
Genombaserad kardiovaskulär prevention

MARKUS PEROLA

Med komplexa sjukdomar och egenskaper förstår man inom genetiken tillstånd på vilkas uppkomst både generna och omgivningen (till exempel diet och levnadsvanor) inverkar tillsammans och var för sig. Hjärt-kärlsjukdomarna är ett bra exempel på sådana tillstånd. Det är rätt välkänt att uppkomsten av hjärt-kärlsjukdomar till en betydande del är genetiskt betingad. Svar på frågor om den närmaste släkten hör till grundinformationen, jämsides med rökning och lipidvärden, om läkaren misstänker att patienten lider av till exempel koronarsjukdom. Det är svårt att undersöka denna betydelsefulla sjukdomsgrupp genetiskt, men arbetet börjar redan ge resultat. En helt annan sak är sedan hur snabbt och hur ofta dessa vetenskapligt viktiga resultat finner sin väg till kliniken. Den information som Genom- och HapMap-projekten (1, 2) har gett har öppnat nya perspektiv på genomets komplexitet – då man talar om genetiska polymorfismer måste man nu för tiden beakta också genomets mera omfattande variabilitet, vars samband med kardiovaskulära sjukdomar fortfarande till största delen är höljt i dunkel (3).

Det har förts en livlig diskussion mellan företrädare för hypoteserna "allmän sjukdom – allmänna varianter" (common disease – common variants) och "sällsynt sjukdom – sällsynta varianter" (rare disease – rare variants) (4, 5). Enligt allmän sjukdom-hypotesen ökar risken för vanliga sjukdomar av sådana i populationen allmänt (~ > 1–5 procent) förekommande genvarianter, som inverkar bara litet på sjukdomsriskerna. Sällsynt variant-hypotesen å sin sida hävdar, som namnet säger, att den genetiska verkan orsakas av sällsynta, rent av familjespecifika, genvarianter som har stor effekt på individen men liten betydelse på populationsnivå eftersom de är så sällsynta. Bland de kardiovaskulära sjukdomarna finns praktiska exempel som stöder båda hypoteserna, och det är sannolikt att de komplexa sjukdomarnas pussel byggs upp av bitar av båda slagen. Ett bra exempel på en allmän

variant inom hjärt-kärlsjukdomarna är den redan länge kända varianten E2-E3-E4 av apolipoprotein E-genen som definieras av två SNP (single nucleotide polymorphism, d.v.s. förändring i en nukleotid). Den (främst allelen E4) ökar risken för kardiovaskulära händelser i ett förhållande som i flera stora metaanalyser visat sig ligga bara något över ett (6); varianten är ändå mycket vanlig speciellt i populationer av nordeuropeiskt ursprung (7). Också en allmän mutation i genen HFE, som ökar risken för hemokromatos och därigenom för många former av kardiovaskulär sjukdom, är mycket svårtolkad redan när det gäller dess förmåga att orsaka primärsjukdomen (hemokromatos) (8). Familjär kombinerad hyperlipidemi är ett syndrom som ursprungligen karaktäriserades bland annat på Folkhälsoinstitutet (KTL) på 1970-talet (9); syndromet omfattar olika familjevis förekommande störningar i lipidmetabolismen (10). Ett aktivt samarbete mellan KTL och olika finländska universitetskliniker ledde för några år sedan till att man hittade den gen som predisponerar för sjukdomen (11, 12). En vanlig variant av genen USF1 (Upstream transcription factor 1) tycks påverka risken för hjärt-kärlsjukdom på populationsnivå, speciellt hos kvinnor (13). Sällsynta varianter som predisponerar för kardiovaskulära sjukdomar är till exempel flera

FÖRFATTAREN

Markus Perola är docent i kvantitativ genetik och fungerar som specialforskare vid Folkhälsoinstitutets molekylärmedicinska avdelning.

mutationer i LDL-receptorn, (bärrfrekvens hos finländare av klassen 1/500) (14) vilka ger upphov till familjär hyperkolesterolemi. Också den så kallade faktor V Leiden-mutationen (15) (bärrfrekvens hos finländare cirka 2/100) (16), som får till stånd resistens mot aktiverat protein C (APC-resistens) (17), som i sin tur predisponerar för venösa tromber (18), är ett exempel på en sällsynt variant med predisponerande verkan. Kliniskt används för närvarande bara analyser av dessa sällsynta genvarianter, medan den kliniska användningen av analyser av de mer allmänna varianterna med svagare verkan är liten eller obefintlig. När man berättar för en patient om en konstaterad ärftlig predisposition, är det viktigt att komma ihåg att också berätta vad det betyder för patientens närmaste släktingar (19).

