

A C4BQ0, EGY GÉNVARIÁNS, AMELY JELENTŐSEN CSÖKKENTI AZ ESÉLYT AZ EGÉSZSÉGES ÖREGKOR MEGÉLÉSÉRE

Füst György

az orvostudomány doktora, egyetemi tanár
Semmelweis Egyetem ÁOK III. Sz. Belgyógyászati Klinika
fustge@kut.sote.hu

Kramer Judit

PhD, laborvezető
Jahn Ferenc Kórház Központi Laboratórium

Kiszel Petra

PhD-hallgató, Semmelweis Egyetem
ÁOK III. Sz. Belgyógyászati Klinika

Blaskó Bernadette

PhD, post. doc., Semmelweis Egyetem
ÁOK III. Sz. Belgyógyászati Klinika

Szalai Csaba

az MTA doktora, laborvezető
Semmelweis Egyetem Központi Genetikai Lab.

Guðmundur Jóhann Arason

PhD, assistant professor
Department of Immunology,
Institute for Medical Laboratory Sciences,
Landspítali University Hospital, Reykjavík, Izland,

Chack Yung Yu

D. Phil., laborvez., Center for Molecular and Human
Genetics, Columbus Children's Research Institute
and College of Medicine and Public Health,
The Ohio State University, Columbus, Ohio, USA

Bevezetés

Az emberiség egyik érthető törekvése az, hogy megfejtse a hosszú élet titkát: megjósolhassa, kinek van arra esélye, hogy megérje a kilencvenedik vagy századik születésnapját. Jól tudjuk, ebben lényeges szerepet játszik az életmód: bizonyos káros szokások (dohányzás, mértéktelen ivás, egészségtelen táplálkozás) kerülése meghosszabbíthatja a várható élettartamot. Azonban ősi népi bölcsesség az, hogy hosszabb életre számíthatnak azok, akiknek szülei és nagyszülei is sokáig éltek, mint azok, akiknek felmenői korán meghaltak. A tudomány górcső alá vette és igazolta ezt a bölcsességet. Különböző nyugat-európai és amerikai populációkat vizsgálva bizonyítani lehetett, hogy azon emberek utódainak, akik igen hosszú életet

éltek meg, kétszer-négyszer nagyobb az esélyük arra, hogy maguk is sokáig éljenek, mint azoknak, akiknek szülei hatvanas-hetvenes éveikben haltak meg (Reed et al., 2003). A legegzaktabb módja az ilyen vizsgálatnak az, hogy egy- és kétpetejű ikrek csoportjait hasonlítják össze. A vizsgálatba lehetőség szerint egy-egy korosztály minden ikerpárját bevonják, és megvizsgálják, hogy van-e összefüggés az ikerpárok tagjainak élettartama között. Találtak ilyen összefüggést, és például a Dániában végzett számítások alapján kiderült, hogy kb. 25 %-ban határozzák meg a veleszületett, genetikailag deteminált faktorok azt, hogy ki mennyi ideig fog élni (Herskind et al., 1996). Igen sok olyan vizsgálatot végeztek az elmúlt évtizedekben, amelyekben bizonyos génvariánsok (allélek) előfordulási gyakoriságát hasonlították össze

középkorú, illetve extrém hosszú életkort megért (legalább kilencven- vagy százéves) emberekben. A legutóbbi néhány évtől eltekintve, amikor a vizsgálatok fegyvertárába bevonták a legmodernebb eljárásokat (a teljes humán genom „végigpásztázása”), egyetlen génről sikerült egyértelműen bizonyítani, hogy meghatározásával az extrém hosszú életkor előre jelezhető (Rea et al., 2001). Ez a zsírsavanyagcsere szabályozó egyik legfontosabb gén, az ún. apolipoprotein E gén. A génnek három gyakori variánsa ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$ és $\epsilon 4$) létezik. Sok kaukázusi, sőt ázsiai népcsoportban végzett vizsgálat egybehangzóan igazolta: az $\epsilon 2$ variáns hordozóinak lényegesen nagyobb, míg az $\epsilon 4$ variáns hordozóinak lényegesen kisebb az esélyük arra, hogy hosszú életűek legyenek, mint azoknak, akik csak a leggyakrabban előforduló $\epsilon 3$ variánst hordozzák. A különbség fő oka, hogy az $\epsilon 4$ variáns hordozóiban gyakrabban észlelhetők a zsírsavanyagcsere rendellenességei. A legutóbbi évek vizsgálataiból azonban világossá vált, hogy az igen hosszú élettartam genetikai meghatározói között az apolipoprotein E gén csak az egyik a legalább ugyanolyan fontos vagy még lényegesebb gének között. Amerikai kutatók a teljes emberi génkészlet végigpásztázásával összehasonlították több mint háromszáz 98 éves vagy annál idősebb ember génjeit ötven éven aluli kontrollkéval. Egy, a 4. kromoszómán kódolt régióban találtak különbséget, és legújabbban azt is igazolták, hogy ez a génvariáns, amely 3,65-szörösére emeli az extrém hosszú élet valószínűségét, az apolipoprotein E-hez hasonlóan szintén a lipoproteinek anyagcseréjében játszik kulcsszerepet.

