

Juha Kere

Muuttuvan elimistön geenitestit

Geenitesteistä puhutaan nykyään paljon, ja niillä tarkoitetaan yleensä joko yksittäisten mutaatiokohtien tai jopa koko perimän vaihtelevien kohtien tutkimista. Tutkimuksilla pyritään diagnosoimaan periytyvä tauti tai yritetään ennakoida tavallisten tautien riskiä yhdistämällä tuhansia vaihtelevia kohtia riskiprofileiksi. Kaikissa näissä tapauksissa tutkitaan DNA:n emäsjärjestystä, joka pysyy pääasiassa samana hedelmöityksestä kuolemaan. Elimistön hajoavista soluista vapautuvaan DNA:han perustuva testaus voikin kertoa elimistön dynaamisesti muuttuvasta tilasta tavanomaisten laboratoriotestien tapaan, mutta herkemmin.

Genomilääketieteen yhtenä päämääränä on tunnistaa mahdollisimman hyvin sairauksien perinnöllisyyttä ja myös tavallisten tautien riskejä ennustavia geenimerkkejä tai niiden yhdistelmiä. Perimän vaihtelevat kohdat muodostavat täysin yksilöllisen yhdistelmän (samamunaisia kaksosia lukuun ottamatta), joka säilyy samanlaisena läpi yksilön koko elinkaaren. Yhden geenin muutoksista riippuvat (yksigeeniset) sairaudet tunnetaan jo verraten hyvin: yli 6500 sairauden osalta aiheuttajageeni tai periytyväälle syöväälle vahvasti altistava geeni on tunnistettu. Monet geenit saattavat osallistua usean eri ilmiön tai oireyhtymän syntyyn, ja yli 1 200 geeniä on vähintään kahden eri yksigeeniset sairauden taustalla (1).

Yhden geenin sairaudet ovat tyypillisesti melko harvinaisia. Tavalliset sairaudet riippuvat sen sijaan monien geenien yhteisvaikutuksesta (monigeenisuus) tai paremminkin ovat monitekijäisiä: niiden syntyyn vaikuttaa geenien lisäksi vahvasti vaikkapa ravinto, mutta myös sattuma, joka vaikuttaa sekä kehityksessä että sairausprosessissa. Näiden tautien ennustuksiin yhdistetään nykyään satoja tuhansia tai jopa miljoonia geenimerkkejä (2).

Tavallisten sairauksien ennakkoinnissa geenimerkkien avulla on kuitenkin suuria epätarkkuuksia ja ongelmia. Kun sepelvaltimotaudin esiintyvyys geenimerkkien perusteella keski-

määräisen riskin (50 %) ryhmässä on hieman alle 3 % ja suurimman 10 %:n riskiryhmässä noin 5 %, saa käsityksen geenimerkkien melko epätarkasta ennustekyvystä (TAULUKKO 1) (2,3).

Akuutin sydäninfarktin syntyyn vaikuttaa merkittävästi perimä, mutta sepelvaltimoiden rasvoittumisessa on suuri osuus ravinnolla eli ympäristön yhteisvaikutuksella. Tupakointi on merkittävä itsenäinen riskitekijä ja vahvuudeltaan yhtä suuri kuin geenit yhteensä (TAULUKKO 1) (2,3). Sydäninfarktin syntyä kuitenkin edeltävät tyypillisesti jonkin suonen seinämässä olevan rasvaplakin tulehdus, repeäminen ja verihyytymän muodostuminen (4). Repeämälle alttiin plakin sijaintia tai repeämän ajankohdtaa ei lue geeneissä eikä tuoteselosteissa, vaan sitä voidaan pitää käytännössä sattumanvaraisena. Infarktirisikiä voidaan silti hallita kliinisesti, sillä repeämisvaarassa oleva plakki voidaan tunnistaa kuvantamisen avulla (5).

Poikkeuksena perimän muuttumattomuudesta ovat syöpäsolut, joissa tapahtuu jatkuvasti mutaatioita. Syöpäkasvainten DNA-profiloinnista on etsitty myös syövän hoitovaihtoehtoihin ja ennusteen laatimiseen sopivia geenimerkkejä. Syövästä on tunnistettu yli 700 mutatoitunutta geeniä yli 26 000 julkaisun yli 1,4 miljoonan kasvainnäytteen perusteella (6). Kasvaimille tyypillistä on niiden mutaatioprofilien suuri hajonta, jopa samalla yksilöllä alkuperäisen kasvaimen ja etäpesäkkeiden välillä.

TAULUKKO 1. Genominlaajuiseen riskiprofilointiin ja tupakointiin perustuva riskinarviointi sepelvaltimotaudin tai akuutin sydäninfarktin yhteydessä.

