

Genetische Diagnostik der KHK in Forschung und Praxis

# Stellenwert des genetischen Profilings bei der koronaren Herzerkrankung

Fortschritte in Technik und Forschung haben zur Identifikation von Varianten und Mutationen geführt, die eine Assoziation mit komplexen, kardiovaskulären Erkrankungen zeigen. Während die Bedeutung dieser Befunde hinsichtlich der Pathophysiologie Gegenstand von aktuellen Forschungsprojekten ist, drängen genetische Tests immer mehr in den klinischen Alltag vor. Wir möchten hier einen Überblick über die neuesten Entwicklungen in der Genetik der koronaren Herzerkrankung geben und zeigen, wie diese in der Zukunft klinisch von Nutzen sein könnten.

Les progrès de la technologie et de la recherche ont conduit à l'identification de variantes et de mutations qui présentent une association avec des maladies cardiovasculaires complexes. Bien que l'importance de ces résultats en matière de pathophysiologie soit l'objet de projets de recherche actuels, les tests génétiques avancent de plus en plus dans la pratique clinique quotidienne. Nous aimerions donner un aperçu des derniers développements dans la génétique des maladies coronariennes et montrer de quelle manière ceux-ci pourraient être utiles en clinique à l'avenir.

Die Tatsache, dass Erkrankungen eine genetische Komponente besitzen, beruht auf der Beobachtung, dass enge Verwandte von Betroffenen einer bestimmten Erkrankung ein höheres Risiko besitzen, selbst zu erkranken. Man unterscheidet prinzipiell monogene Erkrankungen, bei denen die Änderung der Funktion eines Gens zum Auftreten der Erkrankung führt, von Erkrankungen, bei denen die erbliche Komponente auf einen Summationseffekt von einer Vielzahl von genetischen Varianten beruhen kann. Bei solchen Erkrankungen kommt zudem hinzu, dass sie oftmals multifaktoriell bedingt sind und neben der Genetik weitere Einflussfaktoren das Auftreten begünstigen oder verhindern können. Zu beachten ist jedoch, dass auch monogene Erkrankungen eine Heterogenität aufweisen können, d.h., dass Mutationen in verschiedenen Genen den gleichen Phänotyp auslösen können.

Die koronare Herzerkrankung (KHK) nimmt unter den kardiovaskulären Erkrankungen, zusammen mit dem Schlaganfall und dem Vorhofflimmern, eine besondere Stellung ein. Es handelt sich um eine Erkrankung, die unbestritten eine erbliche Komponente hat. So konnten Familienstudien bereits früh zeigen, dass das Risiko einer Person, einen Herzinfarkt zu erleiden, umso grösser ist, je näher der Verwandtschaftsgrad weiterer Betroffener ist, so z.B. bei eineiigen Zwillingen (1, 2). Hinzu kommt jedoch, dass die KHK wie oben beschrieben eine multifaktorielle Erkrankung ist, die neben der Genetik von einer Vielzahl von modifizierbaren Risikofaktoren, wie z.B. dem Blutdruck, Rauchen oder dem Diabetes mellitus (3), und nicht-modifizierbaren Risikofaktoren – hier sind neben der genetischen Prädisposition insbesondere Alter und Geschlecht zu nennen – beeinflusst wird.



