

KONKLUSION

Et referenceinterval for laktat i navlesnorsarterie- og -veneblood bør tage hensyn til varigheden af ud-drivningsfasen. Studiet giver herudover et indblik i laktatværdier i navlesnor fordelt på fødselsmåde for nyfødte født til tiden uden kliniske eller velkendte biokemiske (pH) tegn til perinatal hypoksi eller asfyksi. Forbehold må imidlertid tages for studiets størrelse, idet det ikke kan udelukkes, at endnu mere ekstreme værdier kan findes hos tilsyneladende upåvirkede børn.

KORRESPONDANCE: Sune Leisgaard Mørck Rubak, Aakjærvej 40, Falling, DK-8300 Odder. E-mail: sr@cepome.au.dk

ANTAGET: 16. september 2009

INTERESSEKONFLIKTER: Ingen

TAKSIGELSE: Forfatterne vil gerne takke overlæge, dr.med. Ole Pryds, Børneafdelingen, Hvidovre Hospital, for deltagelse i projektets udførelse, dataindsamling og for vejledning undervejs.

Nedenstående oversigt hviler på en større litteraturgennemgang end litteraturlistens 20 numre. Oplysninger om denne baggrundslitteratur kan fås fra forfatterne.

LITTERATUR

1. Uldbjerg N. Statistik, Fødeafdelingen, Afdeling Y, Skejby Sygehus 1999-2000. 2000:1-2. Skejby Sygehus, Afdeling Y.
2. Uldbjerg N, Greisen G, Sjøgaard CH et al. Intrapartal asfyksi. 2002:1-13. Sandbjerg, 2002.
3. Nordstrom L, Ingemarsson I, Westgren M. Fetal monitoring with lactate. Baillieres Clin Obstet Gynaecol 1996;10:225-42.
4. Borruto F, Comparetto C, Wegher E et al. Screening of foetal distress by assessment of umbilical cord lactate. Clin Exp Obstet Gynecol 2006;33:219-22.
5. Eguiluz A, Lopez BA, McPherson K et al. The use of intrapartum fetal blood lactate measurements for the early diagnosis of fetal distress. Am J Obstet Gynecol 1983;147:949-54.
6. Kalinkov D, Schachinger H et al. Theoretical and practical significance of parallel assays of serum lactic acid, pH and blood gases in mothers and neonates at birth. J Perinat Med 1980;8:134-41.
7. Low JA, Pancham SR, Worthington D et al. Acid-base, lactate, and pyruvate characteristics of the normal obstetric patient and fetus during the intrapartum period. Am J Obstet Gynecol 1974;120:862-7.
8. Low JA, Pancham SR, Worthington D et al. The acid-base and biochemical characteristics of intrapartum fetal asphyxia. Am J Obstet Gynecol 1975;121:446-51.
9. Prentice A, Vadgama P, Appleton DR et al. A protocol for the routine measurement of lactate and pyruvate in cord blood. Br J Obstet Gynaecol 1989;96:861-6.
10. Ruth VJ, Raivio KO. Perinatal brain damage: predictive value of metabolic acidosis and the Apgar score. BMJ 1988;297:24-7.
11. Shirey T, St Pierre J, Winkelman J. Cord lactate, pH, and blood gases from healthy neonates. Gynecol Obstet Invest 1996;41:15-9.
12. Smith NC, Soutter WP, Sharp F et al. Fetal scalp blood lactate as an indicator of intrapartum hypoxia. Br J Obstet Gynaecol 1983;90:821-31.
13. Suidan JS, Young BK. Outcome of fetuses with lactic acidemia. Am J Obstet Gynecol 1984;150:33-7.
14. Westgren M, Divon M, Horal M et al. Routine measurements of umbilical artery lactate levels in the prediction of perinatal outcome. Am J Obstet Gynecol 1995;173:1416-22.
15. Yoshioka T, Roux JF. Correlation of fetal scalp blood pH, glucose, lactate and pyruvate concentrations with cord blood determinations at time of delivery and cesarean section. J Reprod Med 1970; 5:209-14.
16. Jørgensen JS. Fetal pulse oximetry – a methodological study. Danmark: Obstetriske og Gynækologiske afdeling, Hvidovre Hospital, University of Copenhagen, 1997.
17. Gjerris AC, Staer-Jensen J, Jørgensen JS et al. Umbilical cord blood lactate: a valuable tool in the assessment of fetal metabolic acidosis. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2008;139:16-20.
18. Wiberg N, Kallen K, Herbst A et al. Lactate concentration in umbilical cord blood is gestational age-dependent: a population-based study of 17 867 newborns. BJOG 2008;115:704-9.
19. Wiberg-Itzel E, Lippner C, Norman M et al. Determination of pH or lactate in fetal scalp blood in management of intrapartum fetal distress: randomised controlled multicentre trial. BMJ 2008;336:1284-7.
20. Nordstrom L, Achanna S, Naka K et al. Fetal and maternal lactate increase during active second stage of labour. BJOG 2001;108:263-8.