Riskiryhmä	Vertailuryhmä	Kerroinsuhde ¹ (95 %:n luottamusväli)	p-arvo
Sepelvaltimotaudin geeniriski²			
Ylin 10 %:n riski	Loput 90 %	2,89 (2,74–3,05)	< 1 x 10 ⁻³⁰⁰
Ylin 5 %:n riski	Loput 95 %	3,34 (3,12–3,58)	6,5 x 10 ⁻²⁶⁴
Ylin 1 %:n riski	Loput 99 %	4,83 (4,25–5,46)	1,0 x 10 ⁻¹³²
Tupakoinnin vaikutus akuuttiin sydäninfarktiin ainoana riskitekijänä³			
Nykyinen tupakoitsija	Ei koskaan tupakoinut	2,95 (2,77–3,14)	< 0,0001
Vähintään 20 savuketta päivässä	Ei koskaan tupakoinut	4,59 (4,21–5,00)	< 0,0001

¹Odds ratio, OR. Erot ryhmien välillä tilastollisesti erittäin merkitseviä, mutta kohtalaiset kerroinsuhteet osoittavat, että riski riippuu monista muistakin kuin geneettisistä tekijöistä.

²Tulokset perustuvat 6 630 150 geenimerkkiin 184 305 tutkitun aineistossa, josta potilaita oli 60 801.

³Tutkimuksessa yhdistettiin 52 maan tiedot 27 089 osanottajasta, joista 12 461 oli tupakoitsijoita. Pelkän tupakoinnin kerroinsuhde on samansuuruinen kuin laajan genominlaajuisen riskiprofilin (2,3).

Syöpätaudeille on ominaista, että aivan valtaosa niistä ei ole perinnöllisiä. Periytyvien, suuren riskin alttiusgeenien osuus kaikista syövästä arvioidaan noin 5 %:ksi, näistä tavallisimpia esimerkkejä ovat periytyvän rinta- ja munasarjasyövän alttiusgeenit *BRCA1* ja *BRCA2* sekä periytyvän paksusuolisyövän alttiusgeenit *MSH1* ja *MLH2*. Lukuisia harvinaisempiakin alttiusgeenejä on tunnistettu.

Suurin osa syövästä syntyy ympäristötekijöiden (kuten tupakointi tai altistuminen ultraviolettisäteilylle) ja sattuman yhteisvaikutuksista. Sattuman osuus sisältää täysin ennakoimattomat mutaatiot, jotka suistavat solun säätelyjärjestelmät virheellisiksi ja johtavat taudin edetessä kasautuviin yhä uusiin mutaatioihin, hallitsemattomaan solunjakautumiseen ja solujen liikkuvuuden lisääntymiseen (7).

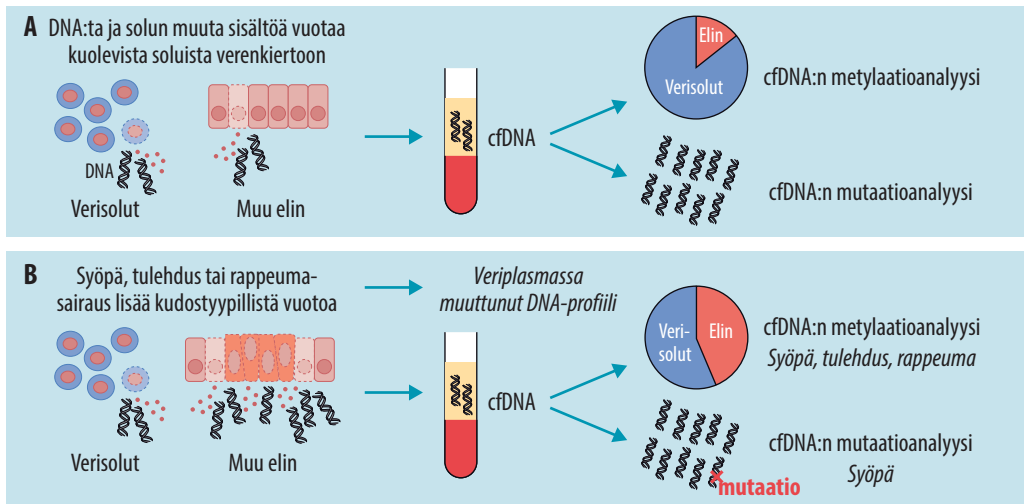
DNA:n tutkimusmenetelmät ovat kehittyneet herkkyydeltään kohti yhden molekyylin erotuskykyä. Polymeerasiketjureaktion (polymerase chain reaction, PCR) avulla DNA-molekyyliä voidaan monistaa jopa yksittäisistä molekyyleistä miljooniksi niiden tunnistamista tai sekvensoimista varten. DNA:n rinnakkaissekvensointimenetelmien (massively parallel sequencing, next-generation sequencing) avulla voidaan nykyään lukea rinnakkain tuhansia yksittäisiä DNA-molekyyliä murto-osalla vanhempien tekniikoiden kustannuksista. Näitä tekniikoita yhdistelemällä on 10–15

viime vuoden aikana kehitetty uusia, herkkiä diagnoosimenetelmiä, jotka perustuvat elimistön jatkuvasti muuttuvan tilan tunnistamiseen sen tuottamien DNA-profilien muutosten kautta.

Käytän tässä kirjoituksessa käsitettä dynaaminen geenitesti korostamaan näiden testien mahdollisuuksia monitekijäisten tautien diagnostiikassa. Vaikka ihmisen perimä sinänsä on jokseenkin muuttumaton, elimistön muutuneesta tilasta voidaan saada tietoa etsimällä vereen liuenneesta DNA:sta syöpäsolujen mutaatioita tai merkkejä solujen lisääntyneestä kuolemasta tietyssä elimessä DNA:n metyylaatioprofilin muutosten kautta.

