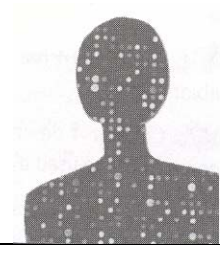

Genetik hastalıkların analizi ve tedavisi



Genel olarak genetik hastalık

Bilinen tüm genetik hastalıklar üç tipten birine sınıflandırılabilir: tek gen bozuklukları, kromozom anormalileri ve poligenik hastalıklar. Tek gen bozuklukları bir otozom, bir seks kromozomu ve mitokondriyel DNA'daki tek bir gendeki mutasyon sebebi ile açığa çıkarlar. Mutasyonlar, dominant veya resesif ne olursa olsun, belirgin ve karakteristik pedigree paternleri gösterirler. Herhangi bir belirli tek gen bozukluğu tüm popülasyonda nadir olabilir ama toplu halde popülasyonun %2'sini, yaşamlarının herhangi bir evresinde etkiler. Ciddi tek gen bozukluklarının çocuklardaki insidansı % 0.36 iken hastaneye yatırılmış çocuklarda %6'ya çıkmaktadır.

Kromozom anomalileri çeşitli formlarda olabilirler. Bunlar kromozomun bir kısmının veya tümünün fazlalığı veya eksikliği veya kromozomun bir kısmının yeni bir bölgeye translokasyonunu içermektedir. Bu çeşit anomaliler canlı doğumların %0.7'sinde meydana gelir fakat hamileliğin ilk üç ayında meydana gelen düşüklerde frekans %50'ye çıkmaktadır. Kromozom anomalileri kanserli hücrelerde yaygındır fakat bunlar somatik hücre mutasyonlarının klonal çoğalmasından kaynaklanır. Kalıtılan anomaliler değildirler fakat oluşabilme yatkınlığı kalıtılabilir.

Günümüze kadar poligenik bozukluklar genetik hastalık olarak kabul edilmezlerdi çünkü karakteristik pedigree paternleri göstermezler ve hastalığın şiddeti yaşam tarzı ile ilişkili olarak değişiklik gösterir. Genetik bir bileşen içerdikleri tanımlandığında bile tam olarak anlaşılammıştır. Poligenik bozukluklar bir gendeki tek bir mutasyon sebebi ile oluşmazlar. Daha çok birkaç gendeki küçük varyasyonların sonucudur ve birlikte bir bireye önemli etkileri olabilir. Poligenik hastalıkların frekansını belirlemek zordur fakat güncel tahminler çocuklarda %5'den en büyük etki yetişkinlerde olmak üzere tüm popülasyonda % 60'a kadar değişir.

Bugün kromozom anomalileri yüzünden sıkıntı çeken bireyler için çok az şey yapılabilmektedir. Fakat, biyoteknoloji ve genomikteki yeni gelişmeler tek gen bozukluğuna sahip hastalar için bir takım heyecan verici tedaviler sağlamaktadır. Bu gelişmeler terapötik proteinlerin sağlanması, antisense teknolojisi, gen terapisi ve gen tamirini içermektedir. Yeni moleküler tanı yöntemlerinin geliştirilmesi gelişmiş prenatal tanıya izin vermektedir fakat bunlar güç etik kararlara yol açabilir. Son beş yılda poligenik bozukluklar hakkındaki bilgimizde olağanüstü artış olmuştur. Bu bilgilerin kliniksel uygulamalara etkili olması için henüz erkendir ancak elde edilebilecek bir sonuç kişiselleştirilmiş ilaç olarak bilinir olmuş, hastalık fenotipine daha uygun ilaçların kullanılmasıdır. Aynı zamanda yeni ilaçların test edildiği klinik denemelerin şeklini değiştirebilir.

Genetik hastalıkların tedavisindeki gelişmelerin anahtar yönlendiricisi insan genomunun tamamlanmış dizisinden ve fare gibi ilgili türlerin genomlarından elde edilen bilgilerin süre gelen analizi olacaktır. Bu bilgi pek çok hastalığa yeni bakış açıları getirecektir ve daha iyi diagnostik araçların, koruyucu önlemlerin ve terapötik metotların geliştirilmesine yardımcı olacaktır.

Tek gen bozukluklarının tespiti

Mutasyonlar iki tip olabilir: nükleotid substitüsyonları ve nükleotidlerin daha geniş parçalarını içeren mutasyonlar, yani insersiyonlar ve delesyonların sebep olduğu nokta mutasyonları. Bunların örnekleri tablo 4.1’de gösterilmiştir. Delesyonların bazılarının bitişik genlere uzandığı ve kesinlikle bunların sebep olduğu hastalıkların tek gen bozukluğu olmadığı göz önünde bulundurulmalıdır.

Bir gendeki tek nükleotid değişikliklerinin tümü fenotipik bir etkiye (genetik hastalık) yol açmaz. Bunun sebebi değişikliğin proteinin primer amino asit dizilimini değiştirmemesi veya eğer değiştiriyorsa da sonuç değişikliğin proteinin fonksiyonel özelliklerine etki etmemesidir. Fakat, mutasyona uğrayan gen genetik olarak farklılık gösterir ve değişiklik tek nükleotid polimorfizmi (SNP, “snip” olarak okunur) olarak bilinmektedir. SNPler aynı zamanda genomun kodlamayan bölgelerinde de meydana

gelir, daha sonra görüleceği gibi, genetik hastalıkların tanısında ve poligenik bozuklukların araştırılmasında oldukça yararlıdırlar.

Tablo 4.1 Tek gen bozukluklarının örnekleri.

Genetik değişiklik	Örnek
Nokta mutasyonu	
Protein fonksiyonunu etkileyen proteinde amino asit süstitüsyonuna yol açan missense mutasyon	B-globin geninin altıncı kodonunda A'nın T'ye değişimi bir glutamat rezidusunu valine dönüştürür ve orak hücre anemisine neden olur
Kısalmiş proteinin oluşumuna yol açan prematüre stop kodonunun oluşumunun sebep olduğu nonsense mutasyon	β -globin geninin 39. kodonundaki mutasyon bir glutamin kodonunu bir stop kodonuna dönüştürmesi β -talsemiye yol açar.
Anormal splicinge yol açan RNA processing mutasyonu	γ -globin geninin promotorunun upstreaminde G'nin A'ya değişimi fetal hemoglobinin kalıtsal kalıcılığına neden olur.
Gen ekspresyonunu ör., transkripsiyon faktör binding'i etkileyen regülatör mutasyon	
İnseriyon veya delesyon	
Çerçeve kaymasına neden olmadan az sayıda bazların (32 veya 3'ün katları bazların) eklenmesi veya delesyonu	Kistik fibrozis genindeki üç baz delesyonu fenilalanin rezidusunu uzaklaştırır, Kafkaslardaki kistik fibrozis vakalarının çoğundan sorumludur.
Çerçeve kaymasına neden olan az sayıda bazların eklenmesi veya delesyonu	Heksozaminidaz A geninde dört baz insersiyonu Askenazi Yahudilerinde Tay-Sachs hastalığına yol açar
Line veya Alu elementi gibi yaygın tekrar dizisinin insersiyonu	
Trinükleotid tekrar dizisinin yayılması	Huntingtin genindeki CAG tekrarının 35'den fazla kopyası yetişkinlerde Huntington hastalığına yol açar

Tek gen bozukluklarını tespit etmek için pek çok farklı yöntem vardır ve hepsi allel-spesifik oligonükleotidlerin hibridizasyonuna daha fazla veya daha az miktarda bağımlıdır. İlk moleküler metotlar, bir restriksiyon endonükleazla kesilmiş insan DNA'sının elektroforetik ayrıştırılmasını takip eden Southern blotlamayı kullanarak test problemlerinin hibridizasyonunu içermekteydi. Bu tekniğin bir örneği kalıtsal anfizemden sorumlu α_1 -antitripsin genindeki bir nokta mutasyonun tespitidir. İki farklı 19-merlik oligonükleotidler kullanılmıştır, biri normal allele komplementerken diğeri mutanata allele komplementerdir. Bunlar normal ve etkilenmiş bireyleri ve heterozigotları (taşıyıcılar) ayırt etmek için yeterli ayırım sağlar (Fig 4.1).

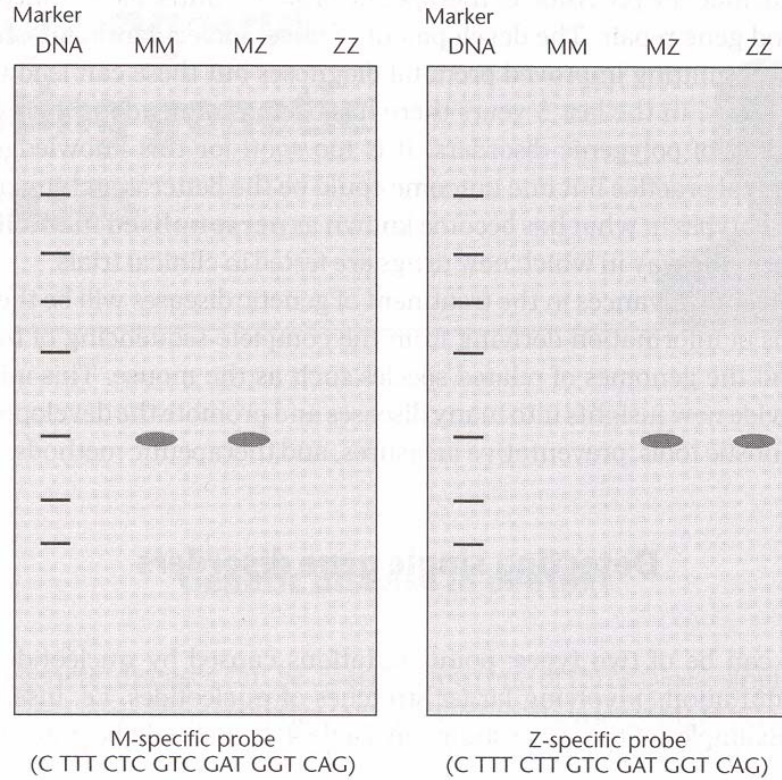


Fig. 4.1 Schematic representation of the use of oligonucleotide probes to detect the normal α_1 -antitrypsin gene (M) and its Z variant. Human DNA obtained from normal (MM), heterozygous (MZ) and homozygous variant (ZZ) subjects is digested with a restriction endonuclease, electrophoresed, and fragments Southern blotted on to a nylon membrane. The patterns shown were obtained on autoradiography of the filter following hybridization with either the normal (M-specific) or variant (Z-specific) probe.

