

Jørn A. Aas, Per Magnus, Anne B. Skaare, Preet Bano Singh og Ingar Olsen

Tannhelsestudien for påvisning av genetisk disposisjon for sykdommer i munnhulen

Tannhelsestudien er et internasjonalt samarbeidsprosjekt som utgår fra Den norske mor-og-barn-undersøkelsen. Tvillinger i alderen 1–7 år og deres foresatte fra Oslo og Akershus vil bli invitert til å delta i studien. Tannhelsestudien vil i første omgang fokusere på karies, men det vil bli samlet inn en rekke kliniske prøver fra munnhulen. De vil bli lagret i en omfattende biobank for fremtidige studier. Basert på en rekke kliniske parametere vil studien beskrive samspillet mellom ulike etiologiske faktorer relatert til orale sykdommer. Data fra tvillinger åpner for å evaluere genetiske bidrag til utvikling av orale sykdommer. Tannhelsestudien er et unikt prosjekt som vil inkludere tvillinger fra tre kontinenter og tre forskjellige folkegrupper.

Den norske mor-og-barn-undersøkelsen

Den norske mor-og-barn-undersøkelsen (MoBa) ved Nasjonalt folkehelseinstitutt har som mål å rekruttere 100 000 gravide kvinner, deres partnere og barn. Hovedmålet med studien er å forebygge helseskade hos mor eller barn. Siden oppstarten i Hordaland i juli 1999 og frem til 1. mars 2006 har nesten 67 000 mødre meldt seg til denne landsdekkende undersøkelsen (1). For å finne årsaker til sykdommer etablerer vi nå en norsk forskningsdatabank med informasjon av høy kvalitet om norske barn og deres foreldre. Ved å følge familiene fremover i tid vil sentrale elementer i årsakskjeder bak komplekse sykdommer kunne undersøkes (2,3).

Forfattere

Jørn A. Aas, ph.d, tannlege, postdoktor, prosjektleder Tannhelsestudien, Institutt for oral biologi, Universitetet i Oslo
Per Magnus, prosjektleder Den norske mor-og-barn-undersøkelsen. Divisjon for epidemiologi, Nasjonalt folkehelseinstitutt, Oslo

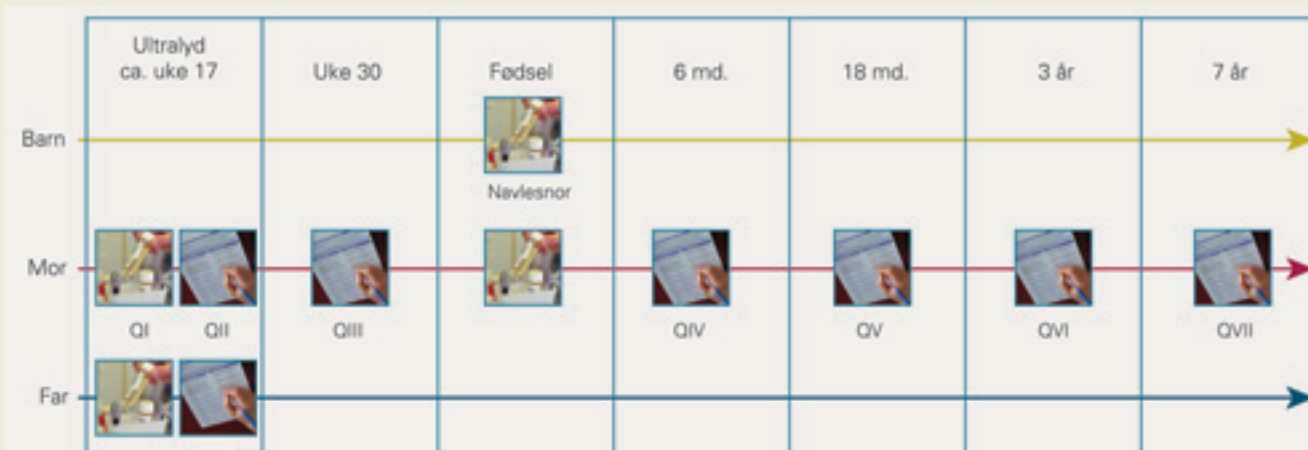
Anne B. Skaare, dr.odont., førsteamanuensis. Avd. for pedodonti og atferdsfag, Institutt for klinisk odontologi, Universitetet i Oslo
Preet Bano Singh, tannlege, stipendiat. Institutt for oral biologi, Universitetet i Oslo