Elimistön muuttuvan tilan geenitestien periaatteet: vereen liuenut DNA

Veri kiertää elimistömme joka kolkkan ja kerää samalla kemiallista tietoa koko elimistön dynaamisesta tilasta. Olemme tottuneet käyttämään vereen liuenneiden entsyymien, muiden proteiinien tai aineenvaihduntatuotteiden mittausta osana jokapäiväistä diagnostiikkaa. Samoin määritämme veressä kiertävien valkosolujen määriä ja suhteellisia osuuksia. Vereen liuenneena on myös pieni määrä DNA:ta, jota vapautuu elimistössä jatkuvasti tapahtuvan solukuoleman seurauksena (**KUVA 1**).



KUVA 1. Liukoinen solunulkoisen DNA (cfDNA) ja sen käyttö diagnostiikassa. **A.** Verisoluista ja elimistä vapautuu jatkuvasti DNA:ta solujen kuollessa. CfDNA voidaan eristää veriplasmasta. Sitä voidaan tutkia yksinkertaisen pitoisuusmittauksen lisäksi määrittämällä sen metylaatioprofiili (ylempi nuoli), joka kertoo sen kudosaluerästä, tai DNA-sekvensoinnin avulla (alempi nuoli), jolla voidaan todeta muun muassa sikiön kromosomiylimäärä tai syöväälle ominaisia mutaatioita. **B.** Elimistössä käynnissä oleva neoplastinen, tulehduksellinen tai degeneratiivinen prosessi lisää solukuolemaa kohde-elimessä ja siten vapautuvan cfDNA:n määrää. cfDNA:n metylaatioprofiilissa voidaan havaita lisääntynyt osuus kohde-elimestä vapautunutta cfDNA:ta (ylempi nuoli) tai syöväälle ominaisia mutaatioita (alempi nuoli).

Tästä plasmaan liuenneesta DNA:sta käytetään usein nimityksiä cfDNA (solunulkoisen DNA eli cell-free DNA) tai ctDNA (kiertävä kasvain-DNA, circulating tumor DNA), jälkimmäinen viittaa erityisesti DNA:n syöpäkasvain-alkuperään. DNA:n herkat analyysimenetelmät sallivat analyysien tekemisen jo tavanomaisista 5–10 ml:n verinäytteistä. Näistä voidaan puhdistaa riittävästi cfDNA:ta, johon on liennut DNA:ta joka puolella elimistöä tapahtuneista solujen hajoamisista. Eri kudoksista vapautuneen DNA:n määriä ja niiden osuutta sairauksissa on mahdollista selvittää ainakin kahdella eri menetelmällä: suoran DNA-sekvensoinnin ja DNA:n metylaatioprofiloinnin avulla (**KUVA 1**).

Sikiön kromosomihäiriöiden osoittaminen cfDNA:n sekvensoinnilla

Jo 1990-luvun lopulla todettiin, että raskaana olevan naisen veressä on sikiöperäistä DNA:ta, ja ehdotettiin sen mahdollista käyttöä diagnostiikassa (8). Kymmenennellä raskausviikolla

3–10 % äidin veressä olevasta cfDNA:sta on peräisin sikiöstä. Viimeksi kuluneen vuosikymmenen aikana tähän perustuva kajoamaton prenataalinen tutkimus, sikiötesti äidin verestä (non-invasive prenatal testing, NIPT) on yleistynyt sikiön kromosomihäiriöiden seulontatutkimuksena aiempien istukkabiopsioiden ja lapsivesitutkimusten asemesta.

NIPT-menetelmä, jota nykyään useimmiten käytetään, perustuu cfDNA:n sekvensointiin (9). Koko genomia sekvensoitaessa kunkin kromosomin osuus kaikista sekvensseistä on sen koosta riippuvainen. Kun äidin veressä on myös sikiöperäistä DNA:ta, sikiön kromosomiylimäärä näkyy vähäisenä mutta tilastollisesti merkitsevästi erottuvana ylimääräisen kromosomin suurentuneena osuutena kaikista DNA-sekvensseistä.

Testi erottaa kromosomien 21, 13 ja 18 ylimääräisyydet ja sikiön sukupuolen. Äidillä ei normaalisti ole ollenkaan Y-kromosomisekvenssejä, joita poikasikiöllä on. Yhden geenin mutaatioita ei tällä menetelmällä voida osoittaa luotettavasti, koska sekvensoinnin määrä ei yleensä riitä mutaatioiden varmaan osoituk-

TAULUKKO 2. Esimerkkejä sairauksista ja tutkimuksista, joissa on tutkittu solunulkoisen DNA:n (cfDNA) käyttöä diagnostisessa tai ennustetarkoituksessa (14–23). Valitut esimerkit ja niiden tulosten kuvaukset eivät ole kattavia.

