



# LUND UNIVERSITY

## Kausalitet kan påvisas med mendelsk randomisering. Kardiovaskulära risksamband prövade med metoden.

Nilsson, Peter

*Published in:*  
Läkartidningen

2013

[Link to publication](#)

*Citation for published version (APA):*

Nilsson, P. (2013). Kausalitet kan påvisas med mendelsk randomisering. Kardiovaskulära risksamband prövade med metoden. *Läkartidningen*, 110(16), 832-835. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23717930?dopt=Abstract>

*Total number of authors:*

1

### General rights

Unless other specific re-use rights are stated the following general rights apply:

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

Read more about Creative commons licenses: <https://creativecommons.org/licenses/>

### Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

LUND UNIVERSITY

PO Box 117  
221 00 Lund  
+46 46-222 00 00

# Kausalitet kan påvisas med mendelsk randomisering

## Kardiovaskulära risksamband prövade med metoden

**PETER M NILSSON**, professor, överläkare, institutionen för kliniska vetenskaper, Lunds universitet; internmedicinska kliniken, Skånes universitetssjukhus, Malmö  
 peter.nilsson@med.lu.se

Inom kardiovaskulär epidemiologi har en lång rad riskmarkörer presenterats under mer än 60 år av forskning. De klassiska markörerna – hypertoni, hyperlipidemi, rökning och diabetes – baserar sig på pionjärstudier från t ex befolkningsundersökningar i Framingham med start i slutet av 1940-talet [1]. De har sedan utvecklats genom moderna riktlinjer i Sverige [2] och internationellt [3]. En utmaning, som också kan innebära ett tolkningsproblem, är att listan med riskmarkörer har blivit betydligt längre vad gäller såväl biomarkörer som genetiska markörer, t ex i relation till risk för hjärtinfarkt.

Baserat på de klassiska kriterierna har man krävt att en positiv preventiv effekt ska ha påvisats vid intervention mot en riskmarkör i en eller flera randomiserade, kontrollerade studier för att denna ska kunna få status som kausal riskfaktor. Många av dessa riskfaktorer tenderar dock att samvariera, t ex inom metabola syndromet, som baseras på bukfetma, ökning av glukos och blodtryck samt förekomst av dyslipidemi (höga triglycerider, lågt HDL-kolesterol).

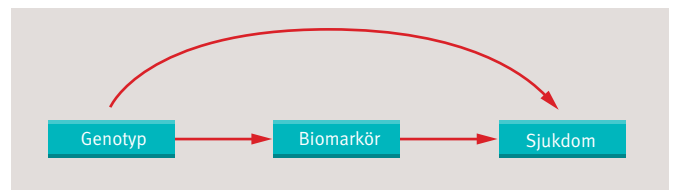
### Ny genetik – nya analysmetoder

Med utvecklingen av den nya kardiovaskulära genetiken [4, 5] har analysmetoder presenterats för att närmare kunna analysera kausalitet (kausal inferens) i relation till risk för sjukdom. Dessa bygger på kända metoder och matematiska formler, t ex instrumentvariabelanalys, men har nu fått ett nytt användningsområde. En av de mest omskrivna metoderna för närvarande är den som kallas mendelsk randomisering och där ett utvecklingsarbete bedrivits under senare år [6-9].

Metoden bygger på antagandet att det i populationsbaserade studier av associationen gen-sjukdom är så att den slumpartade fördelningen av alleler vid sammansmältningen av könsceller (gameter) vid konception, kallad Mendels andra lag, resulterar i en slumpvis och oberoende association mellan alleler och miljöfaktorer som uppträder senare i livet (Figur 1). I teorin medför detta att individer som senare utvecklar sjukdomen och individer som förblir friska bör uppvisa en liknande fördelning av genetiska markörer som inte är associerade med sjukdom.

