

Moleküler Epidemiyoloji

Dr. Gül Kitapçioğlu

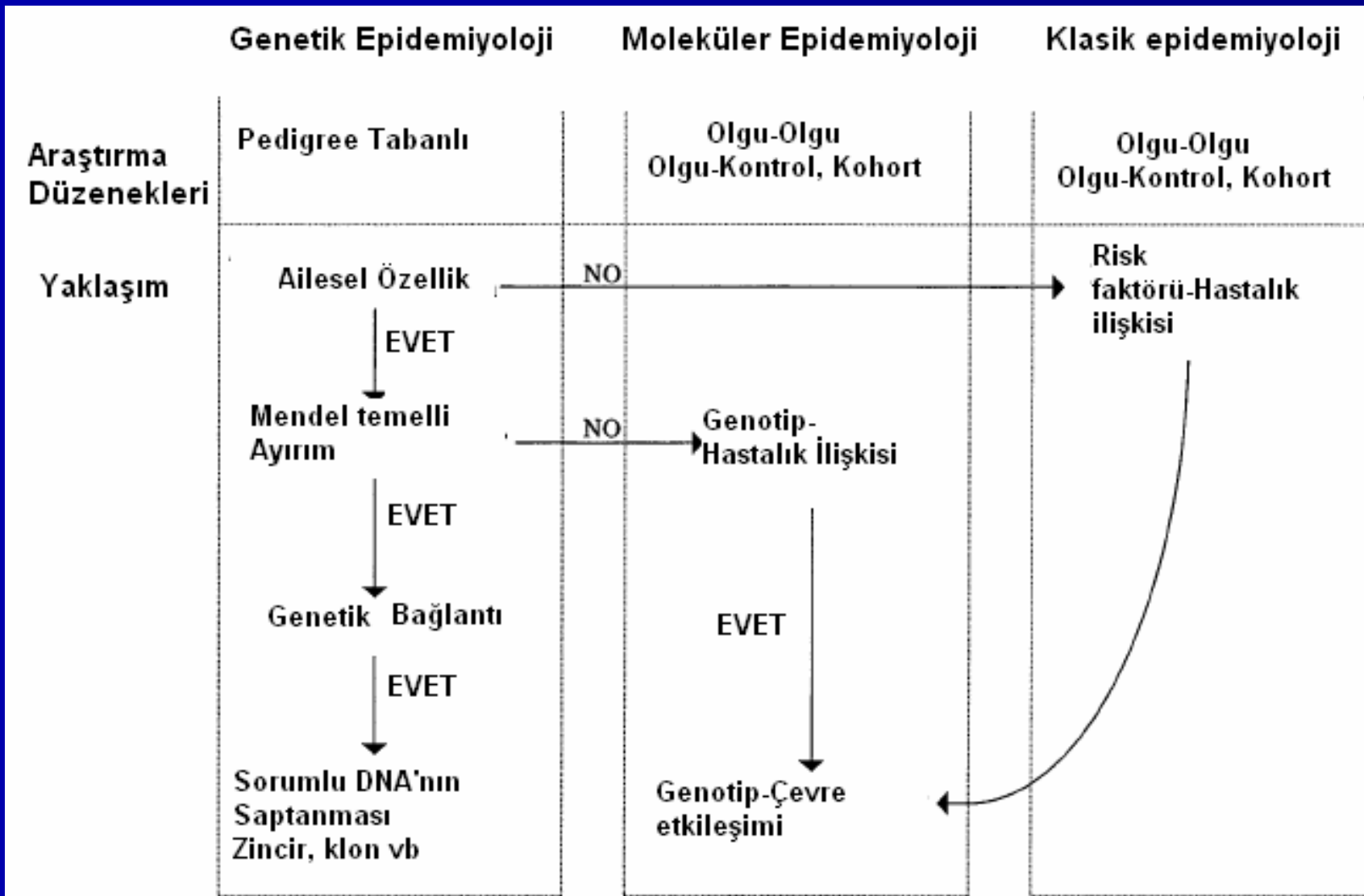
- Moleküler epidemioloji kavramı
- Moleküler epidemiyolojinin amaçları
- Tıp ve halk sağlığı ile ilişkisini kavramak

Moleküler Epidemiyoloji

- Toplumlarda ve ailelerde, hastalıkların kontrolü, dağılımı, etiyolojilerinde, moleküler düzeyde tanımlanmış çevresel risk faktörleri ve potansiyel genetik faktörlerin katkılarını araştırır.

Genetik – Moleküler Epidemiyoloji

- Genetik epidemiyoloji genlerle bütün olarak ilgilenirken, moleküler epidemiyoloji hastalıklarla ilişkili ve duyarlı olan genlerle ilgilenir.
- Genetik epidemiyolojiden farklı olarak enfeksiyon etkenleri ve çevresel risk faktörleri ile de ilgilenir.
- Moleküler epidemiyolojide dikkat edilmesi gereken noktalardan birisi de, kullanılacak moleküler testlerin, birer tarama testi olduğudur.
- Moleküler epidemiyolojik çalışmalarda kullanılacak moleküler testlerin epidemiyolojik tarama testi kriterleri açısından değerlendirilmesi gerekir.



