

Moleküler Epidemiyoloji: Tanımı Ve Kullanım Alanları

Molecular Epidemiology: Definition And Usage Areas

Oğuz Arı¹, Dilek Öztaş², Rıza Durmaz³

ÖZET

Son 20 yıldaki teknolojik gelişmelere paralel olarak, yeni tekniklerin ortaya çıkışı ve maliyetlerdeki azalmalar sayesinde moleküler yöntemler sağlık bilimleri araştırmalarında önemli bir yer edinmiştir. Birey ve toplumda görülen hastalıkların etiolojisini, dağılımını ve engellenmesini konu edinen epidemiyoloji bilimi de özellikle 90'lı yıllardan itibaren moleküler yöntemlerden faydalanmaktadır. Bu ortaklık sayesinde, epidemiyolojik çalışmaları moleküler ve biyokimyasal düzeyde uygulayan "Moleküler Epidemiyoloji" alt dalı ortaya çıkmıştır. Hastalıkların genetik ve çevresel risk faktörlerinin tespit edilerek duyarlı bireylerin saptanması, enfeksiyon ajanlarının tespiti, rezervuarları ve yayılması gibi geleneksel epidemiyolojik amaçlara ek olarak, moleküler tanı yöntemleri geliştirmek, enfeksiyon hastalıklarının incelenmesi ve önlenmesi, kronik hastalıkların muhtemel genetik nedenlerinin tespit edilmesi gibi amaçlar moleküler epidemiyolojinin çalışma alanına girmektedir. Enfeksiyon hastalıklarının etiolojilerinin incelenmesinde Pulse Field Gel Electrophoresis (PFGE), Polymerase Chain Reaction (PCR) bazlı yöntemler, Multi-locus VNTR (Variable Number Tandem Repeat) Analysis (MLVA), Multi-locus Sequence Typing (MLST) ve DNA dizilemeye dayalı teknikler sıklıkla kullanılırken, kanser gibi kronik hastalıklar araştırılırken birçok biyobelirteç kullanılmaktadır. Özellikle geleneksel epidemiyolojik yaklaşımların yeterli olmadığı durumlarda moleküler yöntemler sıklıkla tercih edilmekte hatta bazı hastalıkların tanı ve tespitinde altın standart olarak kullanılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Epidemiyoloji, Moleküler Epidemiyoloji, Moleküler Teknikler, Biyobelirteçler, Enfeksiyon Hastalıkları

ABSTRACT

In parallel with the technological developments in the last 20 years, the emergence of new techniques and the reduction in costs, molecular methods have gained importance in health sciences. The science of epidemiology, which deals with the etiology, distribution and prevention of diseases seen in both individual and society, has also benefited from molecular methods, especially since the 90s. Thanks to this partnership, "Molecular Epidemiology" has emerged as a sub-branch, which applies epidemiological studies at the molecular and biochemical level. In addition to the traditional epidemiological objectives such as identifying genetic and environmental risk factors of diseases, detecting susceptible individuals, detecting infectious agents, their reservoirs and distribution, objectives such as developing molecular diagnostic methods, examining and preventing infectious diseases, and identifying possible genetic causes of chronic diseases are among the study areas of molecular epidemiology. Pulse Field Gel Electrophoresis (PFGE), Polymerase Chain Reaction (PCR) based methods, Multi-locus VNTR (Variable Number Tandem Repeat) Analysis (MLVA), Multi-locus Sequence Typing (MLST) and DNA sequencing-based techniques are frequently used in examining the etiology of infectious diseases. When investigating chronic diseases such as cancer, several biomarkers are also used. Especially in cases where traditional epidemiological approaches are not sufficient, molecular methods are often preferred and even used as the gold standard in the diagnosis and detection of some diseases.

Keywords: Epidemiology, Molecular Epidemiology, Molecular Techniques, Biomarkers, Infectious Diseases

GİRİŞ

Moleküler epidemiyoloji, özellikle son yıllarda biyolojik araştırmalarda kullanılan moleküler yöntemlerdeki gelişmelere paralel olarak, ailede ve toplumda görülen

hastalıkların etiolojisini, dağılımını ve engellenmesini temel alan epidemiyoloji disiplininin bir alt dalı olarak ortaya çıkmıştır.