### Några fynd vid mendelsk randomisering

Här redogörs för några viktiga fynd där mendelsk randomisering tillämpats för att bättre kunna förstå kausalitet vad gäller framför allt kardiovaskulär risk med fokus på hjärtinfarkt men även vad gäller vissa associerade sjukdomar. Man bör dock komma ihåg att metoden kan ha svagheter, att den förutsätter några definierade kriterier och att tillräckligt stora befolkningsstudier bildar underlag för analyserna. Avsaknad av samband mellan gen och sjukdom kan tala för inflytande av ej uppmätta miljöfaktorer som leder till gen-miljö- eller gen-geninteraktion som antingen kan förstärka eller försvaga ett samband mellan en viss enskild genetisk markör och ett visst



**Figur 1.** Principen för mendelsk randomisering i analys av kausal inferens (sanna samband) utgår från att en genetisk markör inte bara har samband med en förmedlande biomarkör avseende risken för en specifik sjukdomsyttning, utan den genetiska markören ska också kunna uppvisa ett eget oberoende samband med sjukdomen i fråga. Kausal inferens är en förutsättning för att kunna finna relevanta biologiska mekanismer, bl a som måltavla för nya läkemedel.

sjukdomsuttryck [10]. Detta kan vara speciellt relevant för subgrupper inom en större population, vilket inte alltid kan synliggöras vid analyser av hela populationen. Förutsättningar för analys med mendelsk randomisering sammanfattas i Fakta 1. Det finns likheter mellan mendelsk randomisering och en randomiserad studie (Figur 2).

Alla medicinska frågeställningar lämpar sig dock inte för randomiserad intervention, och då kan analys med hjälp av mendelsk randomisering vara ett alternativ. Det gäller t ex analyser av samband mellan olika skadliga agens i livsstil eller miljö, då randomisering inte är tillämplig, eller för riskmarkörer där ingen känd intervention existerar. De effekter som ses efter analys med mendelsk randomisering kan ofta vara mer påtagliga än de som kan ses i interventionsstudier. En orsak till detta är att genetiska mekanismer följer individen under hela livet, medan interventionsstudier, t ex i medelåldern, endast pågår några få år [7]. Randomiserade studier behövs dock för att kunna skatta positiva kliniska effekter i relation till biverkningar, liksom kostnadseffektivitet med en viss behandling.

### Biomarkörer med kausala risksamband

Genom mendelsk randomisering har flera forskargrupper kunna påvisa kausala samband mellan LDL-kolesterol [11, 12], lipoprotein(a) [13] och senare uppträdande risk för hjärtin-

### SAMMANFATTAT

**Analys av kausalitet** är ett klassiskt problem inom observationell epidemiologi. Det medför ofta stora svårigheter att identifiera ett oberoende inflytande av en viss riskmarkör.

**Inom genetiken** finns en metod, mendelsk randomisering, för att undersöka kausalitet.

**Metoden bygger på** antagandet att en specifik genetisk programmering för en viss biomarkör måste motsvaras av ett liknande samband mellan den genetiska markören och det kliniska utfal-

let för att man ska kunna påstå att biomarkören uppvisar ett äkta samband med utfallet.

**Baserat på** denna metod har man funnit att några riskfaktorer/markörer uppvisar kausalitet med t ex risk för hjärtinfarkt (t ex LDL-kolesterol), medan andra inte förefaller göra det (C-reaktivt protein, HDL-kolesterol).

**Dessa förhållanden** kan få betydelse inte bara för mekanistisk förståelse av sjukdomsprocesser utan också för utveckling av kausalt riktad preventiv behandling.

## FAKTA 1

**Kriterier** som måste vara uppfyllda för att beräkning med mendelsk randomisering ska vara giltig (kausal inferens) – i annat fall kan fel smyga sig in i analysen [7].

- En genetisk variant måste vara direkt relaterad till den riskmarkör (biomarkör) som analysen handlar om och inte till olika riskmarkörer (pleiotropi).

- Den genetiska varianten delar en studiepopulation i dels de individer som har den (bärare), dels de som inte har den (icke-bärare) utan inflytande av andra faktorer.
- Den genetiska varianten påverkar utfallet (sjukdomen, fenotypen) endast via den biomarkör som avses och inte på annat sätt.

farkt. Det har lett till slutsatsen att livslångt låga nivåer av LDL-kolesterol kan skydda mot hjärtinfarkt och att detta kan motivera tidig behandling av riskindivider [12]. Baserat på andra studier har det även visats vara möjligt att beräkna ett genetiskt riskindex för lipidmetabolism relaterad till LDL-kolesterol, oberoende av cirkulerande nivåer av LDL-kolesterol [14]. Farmakologisk sänkning av LDL-kolesterol med statiner har kunnat beläggas ge kardiovaskulär prevention, varvid dock även pleiotropa läkemedelseffekter kan spela roll. Effekten är lägre än vad som antytts vara möjlig vid analys med mendelsk randomisering av skäl som angivits ovan [7].