Sairaus tai tila	cfDNA:n tutkimusmenetelmä	Tulos	Viite
Alzheimerin tauti	cfDNA-pitoisuus, geeni-metylaatio	cfDNA:n pitoisuus ja <i>LHX2</i> -geenin metylaatio biomarkkereita	14
Aivovaurio	cfDNA-pitoisuus	cfDNA korreloi aivovaurion vaikeuteen ja kuolleisuuteen	15
Laaja kudosisvaurio tai trauma	cfDNA-pitoisuus	Kirurgisten potilaiden cfDNA-pitoisuus suurentunut	16
Fyysinen stressi	cfDNA-pitoisuus	cfDNA-määrä viisinkertaistui väsyttävässä juoksuharjoituksessa	17
Vastasyntyneen CP-vamma	cfDNA:n metylaatioprofiili	Vastasyntyneillä 94–95 %:n diagnostinen tarkkuus ja herkkyys	18
Virtsatieinfektio	cfDNA:n metylaatioprofiili	Infektion voimakkuus virtsateissä määritettävissä cfDNA:n avulla	19
Maksavaurio	cfDNA:n metylaatioprofiili	Maksavaurion vaikeus mitattavissa useissa eri tiloissa	20
Sydänlihassvaurio	cfDNA:n metylaatioprofiili	Infarktin ja sepsiksen yhteydessä selvästi suurentunut sydän-cfDNA:n määrä	21
Keuhkofibroosi, keuhkosyöpä	cfDNA:n metylaatioprofiili	Hyvä erotuskyky eri keuhkosairauksien välillä	22
Syövät	cfDNA:n mutaatiotutkimus	Herkkyys 69–98 % viiden syövän osalta, tarkkuus > 90 %	23

seen vain pienessä prosenttiosuudessa sikiöpörräistä DNA:ta.

cfDNA:n metylaatioprofilointi

Vaikka genomi on sama elimistön jokaisessa solussa, DNA:n metylaatio vaihtelee solutyypin mukaan. Tämän ilmiön biologinen tausta on yksinkertainen: DNA:n sytosiinimästen metylaatio on yksi epigeneettisistä mekanismeista, joiden avulla erilaistuneelle solulle tarpeettomat geenit hiljennetään pysyvästi. Kyse ei siis ole DNA:n emäsjärjestyksen eroista, eikä tällaisia metylaatioeroja näykään tavanomaisissa geenitesteissä sanan yleisessä merkityksessä. Mutta jopa veren valkosolutyypit voidaan erottaa toisistaan niille ominaisten DNA-metylaatioprofiilien avulla (10). Yli sadalle solu- tai kudosisnäytteelle on määritetty niille tyypilliset DNA-metylaatioprofiilit (11).

Myös cfDNA-näytteiden metylaatioprofiili voidaan määrittää esimerkiksi bisulfittisekvensointimenetelmän avulla ja tällä tavoin selvittää vereen liunneen DNA:n kudosisalkuperä (12,13). Neljästä eri solutyypistä peräisin olevan cfDNA:n suhteelliset määrät terveillä raskaana olevilla naisilla jakautuivat tyypillisesti siten, että veren cfDNA:sta 39–60 % oli peräisin neutrofiileista, 20–25 % lymfosyyteistä,

2–8 % maksasta ja raskauden keston mukaan 6–41 % istukasta, suurimmillaan osuus oli viimeisen raskauskolmanneksen aikana (12). cfDNA:ta vapautuu tietysti kaikista elimistön soluista, mutta esimerkiksi sydänlihaksesta huomattavia määriä vain sen vaurioituessa.

Viime aikoina cfDNA:n pitoisuuden mittausta ja metylaatioprofilointi ovat alkaneet kiinnostaa tutkijoita, ja niiden käyttöä diagnostisina ja ennustemarkkereina on alettu tutkia yhä uusilla sovellusalueilla (TAULUKKO 2) (14–23). Kudosiskohtaisen cfDNA:n vapautuminen on merkki vauriosta kudoksen soluissa, ja vaurion synty voi perustua mihin tahansa monesta mekanismista: sen alkuperä voi olla esimerkiksi degeneratiivinen (kuten Alzheimerin taudissa), traumaattinen, hypoksinen (kuten sydän- tai aivoinfarktissa), toksinen tai metabolinen (kuten akuutissa maksavauriossa), tulehduskellinen (kuten raskausmyrkytyksessä) tai neoplastinen.

cfDNA, ctDNA ja syövän varhainen toteaminen

Ensimmäiset havainnot syöpäkasvainperäisistä soluista tai niistä liunneesta DNA:sta potilaiden verenkierrassa ovat jo vuosikymmeniä vanhoja (24). Viime vuosien herkkien DNA:n sekvensointimenetelmien kehitys on johtanut

tutkimusalan laajenemiseen ja nyt jo klinisiin sovelluksiin (25). Hiljattain julkaistiin esimerkiksi tutkimus, jossa kehitettiin syövän varhaiseen toteamiseen seulontatutkimuksena soveltuva menetelmä (23).

Tutkimuksessa oli mukana 1 005 potilasta, joilla oli jokin kahdeksasta tavallisesta syövästä, sekä 812 tervettä verrokkia. Kuusikymmentätyksi tyyppillistä syöpämutaatiokohtaa monistettiin PCR:llä cfDNA:sta sekvensointiin, ja testi tulkittiin positiiviseksi, jos tutkittavan verestä löytyi yksikin mutaatio. Seulontaa tehostettiin vielä kahdeksalla syövän proteiini-markkerilla. Testi löysi syöpätyypin mukaan 69–98 % viidestä tavallisesta syövästä, ja verrokeista toisaalta vain seitsemän (0,8 %) oli testi-positiivisia (23).