Valószínűleg egészen más mechanizmus útján fejt ki hatását az olasz kutatók által 2003-ban leírt, human sirtuin 3-nak nevezett gén, amelynek az egyik variánsát hordozó férfiak sokkal hosszabb, míg a másik variánsát hordozó férfiak sokkal rövidebb élettartamra számíthatnak. Ez a gén egy igen fontos sejt-

alkatrész, a mitokondrium egyik fehérjéjét kódolja, és hibás működése az állatkísérletek szerint a sejtek életfunkcióit rontja le.

Ez csupán a kezdet, hiszen az igen hosszú életű emberek és a fiatalabb populáció génállományának összehasonlítása gőzerővel indult meg a legutóbbi évek során. Az EU által szponzorált *Genetics of Human Ageing* (GEHA) vizsgálat (Skytthe et al., 2003) során 2800 több mint kilencvenéves ikerpár és hasonló számú fiatalabb kontroll génállományát hasonlítják majd össze, és hasonló vizsgálatokat terveznek Kínában is. Így joggal remélhető, hogy kb. 2010-re felderítjük az igen hosszú élet öröklésének a titkát. Ez a már említett 25 %-on (amelyben a genetikai tényezők szerepet játszanak az öröklődésben) felül is eredményekkel kecsegtet, mert elsősorban az öröklött és a környezeti tényezők kölcsönhatása határozza meg, hogy ki számíthat arra: megéri 90. vagy 100. születésnapját.

Ezek a vizsgálatok azonban háttérbe szorították egy másik fontos kérdés tanulmányozását, azt, hogy vannak-e olyan genetikai tényezők, amelyek a középkorúak korai, idő előtti (angolul: *premature*) halálzásáért felelősek. Természetesen igen sokan tanulmányozták, és a legmodernebb módszerekkel tanulmányozzák ma is az egyes, a középkorúak halálzásáért felelős betegségekre hajlamosító géneket.

Az a kérdés azonban, hogy *van-e olyan génvariáns, amelynek hordozóinak sokkal kisebb vagy nagyobb az esélyük arra, hogy egészségesen éri meg hatvanadik vagy hetvenedik születésnapjukat*, még megválaszolásra vár. Jelen dolgozatban azokat a másfél évtizedes kutatómunka során nyert eredményeinket szeretnénk bemutatni, amelyek erre a kérdésre kínálnak választ. Megtaláltunk egy, a 6. kromoszóma rövid karján kódolt gént, amelynek egyik variánsának hordozói az egészséges hatvanévesnél idősebb populációban háromszor ritkábban

fordulnak elő, mint a negyvenöt éven aluli felnőtt kontrollokban, tehát e génvariáns hordozóinak lényegesen kisebb az esélyük arra, hogy egészségesen éljék túl középkorú éveiket, mint a nem hordozóknak. A továbbiakban ezeket a vizsgálatokat és az eredmények lehetséges magyarázatait írjuk le.

A C4 komplement fehérjét kódoló két gén (C4A és C4B) helye a 6. kromoszóma rövid karján, az ún. centrális MHC régióon belül.

A C4BQ0 génvariáns definíciója.

A 6. kromoszóma rövid karján találjuk az emberi genomnak az immunrendszer funkciója szempontjából talán legfontosabb részét, az ún. MHC-t (major histocompatibility complex). Az MHC-ben kódolt gének legnagyobb csoportjának, amelyeket emberben HLA-nak (human leukocyte antigen) nevezünk, a transzplantáció szempontjából van kiemelt jelentősége. Ha ugyanis egyik emberből másikba szövetet vagy szervet ültetnek át, akkor ezek között az antigének közötti egyezés mértéke határozza meg a transzplantáció sikerét. Minél nagyobb az egyezés, annál valószínűbb, hogy a recipiens szervezet nem löki magából ki a donorból származó szövetet.

Az MHC három nagy régióra tagozódik, az MHC II régióra (HLA II. osztály), az MHC III vagy centrális régióra és az MHC I régióra (HLA I. osztály). A transzplantáció előtti vizsgálatnál a HLA I és II osztály génei által kódolt génvariánsokat is meghatározzák, ma már legnagyobb részt molekuláris biológiai (DNS) technológiával. Az MHC II régió ezen kívül olyan géneket is tartalmaz, amelyek egyes variánsai a külső antigének (pl. mikroorganizmusok vagy oltóanyagok) elleni erős vagy gyenge immunválasszal kapcsolatosak.