Approaches to the identification of susceptibility genes
 Rebbeck TR. Cancer 1999

- Moleküler epidemiyoloji 21. yy araştırmacıların en çok ilgilendiği ve en önemli alanlardan biridir.
- İnsan Genom Projesi ile Klinik tıp / Toplum sağlığı arasında kritik bir bağ oluşturmaktadır
- İyi dzenlenmiş toplum tabanlı moleküler epidemiyoloji araştırma dzenekleri olmazsa yeni saptanmiş Duyarlı Kılıcı genler ile hastalığın ilgisini saptamak imkansız olurdu
- Sonuç olarak İnsan Genom Projesi nin değerlendirilirken sosyal, legal ve etik tartişmaları, toplum sağlığı koruyucu stratejileri ve tıbbi tanı yontemleri geliştirilmesinde vazgeçilmez

Epidemiyoloji

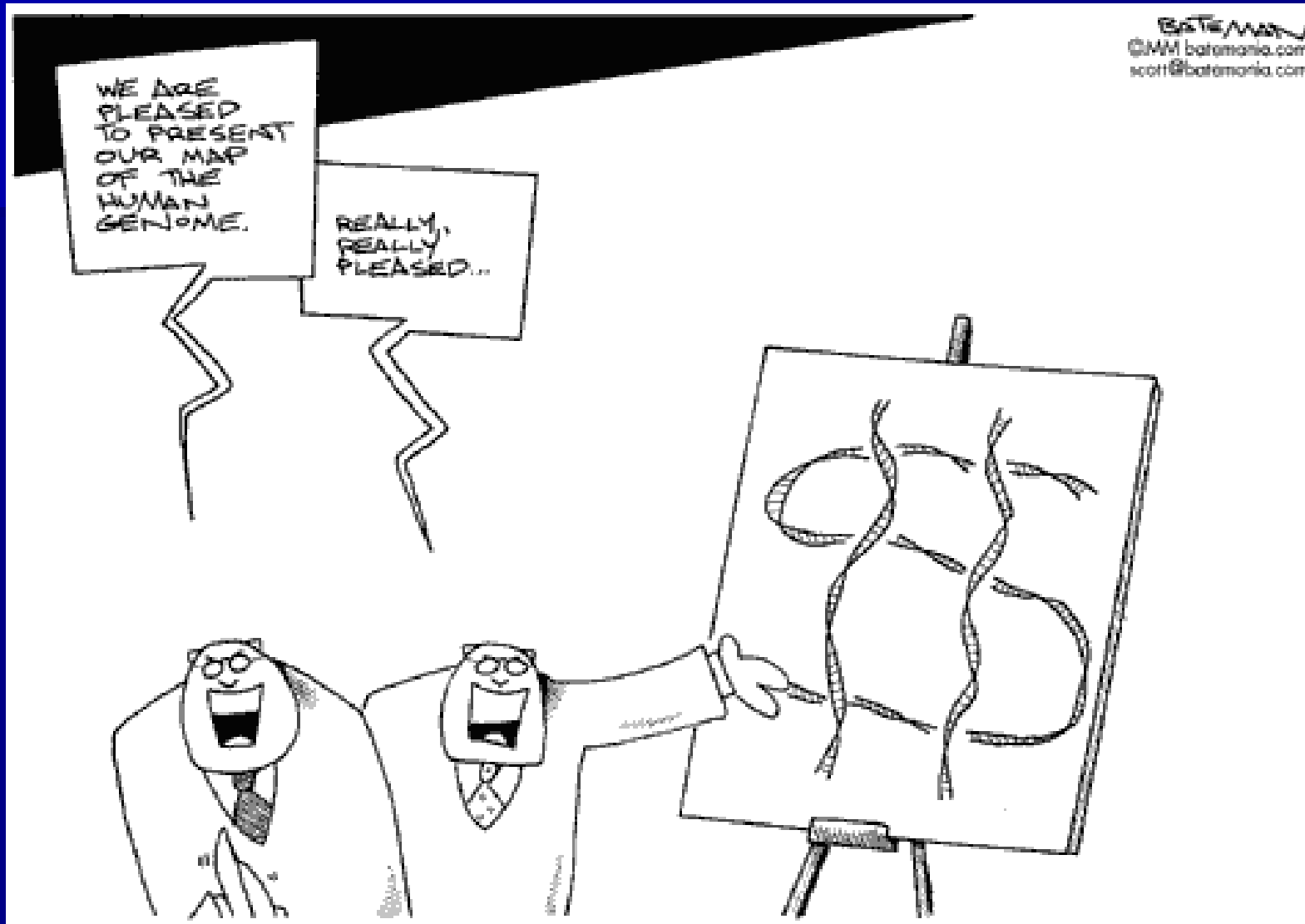
- Sağlık sorunlarının
 - Ortaya çıkarılması
 - Araştırılması
 - Analizi
- Koruyucu hekimlik ve halk sağlığının bilimsel temelidir.

