

Genetické metody asociační analýzy

Genetické asociační studie zkoumají vztah genetických markerů (jednoho či více) ke vzniku a průběhu onemocnění včetně nemocí způsobených vnějšími patogeny. V genetice slouží asociační studie především k odhalování genetické predispozice k multifaktoriálním onemocněním, tedy genů (genotypů složených z různých alel daných genů), které zvyšují nebo snižují riziko onemocnění.

Takové genotypy poznáme relativně snadno – vyskytují se významně častěji nebo naopak významně méně často ve skupině nemocných (případů) v porovnání se skupinou zdravých (ve smyslu netrpících danou nemocí) kontrol.

Existují dvě hlavní provedení asociační studie a to studie typu případ-kontrola a asociační studie SNPs.

STUDIE PŘÍPADŮ A KONTROL (CASE-CONTROL, RETROSPEKTIVNÍ)

V klasické variantě sledujeme ve skupinách případů a kontrol výskyt různých genotypů předem vybraného kandidátního genu. Pokud předem vybraný kandidátní gen neznáme nebo si ho ani neumíme představit, můžeme provést celogenomovou asociační studii. V tomto případě stanovíme genotyp pro velké množství polymorfních lokusů na všech chromosomech zároveň u obou skupin lidí (nejčastěji pomocí DNA mikročipů), které umí stanovit až přibližně 1,8 miliónu genotypů u každého jedince.

U studie případů a kontrol je porovnávána prevalence rizikového faktoru (expozice). Postupujeme od následku k příčině, přičemž hledáme odpověď na otázku, zda sledovaná nemoc byla vyvolána suspektním faktorem. Např. vztah kouření a karcinomu plic – zde vybíráme z jednoznačně definované populace (např. pacienti jednoho zdravotnického zařízení – primárně osoby nemocné s ca plic – sledovaný soubor) a osoby bez karcinomu plic (kontrolní soubor).

Výhody

- relativně rychlé, levné, možnost rychlého opakování
- vhodné pro studium vzácných onemocnění
- vhodné pro chronická onemocnění a pro nemoci s dlouhou latencí
- možnost sledování i více rizikových faktorů u jedné nemoci

Nevýhody

- nutnost spoléhat se na lidskou paměť – tj. problematické retrospektivní hodnocení expozice suspektnímu faktoru
- vysoké riziko selekčního bias (systematické chyby výběru) – nutná je jednoznačná definice zdrojové populace, jak sledovaného tak kontrolního souboru

STUDIE KOHORTOVÉ

- Je zde porovnávána incidence nemoci (následek). Postupujeme zde od příčiny k následku, přičemž hledáme odpověď na otázku, zda expozice suspektnímu faktoru (příčina) vyvolává nemoc. Např. Zjišťování vztahu kouření a karcinomu plic, kde studovaný soubor tvoří kuřáci (exponovaná skupina) a kontrolní soubor tvoří nekuřáci (neexponovaná skupina).

Výhody

- přesnost, spolehlivost
- objektivita – mohou posoudit i vícečetné následky jediné expozice

Nevýhody

- finanční a časová náročnost
- nejsou vhodné pro studium vzácných onemocnění

STUDIE SNPs (single nucleotide polymorfismus)

- Projekt lidského genomu měl za cíl popsat celou strukturu DNA. Jedním z velkých přínosů tohoto projektu bylo odhalení milionů variant DNA úseků, z nichž většina byla tvořena SNPs. Spojením několika farmaceutických firem, technologických firem a akademických středisek vzniklo mezinárodní SNP consortium, které se zaměřilo na sestavování podrobných SNP map lidského genomu a své výsledky publikuje na veřejných místech. Díky tomuto kroku mohou být jednotlivé SNP využity nezávislými laboratořemi k dalšímu výzkumu a nemusí se řešit otázky patentů. Stanovení tisíce vzorků DNA různých pacientů použitých v typických studiích za použití rychlých sekvenovacích zařízení musí být dobře reprodukovatelné a jeho cena by měla být co nejnižší.

Poté se genotypy (SNPs) jednotlivých pacientů porovnávají s jejich fenotypem (klinické projevy) pomocí náročných statistických softwarů. Asociační studie zaměřené na výzkum SNPs se dělí na dva typy:

1. přímé testování funkčních projevů SNP k dané chorobě
2. používání SNP jako markeru pro nerovnováhu (LD - linkage disequilibrium)

LD je obecně definováno měřením asociace mezi dvěma genetickými markery, díky čemuž pak mohou sloužit k identifikaci oblastí souvisejících s nemocí.

Princip této metody je stejný jako při určování genů zodpovědných za nemoc v rodině hledáním spojovací linie nemoci u předků (linkage analysis). Bohužel je při rodinných studiích k dispozici příliš málo generací (respektive jejich genom) a tak se projevy onemocnění hledají v rodokmenech. V lidském genomu je přibližně 300 vysoce specifických opakujících se markerů, které přímo označují gen odpovědný za monogenní onemocnění. Naopak LD v populaci označují místa, kde pod tíhou rekombinace došlo k vyřazení genetických markerů.

LD navíc podávají informaci o výskytu nových mutací či genetického driftu. Otázka množství markerů, které jsou zapotřebí k popisu LD na genomu k identifikaci genů asociovaných s daným onemocněním je velmi nejasná. Pokud bychom měli dostatečně podrobný popis struktury lidského genomu (pomocí sekvenování), mohli bychom snížit počet markerů potřebných k označení LD na genomu a soustředili bychom se jen na místa bohatá na geny.

Úplná znalost stupně a vzorce kolísání rekombinací v genomu by nám umožnila rozmístění markerů v rozumné formě a pravděpodobně o snížení počtu markerů potřebných k určení LD. Jednoduchým porovnáním různých úseků DNA s tělesným stavem odhalíme velké množství variant vztahů genetické predispozice a jejího odrazu v tělesné schránce.