Az MHC centrális régió az I és II régióval ellentétben mai tudásunk szerint nem lényeges a transzplantáció szempontjából. E régióban elsősorban olyan fehérjék vannak

kódolva, amelyek a szervezet gyulladásoz válaszában játszanak szerepet. Ilyenek az immunrendszer sejtjei által termelt ún. citokinek és a szervezet egyik legősibb védekezőrendszerének, a komplementrendszernek a fehérjei. (A komplementrendszer a vérplazmában található fehérjékből áll, amelyek egymást meghatározott sorrendben, általában enzimatikus reakciók [fehérjehasítás] révén aktiválják. A komplementrendszer veleszületett vagy szerzett zavarai elsősorban a szervezet bakteriális fertőzések elleni védekezőképességét rontják le. A vérplazmában húszt különböző, a komplementrendszerhez tartozó fehérjét különböztetünk meg. Ezek egyike a C4, a komplementrendszer negyedik komponense. A C4 speciális tulajdonsága, hogy két gén kódolja, amelyeket C4A-nak és C4B-nek nevezünk. A két gén által kódolt C4 fehérje legtöbb tulajdonságában azonos, de lényeges különbségek is vannak közöttük, bár csak négy aminosavban térnek el egymástól (Chung et al., 2002).

A C4A és a C4B gének a centrális MHC régióban található ún. RCCX modulban vannak kódolva

Azért nevezzük az emberi genomnak ezt a rövid szakaszt modulnak, mert a szakasz különböző számban (leggyakrabban 2, nem ritkán 1 vagy 3, igen ritkán 4) fordulhat elő, és a modulok (akárhány példányban is vannak jelen) a C4 géneken kívül még három egyéb és egészen különböző funkciójú fehérjét kódoló gént is tartalmaznak. Ide tartoznak a szervezet szteroid anyagcseréjében, a stressz elleni adaptációs válaszban kulcsszerepet játszó 21-hydroxiláz génei. E génnek a C4-hez hasonlóan szintén van A és B változatuk, de csak a B változat kódol fehérjét, az A nem, ez ún. pszeudogén (álgén). Az RCCX modul másik két génje a tenascin és az RP, ezek a sejtanyagcserében játszanak szerepet.

A moduláris szerkezetnek megfelelően a C4 gének száma és ezen belül a C4A és C4B gének száma változhat. Ha monomoduláris

a szerkezet, akkor egyetlen C4 gén van jelen, amely C4A vagy C4B lehet. Bimoduláris RCCX két C4 génnel jár, leggyakoribb, hogy ezek egyike C4A, a másik C4B, de lehet mindkettő C4A vagy C4B is. Végül, a trimoduláris RCCX-ben két C4A és egy C4B, vagy két C4B és egy C4A gén lehet jelen (három egyforma gént eddig még nem találtak). (Chung et al., 2002)

Mint már említettük, munkacsoportunk megfigyelései az ún. C4B*Q0 génvariánsra vonatkoznak. Ez a variáns mai tudásunk szerint azt jelenti, hogy az illető egyén genomjában több C4A, mint C4B gén van jelen. Számoljuk ki most együtt (1. táblázat), hogyan jöhet ez létre, nem felejtve, hogy génjeink párban fordulnak elő, melyek egyikét anyánktól, a másikat viszont apánktól örököltük.

Mivel ezek egymástól függetlenek, az RCCX modulok száma a két DNS-szálon nagyon különböző lehet. Elméletileg, mint ezt a táblázat mutatja, huszonnégyféle variáció fordulhat elő. Ezek közül a vastag betűvel szedett kilencféle variáció felelhet meg a C4BQ0 génvariánsnak, amelyek közül hatfelét meg is találtunk az általunk vizsgált minták között. Mivel a génszám-meghatározás nagyon bonyolult, és megbízható módszert (Blanchong, 2000) csak 2000-ben dolgozott ki e cikk szerzői egyikének (Chack Yung Yu) munkacsoportja, a kutatók többsége még ma is az ún. fenotípezálást használja. Ekkor a vizsgálandó enzimekkel előkezelt plazma-mintát elektromos térben megfuttatjuk, és előhívjuk C4 ellenes antitesttel. Csíkokat lá-

| Modulszám apai/anyai vagy anyai/apai | C4A génszám | C4B génszám | C4A génszám/C4B génszám arány | | |
|---|----------------|----------------|-------------------------------|--------------------|--------------------|
| | | | C4A=C4B (egyensúly) | C4A<C4B (C4AQ0) | C4B<C4A (C4BQ0) |
| 1/1 | 1 | 1 | + | - | - |
| 1/1 | 2 | 0 | - | - | ++ |
| 1/1 | 0 | 2 | - | ++ | - |
| 1/2 | 3 | 0 | - | - | ++ |
| 1/2 | 0 | 3 | - | ++ | - |
| 1/2 | 2 | 1 | - | - | + |
| 1/2 | 1 | 2 | - | + | - |
| 1/3 | 3 | 1 | - | - | + |
| 1/3 | 1 | 3 | - | + | - |
| 1/3 | 2 | 2 | + | - | - |
| 2/2 | 4 | 0 | - | - | ++ |
| 2/2 | 0 | 4 | - | ++ | - |
| 2/2 | 3 | 1 | - | - | + |
| 2/2 | 1 | 3 | - | + | - |
| 2/2 | 2 | 2 | + | - | - |
| 2/3 | 4 | 1 | - | - | + |
| 2/3 | 1 | 4 | - | + | - |
| 2/3 | 3 | 2 | - | - | + |
| 2/3 | 2 | 3 | - | + | - |
| 3/3 | 4 | 2 | - | - | + |
| 3/3 | 2 | 4 | - | + | - |
| 3/3 | 3 | 3 | + | - | - |