Dessa exempel visar på ett problem med hypotesen vanlig sjukdom – vanlig variant: När en genvariant förekommer hos både friska och sjuka samtidigt som den har ett ringa prediktivt värde, är det redan i det första skedet svårt att tolka analysresultaten och ännu svårare att ta analysen i kliniskt bruk – detta trots att genvarianten har en betydande inverkan på morbiditeten på populationsnivå. Betydelsen av prevention på populationsnivå skulle ofta vara större om man kunde påverka de allmänna genvarianterna. När det å andra sidan gäller individen, kan en sällsynt variant vara så betydelsefull att mutationen ensam kan leda till en tillräcklig mekanism för att ett sjukdomstillstånd skall uppkomma. Den information som man får av allmänna genvarianter som ökar risken bara obetydligt är så svårtolkad att det ofta är tillräckligt att sälla och behandla traditionella riskfaktorer (20), och man får nöja sig med det. Detta beror speciellt på att riskeffekten av många redan identifierade allmänna genvarianter förmedlas just via en riskfaktor som predisponerar för en viss sjukdom, i fråga om de kardiovaskulära sjukdomarna genom att höja lipidnivåerna i serum. Det vore i alla fall viktigt att identifiera nya allmänna genvarianter som påverkar risken, snarare för att bättre förstå de kardiovaskulära sjukdomarnas patogenes och speciellt genetik, än för att åstadkomma prevention på individnivå. Identifieringen av generna för sjukdomar som orsakas av bara ett genfel och som simulerar komplexa sjukdomar, till exempel hypertoni och diabetes, har redan lärt oss mycket om dessa sjukdomars patogenes också på ett allmänt plan (exempel finns i översiktsartikeln 21).

Positivt eller negativt resultat?

Största delen av den genetiska forskningen i kardiovaskulära sjukdomar har bedrivits så att man först har fastställt genotypen för en polymorfism som av någon anledning är intressant, och sedan undersökt genotypfördelningen mellan sjuka och friska individer, vanligen med en fall-kontrollstudie. Det finns många variationer på denna uppställning – man kan till exempel undersöka kontinuerliga variabler mellan olika genotypklasser eller allelbärare, men grundkonstellationen och hypotesen är ofta i praktiken desamma. Denna typ av undersökning är mycket känslig för olika slags snedvridningar och ger lätt upphov till fel av både typ I och II. Man kan karikerat säga att det finns miljarder hypoteser, då antalet nukleotider i genomet är tre miljarder och man i allmänhet analyserar betydelsen av såväl genotypen som allelbärandet (i konfigurationerna 3 x 2 eller 2 x 2). Speciellt svårt är det att tolka vad ett så kallat negativt resultat betyder, det vill säga när man inte kan avvisa nollhypotesen. Finns det överhuvudtaget någon försöksuppställning med vilken man kan utesluta inverkan av en relevant kandidatgen? Det kan ju hända att genen verkar på olika sätt i olika genmiljöer, hos män och kvinnor, på olika befolkningsgrupper, då det är frågan om olika varianter – man kunde göra listan betydligt längre. Eftersom de laboratorieresurser som krävs för forskning på området kan vara mycket enkla och billiga, är tröskeln för att börja undersöka gener ofta beklagligt låg, och man ger sig in på området med bristfälliga molekylärgenetiska kunskaper. Även om många viktiga upptäckter har gjorts vid kandidatgenundersökningar (15, 22), är det klart att denna inriktning inom den genetiska epidemiologin belastas av en enorm positiv publikationsbias (23), och inställningen till att publicera associationsresultat inom kandidatgenforskningen har blivit mycket mer restriktiv (24, 25). Det faktum att man i epidemiologiska undersökningar analyserar genvarianter som riskfaktorer för en viss händelse, vid sidan av eller i stället för livsstils- eller miljöfaktorer, räddar inte en från början dålig undersökning. Den genetiska epidemiologin lider, något provokatoriskt sagt, av epidemiologer som försöker vara genetiker och genetiker som försöker vara epidemiologer, båda utan tillräcklig bakgrundsutbildning. Det finns dock många glädjande undantag.