İnsan Genom Projesi

- 1985 de projelenmiş
- 1988 de NIH (Ulusal Sağlık Enst)ve amerikan Enerji birliği tarafından finanse edilmiş
- 1990 da çalışma başlamış
- 2001 de Science da yayınlanmış
- Amaç: 24 insan kromozomunun fiziksel haritasını oluşturmak
- İnsandaki genetik varyasyonları ortaya koymak







Moleküler epidemiyoloji

1. Epidemiyoloji bilimini temel olarak alır.
2. Hastalıkların yayılımını ve etiyolojideki etkenleri tanımlamak için moleküler biyolojinin tekniklerinden yararlanır.
3. Hastalıkların gelişmesinde risk faktörü olan genlerin, moleküllerin ve mekanizmaların incelenmesi sayesinde hastalıkların patogenezi daha iyi anlaşılmasına yardımcı olur.
4. Çevresel etkilenimde taraf tutmayı azaltır.

Moleküler Epidemiyoloji Araştırma Düzenekleri

- Olgu- Kontrol
- Kohort
- Kesitsel

Olgu - Kontrol Tipi En Uygun Düzenektir

- Beslenme, çevresel maruziyet gibi maruziyetin biyolojik markerlarından farklı olarak genetik markerlar, hasta yatkınlığı için güvenilir göstergelerdir.
- Olgu – Kontrol araştırmaları; çok sayıda genden oluşan gen havuzunda diğer risk faktörleri ve gen çevre etkileşimleri arasında bir balık oltası gibi etkenleri ayırd etmeye yardımcıdır.
- Özellikle sık görülmeyen doğumsal defektler ve özel kanser türleri için olgu-kontrol çalışmaları çok uygundur.

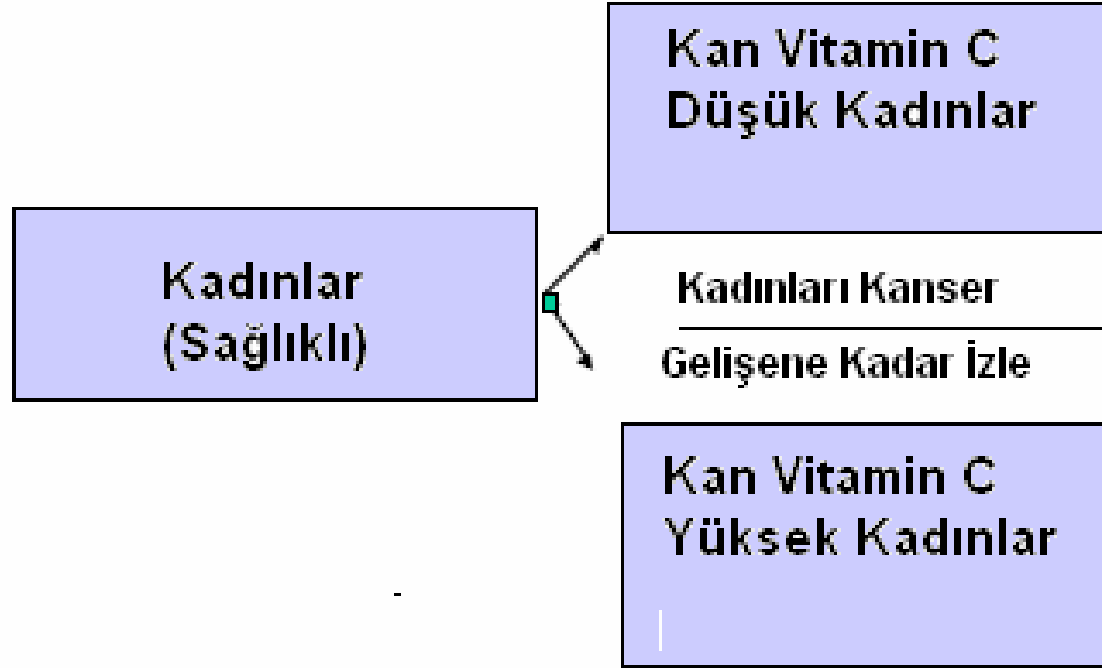
OLGU - KONTROL

Kan Vitamin C Düzeyi

Meme Kanserli
Kadınlar (olgu)

Meme Ca
olmayan kadınlar
(Kontrol)