Burada tanımlanan gibi, katı matrisleri içeren yöntemlerin avantajı, yorumlanması kolay olan 'resimli' bir sonuç vermesidir. Dezavantajı, her ikisi de zaman alıcı ve külfetli olan Southern blot ve elektroforezi içermesidir. Neyse ki,

tamamıyla çözelti içerisinde çalışan birkaç mutasyon tespit yöntemi geliştirilmiştir. Bu yöntemlerin en popüler olanı TaqMan assay'dir (Fig. 4.2). Bu metotta, her biri bir veya diğer allel için spesifik olan iki probun varlığında polimorfizmi kapsayan 100-bp'lik bir bölge PCR ile amplifiye edilir. Problar 5' uçlarında raportör bir floresana sahiptir ancak solusyon içinde serbest haldeyken ışığa yapmazlar çünkü 3' ucunda bir söndürücü (quencher) içerirler. PCR sırasında Taq DNA polimeraz özellikle hedefi ile baz eşleşmesi yapan ve floresansı serbest bırakan bir prob ile karşılaşır ve böylelikle net floresansı artırır. Her biri farklı floresan ile işaretli iki probun varlığı, herhangi bir post-PCR işleme gerek kalmadan tek bir tüp içinde birinin her iki alleli tespit etmesine olanak verir.

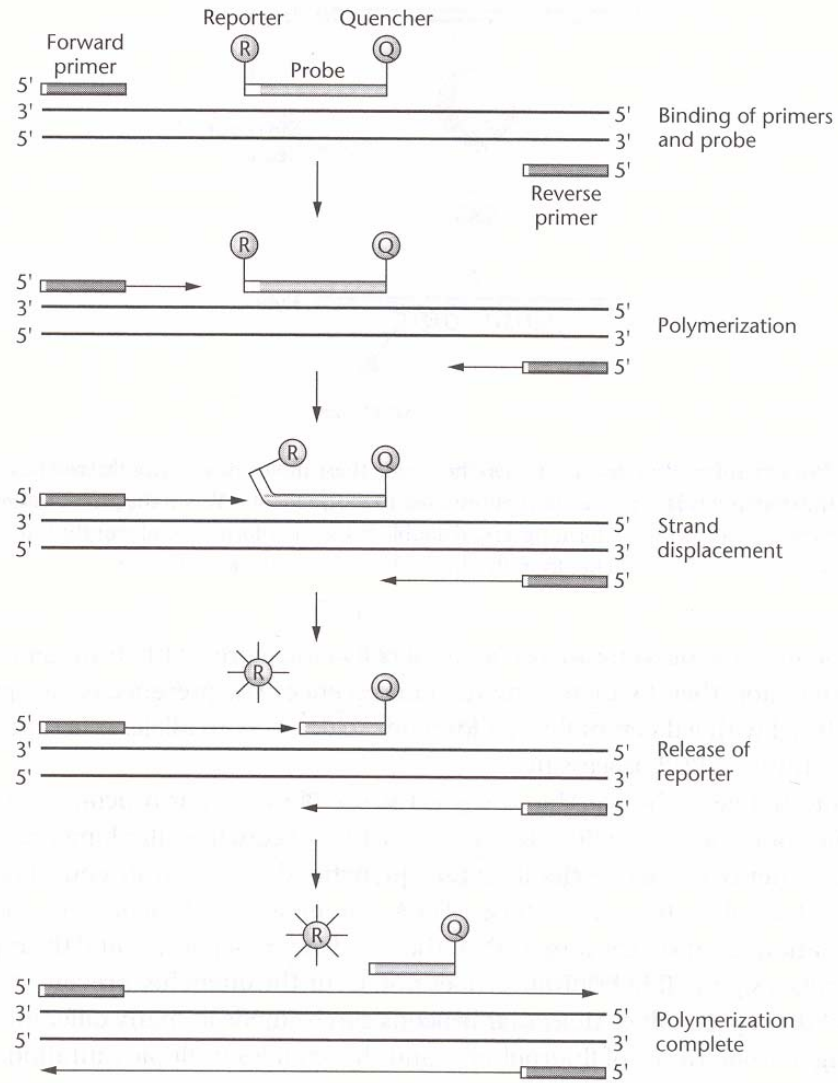


Fig. 4.2 The TaqMan assay (see text for details).

TaqMan assay'e bir alternatif, moleküler beaconların kullanımınıdır. Bunlar hedef-spesifik dizileri kapsayan iki komplementer sekansa sahip, zıt uçlarında bir raportör floresan ve susturucu boya olan oligonükleotid problemleridir (Fig. 4.3). Hedef DNA'nın amplifikasyonundan sonra, moleküler beaconlar eklenir. Eğer hedef DNA'ya hibridizasyon gerçekleşirse, iki boya ayrılır ve raportör floresan bir sinyal yayar. Eğer hibridizasyon gerçekleşmezse susturucu, raportör boyanın floresansını engeller. Moleküler beaconlar çok çeşitli floroforların kullanımı ile pek çok farklı renkte yapılabilir ve bu çok sayıda mutasyonun simültane şekilde analiz edilmesine olanak tanır.

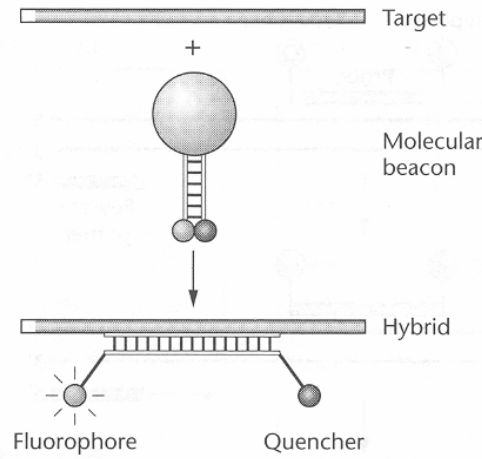


Fig. 4.3 Principle of molecular beacons. On their own, these molecules are nonfluorescent, because the stem hybrid keeps the fluorophore close to the quencher. When the probe sequence in the loop hybridizes to its target, forming a rigid double helix, a conformational reorganization occurs that separates the quencher from the fluorophore, restoring fluorescence.

Yukarıdaki yöntemler genetik hastalığın bir veya birkaç mutasyon sebebi ile oluştuğu bilindiği durumlarda oldukça kullanışlıdır. Bir gende çok sayıda farklı mutasyon biliniyorsa, ör., β -globin geni, diğer yöntemlerin kullanılması gereklidir. İlgili gende çok sayıda farklı delesyonun olabileceği biliniyorsa western blot kullanılabilir. Bu yöntemde, bir hücre ekstraktından izole edilmiş proteinler poliakrilamid jel elektroforezinde boyutlarına göre ayrıştırılır ve sonra bir membrana transfer edilir. Membran analiz edilecek proteini özgül şekilde tanıyan antikörlerle inkübe edilir. Antikor ve antijen arasındaki özgül etkileşim bir histokimyasal veya floresan etiket

taşıyan ilk antikora karşı ikinci bir antikorun eklenmesi ile tespit edilir. Bu yöntemin müsküler distrofili hastaların analizinde kullanımı Fig. 4.4'de gösterilmiştir.

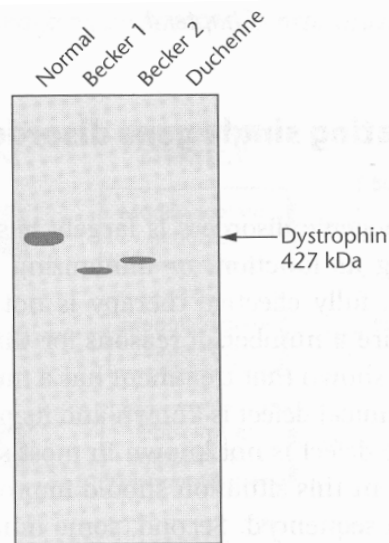


Fig. 4.4 A western blot demonstrating the presence or absence of the muscle protein dystrophin (arrow) in protein extracts from patients with the severe Duchenne or mild Becker form of X-linked muscular dystrophy.