Dr. med. Thorsten Kessler  
München



Prof. Dr. med. Heribert Schunkert  
München

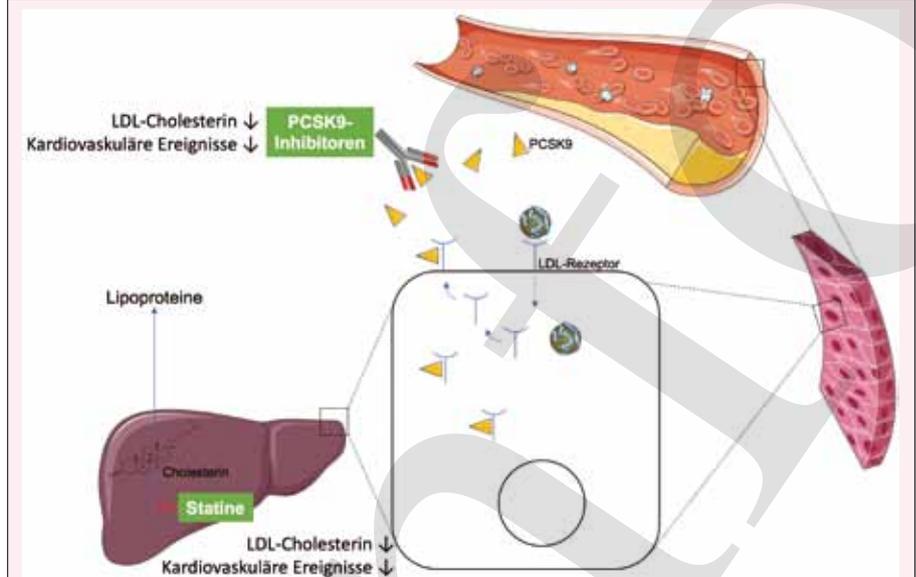
## Familienstudien und seltene Varianten

Die Untersuchung von Familien mit einer hohen Prävalenz von Risikofaktoren für die KHK bzw. mit einer gehäuften Manifestation in jungem Alter war bereits frühzeitig eine vielversprechende Methode zur Identifikation genetischer Faktoren, die die Entwicklung der KHK begünstigen. In der Tat sind die Ergebnisse solcher Studien weiterhin gültig und stellen die Grundlage von etablierten und neu in das Rampenlicht tretenden Therapien dar. Als ein frühes Beispiel kann wohl die Identifikation von Mutationen im LDLR-Gen, das für den LDL-Rezeptor kodiert, gelten. Der LDL-Rezeptor ist üblicherweise auf der Oberfläche von Zellen, z.B. Hepatozyten exprimiert und nimmt aus dem Blutstrom mit Cholesterin beladene Low Density-Lipoproteine (LDL) in die Zelle auf. Bereits in den Achtzigerjahren konnte gezeigt werden, dass Loss of function-Mutationen im LDLR-Gen die familiäre Hypercholesterinämie auslösen können (4, 5). Dieser Stoffwechselweg hat in den vergangenen Jahren wieder verstärkte Aufmerksamkeit erlangt (Abb. 1): In einer weiteren grossen Familie mit hoher Prävalenz von familiärer Hypercholesterinämie, KHK und Schlaganfall wurde eine Mutation im PCSK9-Gen identifiziert (6). Während zu diesem Zeitpunkt der Mechanismus noch nicht genau bekannt war, brachte eine weitere Studie drei Jahre später wichtige zusätzliche Informationen: die Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Studie konnte zeigen, dass 2,6% der 3.363 untersuchten Individuen Nonsense-Mutationen, also Mutationen die offensichtlich zu einem Funktionsverlust von PCSK9 führen, aufweisen und, dass diese Mutationen von einer Reduktion des LDL-Cholesterins um 28% und des KHK-Risikos um 88 % begleitet waren (7). Mittlerweile konnte gezeigt werden, dass PCSK9 sowohl intra- als auch extrazellulär an den LDL-Rezeptor bindet und zu seiner Internalisierung sowie Degradation führt. Die Folge der verringerten Verfügbarkeit von LDL-Rezeptoren ist eine Hypercholesterinämie. Während Statine, die die endogene Cholesterin-Synthese hemmen, seit Jahren hinsichtlich ihrer Wirksamkeit bezüglich Senkung des LDL-Cholesterins und ihrer positiven Effekte in der Sekundärprävention der koronaren Herzerkrankung etabliert sind, drängt nun eine neue Klasse von das

LDL-Cholesterin beeinflussenden Pharmaka auf den Markt. Mit Alirocumab und Evolocumab sind zwei monoklonale Antikörper verfügbar, die zu einer Reduktion der PCSK9-Spiegel führen. Für Evolocumab, der das LDL-Cholesterin um ca. 60% reduziert, konnte kürzlich gezeigt werden, dass er auch das Auftreten von kardiovaskulären Komplikationen um 15 % verringerte (8).