Genetisk epidemiologi – fra gen til sygdomsforståelse

Overlæge Vibeke Charlotte Andersen & professor Ulla Vogel

STATUSARTIKEL

Regionshospitalet
Viborg, Medicinsk
Afdeling, og Danmarks
Tekniske Universitet, DTU
Fødevareinstituttet

Genetisk epidemiologi er den epidemiologiske undersøgelse af genetiske årsager til sygdomme i familier og populationer. Nylige teknologiske fremskridt har gjort det muligt at undersøge genernes betydning for udviklingen af komplekse sygdomme, hvor komplicerede interaktioner mellem flere genetiske og miljø-mæssige faktorer indgår i patogenesen.

Det er en gammel observation, at visse sygdomme optræder hyppigere i nogle familier. Det kan skyldes fælles genetisk baggrund, men fælles livsstil og eksponering for miljøfaktorer kan også spille ind. For eksempel er langt hovedparten af patienter med kronisk obstruktiv lungelidelse rygere eller tidligere rygere, hvorimod det kun er et subsæt af alle rygere, der udvikler sygdommen. Tvillingestudier kan benyt-

tes til at estimere betydningen af arvelighed. Således er risikoen for type 1-diabetes mellitus (DM) 0,4% i baggrundsbefolkningen, 6% blandt søskende til en DM-afficeret proband og henholdsvis 5% og 25% for dizygote og monozygote tvillinger.

Det er blevet tiltagende klart, at genetiske faktorer spiller en betydelig rolle for individers forskellige risiko for at udvikle en række almindeligt forekommende sygdomme som type 1- og 2-diabetes mellitus, bipolare sygdomme, hjertekarsygdomme, forhøjet blodtryk, reumatologiske sygdomme med videre [1, 2].

Formålet med den aktuelle statusartikel er at beskrive de metoder og tankegange, der anvendes inden for genetisk epidemiologi. Desuden vil vi give et bud på den omfattende betydning den herved gene-

rerede viden vil få for vores sygdomsforståelse og sygdomshåndtering.

BAGGRUND

Den tredimensionale DNA-struktur blev beskrevet af James Watson & Francis Crick i 1953, og 50 år efter, i 2003, blev det humane genomprojekt (HUGO) afsluttet. HUGO havde til formål at sekventere de ca. 3 milliarder basepar, der udgør det humane genom. Genomet indeholder ca. 25.000 gener. Der er en høj grad af identitet med andre dyrearter; for eksempel er der mere end 99% identitet mellem menneske og chimpanse. Kun en mindre del af genomet translateres, den øvrige del har blandt andet regulerende funktioner.