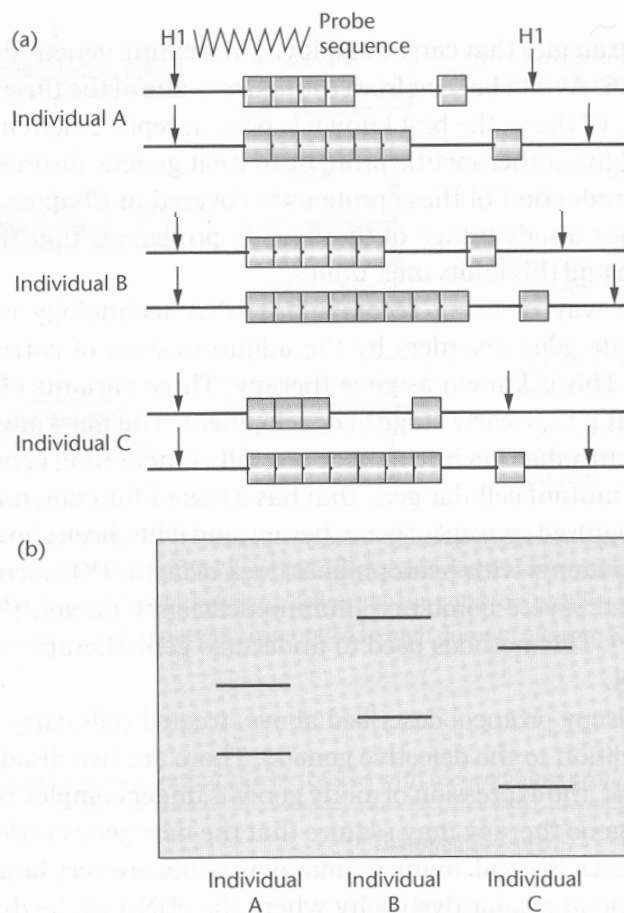


Fig. 4.5 Restriction fragment length polymorphisms caused by a variable number of tandem repeats between the two *Hin*FI restriction sites. (a) The DNA structure for three different individuals. (b) The pattern obtained on electrophoresis of *Hin*FI cut DNA from the three individuals after hybridization with a probe complementary to the sequence shown by the wavy line in (a).

Trinükleotid yayılımı gibi değişken sayıda sıralı tekrarların tespiti Southern blot kullanılarak yapılabilir. Bu durumda, ilgilenen bölgeyi taşıyan restriksiyon fragmentlerinin boyundaki değişiklikler aranır (Fig. 4.5).

Tek gen bozukluklarının tedavisi

Bugün, monogenik bozuklukların tedavisi genellikle defektif proteinin değiştirilmesine, fonksiyonunu iyileştirmeye veya eksikliğini sonuçlarını minimize etmeye dayanmaktadır. Ne yazık ki, bozuklukların %80'inden fazlasının tam etkin terapisi mümkün değildir. Bu tatmin edici olmayan durumun birkaç sebebi vardır. İlki, araştırmalar göstermiştir ki, eğer temel biyokimyasal defekt biliniyorsa ve patogenezi tam olarak anlaşılmışsa, tedavinin başarıya ulaşma şansı çok daha yüksektir. Günümüzde, çoğu tek gen bozukluklarında hastalığın patofizyolojisi kadar gen defekti de bilinmemektedir, fakat bu durum insan genomu sekanslandığı için artık oldukça gelişme göstermelidir. İkincisi, bazı mutasyonlar etkilerini fetüste gösterirler ve çocuğun doğumu ile tedaviye başlamak için çok geç olmuş olur. Tedaviye *in utero* başlanması mümkün olabileceğinden, bu, prenatal tanının yararının altını çizmektedir. Örneğin, biotinidaz veya metilmalonik asidüri sırasıyla biotin ve kobalaminin hamilelik süresince verilmesi ile giderilebilir.

Genetik hastalıkları tedavi etmede kullanılabilecek farklı stratejiler Fig. 4.6'da gösterilmiştir. Şekilden de görülebileceği gibi, terapilerin bir kısmı biyoteknolojiden köken almıştır. Bunlardan en iyi bilineni protein yenilemedir ve rekombinant terapötik proteinlerin genetik bozuklukları tedavi etmede kullanımının örnekleri Tablo 4.2'de verilmiştir. Bu proteinlerin üretimi Ünite 6'da anlatılmıştır. Terapötik proteinlerin ana dezavantajının enjeksiyonla verilmesi olduğu göz önünde bulundurulmalıdır ve bu kullanılabilirliklerini kısıtlamaktadır.

Rekombinant DNA teknolojisini kullanmanın alternatif bir yolu, düzeltici genlerin somatik dokulara verilmesi ile tek gen bozukluklarının düzeltilmesini üstlenmektir. Bu, gen terapi olarak bilinmektedir. Tekniğin üç varyantı mevcuttur ve tümü gelişimin erken evrelerindedir. Bu tekniklerin en gelişmiş olanı bir dokuya tam olarak fonksiyon gösteren geni vererek, fonksiyon-kaybı mutasyonuna sahip mutant

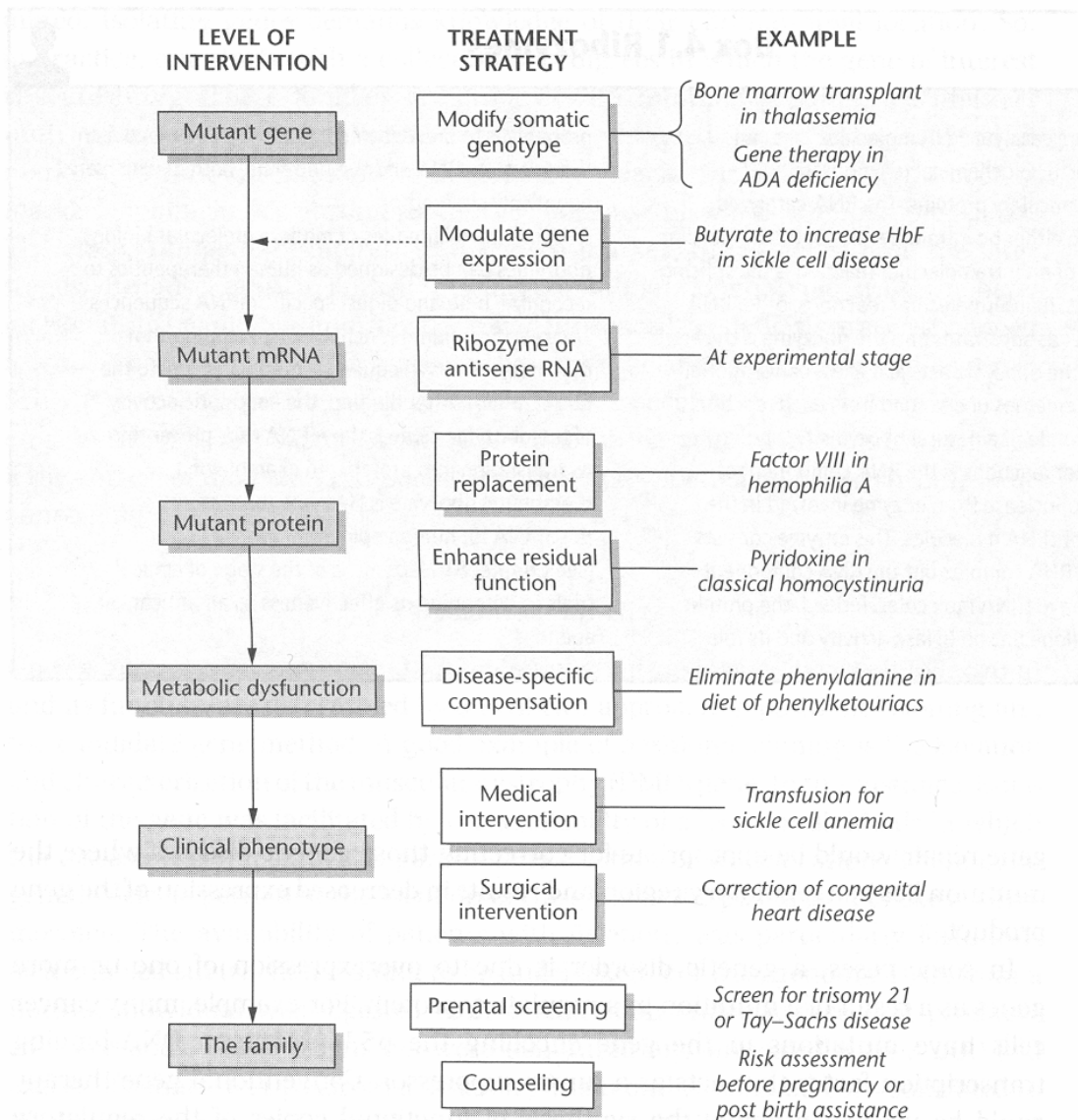


Fig. 4.6 The various methods for treating genetic disease. If butyrate is given to infants it can prevent the postnatal switch from γ -globin to β -globin by an unknown mechanism. In homocystinuria due to cystathione synthase deficiency the cofactor (pyridoxal phosphate) is not linked to the apoenzyme but patients responded to high doses of vitamin B₆ (the precursor of pyridoxal phosphate).

Table 4.2 Some genetic disorders that can be treated with recombinant proteins.

Disease	Therapeutic protein
Pituitary dwarfism	Human growth hormone
Hemophilia A	Factor VIII
Hemophilia B	Factor IX
Hereditary emphysema	α_1 -antitrypsin
Gaucher's disease	Glucocerebrosidase
ADA deficiency	Adenosine deaminase

hücrenel bir geni telafi etmektir. Bu gen terapinin genel olarak onaylanan konseptidir ve az sayıda hemofili B (faktör IX eksikliği) , adozin deaminaz eksikliği ve şiddetli birleşik immüneksiklik hastalığı (SCID, defektif sitokin reseptörü) bulunan hastalarda işe yaradığı gösterilmiştir. Gen terapiyi gerçekleştirmek için kullanılan metotlar ayrıntılı olarak Ünite 8’de tanımlanmıştır.