Herkkyytensä ja tarkkuutensa osalta testi soveltuisi siten seulontakäyttöön oireettomien syöpien varhaiseksi toteamiseksi. Positiivinen testituloks on tietysti syytä varmistaa uusintatestillä, koska PCR-monistuksen sattumanvarainen virhe on mahdollinen. Toistetusti positiivisen tuloksen saaneiden testattujen vielä oireettoman syövän paikantamiseen ja sen laajuuden selvittämiseen voitaisiin sitten käyttää kuvantamista.

Varhaisvaiheen syöpien löytyminen seulonnan avulla lisäisi mahdollisuuksia kuratiiviseen hoitoon. Vaikka syöpää ei löydetäisiäkään aivan varhaisvaiheessa, sen löytyminen nykyistä aiemmin saattaisi parantaa monien potilaiden hoitomahdollisuuksia pienemmän kasvainmassan vuoksi (25).

Pienet kalvorakkulat: eksosomit, solunulkoiset nesterakkulat

Plasmassa kiertää cfDNA:n lisäksi monimuotoinen ryhmä pieniä, kymmenien–satojen nanometrien läpimittaisia kalvopintaisia nesterakkuloita. Näiden eksosomien tai solunulkoisten nesterakkuloiden katsotaan olevan suurelta osin solujen aktiivisen erityksen tulosta, mutta niitä saattaa myös syntyä solujen hajotessa (**KUVA 1**). Ne sisältävät samoja molekyyleja kuin solulima: valkuaisaineita ja myös mikroRNA (miRNA) -molekyyleja, jotka voivat säädellä geenien toimintaa. Joidenkin solujen

arvellaan erittävän niitä viestiäkseen muiden solujen kanssa, sillä toiset solut voivat ottaa niitä sisään ja näin saada miRNA-viestejä muilta soluilta.

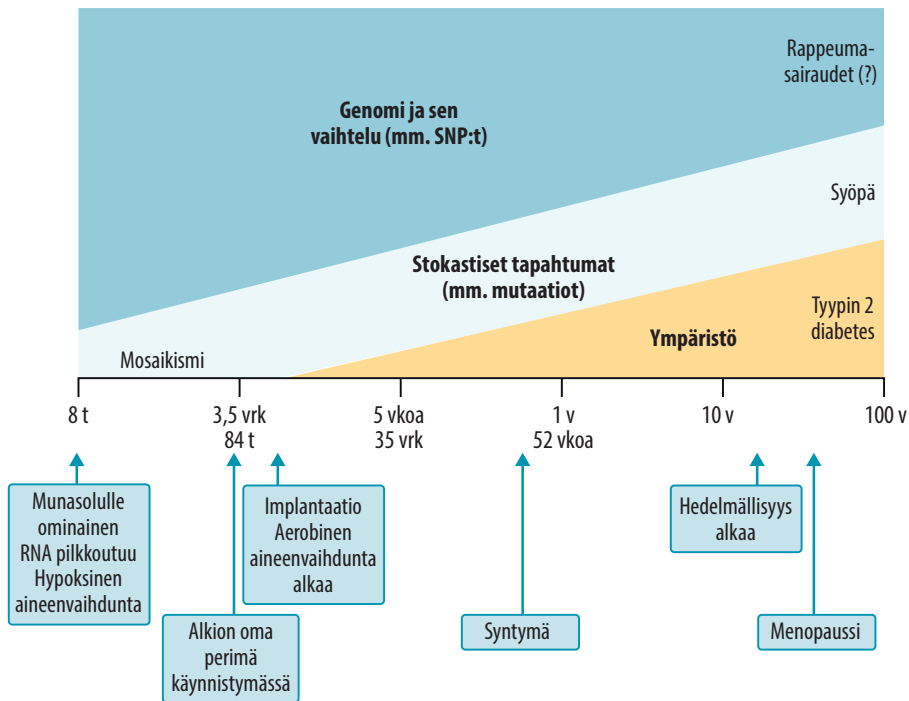
Myös eksosomeja tutkitaan vilkkaasti diagnostiikan työkaluina. Niiden käyttökelpoisuus on kuitenkin vielä paljon epävarmempaa kuin cfDNA:n. Kun cfDNA:n puhdistaminen plasmasta on nopeaa ja yksinkertaista, monivaiheinen kalvorakkuloiden sisällön puhdistaminen alkaa oikeankokoisten kohderakkuloiden eristämällä. Näytteiden käsittelymenetelmät vaihtelevat ja saattavat voimakkaasti vaikuttaa tuloksiin. Rakkuloiden sisältä tavoiteltavat kohdemolekyylit, kuten miRNA, ovat huomattavasti herkempiä hajoamiselle kuin cfDNA, eivätkä tulokset ole aina olleet helposti toistettavia. Siksi näyttääkin toistaiseksi siltä, että kalvorakkuloiden diagnostinen käyttö edellyttää menetelmien yhdenmukaistamista ja lisää jatkotutkimuksia (26,27).