Follow up

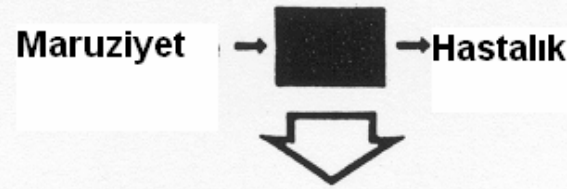


- Genel epidemiyolojiden farklı olarak moleküler epidemiyoloji çeşitli özel yollar, hastalık gelişmesinde risk oluşmasına katkıda bulunan molekül ve genler aracılığı ile hastalık patogenezi kavramayı artırır.
- Örneğin pozitif aile öyküsünden çok konakçı yatkınlığını sağlayan genetik belirleyiciler üzerinde durur

Tip 1 Diabetes Mellitus (T1-DM)

- Genelde çocukluk döneminde ortaya çıkan bu hastalık nadir olarak görülmekle birlikte hastalık tablosunun ciddiyetinden dolayı oldukça önemlidir.
- Bu hastalıkta en duyarlı genler altıncı kromozomun kısa kolundaki HLA bölgesindedir. HLA bölgesindeki DQ genleri, antijeni yardımcı T hücrelerine sunar ve immün sistemde görev alırlar.
- DQ genlerindeki değişiklikler, immün sistemde aksaklıklara neden olurlar ve DQ gen değişiklikleri T1-DM hastalarında saptanan en iyi genetik göstergedir. Bu gen değişikliği olan kişilerde T1-DM oluşma riski 15 kat fazladır15-19.

Geleneksel Epidemiyoloji



Moleküler Epidemiyoloji

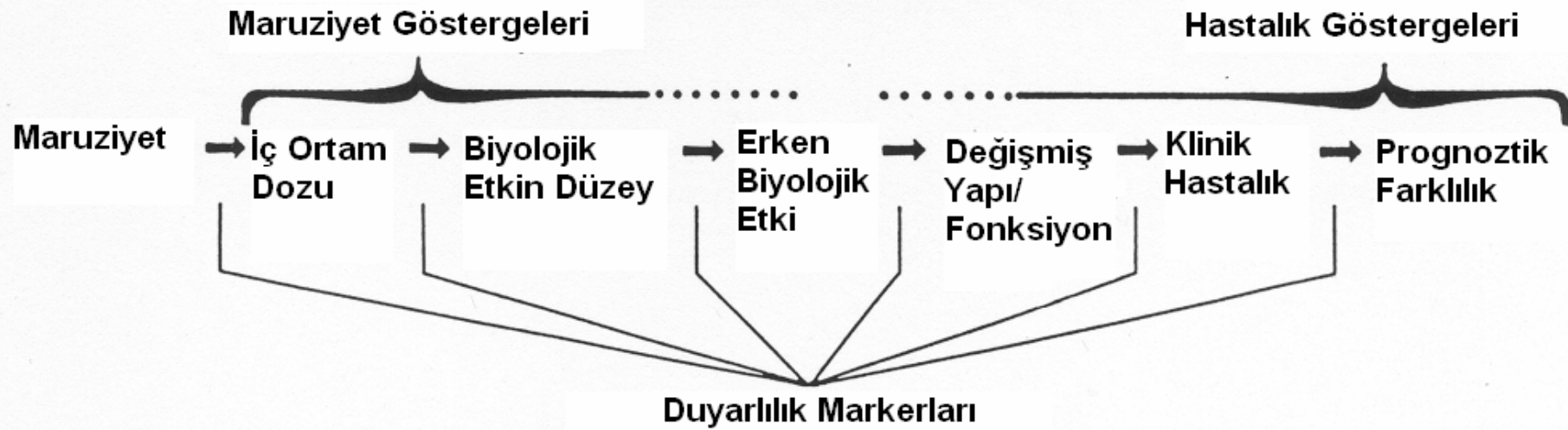
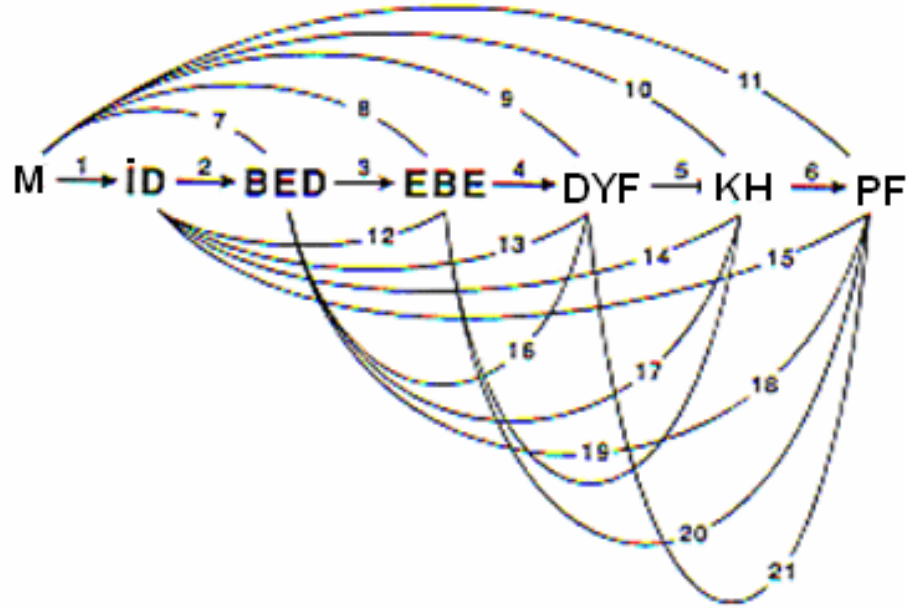
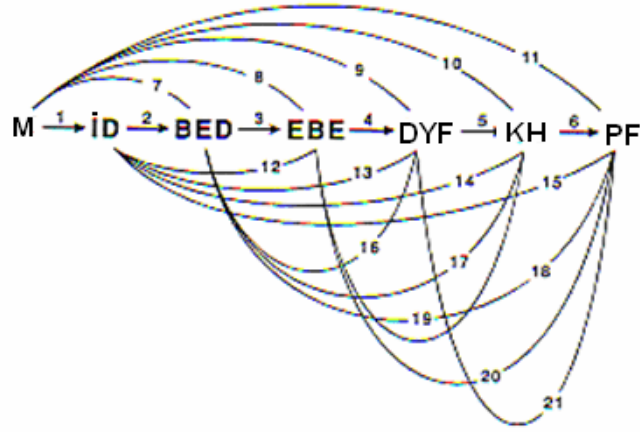