Yukarıda tanımlanan gen terapi protokolünde, tedavi edilen hücreler defektif gen(lere) ek olarak yeni fonksiyonel genleri de taşırlar. Bu yaklaşımda iki dezavantaj vardır. İlki, bir çok genin ekspresyonu kompleks düzenleyici kontrol altındadır ve etkili gen terapi yeni genin gerekli olan regülatör sekansları taşımasını gerektirebilir. İkincisi, pek çok memeli geni oldukça büyüktür. Bunun bir örneği Duchenne müsküler distrofi’de distrofin geninin 11kb olması ve yeni nesil gen terapi vektörlerinin içine sığamayacak kadar büyük olmasıdır. Bu durumlarda, daha iyi bir alternatif defektif geni düzeltmek yerine yeni, fonksiyonel bir geni eklemek olabilir. Bu bazen gen tamiri olarak bilinmektedir. Aslında, uygun dokunun hücrelerine işlevsel bir gen verilir ve tamir, homolog rekombinasyonu stimüle ederek gerçekleşir. Gen tamirinin mutasyonun regülatör bir bölgede olduğu ve gen ürününün ekspresyonunda azalmaya yol açan genetik hastalıkları düzeltmek için uygun olduğuna dikkat ediniz.

Bazı vakalarda, bir genetik hastalık bir yada fazla genin regülatör bir proteindeki mutasyonun sonucu olarak fazla ekspresyonuna bağlıdır. Örneğin, pek çok kanser hücresi bir tümör baskılayıcı olarak işlev gören bir DNA-bağlayıcı transkripsiyon faktörü olan p53 proteinini kodlayan gende mutasyonlara sahiptir. Geleneksel gen terapi regülatör proteinin fonksiyonel kopyalarının sentezini arttırmak için kullanılabilir. Alternatif olarak, gen terapi fazla ekspresyona uğramış proteinleri downregüle etmek için kullanılabilir. Bu doku kültüründe iki yolla sağlanabilir. Bu yöntemlerin ilkinde, vektörler antisense RNA’ya transkribe olan bir geni ortama verirler. İkincisinde, ortama verilen gen bir ribozim yani mRNA moleküllerini oldukça spesifik şekilde kesebilen bir RNA molekülünü kodlar (Kutu 4.1)

Kutu 4.1 Ribozimler

Ribozimler spesifik biyokimyasal reaksiyonları, yardımcı proteinlere ihtiyaç duymaksızın teşvik edebilen katalitik RNA molekülleridir. RNA-katalizli reaksiyonlar hem intramoleküler ve hem de intermoleküler olabilir. İnteramoleküler reaksiyonun bir örneği intronların kesilip çıkartılmasıdır. İnteramoleküler reaksiyonlarda, diğer RNA molekülleri substrat olarak davranır ve ribozim katalisttir yani ribozim tıpkı geleneksel bir enzim gibi davranır ve her reaksiyondan değişmeden çıkar. Doğal ribozim katalizli intermoleküler reaksiyonlara en iyi örnek tRNA moleküllerinin olgunlaştırılmasında görevli bir enzim olan bakteriyel ribonükleaz P'dir. Bu enzim bir protein-RNA kompleksinden oluşmuştur fakat RNA komponenti tek başına tRNA moleküllerini kesebilir. Gerçekte, protein tek başına hiçbir RNAaz aktivitesine sahip değildir ve rolü muhtemelen, her ikisi de negatif yüklü olan substrat RNA ve ribozim arasındaki elektrostatik itmeyi engellemektir.

Modern moleküler biyoloji tekniklerini kullanarak, ribozimler belirli mRNA sekanslarını tanımak, bağlanmak ve parçalamak için insan terapötikleri olarak dizayn edilebilir. Spesifik bağlanma ribozimin hedef mRNA'ya komplementer bir dizi taşıması ile sağlanabilir. Bağlanmadan sonra, ribozimin enzimatik aktivitesi mRNA'yı parçalar ve böylece proteine translasyonunu engeller. Terapötik ribozimin bir örneği olan Herzyme insan epidermal büyüme faktörü-2'nin mRNA'sını hedef alır (bakınız Ünite 8). Herzyme bir antikanser ajan olarak etkinliğini belirlemek için klinik deneme aşamasındadır.

Monogenetik hastalıklar için genler bulmak ve gen fonksiyonunu belirlemek

Önceden bahsedildiği gibi, genetik hastalıkların etkili tedavisi problem olan mutasyonun sebep olduğu biyokimyasal defekti anlamayı gerektirir. Bu, sırasıyla defektif genin izolasyonunu ve bunun fonksiyonunun belirlenmesini gerektirir. Genleri izole etmek kromozomal yerleşim bilgilerini gerektirir. Bu nedenle, pratikte, bir kişi ilgilenilen geninin segregasyon gösterdiği pedigreelerin toplanması ile başlar. Bu

aileler kromozomal lokasyon için kanıt elde edene kadar çoklu polimorfik markerlarla çalışılır. Daha sonra bu kromozom üzerinde diğer markerlara linkaj belirlenir. Açık olarak, kromozom başına mevcut markerların sayısı arttıkça, haritalama verisi de o kadar kullanışlı hale gelecektir. Sadece sınırlı sayıda insan fenotipik özellikleri (genetik markerlar) mevcut olduğundan ve çoğu geniş bir alana aralıklı dizildiğinden, genetikçiler genom boyunca düzgün şekilde dağılmış moleküler markerların tam bir dizisini ortaya çıkartmıştır. SNPlar en çok tercih edilen markerlardır çünkü ortalama her 1000 bazda bir meydana gelirler. Eğer karşılık gelen özellik sitogenetik olarak görülebilen bir kromozom anomalisi ile eşleşmişse, ilgilenilen genin tam lokasyonunu bulmak kolaylaşır.

Pozisyonel klonlama

Bir gen, bir kromozomun bir bölgesine haritalanırsa, bunun tam lokasyonu ve fonksiyonu iki yaklaşımdan biri ile belirlenir: pozisyonel klonlama ve aday gen metodu. Pozisyonel klonlamanın iyi bir örneği müsküler distrofi (DMD) geninin izolasyonu ve karakterizasyonudur. Bu örnekte, genin izolasyonu hastalığın genin kısmi delesyonuna veya translokasyonuna bağlı olmasından dolayı etkilenmiş bireylerin mevcudiyeti ile kolaylaşmıştır. Delesyonlara sahip hastaların mevcut olması, bunun subtraction klonlamaya başlanmasını sağlaması sebebi ile, özellikle tesadüfidir. Bunun için, normal bir bireyin genomik DNA'sı bir restriksiyon endonükleazla kesilerek yapışkan uçlar oluşturulur. Bu fragmentler denatüre edilir ve bir delesyon hastasından kırık uçları elde etmek için soniklenmiş, 200-kat fazla denatüre DNA ile anneal edilir. Bu koşullar altında, normal bireylerde var olan fakat delesyon hastasında eksik olan Xp21 DNA'sı kendisi ile anneal olacak ve bir vektöre klonlanmaya uygun yapışkan uçlara sahip tek DNA olacaktır.

Yukarıda anlatıldığı gibi izole edilen klonlanmış DNA Southern blot hibridizasyonlarında normal ve hasta DNA örneklerine karşı prob olarak kullanılarak DMD genini taşıyanlar belirlenmeye çalışılır. Xp21 bölgesinden elde edilmiş altı fargmentten birinde, DMD'li hastaların bir kısmında, delesyonlar tespit etmiştir ve aile çalışmalarında hastalığa sıkıca linktir. Bu tekniğin prensibi, zoo blotting olarak bilinen, kodlayan sekansların evrim sırasında korunurken kodlamayanların korunmamış olmasıdır. Özel bir bölge diğer türlerin DNA'sı ile yüksek uyumlulukta hibridize

olmuştur ve sekanslama splicing sinyalleri ile çevrelenmiş bir ekzonu açığa çıkartmıştır. Bu bölgeye karşı bir prob, insan fetal kasında, diğer dokularda bulunmayan geniş bir RNA türü tespit etmiştir. Normal yetişkin ve fetal kasında mevcut ancak DMD hastalarında eksik olan, bugün distrofin olarak adlandırılan bir proteinle çapraz-reaksiyona giren gen-sekansının ekpirese olan kısımlarına karşı antisera yükselmiştir.

Distrofin geninin pozisyonel klonlama ile tanımlanması, karakterize edilmemiş bir özelliğin, ilk olarak genin bulunması ve daha sonra ürün ile çalışılması ile yani reverse genetik ile analiz edilebileceğini göstermiştir. Aynı zamanda başarılı olabilmek için geleneksel genetik, rekombinant DNA teknolojisi, sekanslama ve biyokimyasal analizlerin kombine edilmesi gerektiğini de göstermiştir. Pozisyonel klonlamanın birkaç negatif özelliği vardır. İlki, çok yorucu bir çalışmadır ve ana başarı oldukça geniş araştırma gruplarının çabalarını gerektirir. İkincisi, ilgilenilen özelliğin (örneğin kistik fibrosis) kromozomun sınırlı bir bölgesine haritalanması, eğer herhangi açık görülebilen kromozomal anomali ile ilişkili değil ise, oldukça zordur. Kistik fibrosis geninin pozisyonel klonlanması, bu ünite de ileride tanımlanmış poligeneik hastalıkların haritalanması ile ilişkili olan linkaj disequilibrium fenomeninin kullanımı ile gerçekleştirilmiştir.