1. táblázat • A C4A és C4B gének lehetséges száma az emberi genomon belül

tunk két (C4A és C4B) régióban, és szemmel vagy géppel összehasonlítjuk a két régióban elhelyezkedő csíkok vastagságát. Ha nincs a C4 régióban csík, de a C4A régióban van, akkor ez a homozigóta C4BQ0-nak felel meg. Ha viszont mindkét régióban látunk csíkot, de a C4A régióban található vastagabb, mint a C4B régióban lévő, akkor heterozigóta C4BQ0-ról beszélünk. Így végeztük mi is valamennyi e cikkben szereplő vizsgálatot. Tudjuk azonban, hogy éppen a C4BQ0 esetében a fenotipizálás nagyon megbízható: hetvenhét olyan minta esetében, amelyet a fenotipizálás alapján C4BQ0-nak minősítettünk, a párhuzamosan végzett genotipizálás során kettő kivételével mindegyikben azt találtuk, hogy a C4A gének száma nagyobb, mint a C4B géneké. 2005-ben kidolgoztunk két olyan módszert, amelyekkel a C4A és a C4B gének száma sok mintán is aránylag gyorsan és megbízhatóan meghatározható.

*Az alapmegfigyelés (1990): a C4B*Q0 allél hordozói sokkal kisebb gyakorisággal találhatók meg az egészséges öregek, mint az egészséges fiatalok között.*

Munkacsoportunk, amely ekkor még csak hazai kutatókból és klinikusokból állt, másfél évtizede vezette be a C4 fenotipizálási eljárást. A módszert Kramer Judit Georges Hauptmann strasbourg-i laboratóriumában sajátította el. Mivel ekkor már igen sok adat támasztotta alá, hogy a komplementrendszer nagy szerepet játszik a különböző kóros folyamatokban, lényegesnek látszott a C4 gének különböző változatai és az egyes betegségek közötti kapcsolat tanulmányozása. Ekkor határoztuk el, hogy összehasonlítjuk a C4 génvariánsok előfordulási gyakoriságát az egészséges, különböző korú férfiak és nők körében. Számunkra is váratlan volt az a különbség, amelyet az egészséges fiatal és idős egyének között találtunk. Előzetes eredményeinket 1989-ben, a végleges, 252 fiatal (18-45 éves) és közel 500 idős (>60 éves) egyénben kapott

eredményeket 1991-ben közöltük (Kramer, 1991), mindkettőt nemzetközi folyóiratban. Azóta elvégeztük a 45-60 év közötti egészséges egyének C4 fenotipizálását is. Lényeges életkori különbséget csak a C4B génben, és ennek is csak a C4BQ0 variánsának esetében találtunk. E génvariáns gyakorisága a fiatal csoportban mért 16 %-ról az egészséges hatvan éven felüliekben 5,4%-ra csökkent. A középkorúakban köztes értéket találtunk. A fiatal korcsoportban talált 16%-os gyakoriság megfelel azoknak az értékeknek, amelyet más, a kaukázusi népcsoportba tartozó populációkban mértek. (Egészséges idős egyénekben addig még senki sem határozta meg a C4 génvariánsok gyakoriságát.) Hangsúlyozni kell, hogy a vizsgálatban szereplő idős egyének is egészségesek voltak, kiválasztásuk amelyet a jelenleg Kanadában dolgozó Fülöp Tamás végzett – a szigorú SENIEUR Protocol szerint történt. Ennek a protokollnak a követelményeit csak a valóban egészséges idősök tudják teljesíteni.

Még érdekesebb eredményeket kaptunk, amikor a férfiakat és a nőket külön-külön értékeltük. A férfiak esetében igen nagyfokú volt a C4BQ0 variáns gyakoriságának életkori csökkenése: a 45 éven aluliakban talált 17,6 %-ról 3,4 %-ra, tehát egyötödére csökkent a C4BQ0 variáns hordozóinak aránya, míg a nők esetében sokkal kisebb volt a különbség.

*Az első magyarázat (1991): a C4B*Q0 génvariáns hordozói kislelektálódhatnak az egészséges idős egyének csoportjából, mert hajlamosabbak a középkorúakat megtizedelő megbetegedésekre*

Azt a tényt, hogy a C4BQ0 génvariáns hordozóinak arányszáma drámaian csökkent az egészséges idős emberek csoportjában, csak úgy lehet magyarázni, hogy a hordozók fokozatosan kislelektálódhatnak az egészséges népességből. Ez vagy azért következik be, mert meg sem élnek hatvanadik születésnapjukat, vagy ha életben vannak is, már nem

egészségesek, nem elégitik ki a SENIEUR Protocol szigorú kritériumait, és így nem kerülhetnek be az egészséges idősök csoportjába. A szelektáló tényező tehát egy vagy több betegség lehet. Olyan betegség vagy betegségek, amelyek jelentős mértékben felelőssé tehetőek a középkorú egyének korai halálzásáért, amelyek gyakrabban fordulnak elő férfiakban, mint nőkben, és amelynek túlélői sem tekinthetők tovább egészségesnek. Legjobban a középkorúak halálzásában igen jelentős szerepet játszó miokardiális infarktus felel meg a hámas követelménynek, mivel férfiakban gyakoribb, mint nőkben, és egy olyan egyént, akinek már volt miokardiális infarktusa (bár teljes életet élhet), nem tekintjük többé a fenti szigorú kritériumok szerint egészségesnek.