Auch in Genen, die bisher nicht im Rahmen von pathophysiologischen Überlegungen mit der KHK in Verbindung gebracht wurden, konnten jedoch kausale Mutationen identifiziert werden. Ein Beispiel stellt hier das GUCY1A3-Gen dar. In dem Gen, das für eine Untereinheit der löslichen Guanylatzyklase kodiert, welche wiederum in Thrombozyten und glatten Gefäßmuskelzellen antiatherosklerotische Effekte hat, wurde eine Mutation entdeckt, die zusammen mit einer Mutation in dem für ein die lösliche Guanylatzyklase stabilisierenden Chaperon-Protein kodierenden Gen (CCT7), in einer grossen Familie in 100% der Fälle zum Auftreten von KHK oder MI in jungem Alter führte (9). Während auch hier seltene, kodierende Varianten existieren, die ähnliche Effekte haben könnten (9, 10), ist eine therapeutische Nutzung derzeit noch nicht absehbar.

**ABB. 1 Funktion der Statine und der PCSK9-Inhibitoren im Abbau von LDL**



Pharmakologische Modulation des LDL-Cholesterinstoffwechsels. Statine inhibieren in der Leber die endogene Synthese von Cholesterin, was zu erniedrigten LDL-Cholesterinspiegeln und einer Reduktion der Rate kardiovaskulärer Ereignisse führt. PCSK9 ist ein Protein, das sowohl in der Zirkulation als auch intrazellulär an LDL-Rezeptoren bindet und so deren Abbau fördert. Durch die verminderte Verfügbarkeit von LDL-Rezeptoren wird weniger Cholesterin aus der Zirkulation entfernt, was zur Hypercholesterinämie führt. PCSK9-Inhibitoren binden an PCSK9 und heben so dessen Wirkung auf, was in Studien zu ebenfalls zu einer deutlichen Reduktion des LDL-Cholesterins sowie der Rate kardiovaskulärer Ereignisse geführt hat. Enthält Bildmaterial von Servier Medical Art; © Creative Commons Attribution Unported License.

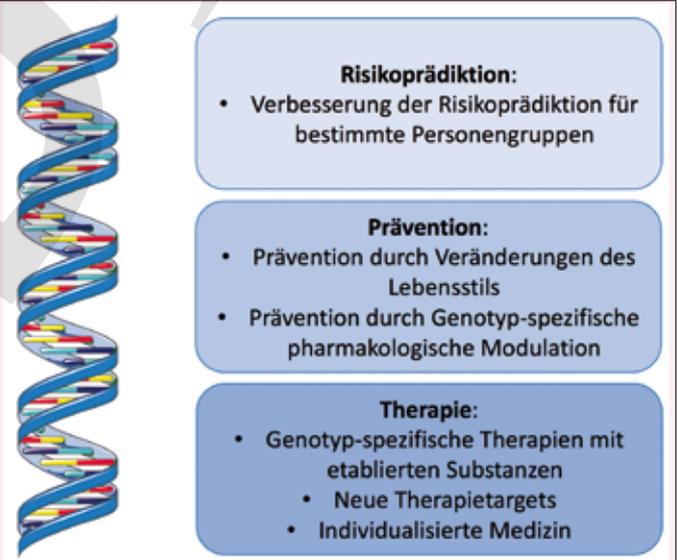
### Häufige Varianten

Zur Entdeckung von häufigen Varianten, die das KHK-Risiko beeinflussen, wird seit etwa zehn Jahren erfolgreich ein anderer Ansatz durchgeführt: Die Entwicklung von Genotypisierung-Chips, die in wenigen Tagen die genomweite Genotypisierung von Tausenden Patienten und Kontrollen ermöglichen, hat die Durchführung von genomweiten Assoziationsstudien (GWAS) ermöglicht, die die Häufigkeiten von genetischen Varianten in Fall- und Kontroll-Kohorten vergleichen. Während diese Studien in den frühen Jahren auf die auf den Chips vorhandenen 250 000–750 000 genetischen Marker begrenzt war, hat die Entschlüsselung des menschlichen Genoms es ermöglicht, den Genotyp für andere Varianten zu vervollständigen (Imputation). Mittlerweile konnten so über 90 genomische Loci mit hoher statistischer Sicherheit mit der KHK assoziiert werden (zum Überblick siehe (11, 12)). Interessanterweise ist nur etwa ein Drittel dieser Varianten mit traditionellen Risikofaktoren wie Hypercholesterinämie oder Bluthochdruck in Verbindung zu bringen (13). Derzeit steht daher die Entschlüsselung der den Assoziationen zugrundeliegenden Mechanismen im Fokus von Forschungsprojekten.