Aday gen yaklaşımı

Pozisyonel klonlamanın aksine, aday gen yaklaşımı yeni genlerin izolasyonunu gerektirmez ancak fonksiyon ile ilişkili bilgilerin elde edilebilirliği ve önceden izole edilmiş genlerden harita pozisyonuna gerek duyar. Bu yaklaşımın bir örneği kalıtsal göz hastalığı olan retinitis pigmentosa'nın (RP) ilk ayrıntılı analizidir. RP'ye sebep olan defektler birkaç farklı kromozomal lokasyona haritalanır fakat her vakadaki fenotip fotoreseptör dejenerasyonudur. Geniş bir pedigreede RP geni kromozom 3'ün uzun koluna haritalanmıştır. Tesadüfi olarak, fotoreseptör proteini rodopsinin geni de aynı zamanda bu bölgeye haritalanmıştır. Bu, rodopsindeki mutasyonların kromozom 3'e haritalanan RP vakalarından sorumlu olabileceğini, öne sürmüştür ve etkilenmiş bireylerin genlerinin sekanslanması bir tek nükleotid değişimini ortaya çıkartmıştır. Beklenildiği gibi, diğer kromozomlara haritalanan RP'li bireyler bu rodopsin mutasyonuna sahip değildir.

Gen tanımlanması ve karakterizasyonu için aday gen yaklaşımı çok sayıdaki genom sekanslama projeleri ve bioinformatics'deki gelişmeler ile oldukça kolaylaşmıştır. Örneğin, insan genomu tamamen sekanslanmıştır ve sekanstaki genlerin pek çoğu tanımlanmıştır. Şimdiki anahtar görev, tanımlanan genlerin fonksiyonunu bulmaktır. Bunu başarmanın bir yolu, her genin DNA dizisi ile başlamak, karşılık gelen protein dizisine dönüştürmek ve sonra fonksiyonu bilinen protein dizileri için bioinformatics veritabanlarını taramaktır. Gen fonksiyonu hakkında bu bilgiler biriktikçe, bunlar gen defektlerini analiz etmekte kullanılabilirler. Örneğin, yeni bir özellik belirli bir harita pozisyonuna atandığında, genomik veri tabanı aynı bölgede yerleşmiş genler için sorgulanır. Bu genlerin fonksiyonları en uygun aday geni bulmak için traitin (özelliğin) göze çarpan özellikleri ile karşılaştırılır. Özelliği gösteren bireylerin potansiyel genleri sekans analizi veya sekans anomalilerini taşıyıp taşımadıklarını belirlemek için hibridizasyon ile analiz edilebilir. Fare genomunun hazır olması bu çabaları oldukça kolaylaştıracaktır (Kutu 4.2).

Kutu 4.2 Fare genom sekansı ve bunun insan hastalıkları ile ilişkisi	
<p>Fare genomunun sekansı Aralık 2002'de yayınlanmıştır ve insan hastalık genlerinin araştırılmasını ve bunların biyokimyasal analizlerini kolaylaştırmalıdır. Bunun böyle olmasının bir kaç nedeni vardır. İlki ve en önemli olanı, fare genomu insan genomuna bezer sayıda gene sahiptir, bu genlerin %99'unun özdeş olduğu ve %96'sının sentenik (aynı gen sırasındadır) olduğu saptanmıştır. Bu, fare genomunda tanımlanan hastalık genlerinin insan gen haritasına aktarılabilmesine izin verir. İkincisi, laboratuvar deneylerinde</p>	<p>kendi içinde eşleşmiş hatlar arasında hastalık yatkınlığı gibi parametreleri belirlemek için bir sistematik çalışma başlatılmak üzeredir. Bu çeşit soylar arasında uygun çaprazların genotipleme ile takip edilmesi, bu kompleks özellikleri haritalamaya olanak tanır. Fare genom sekansını bir rehber olarak kullanarak bu özellikleri pozisyonel olarak klonlamak için gereken çabayı büyük oranda azaltacaktır.</p> <p style="text-align: right;">Son yıllarda tıp veya biyoloji alanının ilgisini çeken belirli genlerin fonksiyon-</p>

kullanılan fare türleri inbred (yakın akraba eşleşmesi) iken insanlar outbred'dir. Bir kişi geniş pedigree aileleri çalışsa bile, farelerin kromozom çiftleri özdeşken, her kromozom çifti farklı bir soya sahiptir. Üçüncüsü, farklı özelliklere sahip fareler arasında deneysel çaprazlar yapılabilir ve elde edilen yavru daha sonra çok kısa süre içerisinde analiz edilebilir. Dördüncüsü, fareler fenotipleri incelenebilen belirli gen defektine sahip hayvanlar oluşturmak için mutasyona uğratılabilir. Bu noktalar ayrıntılı şekilde aşağıda anlatılmıştır.

1000'den fazla spontan olarak ortaya çıkan ve radyasyonla-indüklenmiş fare mutantlarının kalıtılabilir Mendelyen fenotiplerine yol açtığı bilinmektedir. Kapsamlı yürütülmüş pozisyonel klonlama sayesinde bu mutantların yaklaşık 200'ü için artık moleküler defektler bilinmektedir. Açıklamalı fare genom sekanslarının mevcut olması genetik haritalamadan aday genlerin tanımlanmasına geçilebileceği için, etkinliği arttırabilir. Fare genom sekansı kimyasal mutagenез ile oluşturulan mutant farelerin artan dağarcığını kullanabilmek için yapılacak çalışmalarda oldukça önemli olacaktır. Dünya çapında on large scale mutagenез laboratuvarı kurulmuştur ve bunlar çok sayıdaki klinik

kayıp veya kazanı mutasyonlarına sahip, çok sayıda mutant fareler özel olarak mühendislikle üretilmiştir. Sonradan "knockout" ve "knockin" mutantlar olarak adlandırılan bu mutantlar, gen manipülasyonu tekniklerinin embriyonik kök hücrelere uygulanması ile oluşturulmuştur. Bu mutantların oluşturulması deneysel dizayn kolaylaşacağı için fare sekansının mevcut olması ile oldukça kolaylaşacaktır. Ek olarak, fare modellerinin hepsi beklenen şekilde insan fenotipini kopya etmez. Full insan ve fare sekanslarının mevcut olması bu farklılıkları önceden tahmin edebilmek için bir fırsat sağlar. Alternatif olarak, insan genomu sadece tek bir gen ailesi üyesini içerebilirken fare genomu çakışan biyokimyasal aktiviteleri olan multiple aile üyelerini içerebilir.

İki önemli nokta vardır. İlki, insan genlerindeki belirli mutasyonlar belirli hastalıkların sebebi olarak tanımlanmıştır. Fare genomunun sekansı incelendiğinde bu mutasyonların 160'ının farelerde mevcut olduğu ancak fenotipik olarak normal oldukları gözlenmiştir. Bunun sebebi tam olarak anlaşılamamıştır ancak türlerin farklılığının temelini anlamak oldukça yardımcı olabilir. İkincisi, fare genomu

olarak ilişkili fenotiplerin dominant ve resesif taramaları üzerine yoğunlaşmıştır. Her mutant için, moleküler defektin belirlenmesi pozisyonel klonlamayı gerektirecektir.

Her biri çeşitli, sürekli değişen özelliklere sahip olan, 50'den fazla inbred fare suşlarının mevcut olması, kompleks genetik bozukluklara katılan genleri araştırmaya olanak sağlamıştır.

Vücut ağırlığı, davranış paternleri ve

insan genomu ile karşılaştırıldığında önemli sayıda gen ailesi yayılımına sahiptir. Bu yayılımlar primer olarak üreme, immün sistem, olfaction (koku alma duyusu) ve xenobiotiklere cevap ile ilişkilidir ve farenin yaşam tarzı ve habitatları göz önünde bulundurulduğunda gerçekten şaşırtıcı değildir. Farmasötik endüstrisi açısından önemi sitokrom P450 gen ailesinin yayılımıdır, çünkü bu farelerin ve insanların ilaçlara farklı cevaplar verebileceği anlamına gelmektedir.

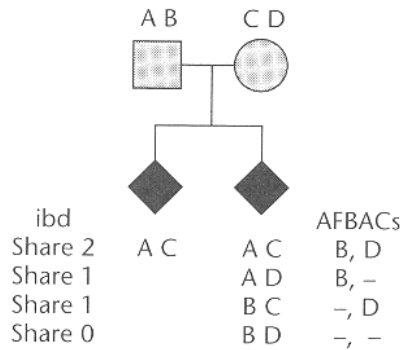


Fig. 4.7 Affected sib pair families. A nuclear family pedigree is shown with the father (gray square) and mother (gray circle) in the first row and the two affected children of either sex (black diamonds) in the second row. Assume for simplicity that we can distinguish all four parental alleles, denoted A, B, C and D in the genetic region under study, with the parental alleles ordered such that A and C are transmitted from the father and mother, respectively, to the first affected child. Four possible configurations among the two offspring with respect to the alleles inherited from the parents are possible: they can share both parental alleles (A and C); they can share an allele from the father (A) but differ in the alleles received from the mother (C and D); they can share an allele from the mother (C) but differ in the alleles received from the father (A and B); or they can share no parental alleles in common. These four configurations are equally likely if there is no influence of the genetic region under consideration in the disease. The parental alleles that are never transmitted to the affected sib pair in each family type are used as a control population in association studies using nuclear family data, the so-called affected family-based control (AFBAC) sample.

Poligenik bozuklukların analizi

Konvensiyonel Mendelyen linkaj haritalaması tek gen bozukluklarının analizinin anahtar kısmını oluştururken, kompleks (poligenik) hastalıkların analizinde nadiren faydalıdır. Pek çok genin katılımı ve çevresel faktörlerin güçlü etkisi, geniş multijenerasyon pedigreelerin sadece nadiren görülmesi anlamına gelmektedir. Sonuç olarak, diğer haritalama yöntemlerine gerek vardır ve ikisi yaygın kullanıma sahiptir. Bunlar model-free (veya nonparametrik) linkaj analizi ve asosiasyon (veya linkaj disequilibrium) haritalamasıdır.