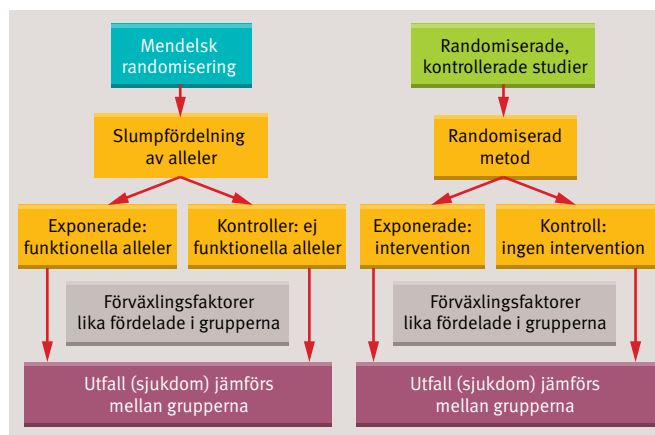
På motsvarande sätt har man kunnat påvisa kausala samband mellan grad av icke-fastande glukosstegring [15] samt triglyceridnivåer [16] och risk att utveckla hjärtinfarkt. Inflammation har sedan några år diskuterats i genesen för hjärt-kärlsjukdom och typ 2-diabetes. En mediator av inflammation är cytokinet interleukin-6 (IL-6), och kausala samband med hjärtinfarktrisk har påvisats såväl för IL-6-receptorn [17] som för cirkulerande nivåer av IL-6 [18]. Det anses att IL-6-systemet (via G-174C-polymorfism i IL-6-genen) reglerar leversyntesen av C-reaktivt protein (CRP) och därmed styr plasmanivåerna av CRP, en i sammanhanget sekundär faktor för samband med hjärtinfarkt. En annan metabol faktor är homocystein, som uppvisar kausalt samband med risk för stroke [19] men inte för hjärtinfarkt [20].

Bland nya biomarkörer som analyserats mot bakgrund av kända genetiska samband med sjukdom finns bl a preneurotensin, som associeras med mättnad och metabolism och som uppvisar samband med risk för hjärtinfarkt, typ 2-diabetes och bröstcancer hos kvinnor, baserat på data från en populationsstudie i Malmö [21]. I detta fall utgick man från den genetiska riskmarkören SORT1 och analyserade sedan den medierande biomarkör som har samband med riskgenen.

Det finns även exempel på hur mendelsk randomisering använts för att studera samband bakom mekanismer för sjukdomsrisk, inte för händelsen i sig. På så sätt har det t ex visats att den genetiska markören apo E4 uppvisar oberoende samband med nivåer av riskfaktorerna kolesterol och hypertoni [22] samt att genetiken för urat har samband med hypertoni [23]. Inom diabetesområdet har noterats att genetiska markörer för betacellsfunktion har ett oberoende samband med utvecklingen av typ 2-diabetes, även efter justering för glukosnivåer och annan fenotypinformation, som fetma [24]. En sammanfattning av faktorer med påvisad kausalitet för risk att insjukna i hjärtinfarkt eller associerade tillstånd, baserat på mendelsk randomisering, finns i Fakta 2.

### Biomarkörer med begränsat eget kausalt samband

Förhöjt BMI är en fenotypmarkör för en rad risktillstånd och sjukdomar associerade med fetma [25]. Med användning av mendelsk randomisering har man funnit att det på genetisk grund observerade sjukdomssambandet för fetmaassocierad risk avseende ischemisk hjärtsjukdom är dubbelt så stort (52



Figur 2. Mendelsk randomisering och kontrollerade interventionsstudier.

## FAKTA 2

**Faktorer med påvisad kausalitet** för risk att insjukna i hjärtinfarkt eller associerade tillstånd, baserat på mendelsk randomisering.

- LDL-kolesterol (för hjärtinfarkt och utveckling av hypertoni)
- Lipoprotein(a)

- Interleukin-6-receptorn, cirkulerande IL-6
- Proneurotensin (för kvinnor)
- Hyperglykemi
- Defekt betacellsfunktion (för utveckling av typ 2-diabetes)
- Hypertriglyceridemi
- Homocystein (för stroke, men inte för hjärtinfarkt)
- Urat för blodtryckssänkning

procent per 4 kg/m<sup>2</sup> ökning av BMI) som det observerade sambandet mellan fenotypen i sig och risken (26 procent). Detta kan förklaras av inflytandet av riskfaktorer associerade med BMI, t ex hypertoni och lipidrubning [26].