Moleküler epidemiyoloji çalışmaları sayesinde, insanlarda

¹ Öğr. Gör., Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Merkezi Araştırma Laboratuvarı, Ankara, Türkiye. oguz.ari61@gmail.com, ORCID: 0000-0003-4930-5035

² Doç. Dr., Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Halk Sağlık Ana Bilim Dalı, Ankara, Türkiye. doztas@hotmail.com, ORCID: 0000-0002-8687-7238

³ Prof. Dr., Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara, Türkiye. rdurmaz@ybu.edu.tr, ORCID: 0000-0001-6561-778X

veya hayvanlarda, çeşitli hastalık ve sağlık sorunlarının genetik veya çevresel risk faktörlerini moleküler ve biyokimyasal düzeyde araştırarak daha etkin çözümler üretilmesi hususunda önemli bilgilere ulaşılabilir. Bu çalışmalar laboratuvar ortamında in vitro ya da in vivo yöntemler kullanılarak yürütülebilir.

Bu derlemede moleküler epidemiyolojinin tanımı yapılarak, hedefleri ve tıpta kullanım alanları üzerinde durulacaktır.

1. MOLEKÜLER EPİDEMİYOLOJİ

1.1. Moleküler Epidemiyolojinin Tanımı

Tıp kitaplarında moleküler epidemiyoloji için kısaca, “insan popülasyonlarında görülen hastalık ve sağlık sorunlarının nedenleri, etkenleri ve dağılımlarının moleküler yöntemler ile araştırılması” şeklinde bir tanımlama kullanılmaktadır. Bu yöntemler benzer amaçlar için veterinerlik alanındaki araştırmalarda da kullanılmaktadır. Dolayısıyla yukarıdaki tanımı “insan ve hayvan popülasyonları” şeklinde güncellersek daha doğru ve kapsayıcı bir tanımlama yapmış oluruz (Riley-Blanton 2018: 6).

Birçok hastalık ve sağlık sorununun genetik ve/veya çevresel risk faktörleri vardır. Bu potansiyel risk faktörlerinin moleküler düzeyde tespit edilmesi sayesinde herhangi bir hastalığın etiyojisi, aile ve toplum içinde yayılma şekilleri, mikrobiyal evrimi, patogenezi ve korunma yolları üzerine odaklanan moleküler epidemiyoloji, moleküler biyoloji ve geleneksel epidemiyolojik yaklaşımın bir sentezidir.

1.2. Moleküler Epidemiyoloji Tarihesi

Moleküler Epidemiyoloji terimi tarihte ilk olarak Kilburne’ün İnfluenza virüsü üzerine yaptığı, 1973 yılında yayımlanan “Molecular Epidemiology of Influenza” adlı makalede kullanılmıştır. Ardından bu alan üzerine yazılmış ilk kitap olan “Molecular Epidemiology: principles and practice” 1993 yılında Schulte and Perera tarafından yayımlandı. Bu kitapla beraber moleküler araştırmalarda kullanılan biyobelirteçlerin, toplumda görülen hastalıkların moleküler mekanizmalarının ortaya çıkarılmasında geleneksel epidemiyolojik çalışmalara katkıda bulunabileceği ileri sürülmüştür (Honardoost, 2018: 53). Bu tarihten itibaren moleküler epidemiyolojik çalışmalara ilgi hızla artmıştır. Özellikle 2003 yılında tamamlanan İnsan Genom Projesi bu alanda önemli bir dönüm noktası olmuştur. Daha sonraki yıllarda genotipleme üzerine geliştirilen yüksek çıktılı modern teknolojiler sayesinde canlıların DNA, RNA ve protein yapıları üzerinde daha detaylı araştırmalar yapılabilmeye ve hastalıkların genotip-fenotip ilişkilendirmesindeki bilgi dağarcığımız artmıştır. Örneğin, son yıllarda ortaya çıkan yeni nesil DNA dizileme panelleri sayesinde birçok hastalığın genetik nedenleri kısa süreler içerisinde ortaya çıkarılabilmektedir.

2. MOLEKÜLER EPİDEMİYOLOJİNİN İLGI ALANLARI

Moleküler epidemiyolojik araştırmalar hem tanımlayıcı hem de analitik olabilir. Analitik çalışmalarda kontrol grupları

kullanılarak hastalık etmenleri laboratuvar deneyleri vasıtasıyla belirlenir. Moleküler epidemiyolojinin genel ilgi alanları ise şu şekilde sıralanabilir (Odur-Tekbaş, 2000:3):

- Hastalığın ortaya çıkışı, yer ve zaman açısından dağılımı,
- Enfeksiyon ajanlarının tespiti, rezervuarları ve yayılması,
- Moleküler tanı yöntemleri geliştirme ve enfeksiyon hastalıklarının önlenmesi,
- Kanser ve diğer kronik hastalıkların muhtemel genetik nedenlerini tespit etmek,
- Hastalıkların genetik ve çevresel risk faktörlerinin tespit edilerek duyarlı bireylerin saptanması ve hastalıkların önlenmesi.