Model-free linkaj analizi

Model-free metotlar kalıtım paterni, dahil olan lokusların sayısı veya çevrenin rolü hakkında hiçbir yorum yapmaz. Daha çok, iki etkilenmiş akrabanın ortak olarak hastalık-yatkınlık allellerine sahip olacağı prensibine dayanır. Bu nedenle, her iki ebeveynin ve en azından iki çocuğun (kardeş) ilgilenilen hastalığa sahip olduğu ailelerde analizler yürütülür. Bunlar nükleer aileler olarak bilinir ve bu analizin izlediği yol Fig. 4.7'de gösterilmiştir. Genomun belirli bir bölgesinin bir hastalık durumu ile ilişkili olduğu gösterildiğine inandığımızı ve dört parental kromozomu (A,B,C,D) ayırt ettiğimizi farz edelim. Eğer test edilen bölge hastalığa yatkınlığı taşımıyorsa, iki etkilenmiş çocuğun ortak iki, bir veya hiç parental kromozomal bölgeyi taşıma şansı sırasıyla % 25, 50 ve 25'dir. Diğer yandan, bu Mendelyen rasgele beklentiden sapma etkilenmiş çocuğun, ilgilenilen hastalığa yatkınlık genlerinin varlığını öne süren, soy ile özdeş olan (identical by descent [bid]) kromozom bölgelerine sahip olduğunu belirtmektedir.

Fiziksel markerlar, özellikle mikrosatellitler, her ebeveynden farklılaşmış kromozom bölgelerini ayırt etmek için idealdir çünkü oldukça polimorfiktirler ve genoma dağılmış durumdadır. Pratikte, etkilenmiş kardeşlerin DNA'ları genoma yayılmış çok sayıda fiziksel marker kullanılarak analiz edilmiştir, yani bir genom taraması yapılmıştır. Amaç, tamamıyla gelişigüzel temelli, iki kardeş tarafından beklenilenden önemli derecede daha fazla sıklıkla paylaşılan bölgeleri bulmaktır. Bu

şekilde analiz edilen ilk kompleks hastalık tip 1 diyabettir ve majör histocompatibilite kompleksine linkaj keşfedilmiştir (Kutu 4.3). O zamandan beri metot diğer kompleks hastalıkları ve yetişkin boyunu kontrol eden quantitative trait lokusları kapsamıştır.

Kutu 4.3 Tip 1 diyabet ve MHC arasındaki bağlantı

Diabetes mellitus'un başlıca iki tipi vardır: juvenil-ilk belirtili veya insülin-bağımlı (tip 1) ve ergin-ilk belirtili veya insülin-bağımlı olmayan (tip 2). Tip 1 diyabet Kafkas populasyonunda %0.5 frekansa sahiptir ve pankreastaki insülin-üreten hücrelerin otoimmün yıkımından kaynaklanır. Genetik faktörler tek başına tip 1 diyabete neden olmazlar çünkü eğer tek yumurta ikizlerinden biri hastalığa yakalanırsa diğer ikizin de diyabetik olma şansı %40'tır. Bununla birlikte, genetik faktörler için güçlü kanıtlar mevcuttur, kompleks bir hastalığın model-free analizi üstündeki ilk çalışma tip 1 diyabeti, MHC lokusu ile link yapmıştır. HLA-DR3 veya HLA-DR4 için heterozigot bireyler özellikle diyabete yatkındırlar. Bu, DR3 ve DR4 immün cevabı düzenleyen bir lokusta bulunduğundan,

tip 1 diyabetin bir otoimmün hastalık olma konsepti ile örtüşür.

Tip 1 diyabetten sorumlu mekanizmanın daha fazla anlaşılması HLA-DQ genlerinin bir moleküler analizinden gelmektedir. DQ β zincirinin 57. pozisyonundaki aspartik asitin varlığı tip 1 diyabete direnç ile yakından ilişkiliyken bu pozisyondaki diğer amino asitler yatkınlığa katkıda bulunur. Tip 1 diyabetli hastaların yaklaşık %95'i pozisyon 57'de aspartat kodlamayan DQ β genleri için homozigottur. β zincirinin 57. pozisyonu antijen bağlanması ve T hücrelerine prezantasyonu için önemli olduğundan, bu amino asitteki değişiklikler insülin-üreten hücreleri yok eden otoimmün cevapta bir rol oynayabilir.

Linkaj disequilibrium mapping

Asosiasyon veya linkaj disequilibrium (LD) çalışmaları ilişiksiz vakalar ve kontrollerde marker sıklığını karşılaştırır ve bir markerin birlikte-bulunuşunu (co-occurrence) ve populasyon seviyesinde hastalığı test eder. Alternatif olarak, hastalığa yatkınlık geninin marker alell(erin) LD'si ile bir asosiasyon oluşabilir. LD marker ve hastalık geninin yakın fiziksel linkajı anlamına gelmektedir. Beklenebileceği gibi, LD mayotik rekombinasyonun etkisiyle, uzun zaman periyotlarında stabil değildir. Bu nedenle, LD'nin kapsamı LD-oluşturan bir olay olduğundan, jenerasyonların sayısına oranla azalır. Aynı zamanda, iki markerin linkajı bir birine ne kadar yakınlaşırsa, LD populasyonda o kadar uzun kalır.

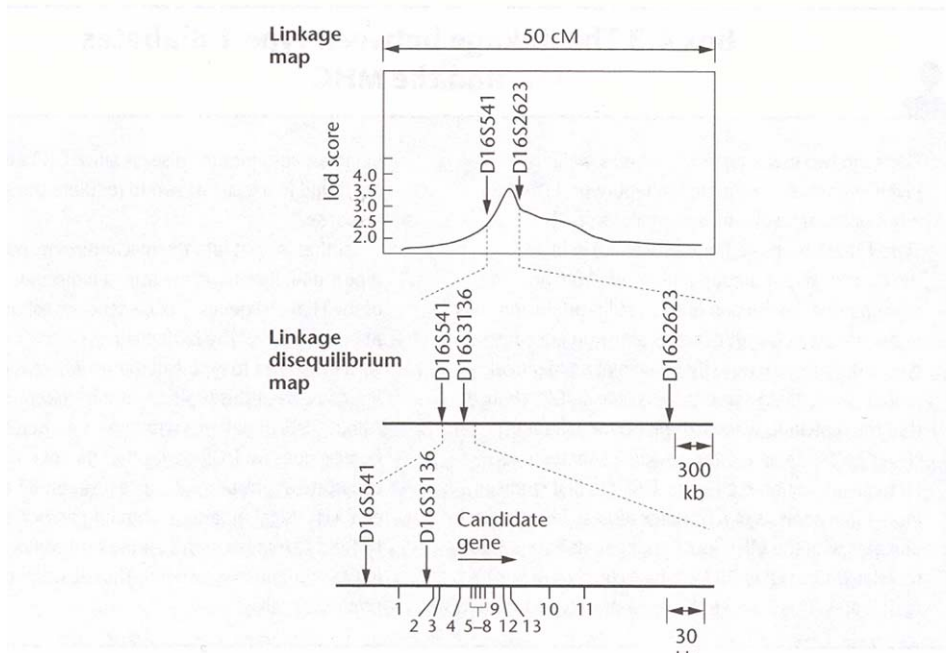


Fig. 4.8 Details of the mapping of a locus on chromosome 16 associated with Crohn's disease. The numbers along the bottom line correspond to the SNPs used in fine mapping. All the SNPs except 10 and 11 showed tight linkage (see text for further details).

Bağırsağın yıkıcı bir enflamatuvar hastalığı olan Chron's hastalığının bir çalışması, LD'nin hastalık lokuslarını haritalamada nasıl kullanılabileceğini göstermektedir (Fig. 4.8). Konvansiyonel linkaj analizleri bir yatkınlık lokusunu kromozom 16'ya haritalamıştır. 26 mikrosatellit markerinin yardımı ile lokus D16S541

ve D16S2623 markerları arasındaki 5-MB'lık bir bölgeye haritalanmıştır. LD analizi Chron's hastalığının diğer iki marker arasında yer alan D16S336 ile zayıf ilişkili olduğunu göstermiştir. Marker D16S3136 çevresindeki 260-kb'lık bir bölge sekanslanmıştır ancak sadece bir karakterize edilmiş gen saptanmıştır ve bu olası bir aday gibi görünmemektedir. Sekans analizi aynı zamanda 11 SNP tanımlamıştır ve