FIGURE 1.2 Moleküler Epidemiyolojik Araştırmanın Ayrıntılandırılmış Değerlendirmesi



- Maruziyet M
- İç ortam dozu İD
- Biyolojik etkin düzey BED
- Erken biyolojik etki EBE
- Değişmiş yapı fonksiyon DYF
- Klinik hastalık KH
- Prognostik Farklılık PF



Maruziyet	M
İç ortam dozu	İD
Biyolojik etkin düzey	BED
Erken biyolojik etki	EBE
Değişmiş yapı fonksiyon	DYF
Klinik hastalık	KH
Prognostik Farklılık	PF

1. $M \leftrightarrow İD$ Maruziyet göstergesinin Validasyonu
2. $İD \leftrightarrow BED$ Doz değerlendirme
3. $BED \leftrightarrow EBE$ Doz ve erken biyolojik etki ilişkisi
4. $EBE \leftrightarrow DYF$ Etkinin Patojenitesinin değerlendirilmesi
5. $DYF \leftrightarrow KH$ Preklinik Göstergenin (Marker) Validasyonu
6. $KH \leftrightarrow PF$ Prognostik markerın validasyonu
7. $M \leftrightarrow BED$ Maruziyet markerının validasyonu
8. $M \leftrightarrow EBE$ Etki markerı ile maruziyet arası ilişki
9. $M \leftrightarrow DYF$ Patojenik etki markerı ile maruziyet
10. $M \leftrightarrow KH$ Maruziyet hastalık
11. $M \leftrightarrow PF$ Maruziyet ve hastalık şiddeti
12. $İD \leftrightarrow EBE$ Doz ve erken biyolojik etki
13. $İD \leftrightarrow DYF$ Doz ve preklinik etki
14. $İD \leftrightarrow KH$ Doz ve klinik hastalık
15. $İD \leftrightarrow PF$ Doz ve Hastalık şiddeti
16. $BED \leftrightarrow DYF$ Doz ve preklinik etki ilişkisini en iyi gösteren düzenek
17. $BED \leftrightarrow KH$ Doz ve hastalık ; Risk belirleyici
18. $BED \leftrightarrow PF$ Doz ve Hastalık şiddeti
19. $EBE \leftrightarrow KH$ Hastalığa ilişkin markerın validasyonu
20. $EBE \leftrightarrow PF$ Hastalık şiddet markerının validasyonu
21. $DYF \leftrightarrow PF$ Hastalık şiddeti ile preklinik markerın validasyonu
22. 1 ile 21 arası çalışmaların tekrarlanması etki değiştirici duyarlılığını belirler

Moleküler Epidemiyolojide Risk Faktörleri Yaklaşımı

■ Çevresel

- Enfeksiyon ajanları
- Maruziyet Biyo-Göstergeleri
- Sitogenetik anomaliler

■ Genetik

- Genetik göstergeler
- Mutasyonlar
- Immunolojik Göstergeler

Moleküler Epidemiyolojik Çalışma Planlarken Testlerin;

- Uygun, Geçerli, tekrar edilebilir ve standardize edilebilirliği
- Uygulanacak biyolojik kaynakların ulaşılabilir olması
- Etik ve sosyal kabule uygun olması
- Hızlı ve maliyet etkin olduğu
- Yüksek duyarlılık ve seçiciliği sorgulanmalıdır.

