szembe a „*nil nocere*" és az igazságosság elvével a magzat szempontjából.

A dilemma akkor is fennáll, ha a pár egy enyhe kozmetikai defektus, esetleg a születendő gyermek neme miatt végeztetné el a terhességmegszakítást. Az Egyesült Államok törvényei minden terhes nőnek lehetőséget adnak erre az első trimeszter során, míg Európa legtöbb országában csak orvosi vagy szociális indokok mellett engedélyezik az abortuszt – mégis élénk viták kísérik az Európai Bizottság 2011 szeptemberében tett javaslatát, miszerint megtiltanák az orvosoknak, hogy az ultrahangvizsgálatok során tájékoztassák a szülőket a magzat neméről. Ez jól példázza, hogy az etikai elvek között nem lehet „igazságos rangsort" felállítani: konfliktus esetén a törvények az adott társadalom konvencióit is figyelembe veszik.

Külön megítélés alá esik az a fent említett lehetőség, hogy egy pár azért kíván új utódot nemzeni, hogy annak embrionális sejtjeit használja fel egy meglévő, súlyos genetikai ártalommal sújtott gyermeke állapotának javítására. Értsük jól: ebben az esetben pluripotens embrionális sejteket akarnak nyerni a terhesség megszakításával *in vitro* klónozásra és beültetésre. Ez az eljárás a világon mindenütt törvényileg tilos.

Etikai kérdések az orvosi genetika egyéb területein

A genetikában jelenleg a prenatális szűrővizsgálatok jelentik a legfontosabb, de nem az egyetlen etikai problémaforrást. Vegyük pl. a **Huntington-kór** esetét! Ez az autoszomális domináns betegség legtöbbször 40 éves kor után manifesztálódik, és súlyos szellemi és fizikai leépüléssel jár. Magas penetranciájú, progresszív neurológiai megbetegedés, mely ellen jelenleg nem létezik hatékony kezelés. Könnyen azonosítható azonban az állapotért felelős genotípus: a **triplet-expanzió** a huntingtin fehérje génjében. Az érintettek rokonainak egy része mégsem vizsgáltatja meg a saját genotípusát. Vajon mi lehet ennek az oka?

Első megközelítésben könnyű belátni, hogy aki pozitívnak bizonyul, az súlyos lelki problémával néz szembe. A gyakorlatban azonban legtöbbször csak átmeneti depressziós epizódról számolnak be, melyet gyakran követ pozitív változás, miután megkapják a szükséges segítséget a karrierválasztást és a házasságot illetően. Ugyanakkor a negatívnak bizonyuló személyek az első megkönnyebbülést követően gyakran szenvednek bűntudattól, hiszen őket nem érinti a családjuk számos tagját fenyegető súlyos betegség réme.

Hasonló a helyzet a megelőzőekben már említett *APOE* polimorfizmussal, mely Alzheimer-kórra hajlamosít. Noha megmagyaráztuk, miért nem lenne értelme egy általános szűrésnek az ε4 allélre nézve, ez nem jelenti azt, hogy egy adott személy saját indíttatásból ne végeztethetné el a DNS-vizsgálatot.

A következő kérdés, amelynek kapcsán állást kell foglalnunk, a **genetikai információ magánjellegé**vel függ össze. Vajon hozzáférjen-e pl. egy biztosító az ügyfelei genetikai információjához, hogy ennek megfelelően számíthassa ki a biztosítás díját? Többen úgy érvelnek: ha az Egyesült Államokban engedélyezik a biztosítók hozzáférését a vérnyomás, szérumlipid stb. vizsgálatok eredményeihez, akkor miért ne tarthatnák nyilván a genotípusokat is? Jelenleg a genetikai adatokhoz való hozzáférést azért nem engedélyezik egyetlen országban sem, mert lényegi különbség van a fenotípus, valamint az azért esetlegesen (de nem biztosan és nem kizárólag!) felelős genotípus között.