Ingar Olsen, dr.odont., professor, forskningsdekan. Institutt for oral biologi, Universitetet i Oslo

Deltagere i mor-barn-undersøkelsen blir rekruttert i forkant av den første ultralydundersøkelsen i uke 16–18 av svangerskapet. Deltagelse innebærer at den kommende mor avgir en urinprøve og en blodprøve i uke 17 samt en blodprøve etter fødsel (Figur 1) (2). Frem til barna fyller syv år vil foreldrene i tillegg besvare syv spørreskjema (Figur 1). Deltagere i hovedundersøkelsen vil kunne motta invitasjoner til å delta i ulike delprosjekter. Fra hovedundersøkelsen er det allerede etablert mange klinisk relaterte delprosjekter. «ABC-studien» (Autism Birth Cohort study) er en av tidenes største forskningsprosjekter på forstyrrelser i nevrologisk utvikling. Autisme eller autismespekterforstyrrelser er et samlebegrep for et spektrum av komplekse utviklingsforstyrrelser og vil stå i fokus i «ABC-studiens» første fase (1). I «MIDIA-studien» (Miljøårsaker til Type 1 diabetes) studien skal 100 000 barn genestest for å identifisere kandidater med høy genetisk risiko. Det finnes holdepunkter for at ødeleggelsen av de insulin-produserende celler starter så tidlig som i mors liv og delprosjektet har en unik mulighet til å følge barn fra unnfangelsen til debut av Type 1 diabetes (1). Et annet delprosjekt, «Morsmelkundersøkelsen», vil analysere morsmelk fra 6 000 kvinner fra ulike fylker. Målet med undersøkelsen er å studere morsmelkens innhold av miljøforurensninger (1). Videre

Hovedbudskap

- Tannhelsestudien er et delprosjekt av den norske mor-og-barn-undersøkelsen
- 750 tvillingpar i alderen 1–7 år og deres foreldre fra Oslo og Akershus inviteres til å delta i en internasjonal undersøkelse med vekt på orale problemstillinger
- Samhandlingen mellom etiologiske faktorer som er relatert til komplekse orale sykdommer som karies og periodontitt, er i stor grad ukjent og vil bli utredet
- Tvillingstudier har et potensial til å inkludere en multidiemnsjonal gen-miljøtilnærming til komplekse sykdommer
- Tvillingene som deltar i denne internasjonale studien, representerer tre ulike kontinenter



Figur 1. Skjematisk oversikt over datainnsamlingen i den norske mor-og-barn-undersøkelsen (MoBa) (3). Mer informasjon på www.fhi.no/morogbarn (1). Figuren er tidligere trykket i *Tidsskrift for Den norske lægeforening*, 2006; 126: 1747–9.

knyttet det stor odontologisk interesse til innsamlingen av en blod- og en urinprøve fra mor i forbindelse med den første ultralydunder-søkelsen i svangerskapet. Disse biologiske prøvene er øremerket undersøkelser av miljøgifter. Hensikten er å bekrefte, eller avkrefte, eventuelle sammenhenger mellom påvirkninger av miljøgifter i svangerskapet og barnets senere helse (1). Ett av målene til denne studien vil være å gi svar på om amalgamfyllinger er toksiske. Det foreløpig siste delprosjektet som er etablert i mor-og-barn-undersøkelsen, er Tannhelsestudien. Tannhelsestudien vil ha oppstart høsten 2006. Prøvetaking og analyser vil finne sted ved Det odontologiske fakultet, Universitetet i Oslo.

En kohortundersøkelse

En kohort er en gruppe personer som er definert i forhold til noen grunnleggende kjennetegn, for eksempel at de er født i en viss tidsperiode, og at de følges fremover i tid. En kohortstudie kan f. eks. følge en gruppe barn fra fødselen av og registrere et vidt spektrum av informasjon (eksponeringer) frem til eventuell utvikling av sykdom. Innen kohorten kan man sammenligne undergrupper av barn med ulik eksponering. Et eksempel vil være å sammenligne sykdomstendens innen par av eneggede og toeggede tvillinger for å kunne si noe om genetisk disposisjon for ulike sykdommer.