Tabell I.**Exempel på gentest med kardiovaskulär anknytning som finns allmänt tillgängliga och är i kliniskt bruk.**

Gen	Polymorfism	Klinisk betydelse vid kardiovaskulära sjukdomar
Apolipoprotein E	Varianterna E2-E3-E4	Liten. Bärare av allelen E4 har en något ökad risk för koronarsjukdom, en del av bärarna av genotypen E2/E2 har s.k. resterande hyperlipidemi
Plasminogenaktivatorns inhibitorgen	Promotorns nukleotidvariant	Liten och oklar. Misstanke om trombosbenägenhet
HFE-genen	Två dominerande mutationer	Liten, i specialfall vid misstanke om hemokromatos
Koagulationsfaktor V-genen	Mutationen F V R506Q	Betydligt ökad risk för venös trombos, ca 2 % av finländarna är bärare
LDL-receptorgenen	De sju vanligaste mutationerna	Indikation: klinisk misstanke om familjär hyperkolesterolemi; i dessa fall är den en viktig undersökning

Pålitliga resultat som mål

Genomforskningsområdet inom hjärt-kärlsjukdoms-området har varit livlig, och den börjar också ge resultat trots svårigheterna. Man måste närma sig detta svåra område med många olika metoder och genom att molekylärgenetiskt undersöka flera olika egenskaper i samband med hjärt-kärlsjukdomarna. Ett multidisciplinärt team är en nödvändighet, det behövs bland annat molekylärbioologer, genetiker, bioinformatiker, epidemiologer, läkare och statistiker. Vidsträckt kartläggning av hela genomet i familjer med flera sjukdomsfall hjälper till att lokalisera kandidatgenernas kromosomområden. Att sedan hitta den egentliga genen är ett utmanande arbete, där man behöver flera olika metoder och material, ofta måste man till och med använda modellorganismer, såsom möss. Täta SNP-kartor som kartlägger hela genomet ger nya redskap och problem (26) för första skedet genkartläggning. Att reproducera resultaten i särskilda självständiga sampel kommer att vara en viktig metod för att resultaten skall bli trovärdiga (27). Stora befolkningsundersökningar är viktiga för bedömning av genvarianternas inverkan på folkhälsan, medan å andra sidan mindre och välundersökta patientgrupper hjälper till att klarlägga en predisponerande eller skyddande genvariants

verkan i detalj. Djurmodeller ger vägledning för att klarlägga en identifierad gens systemverkan, och de fungerar som experimentfält för olika terapiformer innan man gör prov på människor. Det behövs också en fördomsfri inställning till de undersökta sjukdomarna – ur genetikens synvinkel är de mätare som används inom kliniken inte nödvändigtvis de mest relevanta. Det viktigaste är att hitta en genvariant som har betydelse för sjukdomens patogenes, inte nödvändigtvis för de kliniska mätare man har vant sig vid att använda för att bedöma sjukdomsrisk. För att hitta genvarianten kan det vara nödvändigt att använda ett sampel vars genetiska komponent är så stor som möjligt när man primärt identifierar genen, man väljer till exempel patienter som lider av en svår sjukdomsform eller som har insjuknat som unga. Ibland kan det också vara nyttigt att som kontrollpersoner välja speciellt "friska" individer med avseende på den undersökta egenskapen, så att man får en så stor skillnad som möjligt mellan fallen och kontrollpersonerna (28). Stora randomiserade prospektiva populationsmaterial är å andra sidan viktiga då man klarlägger hur genvarianter som har identifierats på olika sätt inverkar på populationsnivå, och hur de kan användas vid olika former av prevention.