NATURLIGT FOREKOMMENDE GENETISKE VARIANTER

Genetiske variationer, dvs. forskelle i sekvensen mellem to kopier af det humane genom, er beskrevet i det internationale HapMap-projekt [3]. De er særdeles talrige, idet der er mere end 10 millioner variationer i det humane genom. Det drejer sig om variationer i genkopisekvenser (*large-scale copy number variation* (CNV): variationer i antallet af kopier af et givet DNA-stykke), repetitive sekvenser, insertioner og deletioner og forskelle i nukleotidsekvensen. Langt de fleste varianter består i en ændring af et enkelt basepar i DNA-sekvensen, såkaldte *single nucleotide polymorphisms* (SNP'er) (Figur 1).

FRA GENOTYPE TIL FÆNOTYPE

Genetiske varianter, som ændrer funktionen af genproduktet, kaldes funktionelle varianter. Det kan for eksempel skyldes ændringer i aminosyresekvensen (*non-synonymous* (ns) SNP'er) af det protein, genet koder for. Der kan også være via ændringer i stabiliteten af *messenger*-ribonukleinsyre (mRNA) eller i gen- eller proteinekspresionen som følge af ændringer i bindingen af regulerende molekyler. Mange polymorfier er dog uden kendt betydning. I jagten på sygdomsassocierede gener kan SNP'er bruges som markører for et gen eller locus, hvis de er tæt koblet til de risikomodificerende genetiske varianter (*linkage disequilibrium*, LD).

METODER TIL IDENTIFIKATION AF RISIKOMODIFICERENDE GENER

Traditionelt har man anvendt koblingsanalyse (*linkage analysis*), hvor målet er at identificere genomiske regioner, som tenderer til at nedarves sammen med sygdommen. Koblingsanalyser er velegnede til studier af sygdomme, der er karakteriseret ved, at 1) flere generationer kan være afficerede, at 2) overlevelsen ikke påvirkes nævneværdigt, samt 3) at det

risikobærende allel er sjældent i populationen og medfører en høj risiko for sygdommen (høj penetrans).

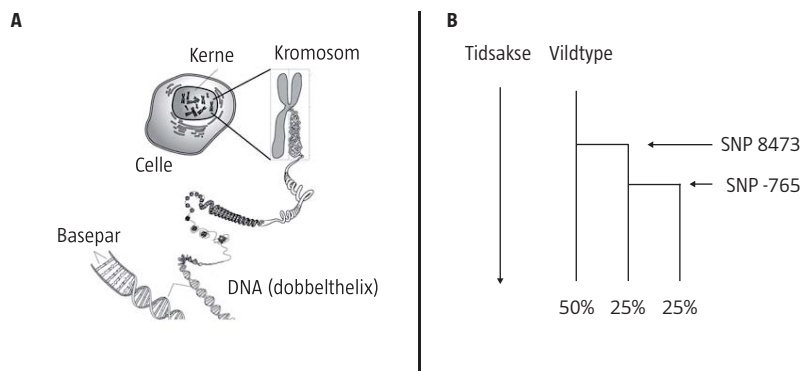
De senere år har associationsanalyse vundet større udbredelse. Undersøgelsen bygger på sammenligninger af frekvensen af specifikke genvarianter (alleler) mellem cases og kontroller. Associationsanalysen er velegnet, når der er tale om risikobærende alleler, der er hyppige i populationen. Analysen kan endvidere bruges, når det enkelte allel kun medfører en beskedent ændring af sygdomsrisikoen, hvilket som nævnt karakteriserer komplekse sygdomme, som involverer flere gener med lav penetrans og ofte interaktioner med en eller flere miljøfaktorer (Figur 2).

Associationsanalysen kan være hypotesegenereret eller hypotesefri. Kandidatgen-associationsstudier (*candidate gene association studies*) [4] er en associationsanalyse af et gen med en klar (forventet) biologisk relevans i forhold til den undersøgte problemstilling – for eksempel i forhold til en sygdoms patogenese. Der er således tale om en hypotesegenereret undersøgelse. Ved anvendelse af kandidatgen-associationsstudier er der påvist en række sygdomsassocierede gener [5].