Nya studier har kunnat visa en reversering av kardiovaskulär risk efter fetmareducerande kirurgi [27] men inte efter intensifierad livsstilsrådgivning hos obesa typ 2-diabetiker i den randomiserade Look AHEAD-studien, som avbrutits i förtid på grund av avsaknad av effekt på kardiovaskulära sjukdomstillstånd [28].

### Biomarkörer utan kausalt samband med risk för sjukdom

Det är också av principiell betydelse att undersöka vilka biomarkörer som inte uppvisar sann kausalitet med sjukdom, framför allt vid val av terapeutisk intervention. Om en viss faktor inte är kausalt relaterad till en viss sjukdom förefaller det inte vara meningsfullt att fokusera på denna faktor i behandlingen, såvida analysen inte har interna felkällor. En biomarkör kan ändå vara av värde för epidemiologiska beskrivningar och riskanalyser även om kausalitet inte föreligger, om syftet inte är intervention.

Flera uppmärksammande exempel på avsaknad av förväntad kausalitet avseende risk för hjärtinfarkt har presenterats, framför allt gällande CRP [29-34], men också mellan CRP och kronisk lungsjukdom [35], även om CRP kan predicera en rad olika sjukdomstillstånd och även total mortalitet på ett specifikt sätt baserat på populationsstudier [36]. Som tidigare an-

»Nya analysmetoder som inkluderar mendelsk randomisering kan kasta nytt ljus över vilka epidemiologiska samband som är kausala och vilka som inte är det.«

■ FAKTA 3

**Exempel på faktorer** där kausalitet inte kunnat påvisas med mendelsk randomisering.

- CRP (för risk att insjukna i hjärtinfarkt och KOL samt risk för diabetes och metaboliska syndromet)
- HDL-kolesterol (talar för att

- risk associerad med lågt HDL-kolesterol är sekundär till ökade triglycerider, rubbad glukosmetabolism)
- Urat (för risk att insjukna i typ 2-diabetes)
- LDL-kolesterol (för risk att insjukna i cancer)
- Bilirubin och hjärtinfarkt

getts är det regulatorn för syntes av CRP, cytokinet IL-6, som uppvisar det äkta kausala sambandet [17, 18]. Ett annat uppmärksammat fynd är att HDL-kolesterol inte förefaller vara kausalt relaterat till risk för hjärtinfarkt [37, 38]. Inte heller finns det ett kausalt samband mellan urat och risk för typ 2-diabetes [39] eller mellan bilirubin och risk för hjärtinfarkt [40], däremot kan det finnas någon form av kausalt samband mellan steg i triglyceridmetabolismen och risk för hjärtinfarkt [16].

Det råder interna samband mellan hypertriglyceridemi, lågt HDL-kolesterol (dyslipidemi) och hyperurikemi, sannolikt på basen av underliggande insulinresistens. Någon faktor som är kopplad till störd glukosmetabolism och nedsatt insulin känslighet, uttryckt i störd triglyceridomsättning, är därför sannolikt kausalt relaterad till risk för hjärtinfarkt, medan det ser ut som om förändringar av HDL-kolesterol i sammanhanget skulle kunna vara ett sekundärt fenomen. Detta antagande har dock inte tagit hänsyn till de subklasser av HDL-kolesterol som finns, varför vidare forskning behövs. Exempel på faktorer där studier inte kunnat påvisa kausalitet med mendelsk randomisering anges i Fakta 3.

**Betydelse för vidare forskning och nya läkemedel**

Baserat på den nya förståelsen av kausalitet i riskfaktoranalyser har det hävdats att utvecklingen av nya terapier, framför allt läkemedel, bör inriktas på att modifiera sanna kausala sjukdomsmekanismer. Ett sådant exempel skulle kunna vara den mekanism som biomarkören preneurotensin beskriver och IL-6-associerade mekanismer. Här krävs dels vidare studier för en detaljerad kartläggning av den molekylära och receptormedierade mekanismen i fråga, dels olika farmakologiska försök att manipulera denna mekanism. Därefter bör vidare studier på försöksdjur och människa kunna planeras. Detta kan vara ett kostnadseffektivt sätt att screena för relevanta angreppspunkter för nya läkemedel under utveckling.