Moleküler epidemiyoloji çalışmalarında yukarıda sözü edilen hedefleri gerçekleştirmek için çoğunlukla modern biyoteknolojik yöntem, cihaz, sarf ve en önemlisi bunları kullanacak, analizini yapabilecek, iyi eğitim almış araştırmacılara ihtiyaç duyulmaktadır. Dolayısıyla bu çalışmalar bütçe ve teknoloji açısından gelişmiş ülkelere özgü olarak görülebilse de özellikle kronik ve genetik hastalıkların önlenmesi açısından gelişmekte olan ülkeler için de oldukça önemlidir. Bu nedenle ülkelerin halk sağlığı kurumlarına ve moleküler epidemiyoloji alanında bilgi ve deneyim sahibi kişilere önemli görevler düşmektedir. Bu bağlamda uluslararası bilgi paylaşımı, bilgi ağları ve veri tabanları sayesinde dünyanın her yerinden güncel epidemiyolojik gelişmelere ulaşmak mümkündür.

2.1. Enfeksiyon Hastalıklarında Moleküler Epidemiyoloji

Moleküler epidemiyoloji kapsamında yer alan moleküler yöntemler çeşitli mikroorganizmalara (bakteri, virüs, mantar vb.) bağlı enfeksiyon hastalıklarının tanımlanması, kaynağının belirlenmesi, yayılımı, bulaş yolları, patogenezi, virulans ve direnç genlerinin tespiti ve aşı üretimi gibi kritik hedeflerde oldukça yararlı olmaktadır (Persing, vd. 2016: 49-238). Bunun yanında, kültür edilemeyen mikroorganizmaların tespiti, hastalık etkeninin çevreden bulaşan ekzojen kaynaklı veya konağın kendi florasından gelen endojen kaynaklı olup olmadığı, hastane veya toplum kaynaklı enfeksiyonların ayırımının yapılmasında moleküler yöntemler önemli rol almaktadır. Özellikle hastane enfeksiyonları ve salgınlarda etkenin tanımlanması, tiplendirilmesi ve klonal ilişkilerin belirlenmesinde moleküler yöntemler altın standart olarak değerlendirilmektedir. Moleküler tiplendirme yöntemleri genel olarak DNA/RNA, PCR ve dizileme temellidir.

En sık kullanılan yöntemler ise Pulse Field Gel Electrophoresis (PFGE), Polymerase Chain Reaction (PCR) bazlı yöntemler, Multi-locus VNTR (Variable Number Tandem Repeat) Analysis (MLVA), Multi-locus Sequence Typing (MLST) ve yeni nesil dizileme platformları ile Tüm Genom ve Metagenomik DNA dizileme şeklinde sıralanabilir (Durmaz, 2018: 83). Bakteri izolatlarının moleküler tiplendirilmesinde birçok farklı yöntem kullanılmakla birlikte, çoğu bakteri türünde DNA fragmanlarının bant profillerinin analizine dayalı olan PFGE yöntemi altın standart olarak tercih edilmektedir. Bu



yöntemin yeterli olmadığı durumlarda, bakteri genomundaki belirlenmiş lokusların dizilendiği MLST veya tandem tekrar dizilerinin PCR ile çoğaltılarak analiz edildiği MLVA yöntemleri de sıklıkla kullanılmaktadır. Ayrıca, dağınık tekrar dizilerin amplifikasyonu (REP-PCR), rastgele seçilmiş primerlerle amplifikasyon (RAPD, AP-PCR) gibi PCR temelli tiplendirme yöntemleri de düşük maliyetli oldukları için tercih edilmektedir (Riley, 2018: 6).

Son olarak, geçtiğimiz 10 yıl içerisinde ortaya çıkan ve sürekli gelişmeye devam eden yeni nesil dizileme teknolojileri sayesinde neredeyse her mikroorganizmanın genomu dizilenecek genom çapında tiplendirme yapılabilmektedir. Özellikle nispeten kısa genomlara sahip virüslerde tüm genom dizileme sıklıkla tercih edilmektedir. Yeni nesil dizileme teknolojisinin getirdiği kolaylıklardan biri olan metagenomik dizileme sayesinde ise birden fazla etkenin olduğu durumlarda, örneklerin bakteriyom ve mikrobiyom profilleri ortaya çıkarılmakta ve bunun yanında insanlarda ve hayvanlarda bulunan mikrobiyom yapıları analiz edilebilmektedir (Ari, vd. 2019: 126).