De seneste år har total genomsøgninger (*genome wide association studies*, GWAS) med an-

FIGUR 1

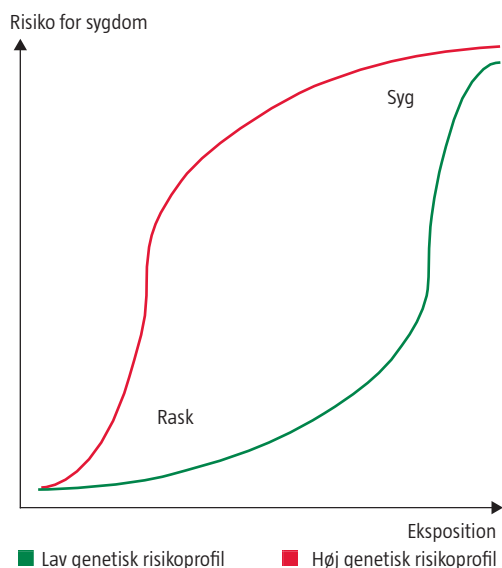
A. De hyppigste genetiske varianter er ændringer af et enkelt basepar i DNA-sekvensen, såkaldte *single nucleotide polymorphisms* (SNP'er). De resulterer i, at der findes (mindst) to varianter på den pågældende lokalisation i en given population. Afhængig af om ingen, en eller begge alleler er ændret på en bestemt position, inddeles populationen i følgende genotyper; homozygot vildtype, heterozygot og homozygot variantgenotyper. Ved hyppigt forekommende forstås, at frekvensen af varianten er mere end 1% i en population. **B.** Da de nedarves gennem generationer, jævnfør Mendels lov, kan de bruges som genetiske markører til at spore arvegangen af gener eller genmarkører i familier eller hele populationer. Jo ældre varianterne er, jo mere udbredte kan de antages at være, da de har haft flere generationer at propagere i. Princippet er vist med genet *COX-2*. Den »oprindelige« genotype udgøres af vildtypen, hvori der først introduceres en variant (polymorfi) i nukleotidposition 8473 og efterfølgende endnu en variant i nukleotidposition -765 i det samme allel, der indeholder den første polymorfi. Det har i dette tilfælde resulteret i en allelfordeling hos raske kontroller mellem de tre alleler på henholdsvis ca. 50%, 25% og 25%.



vendelse af mere end en halv million genmarkører været mulige. GWAS har for nylig været beskrevet i Ugeskrift for Læger. Analysen er forudsætningsløs, dvs. den bygger ikke på en forud bestående hypotese som be- eller afkræftes. Pga. det store antal markører er der en vis statistisk sandsynlighed for, at nogle vil falde signifikant ud alene som følge af tilfældighed, hvorfor der korrigeres herfor via den statistiske analyse (Bonferonikorrektion). Analysens styrke kan øges ved at fokusere på særlige områder og øge markørtætheden, men især ved at øge antallet af undersøgte personer [6]. I praksis har det ofte vist sig nødvendigt at samle undersøgelsesmateriale fra flere populationer. Herved har studierne haft styrke til at detektere gener med små effekter på sygdomsrisici, som er fælles for flere populationer og dermed overordnet kan have en stor betydning for den samlede sygdomsbelastningen i samfundet. Studierne kan ses på hjemmesiden *Published Genome Wide Association Studies* [1]. Sådanne store studier og metaanalyser har ført til en eksplosion af nye identificerede loci og gener af betydning for type 1- og 2-diabetes, hjertekarsygdomme, reumatologiske sygdomme, kræftsygdomme, fedme og behandlingsrespons [1].

FIGUR 2

Sammenhæng mellem eksposition og genetisk modtagelighed (*genetic susceptibility*) for udvikling af en given fænotype. Tilstedeværelsen af et genetisk risikoallel kan – sammen med en bestemt eksposition – øge risikoen for en given fænotype, for eksempel udvikling af en given sygdom. Bemærk dog, at tilstedeværelsen af et risikoallel kan være uden betydning, hvis der ikke er nogen eksposition, og personen derfor forbliver rask, eller hvis den er massiv og derfor medfører, at personen bliver syg uanset tilstedeværelsen af et risikoallel. De enkelte risikomodificerende gener kan virke fremmende eller beskyttende mod en given sygdom, ligesåvel som ekspositionen kan have såvel positiv som negativ effekt.