Motsatsen kan också vara relevant, dvs att inte lägga stora summor på nya läkemedel som har som målsättning att ingripa i mekanismer som inte förefaller vara kausalt associerade med den typ av händelse som man vill förebygga. Återigen utgör debatten om HDL-kolesterol ett intressant exempel. Det har hittills visat sig vara svårt att åstadkomma kardiovaskulär prevention med riktad terapi för att höja HDL-kolesterol, t ex via niacinbehandling, som inte gett avsedd effekt i två aktuella randomiserade interventionsstudier, AIM-HIGH [41] och Heart Protection Study-2 [42].

En ny generation läkemedel verkar på enzymet CETP, vars hämning ökar nivån av HDL-kolesterol, vilket kan ses naturligt i samband med genetiska mutationer associerade med mycket låga nivåer av CETP [43]. En sådan substans, torcetrapib, stoppades för några år sedan på grund av oönskade sidoeffekter [44], medan en annan substans, anacetrapib, visat mer lovande egenskaper [45] och för närvarande testas i en stor randomiserad kardiovaskulär preventiv studie vars resultat avvaktas [46]. I maj 2012 avbröts en annan randomiserad studie med en snarlik substans, dalcetrapib, vilket illustrerar de

signaler av tveksamhet som ackumulerats av nya kritiska studier avseende kausalitet för HDL-kolesterol som bygger på analys enligt mendelsk randomisering [37, 38]. Den avbrutna studien kunde inte påvisa någon effekt på kardiovaskulär prevention hos patienter med tidigare akut koronart syndrom trots en markant ökning av HDL-kolesterol (30–40 procent), dock utan ändring av LDLkolesterol [47].

**Konklusion**

Det kan sannolikt vara så att den nya kardiovaskulära genetiken kommer att betyda mer för förståelsen av kausala sjukdomsmekanismer – och därmed utgöra en grund för utveckling av nya terapier [50] – än för riskprediktion på individnivå även om sådan kan tänkas vara möjlig vid hög samlad genetisk risk, vilket är ovanligt i befolkningen [14]. Nya analysmetoder som inkluderar mendelsk randomisering kan kasta nytt ljus över vilka epidemiologiska samband som är kausala och vilka som inte är det. Detta vetenskapliga fält rör sig nu mot att använda redan gjorda helgenomundersökningar (GWAS) för att titta på effekter av vissa genetiska markörer (SNP-utfall). Man strävar dessutom efter att använda sammanvägda genetiska index uppbyggda av tusentals SNP för att rätt kunna uppskatta de biologiska effekterna med snäva konfidensintervall.

Fortfarande kan det finnas svagheter i resonemanget, som bör undersökas närmare, t ex vilken roll gen-miljö- och gen-geninteraktioner spelar för påvisade samband. Dessutom behövs det stora befolkningsstudier med biobanker för att kunna göra dessa studier eftersom man behöver undersöka ett stort antal individer med både genotypning och fenotypning. Detta låter sig inte göras på samma sätt hos grupper av etablerade patienter eftersom fenotyp- och biomarkörnivåer redan hunnit påverkas avsevärt av sjukdomsprogress och given behandling. För patienter kan i stället prognostisering och risk för biverkningar vara betydelsefull, och där kan den nya genetiken bidra på annat sätt.

Slutsatsen är att det krävs stora befolkningsstudier, biobanker och avancerad molekylär epidemiologi i kombination med uppgifter om miljöexponering. Detta stöds av formuleringar i den nya forskningspropositionen från regeringen (Forskning och innovation, proposition 2012/13:30) samt regeringens övriga satsningar på livsvetenskaperna. Lagstiftningen håller på att ses över, och under 2013 förväntas bli en ny biobankslag (En ny biobankslag, betänkande, SOU 2010:81).