Tehát feltételezésünk szerint a C4BQ0 génvariáns hordozóinak sokkal nagyobb az esélyük arra, hogy miokardiális infarktust kapjanak, mint a nem hordozóknak. Ha ez a feltételezés igaz, akkor azonos korú és nemű egészséges egyének és miokardiális infarktusban szenvedők összehasonlításakor nagyobb százalékból kell találnunk C4BQ0 génvariáns-hordozókat a betegek, mint a kontrollok között. A következő, tizenkét éve a *British Medical Journal* folyóiratban közölt vizsgálatunkban (Kramer et al., 1994) ezt a feltételezést ellenőriztük.

Az első hazai megerősítő vizsgálat (1993): a C4BQ0 génvariáns hordozói halmozottan fordulnak elő miokardiális infarktusos betegekben, a hordozók halálzásási aránya is sokkal magasabb, mint a nem hordozóké

Összehasonlítottuk a C4BQ0 génvariáns hordozóinak gyakoriságát hatvanhárom olyan, 61-80 éves férfi betegben, akiket miokardiális infarktus miatt kórházi kezelésre vettek fel, és akiknél a kórházban ezt a diagnózist meg is erősítették. Kontrollként 133 azonos korú (61-80 éves) egészséges férfi szolgált. A betegek közül huszonnégy (38%), míg az egész-

séges kontrollok közül csak tíz (8%) bizonyult C4BQ0 hordozónak. A különbség igen erősen szignifikáns ($p < 0,0001$) volt.

Ezután megvizsgáltuk, hogy a C4BQ0 hordozás befolyásolja-e a betegek rövid távú (a kórházban töltött idő alatt bekövetkező) halálzását (Kramer et al., 1994). Drámai különbségeket észleltünk az egyes csoportok között. Hat beteg örökölte mindkét szülőjétől a C4BQ0 génvariáns, közülük három meghalt. Nyolc beteg (21%) halt meg azon harmincnegyzet beteg közül, akik a génvariáns egy kópiáját hordozták, míg a C4BQ0-t nem hordozó 137 beteg közül csak tizenhét (12%) exitált. A különbség ismét szignifikáns ($p = 0,025$) volt. Ezek az eredmények tehát azt mutatták, hogy a C4BQ0 génvariáns hordozó egyének nemcsak hajlamosabbak arra, hogy miokardiális infarktust kapjanak, de ha megbetegednek, rövid távú halálzásuk is lényegesen nagyobb, mint a nem hordozóké.

*A második és a harmadik megerősítő hazai vizsgálat (2000–2002): a C4B*Q0 allél hordozói halmozottan fordulnak elő szélütéses (stroke-os) és súlyos koszorúér betegségben szenvedő betegek között is*

Az első, 2000-ben közölt vizsgálatunk során, amelyet dr. Harcos Péterrel (Szt. Imre Kórház Neurológiai Osztály) közösen végeztünk, összehasonlítottuk a C4BQ0 génvariáns gyakoriságát 191, 60 évnél idősebb stroke-os betegben és 470, hatvan éven felüli egészséges kontroll egyénben (Kramer et al., 2000). A betegek 11,3%-a, míg a kontrolloknak csak 5,4%-a hordozta a C4BQ0 génvariáns, a különbség a két csoport között extrém módon ($p = 0,0003$) szignifikáns volt.

Egy másik vizsgálatunkban (Szalai et al., 2002) 318, $57,6 \pm 6,2$ éves, súlyos koronária-betegségben szenvedő, *by-pass* műtéten átesett betegben és 248 azonos korú ($57,2 \pm 5,8$ éves) egészséges kontrollban határoztuk meg a génvariáns előfordulási gyakoriságát.

Hetvenhat (24 %) betegben, de csak negyvenhat (19 %) kontrollban találtuk meg a C4B*Q0 génvariáns (p=0,02). Az aránylag kicsi különbség abból adódik, hogy mind a betegek, mind a kontrollok az előző két vizsgálatban szereplőkhöz képest lényegesen fiatalabbak voltak, és ebben a korcsoportban, mint láttuk, még csak kisebb mértékben ment végbe a génvariáns hordozóinak kiszelektálódása.