### Einflüsse auf Risikoprädiktion, Prävention und Therapie

Neben dem Kenntniserwerb hinsichtlich der Pathophysiologie ist die Verbesserung von Prävention und Therapie eine grosse Hoffnung (Abb. 2). Ein genetischer Risikoscore, der 49 310 genetische Varianten beinhaltet, konnte erfolgreich mit der Zeit bis zum Auftreten eines kardiovaskulären Ereignisses assoziiert werden. Interessanterweise war dieser Befund auch nach Adjustierung für andere klinische Parameter, unter anderem für eine positive Familienana-

**ABB. 2 Verbesserung von Prävention und Therapie**



Mögliche Einsatzgebiete genetischer Diagnostik häufiger Varianten bei komplexen kardiovaskulären Erkrankungen wie der koronaren Herzkrankung. Enthält Bildmaterial von Servier Medical Art; © Creative Commons Attribution Unported License.

mnese, stabil (14). Die Untersuchung einer enorm grossen Zahl von genetischen Markern scheint also sehr vielversprechend zu sein, während viele kleinere Studien mit bis zu 20 genetischen Markern keine vielversprechenden Ergebnisse zeigen konnten (zum Über-

blick siehe (15)). Auch in der Prävention könnte die Kenntnis des genetischen Risikoprofils tatsächlich von Vorteil sein. In einer grossen genetischen Studie konnte gezeigt werden, dass Individuen mit einem ungünstigen genetischen Risikoprofil bei einem gesunden Lebensstil ein vergleichbares 10-Jahres-Risiko für koronare Ereignisse haben, wie eine Person, die ein günstiges genetisches Risikoprofil aufweist, jedoch einen ungesunden Lebensstil hat. Ebenso wichtig ist jedoch, dass Individuen mit einem ungünstigen genetischen Risikoprofil ihr 10-Jahres-Risiko durch einen gesunden Lebensstil annähernd halbieren können (16). Auch die Therapie könnte schliesslich durch die Kenntnis des genetischen Risikoprofils verbessert werden. Neben der Entwicklung neuer Medikamente durch die Entschlüsselung weiterer pathophysiologischer Signalwege könnten bestehende Therapien in Kenntnis des Genotyps bzw. des genetischen Risikoprofils individualisiert eingesetzt werden. Erste Hoffnungen hat eine Studie gemacht, die aufgrund des genetischen Profils Patienten identifizieren konnte, die besonders von einer lipidsenkenden Therapie mit Statinen profitieren (17). All die hier skizzierten Beispiele sind bisher insbesondere Bestandteil von Forschungsprojekten und eine Genotypisierung von häufigen Varianten bei KHK-Patienten wird derzeit mangels klinischer Konsequenz (noch?) nicht empfohlen (18, 19). Eine wichtige Ausnahme stellt die familiäre Hypercholesterinämie dar, bei der eine gezielte genetische Diagnostik indiziert ist (18).

### Technische Möglichkeiten

Die Techniken der Molekulargenetik umfassen derzeit insbesondere Methoden zur Hochdurchsatz-Genotypisierung und -sequenzierung. Bei den Sequenziermethoden haben die Verfahren, die üblicherweise unter dem Begriff Next Generation Sequencing subsumiert werden und eine Weiterentwicklung der ursprünglich von Frederick Sanger beschriebenen Methode der Kettenabbruch-Synthese darstellen, die Möglichkeiten genetischer Untersuchungen in Forschung und Diagnostik wesentlich erweitert. So wurden Sequenzierungen aller kodierenden Sequenzen eines Genoms (Exom-Sequenzierungen) und des gesamten Genoms (Ganz-Genom-Sequenzierungen) zu einem im Rahmen von Forschungsprojekten vertretbaren Preis ermöglicht. Während