■ *Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.*

**LÄS MER** Fullständig referenslista  
Läkartidningen.se

**KOMMENTERA** denna artikel på Läkartidningen.se

**REFERENSER**

- O'Donnell CJ, Nabel EG. Genomics of cardiovascular disease. *N Engl J Med.* 2011;365:2098-109.
- Davey Smith G, Ebrahim S. What can mendelian randomisation tell us about modifiable behavioural and environmental exposures? *BMJ.* 2005;330:1076-9.
- Sheehan NA, Meng S, Didelez V. Mendelian randomisation: a tool for assessing causality in observational epidemiology. *Methods Mol Biol.* 2011;713:153-66.
- Linsel-Nitschke P, Götz A, Erdmann J, et al; Wellcome Trust Case Control Consortium (WTC-CC); Cardiogenics Consortium. Lifelong reduction of LDL-cholesterol related to a common variant in the LDL-receptor gene decreases the risk of coronary artery disease – a Mendelian randomisation study. *PLoS One.* 2008;3:e2986.
- Ference BA, Yoo W, Alesh I, et al. Effect of long-term exposure to lower low-density lipoprotein cholesterol beginning early in life on the risk of coronary heart disease: a Mendelian randomization analysis. *J Am Coll Cardiol.* 2012;60(25):2631-9.
- Tsimikas S, Hall JL. Lipoprotein(a) as a potential causal genetic risk factor of cardiovascular disease: a rationale for increased efforts to understand its patho-

- physiology and develop targeted therapies. *J Am Coll Cardiol.* 2012; 60:716-21.
14. Kathiresan S, Melander O, Anevski D, et al. Polymorphisms associated with cholesterol and risk of cardiovascular events. *N Engl J Med.* 2008;358:1240-9.
  15. Benn M, Tybjaerg-Hansen A, McCarthy MI, et al. Non-fasting glucose, ischemic heart disease, and myocardial infarction: a Mendelian randomization study. *J Am Coll Cardiol.* 2012;59:2356-65.
  16. Triglyceride Coronary Disease Genetics Consortium and Emerging Risk Factors Collaboration, Sarwar N, Sandhu MS, Ricketts SL, et al. Triglyceride-mediated pathways and coronary disease: collaborative analysis of 101 studies. *Lancet.* 2010;375:1634-9.
  17. Interleukin-6 Receptor Mendelian Randomisation Analysis (IL6R MR) Consortium, Hingorani AD, Casas JP. The interleukin-6 receptor as a target for prevention of coronary heart disease: a mendelian randomisation analysis. *Lancet.* 2012;379:1214-24.
  21. Melander O, Maisel AS, Almgren P, et al. Plasma proneurotensin and incidence of diabetes, cardiovascular disease, breast cancer, and mortality. *JAMA.* 2012;308:1469-75.
  26. Nordestgaard BG, Palmer TM, Benn M, et al. The effect of elevated body mass index on ischemic heart disease risk: causal estimates from a Mendelian randomisation approach. *PLoS Med.* 2012;9:e1001212.
  28. Weight loss does not lower heart disease risk from type 2 diabetes. National Institute of Health (NIH); 2012. <http://www.nih.gov/news/health/oct2012/niddk-19.htm>
  29. Timponson NJ, Lawlor DA, Harbord RM, et al. C-reactive protein and its role in metabolic syndrome: mendelian randomisation study. *Lancet.* 2005;366:1954-9.
  34. C Reactive Protein Coronary Heart Disease Genetics Collaboration (CCGC); Wensley F, Gao P, Burgess S, et al. Association between C reactive protein and coronary heart disease: mendelian randomisation analysis based on individual participant data. *BMJ.* 2011;342:d548.
  37. Voight BF, Peloso GM, Orho-Melander M, et al. Plasma HDL cholesterol and risk of myocardial infarction: a mendelian randomisation study. *Lancet.* 2012;380:572-80.
  38. Haase CL, Tybjaerg-Hansen A, Qayyum AA, et al. LCAT, HDL cholesterol and ischemic cardiovascular disease: a Mendelian randomization study of HDL cholesterol in 54,500 individuals. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97:E248-56.
  43. Calabresi L, Nilsson P, Pinotti E, et al. A novel homozygous mutation in CETP gene as a cause of CETP deficiency in a Caucasian kindred. *Atherosclerosis.* 2009;205:506-11.
  47. Schwartz GG, Olsson AG, Abt M, et al; the dal-OUTCOMES Investigators. Effects of dalcetrapib in patients with a recent acute coronary syndrome. *N Engl J Med.* 2012;367(22):2089-99.
  48. Pikula A, Beiser AS, DeCarli C, et al. Multiple biomarkers and risk of clinical and subclinical vascular brain injury: the Framingham offspring study. *Circulation.* 2012; 125:2100-7.
  50. Khera AV, Rader DJ. Discovery and validation of new molecular targets in treating dyslipidemia: the role of human genetics. *Trends Cardiovasc Med.* 2009;19:195-201.