Valkosolujen sisältämän DNA:n tai RNA:n profilointi

Valkosolut toimivat elimistön tulehdusmittarina. Tulehdus kuuluu osana moneen sairausprosessiin. Siksi valkosolujen tarkempi profilointi tutkimalla niiden ilmentämiä geenejä pelkän mikroskooppisen ilmiänsuun asemesta voi kertoa herkästi elimistössä käynnissä olevasta vähäisestäkin tulehduksesta.

Valkosolujen profilointiin sopii hyvin ainakin kaksi menetelmää. Verisolujen DNA-metylaatioprofiilin määrittäminen on herkkä tulehdusreaktion mittari. Esimerkiksi nivelreumapotilaiden veren DNA-metylaatio on merkittävästi alentunut, kun heidän koko genomiaan tarkastellaan. Tämä johtuu lymfosyytteihin verrattuna vähemmän metyloituneiden granulosyyttien yliedustuksesta tulehduksen vuoksi (10,28). Myös syövän yhteydessä havaitut veren valkosolujen vähäiset DNA-metylaatiomuutokset näyttävät heijastelevan pääasiassa tulehdukselle tyyppisiä muutoksia (29).

Toisessa menetelmässä valkosoluista eristetään niiden sisältämä RNA, joka heijastelee solujen toimintaa geenien ilmentymisen kautta. Hiljattain julkaistussa tutkimuksessamme ver-



KUVA 2. Ihmisen elinkaari ja siihen vaikuttavia tekijöitä. Yksinkertaisuuden vuoksi tekijät on ryhmitelty genomien ja sen vaihtelun (esimerkiksi yhden emäksen polymorfismit eli SNP:t), stokastisten ilmiöiden (sattuman vaikutus, esimerkiksi mutaatiot) ja ympäristön (esimerkiksi kemialliset, fysikaaliset, ravitsemukselliset) vaikutuksiin. Aika-akselilla elinkaari on esitetty kymmenkantaisella logaritmiasteikolla (nollapisteenä hedelmöitys), ja eräitä elinkaaren tärkeitä tapahtumia on merkitty näkyviin. Elämän alkuvaiheessa elimistön muodostumista ohjaa ensisijaisesti genomi, joskin sattumanvaraiset mutaatiot saattavat johtaa mosaikismiin. Stokastisilla ilmiöillä tarkoitetaan ylipäättään solujen toiminnan ja esimerkiksi morfogeneesin sattumanvaraisuutta, joka johtaa muun muassa silmien

värikalvojen kuvion, sormenjälkien ja aivojen poimutuksen yksilöllisyyteen. Mutaatioiden synnyn todennäköisyys solunjakautumisessa on vakio, ja syöpä saa tyypillisesti alkunsa somaattisesta mutaatiosta. Sattuman vaikutus esimerkiksi jatkuvasti syntyvien mutaatioiden osuutena pysyy muuttumattomana. Ympäristötekijöistä vain harvat (kuten talidomidi ja alkoholi, muttei vaikkapa säteily) vaikuttavat kehitykseen sikiövaiheessa. Ympäristön vaikutus lisääntyy elinkaaren aikana samalla kun genomien vaikutus suhteellisesti vähenee. Kuvion oikeassa reunassa on esimerkkejä tyypillisistä sairauksista, jotka riippuvat suurelta osin (eivät kuitenkaan pelkästään) jostakin kolmesta päätekijästä.

tasimme vinkuvan hengityskohtauksen akuuttisesti saaneiden 137:n iältään 0,5–3-vuotiaan lapsen veren valkosolujen geenien ilmentymistä kohtauksen yhteydessä ja seurantakäynnillä (3 kk kohtauksesta) otetuissa näytteissä sekä 83 verrokkilapsen näytteissä (30). Akuutin kohtauksen yhteydessä otetut näytteet poikkesivat geenien ilmentymisen perusteella selvästi 3 kk:n kuluttua otetuista seurantanäytteistä ja terveiden verrokkien näytteistä.

Näytteiden välillä eronneet geenit ryhmiteltiin toimintansa ja kliinisten assosiaatioidensa mukaan. Tunnistimme ryhmän genejä, joiden lisääntynyt ilmentyminen ennusti astmalääk-

keiden käyttöä seitsemän vuoden iässä paremmin kuin mitkään tunnetut mittarit.

Genomi, sattuma ja ympäristö tautien synnyssä

Geenien toiminnan ja ympäristön lisäksi monia elimistön tapahtumia ohjaavat stokastiset tai kaoottiset ilmiöt eli sattuma. Kunkin yksittäisen geenin ilmentyminen yksittäisissä soluissa on jaksoittaista eikä jatkuva. Jaksoittaisuus on stokastista eli ajoitukseltaan ja voimakkuudeltaan mahdotonta ennustaa (31).