die Sequenzierung von kodierenden Sequenzen bestimmter Gene heute schon zu den Standardmethoden in der genetischen Diagnostik von beispielsweise Herzrhythmusstörungen wie dem Long QT-Syndrom gehört, ist die Ganz-Genom-Sequenzierung derzeit noch insbesondere auf Forschungsprojekte beschränkt. Mehr und mehr bieten jedoch auch Firmen genetische Untersuchungen für Privatpersonen an. Insbesondere im Bereich der genomweiten Genotypisierung haben kommerzielle Angebote in den vergangenen Jahren für Aufsehen gesorgt. Die US-amerikanische Firma 23andme bietet z.B. eine genomweite Genotypisierung mit einem Chip an, der über 700 000 genetische Varianten in einer Untersuchung bestimmen kann. Solche Chips haben in den vergangenen zehn Jahren zusammen mit der Fortentwicklung statistischer Methoden auch zur Entdeckung einer Vielzahl von häufigen genetischen Varianten geführt, die mit hoher statistischer Signifikanz mit der koronaren Herzerkrankung assoziiert sind (zum Überblick siehe (11)). Nachdem die technischen Möglichkeiten geschaffen sind, ist zum einen die Nutzung dieser Methoden in grossen Kollektiven zur Identifikation der genetischen Basis kardiovaskulärer Erkrankungen von Bedeutung; zum anderen spielt jedoch auch die verantwortungsvolle und effektive Nutzung der Daten zur Verbesserung von Prävention, Diagnostik und Therapie eine entscheidende Rolle.

#### Dr. med. Thorsten Kessler

Deutsches Herzzentrum München, Klinik für Herz- und Kreislauferkrankungen, Technische Universität München Lazarettstr. 36, 80636 München  
thorsten.kessler@tum.de

#### Prof. Dr. med. Heribert Schunkert

Deutsches Herzzentrum München, Klinik für Herz- und Kreislauferkrankungen, Technische Universität München München  
Deutsches Zentrum für Herz-Kreislauf-Forschung (DZHK) e.V., Munich Heart Alliance, München

**+** **Interessenskonflikt:** Die Autoren haben keine Interessenskonflikte im Zusammenhang mit diesem Beitrag deklariert.

### Take-Home Message

- ◆ Die koronare Herzerkrankung ist eine komplexe kardiovaskuläre Erkrankung, die durch eine Vielzahl von Einflussfaktoren determiniert ist
- ◆ Genetische Untersuchungen haben zur Identifikation sowohl von Mutationen als auch seltenen und häufigen Varianten als Ursache für die koronare Herzkrankheit geführt
- ◆ Nur etwa ein Drittel der identifizierten Varianten ist mit traditionellen Risikofaktoren wie Bluthochdruck oder Hypercholesterinämie assoziiert
- ◆ Häufige Varianten werden derzeit insbesondere hinsichtlich ihrer pathophysiologischen Bedeutung und ihrem Nutzen in Risikoprädiktion und Prävention untersucht
- ◆ PCSK9-Inhibitoren sind eine neue Klasse von Cholesterin-beeinflussenden Pharmaka, die auf der Grundlage von Ergebnissen genetischer Analysen entwickelt wurden
- ◆ Die Genetik ist neben Alter und Geschlecht einer der wesentlichen nicht-modifizierbaren Risikofaktoren für die koronare Herzerkrankung, allerdings hat die Entschlüsselung genetischer Mechanismen auch zu neuen Therapieansätzen geführt

### Messages à retenir

- ◆ La maladie coronarienne est une maladie cardiovasculaire complexe, déterminée par divers facteurs d'influence
- ◆ Les études génétiques ont conduit à l'identification de mutations ainsi que de variantes rares et fréquentes comme cause de la maladie coronarienne
- ◆ Environ un tiers des variantes identifiées seulement sont associées à des facteurs de risque traditionnels tels que l'hypertension ou l'hypercholestérolémie
- ◆ Des variantes fréquentes sont actuellement étudiées, en particulier en ce qui concerne leur signification pathophysiologique et leur utilité dans la prévision et la prévention des risques
- ◆ Les inhibiteurs de la PCSK9 sont une nouvelle classe de médicaments affectant le cholestérol qui étaient développés sur la base de résultats d'analyse génétique
- ◆ En plus de l'âge et du sexe, la génétique est l'un des facteurs de risque non modifiables les plus importants pour les maladies coronariennes, mais le décodage des mécanismes génétiques a également conduit à de nouvelles approches thérapeutiques