*Megerősítő vizsgálat Izlandon (2003):
a C4B*Q0 allél hordozói kiszelektálódnak
az egészséges izlandi egyének közül is*

1994-ben zajlott le Francia-Svájcban egy komplement konferencia, ahol először találkozott a magyar munkacsoport két tagja, Füst György és Kramer Judit egy izlandi kollégával, Guðmundur Jóhann Arasonnal. Megállapodtunk abban, hogy megvizsgáljuk: az addig publikált eredmények vajon csak Magyarországon érvényesek-e, vagy a nálunk sokkal gazdagabb Izlandon is, amelynek lakói lényegesen tovább élnek, mint a magyarok. Ezt az elhatározást hosszú szervezőmunka, majd a közös vizsgálatok kiértékelése követte. Eddig egy publikált eredmény születtet a vizsgálatokból (Arason et al., 2003). Ebben az egészséges izlandi populáció különböző korcsoportjaiban végzett komplement genetikai vizsgálatokról számoltunk be. Az eredmények arra mutattak, hogy a magyar populációhoz hasonlóan, Izlandon is jelentősen csökken az egészséges idősök között a C4BQ0 génvariáns hordozóinak az arányszáma. 87/365 (23,8 %) 17-54 éves, de csak 3/55 (5,5 %) 55-74 éves egészséges izlandi hordozta ezt a génvariáns. Az izlandi populációban azonban nem tudtuk reprodukálni azt a hazai megfigyelést, hogy a C4BQ0 hordozók életkorral párhuzamos kiszelektálódása lényegesen nagyobb mértékű a férfiak, mint a nők között. (Érdekes módon viszont – és ennek a továbbiak szempontjából lehet nagy jelentősége – Izlandon

igen, de Magyarországon nem, egy másik, a C4B gén közelében kódolt komplement fehérje, a B faktor génje Bf*F jelzésű variánsának hordozói is kiszelektálódtak az egészséges idős populációból.)

A további, eddig még nem publikált izlandi vizsgálatok (ezekről a 2004 októberében Budapesten tartott *1st International Conference on Basic and Clinical Immunogenomics* konferencián számoltak be) is teljes mértékben megerősítették az először a magyar populációban talált eredményeket. Az izlandi ötvenöt évnél idősebb koszorúsér betegekben is többszöröse volt a C4BQ0 génvariáns hordozóinak gyakorisága a hasonló korú egészséges emberekben talátnál. Amikor pedig az életük első miokardiális infarktusában megbetegedett embereket vizsgáltuk, azt találtuk, hogy a C4BQ0 génvariáns hordozóinak több mint tízszer nagyobb az esélyük arra, hogy az infarktus kezdete utáni fél éven belül meghaljanak, mint a nem hordozóké. Érdekes módon azonban Izlandon ezek a különbségek csak a dohányzó egyének esetében voltak kimutathatók, sőt egy legújabb, közlés alatt álló vizsgálatunkban az aránylag fiatal, zömmel ötven és hatvan év közötti egészséges egyének esetében a dohányzók és nem dohányzók közötti különbséget a C4B*Q0 hordozók gyakoriságában Magyarországon is ki tudtuk mutatni.

*A C4B*Q0 allél és a korai szív-érrendszeri megbetegedési és halálzási esély közötti kapcsolat lehetséges magyarázatai (2005). A komplement szerepe az érelmeszesedésben. A szomszéd gén, a 21-hidroxláz és rossz funkciójának súlyos következményei*

Így tehát két erőteljesen különböző életszínvonalú országban, két teljesen más eredetű kaukázusi populációban is egybehangzó eredményeket kaptunk, amelyek szerint a C4BQ0 génvariáns hordozása jelentősen csökkenti annak az esélyét, hogy valaki megélje,

illetve egészségesen élje meg idős korát. Így kissé bombasztikusan a C4BQ0 akár „halál génvariánsnak” (© Palugyai István), vagy a rövid élet titkának is nevezhető. A nagy és minden további kutatás szempontjából döntő jelentőségű kérdés az, hogy hogyan lehet ezt megmagyarázni.

Három, egymást ki nem záró hipotézis vethető fel magyarázatként:

1. Több vizsgálat is alátámasztja, hogy a C4BQ0 génvariáns hordozóiban nem működik olyan jól a komplementrendszer, mint azokban, akik ugyanannyi C4A, mint C4B gént hordoznak. Ezeket a vizsgálatokat azonban nem mindig sikerült megerősíteni, és az észlelt különbségek inkább kismértékűek voltak. A másik probléma az, hogy csaknem minden adat, amely a komplementrendszer és a miokardiális infarktus vagy a szélütés közötti kapcsolatra vonatkozik, arra mutat, hogy a komplement aktiválódása elősegíti, és nem gátolja ezeknek a betegségeknek a keletkezését és súlyosbodását. Németországi kutatók legújabb eredményeinek fényében (Bhakdi, 2003), amelyek szerint bizonyos körülmények között a komplementrendszer védő hatása is lehet az érrelmeszesedésen alapuló érbetegségek kifejlődésével szemben, ezt a lehetőséget sem vethetjük el teljesen.
2. Elvileg az is elképzelhető, hogy a C4BQ0 egy ún. kiterjesztett haplotípus (Dawkins et al., 1999) része. Ez az MHC régióra jellemző vonás, lényege az, hogy a régióba eső DNS aránylag hosszú szakaszon „befagyott”, azaz az ebbe a régióba eső gének variánsai (alléljai) igen gyakran együtt öröklődnek. Ezeket a speciális allélkombinációkat nevezzük kiterjesztett haplotípusoknak. Nevezhetjük – és nevezik is – őket ősi kiterjesztett haplotípusnak is, mivel kialakulásuk az emberi fajjal egyidős, és