Moleküler Epidemiyolojide Kullanılan Göstergeler(Marker)

- Duyarlılık
- Maruziyet
- Etki
- Hastalık

Genler
DNA Parçacıkları
Viruslar
Antikorlar
Mutasyonlar
Moleküler Tanı

Risk



Çevre

Faz I Enzimlerinin
Metabolik Aktivasyonu
P450

Karsinojen

Reaktif
Arametabolitler

DNA
eklentisi

Genetik
Hasar

Metabolik detoksifikasyon
Faz II enzimler,
GST
NAT, UGT

Salgılama

Normal DNA

DNA onarım
XRCC1

KANSER

Hücre Ölümü

Replikasyon
Hücre Kontrolü
H-ras, p53, p21

p53 pek çok stres durumunda alıcı özellikte

Stres koşulları

Genotoksik Stres
UV, X-ray
Karsinojenler,

Genotoksik olmayan
stres
Hypoksi, Isı artışı
GF azalması,
Redoks,
Sitokinler

Onkojenik stres

p53

p53
Aktivitesinin
düzenlenmesi

Proteinlere bağlanma

Hedef genlerin
uyarılması

- Cytochrome P450 en güçlü detoksifikasyon enzim ailesi,
- Belirli toksinlere özgün 100 den fazla genetik varyasyonu var,
- P450 ait sorunlarda Porfiri grubu hem sentez problemleri ortaya çıkar
- P450 ; H2 blokerleri, antasidler, SSRI inhibitörleri (Prozac, Paxil, Zoloft,..) tarafından baskılanır.
- Çoklu kimyasal duyarlılığı / Çevresel Hastalıklar ve bazı sendromlardan sorumlu

- Normal hücreden neoplastik hücreye transforme olma süreçlerinde genetik etki mekanizması bakımından üç farklı gen grubunun rolü olduğunu göstermiştir:
 - Proto-onkogenler,
 - Tümör baskılayıcı genler,
 - DNA onarım genleri.

Bireysel Risk Yaklaşımı

- ◆ **Kansere neden olan ajanlara duyarlılık**

"neden bazı sigara kullananlar kanser olurken bazıları olmuyor?"

- ◆ **Bağımlılık davranışı farklılıkları**

"Bazıları bırakırken diğerleri neden bırakamaz?"

- ◆ **Kanser gelişmesi ve ilerlemesinde farklılıklar**

"neden bazı kanser hastaları tedaviye olumlu yanıt verir?"

"Niçin bazı hastalarda hastalık progresif ilerleyici özellik gösterirken diğerlerinde bu olmaz?"

Moleküler epidemiyoloji bu kavramlara ışık tutar

Proto-onkogenler

- Proto-onkogenler normal hücreesel genler,
- Aktive olan mutant formlarının hücrede oluşması (ekspresyonları) sonucu hücreesel çoğalma mekanizmasının proliferasyon yönünde bozulması
- Apoptoz ile ilgili genler de genetik etki mekanizmaları açısından proto-onkogen grubunda yer alabilir, apoptozu düzenleyen bazı genler özellikleri nedeniyle farklı bir kategoriye alınabilirler.

Tümör baskılayıcı genler

- Tümör baskılayıcı genler normal koşullarda hücre proliferasyonunun kontrol edilmesinden sorumlu
 - İnaktive olduklarında tümör

TP53

- TP53 geni **tümör baskılayıcı** , 17. kromozomun kısa kolunda yer alır
- Bu gen **393 amino asidi** kodlar
- p53 proteini **transkription faktörü (Kopyalama)** pek çok genin kodlayıcısı.
- p53 protein **insan kanserlerinin 50% sinden çoğunda** TP53 geninde inaktive olduğu
- p53 inaktive olduğunda tümör hücrelerinin çoğalma hızı kontrol edilemez

DNA onarım genleri

- DNA onarım mekanizmasından sorumlu enzimleri kodlayan genlerde konstitüsyonel mutasyonlar kansere yüksek eğilim
- DNA onarım mekanizması bozuklukları xeroderma pigmentosum, ataxia telangectasia, Fanconi anemisi, ve Bloom sendromu gibi hastalıklarda gözlenmektedir
- Dokuların yıkımına neden olan proteazlar veya benzeri enzimler, vasküler geçirgenlik faktörler gibi çeşitli proteinleri kodlayan genlerin kanserle ilişkileri gösterilmiştir.
- Programlı hücre ölümünü (apoptoz) düzenleyen genlerin de kanserdeki rolü çok sayıda araştırma ile gösterilmiştir.