**Literatur:**

1. Murabito JM, Pencina MJ, Nam B-H, et al (2005) Sibling cardiovascular disease as a risk factor for cardiovascular disease in middle-aged adults. *JAMA* 294:3117–3123. doi: 10.1001/jama.294.24.3117
2. Mayer B, Erdmann J, Schunkert H (2007) Genetics and heritability of coronary artery disease and myocardial infarction. *Clin Res Cardiol* 96:1–7. doi: 10.1007/s00392-006-0447-y
3. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, et al (2004) Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* 364:937–952. doi: 10.1016/S0140-6736(04)17018-9
4. Brown MS, Goldstein JL (1974) Expression of the familial hypercholesterolemia gene in heterozygotes: mechanism for a dominant disorder in man. *Science* 185:61–63.
5. Brown MS, Goldstein JL (1986) A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 232:34–47.
6. Abifadel M, Varret M, Rabès J-P, et al (2003) Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet* 34:154–156. doi: 10.1038/ng1161
7. Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley TH, Hobbs HH (2006) Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease. *N Engl J Med* 354:1264–1272. doi: 10.1056/NEJMoa054013
8. Sabatine MS, Giugliano RP, Keech AC, et al (2017) Evolocumab and Clinical Outcomes in Patients with Cardiovascular Disease. *N Engl J Med* 376:1713–1722. doi: 10.1056/NEJMoa1615664
9. Erdmann J, Stark K, Esslinger UB, et al (2013) Dysfunctional nitric oxide signaling increases risk of myocardial infarction. *Nature* 504:432–436. doi: 10.1038/nature12722
10. Wobst J, Ameln von S, Wolf B, et al (2016) Stimulators of the soluble guanylyl cyclase: promising functional insights from rare coding atherosclerosis-related GUCY1A3 variants. *Basic Res Cardiol* 111:51. doi: 10.1007/s00395-016-0570-5
11. Kessler T, Vilne B, Schunkert H (2016) The impact of genome-wide association studies on the pathophysiology and therapy of cardiovascular disease. *EMBO Mol Med* 8:688–701. doi: 10.15252/emmm.201506174
12. Khera AV, Kathiresan S (2017) Genetics of coronary artery disease: discovery, biology and clinical translation. *Nat Rev Genet* 1–14. doi: 10.1038/nrg.2016.160
13. Webb TR, Erdmann J, Stirrups KE, et al (2017) Systematic Evaluation of Pleiotropy Identifies 6 Further Loci Associated With Coronary Artery Disease. *J Am Coll Cardiol* 69:823–836. doi: 10.1016/j.jacc.2016.11.056
14. Abraham G, Havulinna AS, Bhalala OG, et al (2016) Genomic prediction of coronary heart disease. *Eur Heart J* 37:3267–3278. doi: 10.1093/eurheartj/ehw450
15. Kessler T, Schunkert H (2012) Clinical validation of genetic markers for improved risk estimation. *Eur J Prev Cardiol* 19:25–32. doi: 10.1177/2047487312448993
16. Khera AV, Erdin CA, Drake I, et al (2016) Genetic Risk, Adherence to a Healthy Lifestyle, and Coronary Disease. *N Engl J Med* 375:2349–2358. doi: 10.1056/NEJMoa1605086
17. Mega JL, Stitzel NO, Smith JG, et al (2015) Genetic risk, coronary heart disease events, and the clinical benefit of statin therapy: an analysis of primary and secondary prevention trials. *Lancet* 385:2264–2271. doi: 10.1016/S0140-6736(14)61730-X
18. Schulze-Bahr E, Klaassen S, Abdul-Khaliq H, Schunkert H (2015) Gendiagnostik bei kardiovaskulären Erkrankungen. *Der Kardiologe* 9:213–243. doi: 10.1007/s12181-014-0636-2
19. Trenkwalder T, Kessler T, Schunkert H (2017) Genetic testing in polygenic diseases. *Herz* 359:641. doi: 10.1007/s00059-017-4576-z