Yksittäisen geenin ilmentymistä voisi ver-

rata lämpöpatterin toimintaan: mikään geeni ei ole jatkuvasti päällä, kuten ei lämpöpatterikaan, vaan niitä luetaan RNA:ksi solun säätelytarpeen mukaan. Jos lämpöpatterin päälle- ja poiskytkeytymisestä termostaatin perusteella tehtäisiin aikasarja, se olisi stokastinen – patteri ei kytkeydy päälle ja pois tarkan minuuttijaksotuksen mukaisesti, vaan vasteena ympäristön muutoksille. Näin geenitkin tekevät solussa. Stokastisuus solujen toiminnassa johtaa solujen itsenäisiin päätöksiin erilaistumisen ja morfogeneesin aikana. Esimerkki tästä on värikalvon yksilöllinen säiekuviointus.

Eri tekijöiden suhteellista merkitystä eri elämänvaiheissa voidaan havainnollistaa voimakkaasti yksinkertaistaen (KUVA 2). Aivan alkionkehityksen alussa genomien merkitys on suurimmillaan. Solut eivät ilmennä juurikaan reseptorigeneenejä eivätkä siten ole herkkiä ympäristön viestinnälle, ja solujen jakautumista sekä erilaistumista ohjaa geneettinen ohjelma. Mutaatioita tapahtuu samalla tiheydellä solunjakautumisesta toiseen, ja elimistön mosaikismi saa näin alkunsa jo varhaisvaiheen solunjakautumisissa. Solujen jakautuessa ja erilaistuessa stokastiset valinnat alkavat vähitellen vaikuttaa elimistön eri osissa.

Ympäristön vaikutus alkaa alkion kiinnittyä kohtuun, jolloin hormonaaliset, metaboliset ja kemialliset tekijät pääsevät vaikuttamaan äidin välityksellä. Ympäristön merkitys lisääntyy syntymän jälkeen ja korostuu elintapavallinnoissa. Syövät syntyvät pääasiassa mutaatiokuorman seurauksena. Lopulta aikuisiän sairauskirjossa näkyvät ehkä yhtä suurin osuuksin kaikki kolme vaikuttajaa: geenit, sattuma ja ympäristö. Useimmissa sairauksissa ovat tietysti mukana kaikki kolme vaikutusmekanismia.

Lopuksi

Perimämme rakenne on syöpäsoluja lukuun ottamatta staattinen, muuttumaton, mutta elimistömme toiminta on jatkuvasti muuttuvaa, dynaamista. Monet sairausmekanismit perustuvat degeneratiivisiin, tulehduksellisiin, neoplastisiin tai traumaattisiin prosesseihin (TAULUKKO 2) (14–23). Kaikissa näissä tapahtuu solumuutoksia, jotka näkyvät vereen vapautuvan

Ydinasiat

- ▶ Genomitesti kertoo riskistä vain osittain, ei koko riskistä eikä anna diagnoosia.
- ▶ Elimistö muuttuu jatkuvasti, genomi ei – DNA-testi voi kertoa muutoksistakin.
- ▶ Vereen liuenut DNA kertoo kudosten ja solujen vaurioista.
- ▶ Vereen liunneen DNA:n testit tulevat tavanomaisten biokemiallisten mittareiden rinnalle.
- ▶ Mutaatiot paljastavat syövän, ja metylaatiomuutokset kertovat kudosaivourioista.

DNA:n kudosaivourioita osuuden tai valkoisten verisolujen toiminnan muutoksina.

Uusien, herkkien DNA:n sekvensointimenetelmien ansiosta voimme nyt mitata näitä muutoksia. Olemme nopeasti siirtymässä aikaan, jossa tavanomaisten entsyymien, muiden proteiinien ja aineenvaihduntatuotteiden rinnalle saadaan DNA:n ja RNA:n analysointiin perustuvia uusia, tarkkoja laboratoriomenetelmiä.

Kun jonkin elimen toimintaa voitiin aiemmin mitata muutaman entsyymin avulla, nyt solujen hyvinvointia voidaan mitata analysoimalla kudostyyppillistä DNA-metylaatioprofilia käyttämällä mittareina useita, jopa kymmeniä tai satoja yksittäisiä mittauspisteitä perimässä. Tämä lisää mittauksen herkkyyttä ja tarkkuutta. Syöville ominaiset mutaatiot paljastavat ehkä pienetkin kasvaimet, ja menetelmät soveltuvat hoidon jälkeiseen seurantaan. Genomilääketiede tulee klinikkaan elimistön muuttuvaa, dynaamista tilaa mittaavien herkkien DNA- ja RNA-testien muodossa. ■

JUHA KERE, LKT, perinnöllisyyslääketieteen erikoislääkäri
Molekyyligenetiikan professori, Karolinska Institutet, Tukholma
Ryhmänjohtaja, Folkhälsanin tutkimuslaitos, Helsinki, ja kantasolujen ja metabolian tutkimusohjelma STEM, Helsingin yliopisto

SIDONNAISUUDET

Luentopalkkio/asiantuntijapalkkio (Blueprint Genetics), muut sidonnaisuudet (Osakeomistus, Orion Oyj)