Framtidsutsikter

Trots att man har hittat flera viktiga genvarianter som påverkar risken för hjärt-kärlsjukdom, förklarar de bara en liten del av hjärt-kärlsjukdomarnas hereditet. De mutationer i LDL-receptorgen som orsakar familjär hyperlipidemi (FH) är mycket sällsynta, och betydelsen av de olika typer av apolipoprotein E (ApoE) som påverkar fettvärdena är liten i fråga om risken. Forskningsområdet besväras också av de motstridiga resultaten, som återspeglar sjukdomsgruppens variabilitet och svårigheterna med att undersöka den. I framtiden kommer nya noggrannare kartläggningar av hela genomet som baserar sig på kopplingsobalans, en mer omfattande undersökning av genomets variabilitet samt metoder som undersöker gen-gen- och genriskfaktor-interaktioner att tillföra forskningsområdet nya verktyg och utmaningar. Farmakogenomiken kommer att identifiera allt fler individer som svarar på olika sätt på läkemedelsbehandling (29). Även om forskningen kring komplexa tillstånd allt mer har gått in för att undersöka transkriptomet, och även om man betonar proteomik och andra forskningsområden med namn som slutar på -omik samt systembiologi, måste man komma ihåg att en sjukdom eller egenskap för att vara ärftlig måste vara förknippad med DNA-variation. Det kan därför bra hända att de verkligt betydelsefulla resultaten inom hjärt-kärlsjukdomarnas genetik på DNA-nivå kommer först när vår förståelse för genomets mångfasetterade funktion blir bättre. Inte heller denna forskning är möjlig utan försökspersonernas lovvärda frivilliga deltagande i undersökningarna, ett aktivt och öppet nationellt och internationellt samarbete samt att man hela tiden tar nya metoder i bruk. Kardiovaskulär prevention som grundar sig på geninformation är redan vardag när det gäller några gener, men det återstår att se vilken dess inverkan på praktiskt kliniskt arbete blir. De följande fem åren, då flera kartläggningar av hela genomet som baserar sig på kartor över kopplingsobalans blir färdiga, kommer att lära oss mycket och kan i bästa fall föra utvecklingen enormt mycket framåt. Klinikerns bästa verktyg inom den medicinska genetiken är dock fortfarande en bra (släkt)anamnes. Det lönar sig att satsa på primärpreventionen för människor som har en kraftig kardiovaskulär släktbelastning.

Docent Markus Perola
Folkhälsoinstitutet
Mannerheimvägen 166
00300 Helsingfors
markus.perola@ktl.fi

Referenser

1. HapMap Consortium. A haplotype map of the human genome. *Nature* 2005;437(7063):1299–320.
2. Collins FS, Green ED, Guttmacher AE, Guyer MS. A vision for the future of genomics research. *Nature* 2003;422(6934):835–47.
3. Waterland RA, Jirtle RL. Early nutrition, epigenetic changes at transposons and imprinted genes, and enhanced susceptibility to adult chronic diseases. *Nutrition* 2004;20(1):63–8.
4. Hirschhorn JN, Lohmueller K, Byrne E, Hirschhorn K. A comprehensive review of genetic association studies. *Genet Med* 2002;4(2):45–61.
5. Terwilliger JD, Haghghi F, Hiekkalinna TS, Goring HH. A biased assessment of the use of SNPs in human complex traits. *Curr Opin Genet Dev* 2002;12(6):726–734.
6. Song Y, Stampfer MJ, Liu S. Meta-analysis: apolipoprotein E genotypes and risk for coronary heart disease. *Ann Intern Med* 2004;141(2):137–47.
7. Gerdes LU, Klausen IC, Sihm I, Faergeman O. Apolipoprotein E polymorphism in a Danish population compared to findings in 45 other study populations around the world. *Genet Epidemiol* 1992;9(3):155–167.
8. Neff LM. Current directions in hemochromatosis research: towards an understanding of the role of iron overload and the HFE gene mutations in the development of clinical disease. *Nutr Rev* 2003;61(1):38–42.
9. Nikkila EA, Aro A. Family study of serum lipids and lipoproteins in coronary heart-disease. *Lancet* 1973;1(7810):954–959.
10. Porkka KV, Nuotio I, Pajukanta P, Ehnholm C, Suurinainen L, Syvanne M, et al. Phenotype expression in familial combined hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 1997;133(2):245–253.
11. Pajukanta P, Nuotio I, Terwilliger JD, Porkka KV, Ylitalo K, Pihlajamäki J, et al. Linkage of familial combined hyperlipidaemia to chromosome 1q21-q23. *Nature Genetics* 1998;18(4):369–373.
12. Pajukanta P, Lilja HE, Sinsheimer JS, Cantor RM, Lusa AJ, Gentile M, et al. Familial combined hyperlipidemia is associated with upstream transcription factor 1 (USF1). *Nat Genet* 2004;36(4):371–376.
13. Komulainen K, Alanne M, Auro K, Kilpikari R, Pajukanta P, Saarela J, et al. Risk alleles of USF1 gene predict cardiovascular disease of women in two prospective studies. *PLoS Genet* 2006;2(5):e69.
14. Vuorio AF, Aalto-Setälä K, Koivisto UM, Turtola H, Nissen H, Kovanen PT, et al. Familial hypercholesterolaemia in Finland: common, rare and mild mutations of the LDL receptor and their clinical consequences. Finnish FH-group. *Ann Med* 2001;33(6):410–421.
15. Bertina RM, Koeleman BP, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, de Ronde H, et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994;369(6475):64–67.
16. Kuismanen K, Savontaus ML, Kozlov A, Vuorio AF, Sajantila A. Coagulation factor V Leiden mutation in sudden fatal pulmonary embolism and in a general northern European population sample. *Forensic Sci Int* 1999;106(2):71–75.
17. Dahlback B, Carlsson M, Svensson PJ. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90(3):1004–8.