Biyolojik Göstergeler (Biomarkerlar)

- **Biyolojik sistemler veya olaylara ait göstergeler**
- **Biyolojik sistemlerde maruziyet veya mutajen, karsinojen ya da toksik etkilere bağlı oluşan değişiklikler.**
- **Bu değişiklikler fizyolojik, alt hücresele (subsellüler) veya moleküler düzeyde olabilir.**
- **Doku, hücre veya vücut sıvıları gibi biyolojik ortamlarda ölçülebilir.**

BIOMARKER'LAR

(Karsinojenik)

Aflatoxin B1-DNA eklenti	KC ve üriner sist	Aflatoksinin yol açtığı genetik hasar KC kanseri için artmış risk
PAH-DNA eklenti Polisiklik Aromatik hidrokarbonlar	Kan,Akciğer Plasenta	Genetik hasar, kanser riski Kirli hava, sigara
4-aminobiphenyl- Hemoglobin eklentisi	Kan	Aktif veya pasif sigara dumanı
Thymine glycol (oxide olmuş DNA baz)	İdrar	oksitleyici nedeniyle Genetik hasar
Tumor Baskılayıcı gen p53	Meme, akciğer karaciğer vb..	Çeşitli kanserlere artmış risk Mutasyon nedeniyle

Biyomarker Sınıflama

- (0. Dış ortam doz belirleyici)
- 1. İç ortam doz belirleyici
- 2. Biyolojik etkili doz belirleyici
- 3. Biyolojik yanıt belirleyici
- 4. (Subklinik) Hastalık belirleyici
- 5. Duyarlılık belirleyici

İç Ortam Belirleyicileri

Marker	Maruziyet	Biyolojik Ortam
Kotinin	Sigara Nikotini	Vücut Sıvıları
Kurşun	Çevresel kurşun	Vücut sıvıları ve dokular (Saç, tırnak)
Aflatoksin	Yiyecek maddeleri	Vücut sıvıları
Mutagenez ölçümleri	Kimyasal mutajenler	Vücut sıvıları

Biyolojik Yanıt Belirleyicileri

Marker	Maruziyet	Biyolojik Ortam
Kromozomal Bozukluk	Mutajenik Kimyasallar	WBC Lökositler
Nokta Mutasyonu	Mutajenik Kimyasallar	WBC Lökositler
Onkojen Aktivasyonu	Kimyasal Karsinojenler	Doku
Asetilkolin Stearaz	Organik Fosfat Pestisitler	Plazma

Biyolojik etkin Doz Belirleyiciler

Marker	Maruziyet	Biyolojik Ortam
DNA Adduct (Eklenti)	Benzo(a)piren	WBC Lökositler
Protein Adducts (Hemoglobin)	Etilen Oksit	RBC Eritrositler

Subklinik Hastalık Göstergeleri

Marker	Hastalık
Serum Alfa-fetoprotein	Karaciğer, GIS, Fetal Nöral tüp defekti
Karsinoembryonik Antijen	GIS Hastalıkları ve kanserleri
Tumor spesifik Antijen	Çeşitli Kanserler
Mutagenез Ölçümleri	Vücut sıvıları

Duyarlılık Göstergeleri

Marker	Maruziyet	Biyolojik Ortam
N-Asetil transferaz	Aromatik Aminler	Mesane kanseri
Aril Hidrokarbon Hidroksilaz	Sigara	Akciğer Ca

Biyomarker alışmalarının Amacı

- 1 Maruziyet geçerliliği saptaması
- 2 Hastalığın(subklinik) tanımlanması
- 3 Homojenöz hastalıkların sınıflaması
- 4 Bireysel Duyarlılık
- 5 Müdahalenin Uygunluğunun lümü
- 6 Nedensellik

Brüksel Lahanası Alımı ve Biyoaktivitesinin ölçütü (marker) olarak Üriner N-asetil sisteinil allil isothiosiyanat Düzeyleri

Hwang ES, Jeffery EH. Food Chem Toxicol. 2003 Dec;41(12):1817-25).

- Maruziyetin geçerliliğinin değerlendirilmesi (1)
- Nedensellik mekanizması (6)

Meme Tümörlerinde Doku Mikroarray Çalışması.

Zhang DH, Salto-Tellez M, Chiu LL, Shen L, Koay ES. Life Sci. 2003 Nov 7;73(25):3189-99.

- Homojenöz Hastalık Sınıflandırması(3)

Kolorektal Neoplazilerde Tarama biyomarkeri olarak Fekal kalprotektin Düzeylerinin Prospektif Değerlendirmesi.

Limburg PJ, Devens ME, Harrington JJ, Diehl NN, Mahoney DW, Ahlquist DA. Am J Gastroenterol.

2003 Oct;98(10):2299-305.

- Hastalığın(subklinik) tanımlanması(2)

Androjen Reseptör Geninde Polimorfik CAG tekrarları, Prostat Spesifik Antijen Polimorfizmi ve Prostat Kanseri Riski

Gsur A, Preyer M, Haidinger G, Zidek T, Madersbacher S, Schatzl G, Marberger M, Vutuc C, Micksche M.
Carcinogenesis. 2002 Oct;23(10):1647-51.