VASTUUTOIMITTAJA

Tuomas Mirtti

KIRJALLISUUTTA

1. Online Mendelian Inheritance in Man. OMIM Gene Map Statistics. Johns Hopkins University [päivitetty 16.10.2019]. <https://omim.org/statistics/geneMap>.
2. Khera AV, Chaffin M, Aragam KG, ym. Genome-wide polygenic scores for common diseases identify individuals with risk equivalent to monogenic mutations. *Nat Genet* 2018;50:1219–24.
3. Teo KK, Ounpuu S, Hawken S, ym. Tobacco use and risk of myocardial infarction in 52 countries in the INTERHEART study: a case-control study. *Lancet* 2006;368:647–58.
4. Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115–26.
5. Antonopoulos AS, Sanna F, Sabharwal N, ym. Detecting human coronary inflammation by imaging perivascular fat. *Sci Transl Med* 2017;9:eaal2658.
6. Tate JG, Bamford S, Jubb HC, ym. COSMIC: the catalogue of somatic mutations in cancer. *Nucleic Acids Res* 2019;47:D941–7.
7. Tomasetti C, Li L, Vogelstein B. Stem cell divisions, somatic mutations, cancer etiology, and cancer prevention. *Science* 2017;355:1330–4.
8. Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, ym. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet* 1997;350:485–7.
9. Deans ZC, Allen S, Jenkins L, ym. Recommended practice for laboratory reporting of noninvasive prenatal testing of trisomies 13, 18 and 21: a consensus opinion. *Prenat Diagn* 2017;37:699–704.
10. Reinius LE, Acevedo N, Joerink M, ym. Differential DNA methylation in purified human blood cells: implications for cell lineage and studies on disease susceptibility. *PLOS ONE* 2012;7:e41361.
11. Kundaje A, Meuleman W, Ernst J, ym. Integrative analysis of 111 reference human epigenomes. *Nature* 2015;518:317–30.
12. Sun K, Jiang P, Chan KC, ym. Plasma DNA tissue mapping by genome-wide methylation sequencing for noninvasive prenatal, cancer, and transplantation assessments. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015;112:E5503–12.
13. LehmannWerman R, Neiman D, Zemmour H, ym. Identification of tissue specific cell death using methylation patterns of circulating DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016;113:E1826–34.
14. Pai MC, Kuo YM, Wang IF, ym. The role of methylated circulating nucleic acids as a potential biomarker in Alzheimer's disease. *Mol Neurobiol* 2019;56:2440–9.
15. Regner A, Meirelles LDS, Ikuta N, ym. Prognostic utility of circulating nucleic acids in acute brain injuries. *Expert Rev Mol Diagn* 2018;18:925–38.
16. Brodbeck K, Kern S, Schick S, ym. Quantitative analysis of individual cell-free DNA concentration before and after penetrating trauma. *Int J Legal Med* 2019;133:385–93.
17. Hummel EM, Hesses E, Müller S, ym. Cell-free DNA release under psychosocial and physical stress conditions. *Transl Psychiatry* 2018;8:236.
18. Bahado-Singh RO, Vishweswaraiyah S, Aydas B, ym. Deep learning/artificial intelligence and blood-based dna epigenomic prediction of cerebral palsy. *Int J Mol Sci* 2019;20:E2075.
19. Cheng AP, Burnham P, Lee JR, ym. A cell-free DNA metagenomic sequencing assay that integrates the host injury response to infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2019;116:18738–44.
20. Lehmann-Werman R, Magenheim J, Moss J, ym. Monitoring liver damage using hepatocyte-specific methylation markers in cell-free circulating DNA. *JCI Insight* 2018;3:120687.
21. Zemmour H, Planer D, Magenheim J, ym. Non-invasive detection of human cardiomyocyte death using methylation patterns of circulating DNA. *Nat Commun* 2018;9:1443.
22. Wielscher M, Vierlinger K, Kegler U, ym. Diagnostic performance of plasma DNA methylation profiles in lung cancer, pulmonary fibrosis and COPD. *EBioMedicine* 2015;2:929–36.
23. Cohen JD, Li L, Wang Y, ym. Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test. *Science* 2018;359:926–30.
24. Barlebo Ahlborn L, Østrup O. Toward liquid biopsies in cancer treatment: application of circulating tumor DNA. *APMIS* 2019;127:329–36.
25. Mattox AK, Bettogowda C, Zhou S, ym. Applications of liquid biopsies for cancer. *Sci Transl Med* 2019;11:eaay1984.
26. Tkach M, Kowal J, Théry C. Why the need and how to approach the functional diversity of extracellular vesicles. *Phil Trans R Soc* 2017;B373:20160479.
27. Jansen F, Li Q. Exosomes as diagnostic biomarkers in cardiovascular diseases. *Adv Exp Med Biol* 2017;998:61–70.
28. Liu Y, Aryee MJ, Padyukov L, ym. Epigenome-wide association data implicate DNA methylation as an intermediary of genetic risk in rheumatoid arthritis. *Nature Biotechnol* 2013;31:142–7.
29. Li H, Zheng T, Chen B, ym. Similar blood-borne DNA methylation alterations in cancer and inflammatory diseases determined by subpopulation shifts in peripheral leukocytes. *Br J Canc* 2014;111:525–31.
30. Katayama S, Stenberg Hammar K, ym. Acute wheeze-specific gene module shows correlation with vitamin D and asthma medication. *Eur Resp* 2020;55:1901330.
31. Raj A, Peskin CS, Tranchina D, ym. Stochastic mRNA synthesis in mammalian cells. *PLOS Biol* 2006;4:e309.