-
18. Hakala L, Vahtera E, Krusius T, Rasi V. [APC resistance and blood coagulation factor V mutation in Finnish thrombotic patients]. *Duodecim* 1995;111(22):2143–151.
 19. Salonen R. Perinnöllisyysneuvonta. I: Kunnamo I, red. Lääkäriin käsikirja 2006. Helsingfors: Kustannus OY Duodecim; 2006. p. 984–985.
 20. Humphries SE, Ridker PM, Talmud PJ. Genetic testing for cardiovascular disease susceptibility: a useful clinical management tool or possible misinformation? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24(4):628–636.
 21. Peltonen L, Perola M, Naukkarinen J, Palotie A. Lessons from studying monogenic disease for common disease. *Hum Mol Genet* 2006;15 Spec No 1:R67–74.
 22. Nordlie MA, Wold LE, Kloner RA. Genetic contributors toward increased risk for ischemic heart disease. *J Mol Cell Cardiol* 2005;39(4):667–679.
 23. Colhoun HM, McKeigue PM, Davey Smith G. Problems of reporting genetic associations with complex outcomes. *Lancet* 2003;361(9360):865–872.
 24. Editorial. Freely associating. *Nat Genet* 1999;22(1):1–2.
 25. Little J, Bradley L, Bray MS, Clyne M, Dorman J, Ellsworth DL, et al. Reporting, appraising, and integrating data on genotype prevalence and gene-disease associations. *Am J Epidemiol* 2002;156(4):300–310.
 26. Terwilliger JD, Hiekkalinna T. An utter refutation of the "Fundamental Theorem of the HapMap". *Eur J Hum Genet* 2006;14(4):426–437.
 27. Patterson M, Cardon L. Replication publication. *PLoS Biol* 2005;3(9):e327.
 28. Kainulainen K, Perola M, Terwilliger J, Kaprio J, Koskenvuo M, Syvanen AC, et al. Evidence for involvement of the type 1 angiotensin II receptor locus in essential hypertension. *Hypertension* 1999;33(3):844–849.
 29. Schmitz G, Langmann T. Pharmacogenomics of cholesterol-lowering therapy. *Vascul Pharmacol* 2006;44(2):75–89.

Härmed lediganslås

MEDIX-PRISSET 2007

som ställts till Helsingfors universitets förfogande

Priset utdelas för 20:e gången och prissumman är 20 000 euro

Priset beviljas årligen för utmärkt finländsk vetenskaplig forskning som publicerats såsom en artikel under föregående år (nu år 2006). Forskningen bör gälla biomedicinsk eller klinisk forskning, och den bör i sin helhet eller till väsentliga delar vara utförd i Finland. Priset jämte diplom utdelas hösten 2007 av universitetets rektor eller hans ställföreträdare. Datum och plats för prisutdelningen meddelas senare. Vid detta tillfälle bör pristagaren hålla ett föredrag om den prisbelönade artikelns innehåll och arbetets betydelse.

Förslagen bör senast den 1.5.07 nå ordföranden för sakkunnigkommittén, professor Carl G. Gahmberg, Biokemiska avdelningen, Helsingfors universitet, Viksbågen 5, 00014 Helsingfors. Till förslaget bör fogas särtryck eller kopior av publikationen i sju exemplar och gärna en kort motivering (högst 1/2 sida). Artikeln kan ha en eller flera författare; i det senare fallet delas priset ut gemensamt till författarna. Översiktsartiklar beaktas inte, och av de artiklar som ingår i en av flera delarbeten bestående akademisk avhandling kommer endast en enskild publikation i fråga. Forskarna kan även sända något av sina egna arbeten för bedömning.