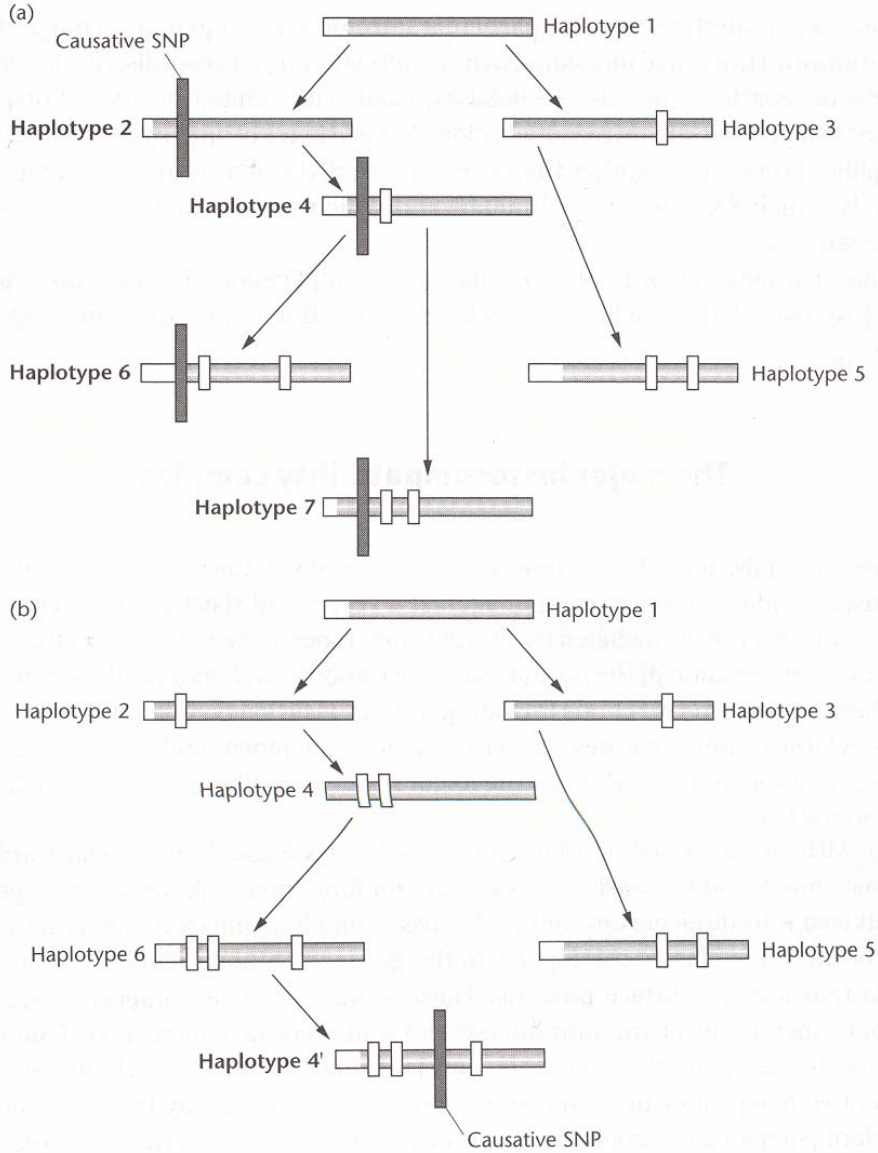


Fig. 4.9 The two ways in which a causative single nucleotide polymorphism (SNP) can become associated with a particular haplotype. In (a) the causative SNP arises early, whereas in (b) it arises late.

bunlardan üçü Chron's hastalığı ile 235 etkilenmiş ailede, yatkınlık lokusunun yakın olduğunu gösterir şekilde güçlü LD göstermiştir. Bunun NOD2 lokusu olduğu bulunmuştur ve bu çalışmada kullanılan SNP'lerin bazılarının sebep olan

mutasyonlar olduğu ortaya çıkmıştır. Yine de göz önünde bulundurulmalıdır ki, NOD2 lokusu hastalığa yatkınlığı sağlar fakat hastalığın sebebi değildir. Diğer kromozomal lokuslar Chron's hatalığında gösterilmiştir fakat katılan genlerin sayısı ve hastalığa yol açan, birbirlerini etkileme şekli bilinmemektedir.

Haplotipler

Bir DNA'daki SNPLerin paternleri haplotip olarak bilinmektedir. Figür 4.9 bazıları bir hastalığa yol açan bir SNP içeren, birkaç teorik haplotipin evrimini göstermektedir. Bu şekilden tüm SNPLerin hastalığın habercisi olmadığı açıkça görülmektedir. Aynı zamanda, tüm haplotipler informatif değildir ve bunların bir LD asosiasyon çalışmasında tespiti, verilerin yorumlanmasını zorlaştırır. Bu tam olarak, yukarıda tanımlanan Crohn's hastalığı üzerine yapılan çalışmada bulunan şeydir. Yine de, belirli bir kromozomal bölgedeki tüm SNPLer, ilişiksiz bireylerin geniş guruplarında analiz edildiğinde, sonuçlar, her biri sınırlı çeşitlilikte fakat belirgin rekombinasyon bölgelerince işaretlenmiş, ondan yüzlerce kilobaza değişen farklı haplotip bloklarının bir görüntüsünü vermiştir. Haplotip bloklarının varlığı LD analizini oldukça basitleştirir. Bir bölgedeki tüm SNPLeri kullanmak yerine, tam olarak hangi SNPLerin gereksiz olduğunu ve hangilerinin asosiasyon çalışmalarında bilgi verici olduğunu belirleyebiliriz.

Haplotiplerin tanımlanmasının medikal uygulamalar için pek çok anlamı vardır fakat burada sadece ikisine değinilecektir: HLA haplotipleri ve ilaçlara cevaplar.

Majör histokompetabilite kompleksi

İnsanlar dahil, yüksek hayvanlar "kendi" ve "kendi olmayan" arasında ayırım yapabilme ve oldukça geniş spektrumlu yabancı antijenlere karşı bir reaksiyon başlatma yeteneğine sahiptirler. Bu reaksiyon immün cevap ile sağlanır. Normal immün cevabın oluşturulmasında ve mutasyonun sonucu olarak, immün yetersizlik ve otoimmün hastalık dahil sapkın immün reaksiyonlarda genetik faktörler anahtar bir rol

oyun. İmmün sistemin gelişiminde ve fonksiyon görmesinde çok sayıda gen rol oynar ancak burada yalnızca majör histokompatibilite kompleksininkilerden (MHC) bahsedilmiştir.

Table 4.3 Protein and DNA variation at HLA loci. Because of the redundancy of the genetic code it is possible to have more DNA sequence variants than protein variants.

HLA locus	Antigenic variants (no.)	DNA variants (no.)
HLA-A	25	83
HLA-B	53	186
HLA-C	11	42
HLA-DR (β chain only)	20	221
HLA-DQ (α and β chains)	9	49
HLA-DP (α and β chains)	6	88

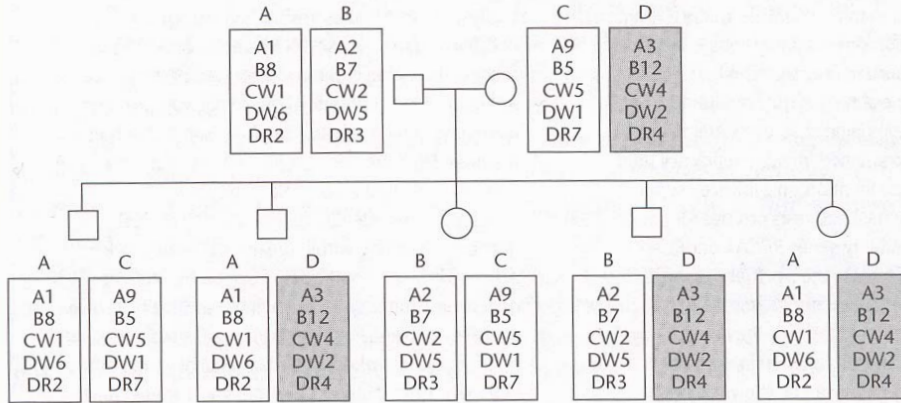


Fig. 4.10 The inheritance of HLA haplotypes. Usually a haplotype is transmitted, as shown in this figure, as a unit. In extremely rare instances, a parent will transmit a recombinant haplotype to the child.

MHC kromozom 6'nın kısa kolunda yerleşmiş büyük bir gen kümesinden oluşmuştur. Yapısal ve fonksiyonel farklılıklar bazında bu genler üç sınıfa ayrılmıştır ve her sınıf oldukça kompleks ve polimorfiktir. Üç sınıfın ikisi hücre yüzey proteinleri olan insan lökosit antijenlerinin (HLA) genlerine karşılık gelmektedir. Bu antijenler immün sistemin normal fonksiyon görmesi için oldukça önemlidir ve ilk olarak akraba

olmayan bireyler arasında doku transferi denemelerinde bulunmuştur. Bir sınıf I antijen iki polipeptid ünitelerden oluşmuştur, MHC tarafından kodlanan, bir polimorfik peptid ve MHC'nin dışındaki bir gen tarafından kodlanan, bir değişmez (invariant) polipeptid. Sınıf II genleri her ikisinde MHC tarafından kodlanan, α ve β altünitelerin heterodimerleridir. Sınıf III genleri HLA genleri değildir fakat polimorfik serum proteinlerinin ve membran reseptörlerinin genlerini içerir.

HLA sistemi pek çok genden oluşmuştur ve çeşitli lokuslarda tanınan pek çok antijenik varyantlarla birlikte oldukça polimorfiktir (Tablo 4.3). HLA allelleri oldukça yakından link oldukları için haplotipler olarak birlikte iletilirler. Her bireyin iki haplotipi vardır, her biri kromozom 6'nın bir kopyasının üzerinde yer alır ve ko-dominanttır. Her çocuk, her iki ebeveyninden bir haplotip alır (Fig. 4.10) ve aynı ebeveynin uyuşan HLA haplotiplerini kalıttığı iki çocuğun oluşma şansı %25'dir. Doku transplantasyonunun başarısı HLA haplotipleri arasındaki benzerlikle yakından ilişkili olduğundan, kemik iliği veya organ transplantasyonu için tercih edilen donör özdeş bir HLA haplotipine sahip bir erkek veya kız kardeştir.

HLA genleri hakkında çok daha fazla bilgi biriktikçe, belirli HLA genleri veya haplotipleri ve belirli hastalıklar arasında bir ilişki olduğu belirgin hale gelmiştir. Örneğin, ulusal bir çalışmada, populasyonun yalnız %9'u HLA-B27 alleleline sahiptir fakat kronik enflamatuar hastalık ankylosing spondylitislilerde %95 oranındadır. Benzer olarak, populasyonun %28'i HLA-DQ2 allelini taşıırken celiac hastalığını taşıyan populasyonun %99'unda mevcuttur. HLA genlerinin tek başına belirli hastalıklardan sorumlu olmaları olası değildir. Bunun yerine, diğer genetik ve çevresel faktörlerle birlikte hastalık yatkınlığına katkıda bulunabilirler. Örneğin, muhtemelen farklı bireylerin belirli enfeksiyöz ajanlara yatkınlığına etki ederler. Bunlar aynı zamanda tip I diyabette gösterildiği gibi kompleks hastalıklarda rol oynayabilirler (Kutu 4.3).