azóta változatlanok. Ha a C4BQ0 egy ilyen ősi kiterjesztett haplotípus része, akkor lehetséges, hogy nem is maga a génvariáns, hanem egy vele együtt öröklődő, esetleg tőle távol lévő gén allélja lenne az észlelt jelenségekért felelős. Az egyetlen probléma az, hogy ismert: a C4B*Q0 nem egyetlen, hanem legalább hatféle ősi kiterjesztett haplotípus része lehet, de ezek egyikének sem olyan nagy a gyakorisága, hogy ez a C4B*Q0 hordozók nagy részét érintő, fent leírt összefüggéseket magyarázhatná.

3. Végül van még egy magyarázat, amely a legvalószínűbbnek látszik, noha ismételt hangsúlyozni szeretnénk, hogy a többi, eddig felsorolt magyarázat sem vethető el teljesen. Az RCCX modulon belül a C4B-vel szomszédos gén, a 21-hidroxiáz enzimet kódolja. Feltételezhető, hogy azokban az egyénekben, akik a C4B*Q0 genotípust hordozzák, a 21-hidroxiáz génben aránylag sok mutáció fordul elő. (Az e hipotézis bizonyítására irányuló vizsgálataink 2006 első félévében fejeződnek be). Ha legalább két ilyen mutációt örököl valaki a szüleitől, az súlyos, sokszor az életet veszélyeztetett betegséggel (a mellékvese veleszületett alulműködése) jár együtt. Az biztos, hogy az egyetlen mutáció hordozása, azaz az ún. heterozigóta állapot nem jár együtt az enzimműködés olyan durva zavarával, amely már betegséget okoz. Azonban azt még senki sem tanulmányozta, hogy ez az állapot kisebb mértékű, esetleg csak az élet kritikus szakaszaiban manifestálódó zavarokat nem idéz-e elő. Ha ez igaz lenne, akkor eredményeinket sokkal könnyebb lenne megmagyarázni. Ismert ugyanis, hogy a 21-hidroxiáz enzim a szteroid anyagcsere kulcsenzimje. Ha nem működik megfelelően, akkor a kritikus egészségi állapotokban lévő betegekben nem következik be az egyes

szteroid mellékvesekéreg-hormonok szintjének emelkedésében is megnyilvánuló adaptív válasz, amely e kritikus helyzet megoldásához szükséges. Ha az adaptációs válasz nem zajlik le megfelelő mértékben, akkor annak az esélye, hogy a beteg meghal, sokszorosára nő.

Tisztában vagyunk azzal, hogy ez csak hipotézis, amelyet bizonyítani kell. A nemzetközi munkacsoport munkájának jelentős részét a következő években a bizonyításra irányuló munka teszi majd ki.

A nemzetközi kutatócsoport tervei (2005-2008)

1. Újabb minták gyűjtése és vizsgálata, az eddigi eredmények modernebb módszerrel történő megerősítése céljából. A) Idős (60-80 éves), egészséges, ismert dohányzási szokású egyénektől történik mintavétel családorvosok közreműködésével. A kitűzött cél: 250-300 egyéntől mintavétel és rövid kérdőív. B) Csontvelő-transzplantációra váró betegek családjától történő mintavétel, rövid, de részletes, a dohányzásra vonatkozó kérdőív és néhány alapvető egészségügyi adat felvételével, családfe. Minden vizsgált egyén esetében megtörténik az MHC I és II régiójának tipizálása is. Kitűzött cél: 100-150 családból 250-350 minta.
2. Kb. száz medikus-önkéntes behívása (etikai engedély megszerzése után). Vérvé-

tel, családi anamnézis, egyszerű orvosi vizsgálat (hipertónia, testtömeg index, cukorbetegség, dohányzási szokások) rögzítése. Második lépésben a várható 12-15 C4BQ0 génvariáns hordozó és kétszer annyi nem hordozó önkéntes ismételt behívása, és náluk az ACTH teszt elvégzése. Az ACTH hormon beadása után a normális szteroid anyagcseréjű emberekben a vérben mérhető kortizonszint megemelkedik. Ha munkahipotézisünk igaz, akkor a C4BQ0 hordozókban a kortizonszint-növekedés elmarad, vagy nagyon kismértékű lesz.

3. Kórházi felvételre kerülő, szepszises betegektől DNS-vizsgálatra vérvétel történik, a betegeket nyomon követik, és vizsgáljuk a C4BQ0 génvariáns és a halálozás közötti viszonyt. Legalább 150-200 beteg vizsgálata szükséges, a minták összegyűjtése már megtörtént.

Tervezünk még bonyolult molekuláris biológiai vizsgálatokat is, és a már bevezetett genetikai módszereink segítségével tanulmányozni szeretnénk a C4B gén tágabb környezeti is. Reményeink szerint azalámban szereplő időszak végére eredményeinket sokkal jobban leszünk képesek megmagyarázni.