ER DE ARVELIGE SYGDOMSÅRSAGER NU KORTLAGT?

Påvisning af visse genetiske varianter har en høj prædiktiv værdi. For eksempel er BRCA1- og BRCA2-varianter associeret med en høj risiko for udvikling af kræft i æggestokkene og brystet. Denne viden har fået praktisk klinisk anvendelse, idet de berørte personer får tilbudt profylaktiske tiltag. Generelt er det dog kun muligt at forklare en lille del af den samlede genetisk betingede variation [5]. Således kan den genetiske risikoprofil kun i begrænset omfang forudsige risikoen for en specifik kompleks sygdom for det enkelte individ. Ligeledes kan observationerne kun forklare en lille del af forekomsten af en sygdom – med andre ord er andelen af hvor meget mindre forekomsten af den specifikke sygdom ville være i en population uden det specifikke sygdomsallel (*Population Attributable Fraction* (PAF)) stadig meget lille. Det kan konkluderes, at mange gener med en lille risikomodificerende effekt må forventes at være årsag til en stor del af den genetisk betingede sygdomsrisiko.

FRA GEN TIL PATOGENESE

Selv om vi kun kan forklare en lille del af årsagen til de komplekse sygdomme, har denne viden haft kolossal betydning. Der er opnået store fremskridt i forståelsen af patogenetiske mekanismer. Som et eksempel kan nævnes, at den samme genetiske variant har kunnet identificeres ved flere forskellige sygdomme, som ikke hidtil har været forbundne. Det tyder på, at det genprodukt, som genet koder for, indgår i patogenesen af forskellige sygdomme – med andre ord at fælles biologiske stier kan være »ramt« ved flere forskellige sygdomme. Desuden har fundet af nye mulige angrebepunkter initieret udviklingen af nye lægemidler, der er baseret på rationelt lægemiddeldesign [7].

Det har imidlertid også vist sig uhyre kompliceret at omsætte et identificeret genlocus til en molekylær forståelse. Strategier kan omfatte forfinede genmarkøranalyser, sekvensanalyse, kloning og kandidatgen-associationsanalyser og efterfølgende allelekspressionsanalyser i cellelinjer, genetisk modulerede mus og overkrydningsundersøgelser på rotter og mus [8] i kombination med *proteomics* og *genomics* af celler og væv.

DISKUSSION

Studierne har samstemmende peget på hvor komplekse mekanismer, der indgår i patogenesen af mange almindelige sygdomme. For det første bidrager hvert gen kun med en lille risikoændring, og selv raske med en lav sygdomsrisiko vil besidde nogle risikogener [9]. Multiple gener og miljøfaktorer kan hver især disponere til eller beskytte mod udviklingen af



FAKTABOKS

1. Mange almindeligt forekommende sygdomme er karakteriseret ved, at komplicerede genetiske og miljømæssige faktorer indgår i ætiologien.
2. Risikomodificerende gener (*susceptibility genes*) ændrer risikoen for en given fænotype; for eksempel for at udvikle en given sygdom, respondere på eller udvikle bivirkninger til en behandling.
3. Teknologiske fremskridt gør det muligt at identificere risikomodificerende gener ved almindeligt forekommende sygdomme som diabetes mellitus, inflammatoriske tarmsygdomme, gigtsygdomme.
4. Komplekse mekanismer indgår i patogenesen af mange almindelige sygdomme. De enkelte risikomodificerende gener bidrager kun med en lille risikoændring, og selv raske med en lav sygdomsrisiko vil uvægerligt besidde nogle risikogener. Multiple gener og miljøfaktorer kan hver især disponere til eller beskytte mod udviklingen af en bestemt fænotype. Forskellige genotyper kan føre til den samme fænotype. Betydningen af gen-miljø-interaktioner er kun sparsomt belyst.
5. Det er en forudsætning for fortsatte fremskridt, at der anvendes multiple metoder og angrebsvinkler ved identifikation af genetiske og miljømæssige risikomarkører.

en bestemt fænotype [9], og forskellige genotyper kan forventes at føre til den samme fænotype [10].