2.2. Kanser ve Diğer Kronik Hastalıklarda Moleküler Epidemiyoloji

Moleküler yöntemler enfeksiyon hastalıklarının araştırılmasında çok önemli faydalar sağlamakla birlikte kanser gibi kronik rahatsızlıkların etiyolojisinin araştırılmasında da tercih edilmektedir (Chen-Hunter, 2005: 45-54). Bu yöntemler sayesinde hastalıkların belirli ekzojen nedenleri veya konağa bağlı faktörler moleküler düzeyde bulunabilmektedir. Özellikle hastalıklarla ilişkili genetik varyasyonların veya polimorfizmlerin tespitinde moleküler yöntemlere ihtiyaç vardır. Moleküler epidemiyolojik kanser araştırmalarında birçok biyobelirteç kullanılmaktadır. Doz ve maruziyet belirteçleri, kansere neden olan virüs enfeksiyonları için kullanılmaktadır. Bunlar genellikle gerçek zamanlı PCR testleri ile tespit edilmektedir. Kansere neden olan aflatoxin gibi bazı moleküller DNA'ya kovalent olarak bağlanırlar. DNA katımı denilen bu yapılar da biyobelirteç olarak kullanılmaktadır. Somatik mutasyonlar ve polimorfizmler gibi belirteçler ise DNA dizileme teknikleriyle tespit edilmektedir. Ayrıca kromozomal bozukluklar gibi yapısal/fonksiyonel değişimler de bu hastalıkların etiyolojisinde biyobelirteç olarak değerlendirilmektedir (Chen-Hunter, 2005: 45-54; Ito-Matsuo, 2016: 33-38; Burnett-Hartman, vd. 2021: 1041-1049).

SONUÇ

Nispeten yeni bir alan olan moleküler epidemiyolojinin hem enfeksiyon hastalıklarının hem de kanser gibi kronik hastalıkların etiyolojileri, gelişimi, tedavisi ve engellenmesine yönelik araştırmalardaki faydaları bilim insanları tarafından onaylanmıştır. Özellikle geleneksel epidemiyolojik yaklaşımların yeterli olmadığı durumlarda moleküler yöntemler sıklıkla kullanılmaktadır. Tecrübeli ve uzman personel ihtiyacı, yüksek maliyetlere bağlı olarak dar örneklemelerin getirdiği taraf tutma (bias) gibi dezavantajları

olsa da moleküler epidemiyolojik çalışmalara ilgi gün geçtikçe artmaktadır.

KAYNAKÇA

Ari O., Karabudak S., Kalcioglu MT., Gunduz AY., Durmaz R. (2019). The bacteriome of otitis media with effusion: Does it originate from the adenoid? *International journal of pediatric otorhinolaryngology*, 126:109624.

Burnett-Hartman AN., Lee JK., Demb J., Gupta S. (2021). An Update on the Epidemiology, Molecular Characterization, Diagnosis, and Screening Strategies for Early-Onset Colorectal Cancer. *Gastroenterology*, 160(4):1041-1049

Chen, Y. C., & Hunter, D.J. (2005). Molecular epidemiology of cancer. *CA Cancer J Clin*, 55(1), 45-54

Durmaz, R. (2018). Düünden Bugüne Moleküler Tiplendirme Yöntemleri. Uluslararası XXXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 04-08 Kasım 2018, Antalya, Türkiye

Honardoost, M., Rajabpour, A., & Vakili, L. (2018). Molecular epidemiology; New but impressive. *Med J Islam Repub Iran*, 32-53.

Ito H., Matsuo K. (2016). , Molecular epidemiology, and possible real-world applications in breast cancer.23(1):33-38.

Kilbourne, ED. (1973). The molecular epidemiology of influenza. *J Infect Dis*, 127(4), 478-487. doi: 10.1093/infdis/127.4.478

Odur R., Tekbaş ÖF. (2000). Halk Sağlığında Yeni Bir Yaklaşım: Moleküler Epidemiyoloji. *Toplum Hekimliği Bülteni, Hacettepe Üniversitesi*. 2(3).

Persing, D. H., Tenover, F. C., Hayden, R. T., Ieven, M., Miller, M. B., Nolte, F. S., . . . van Belkum, A. (2016). *Molecular Microbiology: American Society of Microbiology*.

Riley LW. (2018). Laboratory Methods in Molecular Epidemiology: Bacterial Infections. *Microbiol Spectr*, 6(6).

Riley, LW., & Blanton, R. E. (2018). Advances in Molecular Epidemiology of Infectious Diseases: Definitions, Approaches, and Scope of the Field. *Microbiol Spectr*, 6(6).

Schulte, P., & Perera, FP. (1998). *Molecular Epidemiology: Principles and Practices*: Elsevier Science.