Akkor tehát az egyén genetikai információja olyan orvosi titok, mely minden esetben kizárólag az érintett személyre tartozik? A válasz ismét csak *nem*. A legtöbb országban lefektetett irányelvek szerint az orvosi titok addig kezelendő titokként, amíg nem jelent veszélyt egy harmadik személyre, vagy akár a társadalomra nézve – ilyen esetben viszont *kötelező* beszámolni róla a beteg kifejezett kérése ellenére is. Az eset, melyet precedensként használnak az Egyesült Államokban, 1976-ban történt, amikoris egy pszichiátert bűnösnek nyilvánítottak egy nő halálában, amiért az orvosi titoktartás jegyében nem jelentette a hatóságoknak betege azon tervét, hogy meggyilkolja a nőt.

Visszatérve a genetika területére: mivel a beteg családtagjai is hordozhatják a betegségért felelős allélt, tájékoztatásuk indokolt lehet. A genetikai vizsgálatokkal nyert információ azonban nem jelent közvetlen életveszélyt senki számára, így gondos mérlegelést igényel annak eldöntése, hogy a genetikai vizsgálatot vezető szakembernek mikor *joga*, és mikor *kötelessége* tájékoztatni az esetlegesen érintett rokonokat akkor is, ha a beteg ehhez nem járul hozzá.

A genetikai információ védelme mellett a laikus köztudatban is jól ismert őssejt-transzplantáció és klónozás is felvet etikai kérdéseket. Ezeket azonban a 10. fejezetben már megvitattuk, így ehelyütt nem foglalkozunk velük részletesebben.

Eugenika és diszgenika

Az **eugenika** fogalmát Charles Darwin unokatestvére, Francis Galton használta először 1883-ban. Jelentése, hogy a „legjobb" egyedeket továbbszaporítva erősítjük a populációt. A növénytermesztők és állattenyésztők már az ősidők óta használják az elvet és módszert, ám ember esetében egy eugenikai program sem etikailag, sem gyakorlatilag nem megvalósítható, ahogy az a történelem során bebizonyosodott. Ami az etikai oldalt illeti, különösebb magyarázat nélkül is megérthető, miért bélyegezték meg örökre az eugenika eszméjét a nácik, amikor tömeggyilkosságokat követtek el a nevében. A gyakorlatban pedig a káros allélek többségét azért nem lehetne eliminálni az egyes populációkból, mert a legtöbb emberi tulajdonság, em-

beri mivoltunkat meghatározó jelleg **multifaktoriális**: számos gén és környezeti tényező együtthatásának eredménye.

Bizonyos értelemben az eugenika ellentéte a **diszgenika**. A fogalom azt fejezi ki, hogy az orvostudomány fejlődésével mind több és több betegség válik kezelhetővé, olyanok is, melyek korábban a reproduktív életkor elérése előtt halálhoz vezettek – ez pedig növeli a betegségért felelős allélek frekvenciáját a populációban, így a génállomány fokozatos „romlásához" vezet. Képzeljük el, mi történne, ha pl. a Duchenne-féle muszkuláris disztrófia (DMD) kezelhetővé válna. Az érintett férfiak továbbörökítenék a mutációt hordozó X kromoszómát a lányaikra, és ez nagymértékben megnövelné a heterozigóta nők gyakoriságát, ami a következő generációkban több beteg fiúgyermeket eredményezne. Mindez persze nem azt jelenti, hogy a DMD-t ne kellene kezelünk, hanem azt, hogy jóval több beteg hosszú kezelésére kellene berendezkednünk, mint azt a DMD jelenlegi prevalenciája alapján várnánk.

Akárhogyan is értékeljük tehát a genetika fejlődésének a társadalomra gyakorolt hatását, van egy tény, amit nem tagadhatunk: ez a hatás nagyon is valós. A 20. század első fele azzal indult, hogy újra felfedezték Mendel törvényeit, majd azzal folytatódott, hogy leírták a DNS szerepét az öröklődésben, és a második fele – pár év híján – végül a Humán Genom Projekt sikeres befejezésével zárult le. Lehetetlen előre látni, hogy ez a folyamat milyen irányt vesz majd a 21. században, így nagy feladat hárul az orvosi etikára, hiszen biztosítanunk kell, hogy a rendelkezésünkre álló új eszközök az emberiség javát szolgálják (**eufenika**, az adott genotípus számára a legjobb környezeti feltételek biztosítása a lehetséges optimális fenotípus kifejlődéséhez), és ne a kárára legyenek. Hogy e fejezet zárómondataként némi öniróniával Pókember nagybátyját idézzük: „a nagy erővel nagy felelősség jár".

DUPRESS