Store studier med bidrag fra flere populationer (totalgenom-associationsstudier) vil kunne identificere genmarkører med en effekt, der ligger tæt på eller under detektionsgrænsen for de hidtidige studier. I sagens natur vil disse studiers styrke være at identificere faktorer, der er fælles for de undersøgte populationer. Undersøgelser på velkarakteriserede populationer (kandidatgenanalyse) er derimod velegnede til at detektere »private« risikogener i heterogene populationer, dvs. varianter der er udtrykt forskelligt i forskellige populationer eller i befolkningsgrupper med forskelle i levevis og deraf følgende forskelle i eksposition.

Målet er at identificere biologisk relevante genotype-fænotype-relationer. Den øgede forståelse på det molekylære plan kan udnyttes til 1) bedre forståelse af sygdommes årsager og udvikling, 2) større diagnostisk sikkerhed, 3) bedre prognostisering og vurdering af behandlingsbehov, 4) individualiserede behandlingsregimer med bedre effekt og færre risici og bivirkninger, 6) rationelt lægemiddeldesign og 7) identifikation af subgrupper med behov for særlig behandling for at nævne nogle eksempler. Indtil nu har vi kun set toppen af isbjerget, og de gjorde erfaringer tyder på, at der kan opnås virkelig store fremskridt inden for sygdomsforståelse og -behandling. Det er en forudsætning for fortsatte fremskridt, at der anvendes multiple metoder og angrebsvinkler ved

identifikation af genetiske og miljømæssige risikomarkører.

KORRESPONDANCE: Vibeke Charlotte Andersen, Medicinsk Afdeling, Regionshospitalet Viborg, DK-8800 Viborg. E-mail: Vibeke.andersen@viborg.rm.dk

ANTAGET: 22. maj 2009

INTERESSEKONFLIKTER: Ingen

TAKSIGELSER: Tak til Jette Hansen, Ian McCulloch, Hanne Christensen, fagbiblioteket, samt Tina Bach, Informationsafdelingen, Regionshospitalet Viborg. Familien Erichsens Mindefond, A.P. Møller og Hustru Chastine Mc-Kinney Møller Fond til Lægevidenskabens Fremme og Region Midt takkes for økonomisk støtte.

LITTERATUR

1. Hindorf LA, Junkins HA, Manolio TA. A catalog of published genome-wide association studies. www.genome.gov/26525384. Accessed.
2. McCarthy MI, Abecasis GR, Cardon LR et al. Genome-wide association studies for complex traits: consensus, uncertainty and challenges. *Nat Rev Genet* 2008;9:356-69.
3. International HapMap Project. www.hapmap.org/whatishapmap.html.
4. Daly AK. Candidate gene case-control studies. *Pharmacogenomics* 2003;4:127-39.
5. Wray NR, Goddard ME, Visscher PM. Prediction of individual genetic risk of complex disease. *Curr Opin Genet Dev* 2008;18:257-63.
6. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 2007;447:661-78.
7. Grant SF, Hakonarson H. Recent development in pharmacogenomics: from candidate genes to genome-wide association studies. *Expert Rev Mol Diagn* 2007;7:371-93.
8. Pomp D, Allan MF, Wesolowski SR. Quantitative genomics: exploring the genetic architecture of complex trait predisposition. *J Anim Sci* 2004;82 E-Suppl: E300-E312.
9. Janssens AC, van Duijn CM. Genome-based prediction of common diseases: advances and prospects. *Hum Mol Genet* 2008;17:R166-R173.
10. Zondervan KT, Cardon LR. Designing candidate gene and genome-wide case-control association studies. *Nat Protoc* 2007;2:2492-501.