- Bireysel Duyarlılık(4)

Yüksek Oranda Meyve ve Sebze Alımına Uyumda Plazma Karotenoidleri ve Askorbik Asidin Biyomarker Olarak Kullanılmasına Yönelik Pilot Çalışma.

Le Marchand L, Hankin JH, Carter FS, Essling C, Luffey D, Franke AA, Wilkens LR, Cooney RV, Kolonel LN. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 1994 Apr-May;3(3):245-51.

- Müdahalenin Uygunluğunun Ölçümü (5)

Moleküler epidemiyolojide, Temel hedefler

1. Moleküler epidemiyolojik çalışmalarla önlenebilecek sağlık problemlerinin saptanması,
2. Ülkenin epidemiyoloji ve moleküler biyolojideki yeterliliklerinin analizi,
3. Tıbbi araştırmacıların, epidemiyologların, halk sağlığı birimlerinin, özel sektörün ve devlet görevlilerinin katılımı ile multidisipliner bilgi bankalarının ve bilgi ağlarının kurulması,
4. Ulusal morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerini epidemiyolojik olarak ortaya koyabilmek için gerekli araştırmaların yapılması,

Moleküler epidemiyolojide, Temel hedefler

5. Ulusal sağlık politikasının odak noktası olması gereken, koruma ve kontrol projelerinin hastalıklara özel olarak oluşturulması,
6. Moleküler epidemiyoloji alanında kısa ve uzun vadeli eğitim programlarının geliştirilmesi,
7. Yurt dışında gerçekleştirilen çalışmaların takibi,
8. Yurt içinde yapılan çalışmaların ve elde edilen başarıların diğer ülkelere de duyurulması ve uluslararası sağlığa katkıda bulunulması.

- Biyoteknoloji pahalı, akılcı olması ve ülke gereksinimlerine yanıt verebilmesi gerekir.
- Teknolojik çöplükler
- Moleküler epidemiyoloji konusunda personel eğitimi sadece gelişmekte olan ülkelerde değil; tüm dünya ülkelerinde sınırlıdır.

Gelişmekte Olan Ülkeler İçin Moleküler Epidemiyolojinin Önemi

- Bulaşıcı hastalıkların kontrolünde moleküler epidemiyolojinin halk sağlığı çalışmalarında kullanılmasının katkısı
- Asya ülkelerinde önemli bir problem olan Hepatit B (HBV) enfeksiyonu, rekombinant DNA teknolojisi (polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) gibi) sayesinde daha çabuk ve daha doğru bir şekilde tespit edilebilir hale gelmiştir.
- Rekombinant DNA teknolojisi sayesinde daha güvenli, etkili ve ucuz HBV aşıları üretilmiştir. Bunlara ek olarak uygun aşılama politikalarının geliştirilmesi ile Çin'de epidemik durumda bulunan HBV enfeksiyonuna karşı önemli başarılar elde edilmiştir.

- AIDS'in tanı ve tedavisi için de gelişmiş biyoteknolojik çalışmalara gereksinim duyulmakta.
- Gelişmekte olan ülkeler endüstrileştikçe bulaşıcı olmayan hastalıkların sıklığında da artış gözlenmektedir.
- Artış gösteren hastalıkların başında
 - kalp hastalıkları,
 - insüline bağımlı olmayan diabetes mellitus,
 - obezite,
 - meslek hastalıkları ve
 - kanser gelmektedir

- İnsan Genomu Projesi sayesinde, kalıtsal ve kronik hastalıklar konusundaki bilgi ve beceriler gittikçe artmaktadır. Sadece kalıtsal hastalığı olanlar değil, taşıyıcı olanlar da saptanabilmekte
- Özellikle Doğu Akdeniz ülkelerinde prenatal, yeni doğan ve evlilik öncesi taramalarını doğru ve ucuz bir şekilde yapabilecek laboratuvarlar kurulmalıdır.
- Bu laboratuvarlar, toplumun gereksinim duyan kesimlerine ulaştırılabilmesi
- Bu konuda uygulanacak politikaların geliştirilmesi de halk sağlığı birimlerinin görevidir.

- Toplumsal açıdan çok önemli olan ve salgınlara neden olan su ve besinlerle bulaşabilen bakteriyel, parazitik ve viral hastalıklar da rekombinant DNA teknolojisinin bir uygulaması olan PZR ile, geleneksel yöntemlerden daha doğru olarak ve çok daha kısa sürede (4-6 saat) saptanabilmektedir.
- PZR günümüzde, salgınları önlemede tartışılmalı

- Moleküler epidemiyoloji, farklı konuşma dillerine sahiplermiş ve birbirlerinden çok farklı düşünüyorlarmış gibi görünen moleküler biyologlarla halk sağlığı çalışanlarının birlikte çalışmasını gerektirir

?