Kulcsszavak: *genetika, öregedés, az öregedés genetikája, komplement, C4, C4BQ0, miokardiális infarktus, kardiovaszkuláris betegségek, Magyarország, Izland*

IRODALOM

- Arason, Guðmundur Jóhann – Böðvarsson, S. – Sigurðarson, S. T. – Sigurðsson, G. – Þorgeirsson, G. – Guðmundsson, S. – Kramer, J. – Füst G. (2003): An Age-associated Decrease in the Frequency of C4B*Q0 Indicates That Null Alleles of Complement May Affect Health Or Survival. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1010, 496-499.
- Bhakdi, Sucharit (2003): An Hypothesis for the Immunopathogenesis of Atherosclerosis. *Clinical Nephrology*. 60 Supplement. 1, S49-52.
- Blanchong, Carol A. – Zhou, B. – Rupert, K. L. – Chung, E. K. – Jones, K. N. – Sotos, J. F. – Zipf, W. B. – Rennebohm, R. M. – Yung, Yu C. (2000): Deficiencies of Human Complement Component C4A and C4B and Heterozygosity in Length Variants of RP-C4-CYP21-TNX (RCCX) Modules in Caucasians. The Load of RCCX Genetic Diversity on Major Histocompatibility Complex-Associated Disease. *Journal of Experimental Medicine*. 191, 2183-2196.
- Chung, Erwin K. – Yang, Y. – Rupert, K. L. – Jones, K. N. – Rennebohm, R. M. – Blanchong, C. A. – Yu, C. Y. (2002): Determining the One, Two, Three, Or Four Long and Short Loci of Human Complement C4 in a Major Histocompatibility Complex Haplotype Encoding C4A Or C4B Proteins. *American Journal*

- of Human Genetics. 71, 810–822.
- Dawkins, Roger L. – Leelayuwat, C. – Gaudieri, S. – Tay, G. – Hui, J. – Cattley, S. – Martinez, P. – Kulski, J. (1999): Genomics of the Major Histocompatibility Complex: Haplotypes, Duplication, Retroviruses and Disease. *Immunological Reviews*. 167, 275–304.
- Herskind, Anne Maria – McGue, M. – Iachine, I. A. – Holm, N. – Sørensen, T. I. – Harvald, B. – Vaupel, J. W. (1996): Untangling Genetic Influences on Smoking, Body Mass Index and Longevity: A Multivariate Study of 2464 Danish Twins Followed for 28 Years. *Human Genetics*. 98, 467–475.
- Kramer Judit – Fülöp T. – Rajczy K. – Anh-Tuan, N. – Füst G. (1991): A Marked Drop in the Incidence of the Null Allele of B Gene of the Fourth Component of Complement (C4B*Q0) in Elderly Subjects: C4B*Q0 As a Probable Negative Selection Factor for Survival. *Human Genetics*. 86, 595–598.
- Kramer Judit – Rajczy K. – Hegyi L. – Fülöp T. – Mohácsi A. – Mezei Zs. – Keltai L. – Blaskó G. – Ferenczy E. – Anh-Tuan, N. – Füst G. (1994): C4B*Q0 Allotype As Risk Factor for Myocardial Infarction. *British Medical Journal*. 309, 313–314.
- Kramer Judit – Harcos P. – Prohászka Z. – Horváth L. – Karádi I. – Singh, M. – Császár A. – Romics L. – Füst G. (2000): Frequencies of Certain Complement Protein Alleles and Serum Levels of Anti-Heat-Shock Protein Antibodies in Cerebrovascular Diseases. *Stroke*. 31, 2648–2652.
- Rea, I. Maeve – McDowell, I. – McMaster, D. – Snyde, M. – Stout, R. – Evans, A. (2001): MONICA Group (Belfast). Monitoring of Cardiovascular Trends Study Group. Apolipoprotein E Alleles in Nonagenarian Subjects in the Belfast Elderly Longitudinal Free-Living Ageing Study (BELFAST). *Mechanisms of Ageing and Development*. 122, 1367–1372.
- Reed, Teny – Camelli, D. – Robinson, T. S. – Rinehart, S. A. – Williams, C. J. (2003): More Favorable Midlife Cardiovascular Risk Factor Levels in Male Twins and Mortality after 25 Years of Follow-Up Is Related to Longevity of Their Parents. *The Journals of Gerontology. Series A. Biological Sciences and Medical Sciences*. 58, 367–371.
- Skytthe, Axel – Pedersen, N. L. – Kaprio, J. – Stazi, M. A. – Hjelmborg, J. V. – Iachine, I. – Vaupel, J. W. – Christensen, K. (2003). Longevity Studies in Genomewin. *Twin Research*. 6, 448–454.
- Szalai Csaba – Füst G. – Duba J. – Kramer J. – Romics L. – Prohászka Z. – Császár A. (2002): Association of Polymorphisms and Allelic Combinations in the Tumour Necrosis Factor-Alpha-Complement MHC Region with Coronary Artery Disease. *Journal of Medical Genetics*. 39, 4651.