İlaçlara bireysel cevaplar (farmakogenomiks)

İlaçlara bireysel cevabın iki temel nedeni vardır: hedef molekülün yapısındaki varyasyon ve ilaç metabolizmasındaki farklılıklar. Örneğin, beta-adrenerjik reseptör antagonistleri astımın tedavisinde en yaygın kullanılan ajanlardır ve hedef genlerde birkaç polimorfizm tanımlanmıştır. Birkaç çalışma bu genlerdeki SNPIler ve terapiye cevap arasında bağlantı olduğunu göstermiştir. Bir çalışma bir allel için homozigot olanların, alternatif allel için homozigot olanlara göre albuterole cevap vermeye 5.3 kat fazla yatkın olduğunu göstermiştir. Heterzigotlar 2.3 kat fazla albuterolü yararlı bulabilirler.

Kutu 4.4 Sosyal ve etik problemler

Bireylerin, hastalığa yol açan veya riskini artırır ancak kanserin yatkınlığı artıran mutasyonlar için gerçekleştirilmesine dair garanti veremez. taranabilirliği bir takım sosyal ve etik problemler ortaya çıkarır. Taramanın prenatal veya postnatal olarak grubunun homoseksüelliğe neden yürütülmesine bağlı olarak farklı olduğunun bulunduğunu farz edin. problemler mevcuttur. Kalıtılmış Homoseksüelliğe karşı olan defektlerin prenatal tanısı için, fetüsü heteroseksüel bireylerin bir fetüsü çevreleyen amniyotik sıvının bir kısmı homoseksüel olabilme riski sebebi ile çekilerek amniyosentez tekniğinde almaya hakkı var mıdır? kullanılır. Sıvı gelişen çocuktan bazı Postnatal genetik taramadan doğan hücreleri içerir (amniyositler) ve eğer temel sorun birinin genetik kompozisyonu isteniliyorsa bunlar sayılarını attırmak için sebebi ile sigorta yapma veya sağlık *in vitro* kültüre alınabilir. Bu hücreler bakımının reddi şeklinde tanımlanan belirli gen defektleri için problemler ve

eğer biri tespit edilirse fetüsün alınması için bir karara varılabilir. Çoğu ülkelerde kürtaja karşı katı yasalar vardır ve izin verildiği ülkelerde bile, kürtajın ahlaki yönü şiddetli şekilde tartışılmaktadır. Kürtaj ahlaki açıdan kabul edilebilir olsa bile, kişi çizgiyi nerede çekecektir? Örneğin, prenatal test bebeğin kistik fibrozisten veya şiddetli kombine immüneksiklikten madur olduğunu gösterirse sonra kürtaj için bir durum sözü konusu olabilir. Fakat, fetüsün dişi olduğunu ve kanser yatkınlık genleri olan BRCA1 veya BRCA2'den biri için pozitif sonuç verdiğini farz edelim. Bu mutasyonlar taşıyıcının kanser olabilme

genetik ayrımcılıktır. USA'da Afro-Amerikanlar uzun zamandır işe alınmada ayrımcılığa maruz kalmaktadır. Yüksek orak hücre anemisi riskine sahip oldukları için, Afro-Amerikanlar işe alınabilmek için bu bozukluğu taşımadıklarına dair kanıt göstermek zorunda kalmaktadırlar. Benzer olarak, orak hücre mutasyonunun taşıyıcıları (yani heterozigotlar) aşırı yüksekliklerdeki azalan oksijen basıncı ile başa çıkamayabilecekleri için US Hava Kuvvetlerinde pilot olamazlar. Bu çeşit ayrımcılık ırksal önyargıya karşı yasalara uymamaktadır, fakat, daha yakın zamanlarda, genetik ayrımcılığı yasaklayan yeni yasalar bunu da kapsamıştır.

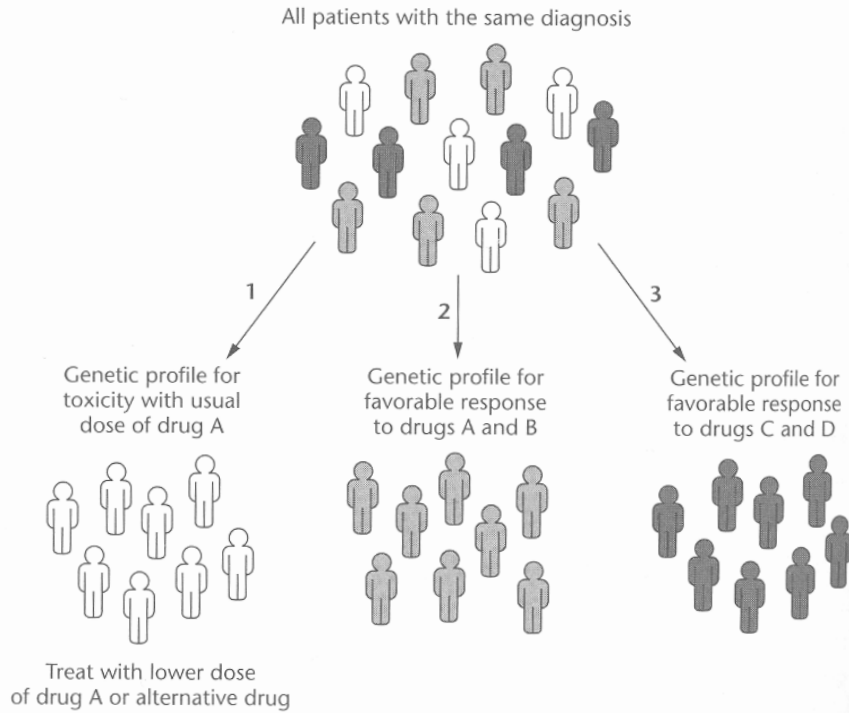


Fig. 4.11 Pharmacogenomics has the potential to subdivide a population of patients with the same empiric diagnosis (e.g. hypertension) into subgroups that have inherited differences in their metabolism of and/or sensitivity to particular drugs. One subset of the population might be at substantially greater risk of serious toxicity (1), whereas other subsets may have receptor polymorphisms or disease pathogenesis polymorphisms that make them more responsive to different treatment options (2 vs. 3).

İlaçlara karşı pek çok ters reaksiyon metabolizmadaki bozukluktan kaynaklanır. Örnek olarak, Kafkas popülasyonunun %3 ila 10'u adrenerjik blocking ilaç debirosquini metabolize edememiştir ve tedavi şiddetli hipotansiyonla sonuçlanır. Afro-Amerikalılarda bu "zayıf metabolize edici" durumunun frekansı %5 ve Asyalılarda sadece %1'dir. Etkilenmiş bireyler mutant bir sitokrom P450 geni (CYP2D6) için homozigottur ve aynı zamanda kodein dahil yaygın olarak reçetelenen ilaçların hepsinin %20'sinden fazlasını metabolize etmekte başarısızdırlar. Aynı gen aynı zamanda bir yükselmiş-metabolizer fenotipe neden olan allele sahiptir ve bu kansere artan yakınlıkla ilişkilendirilmiştir.

İlaç etkinliğini etkileyen pek çok genetik polimorfizm için, bir ilaç engelini yokluğunda belirli bir fenotip yoktur. Bu hastalar için uygun terapilerin seçiminde ve yeni ilaçların klinik deneyleri için hastaların seçiminde, istenilmeyen şans elementini getirir. Her iki durumda da çok önemli maliyet etkisi vardır. Eğer daha önceden bireyin genotipi bilirse daha iyi klinik kararlar alınabilir. Pek çok polimorfizmin yan etkiye sebep olmasının nedeni tek nükleotid değişiklikleri olduğu için, bir bireyin SNP profili terapiye rehberlik etmesi veya klinik bir denemeye katılımın seçimi için kullanılabilir. İnsan genomunun büyüklüğünün 3×10^9 baz çifti olduğu ve SNPlerin ortalama olarak her 1000 nükleotide bir meydana geldiği bilindiğine göre insan genomunda 3 milyondan fazla SNP vardır. Bir bireyi bütün hepsi için tiplendirmek çok büyük bir iş olacaktır ve pek çok kez tekrar edilmesi gerekecektir. Fakat, haplotiplerin varlığı ile tiplendirme karşılığı çok daha küçüktür –fakat halen yıldırııcıdır! Yeni bir ilacın klinik denemeye alınması, özellikle eğer ilaç geç bir evrede başarısız olursa, maliyetinin çok yüksek olması sebebi ile (yüz milyonlarca dolar), farmasötik şirketleri oldukça otomatikleşmiş yüksek-veri eldeli SNP profillendirmesinin gelişimine öncülük etmektedir. Başlangıçta bu bir hastalığın farklı alt tiplerinin sınıflandırılmasına ve bundan dolayı daha iyi tanıya yol açacaktır. Bu sırasıyla en uygun terapinin seçilmesini kolaylaştıracaktır. Daha sonra, her hastalığın kesin nedenini biliyor olduğumuzdan, şu anda olduğu gibi hastalığın semptomlarını tedavi etmekten çok sebebini tedavi etmek için ilaçlar geliştirebileceğiz. Sonuçta, etkilenmiş bireylerin genetik analizi hangi ilaçların kullanılabileceğini gösterecek ve farmakogenomik analizler hangi ilaçların kullanılması gerektiğini belirleyecektir (Fig. 4.11) Bu kişiselleştirilmiş ilaç çağı olacaktır (Kutu 4.4).