For å vise at en spesifikk eksponering kan være årsak til en spesifikk sykdom, er kontrollerte, randomiserte forsøk foretrukket for å kunne sammenligne to grupper. Men det er ikke alltid praktisk mulig eller etisk akseptabelt å utføre kontrollerte, randomiserte forsøk for å gi svar på årsaksspørsmål.

En kohortundersøkelse er en forskningsmetode som står i kontrast til tverrsnittundersøkelser eller retrospektive studier. Den fokuserer på sammenhenger mellom eksponeringer og sykdom hos personer som er friske eller som allerede er blitt syke. Ved kohortstudier defineres grupper av personer på basis av eksponering før informasjon om klinisk tilstand er samlet inn. Friske personer følges i en gitt peri-

ode, og et stort antall eksponeringer (årsak/etiologiske faktorer) registreres frem mot et endepunkt eller til sykdom er utviklet. I tillegg til årsaksforskning kan en kohort benyttes til undersøkelser av kliniske forløp av sykdommer, til observerende studier av effekter av ulike behandlinger og helsetjenester eller til mer grunnleggende undersøkelser av patogenese gjennom analyser av f. eks. genekspressjon og proteinmønstre (2).

Tannhelsestudien

I Tannhelsestudien vil 750 tvillingpar i alderen 1–7 år og deres foreldre fra Oslo og Akershus, som deltar i MoBa, bli invitert til å delta i en internasjonal undersøkelse med vekt på orale problemstillinger. Målet med dette forskningsprosjektet er å få bedre forståelse av relasjonene mellom etiologiske faktorer, fenotyper og genetisk disposisjon for komplekse sykdommer i munnhulen. Vi vil gjennomføre en klinisk undersøkelse og prøvetaking en gang per år i en fireårsperiode. For tvillingene vil undersøkelsen og prøvetakingen komme i tillegg til årlig oppfølging ved den lokale offentlige tannklinikk. Ett av målene med studien vil være å samle, fra de enkelte barna, et spektrum av biologiske prøver som fryses ned i en biobank for fremtidige pasient-kontroll-undersøkelser innen kohorten. Når det har oppstått nok tilfeller av en bestemt sykdom til at årsakshypoteser kan etterprøves, trekkes det ut prøver fra personer med og uten sykdom (2).

Av prøvematerialet som skal inngå i biobanken, vil det bli lagret blodprøver som gir et unikt utgangspunkt for fremtidige klinisk-kjemiske (cytologi og immunologi) og molekylærgenetiske (DNA, RNA) analyser av blodets bestanddeler. Det vil bli tatt bilder av tvillingene med et tredimensjonalt kamera for registrering av topografisk utvikling av ansiktet. Videre vil det bli samlet inn en rekke orale prøver som for eksempel plakk, saliva og epitelceller. I løpet av studieperioden vil tvillingene gjennomføre smakstester, og det vil bli registrert relevante opplysninger om helse og levevilkår som har betydning for den orale helse.

Tannhelsestudien er et internasjonalt prosjekt med samarbeidspartnere ved National Institute of Health (NIH, USA) og New York University (NYU, USA). Utover etablerte samarbeidspartnere har Det odontologiske fakultet, UiO, nylig opprettet kontakt med University of the Western Cape (UWC, Cape Town, Sør-Afrika). I samarbeid med forskere fra UWC ønsker vi å rekruttere tvillinger fra områder rundt Cape Town for prøvetaking. Analyseresultater av prøver vil bli sammenlignet med resultater fra parallelle prøver fra tvillinger i Brasil og Norge. Forskningsgruppen ved NYU startet i 2003 rekruttering og prøvetaking av tvillinger fra Montes Claros, Brasil av foreldre med lav sosioøkonomisk status. Utover genetiske forskjeller vil tvillingene fra Norge representere et samfunn med høy sosioøkonomisk status. Tannhelsestudien er med dette et unikt prosjekt som inkluderer tre kontinenter og tre forskjellige folkegrupper med ulik genetisk og sosioøkonomisk bakgrunn.

Tvillingstudier

The Human Genome Project og de siste års progresjon innen teknologi har gjort analyser av individuell genetisk variasjon blant mennesker mulig i mye større grad enn tidligere. Genetisk variasjon er som kjent ansvarlig for vanlige komplekse humane sykdommer, men samhandlingen mellom etiologiske faktorer som er relatert til disse sykdommene er i stor grad ukjent. Unntakene er Type 1-diabetes og Alzheimers sykdom (3, 4).

Med dette prosjektet ønsker man oppmerksomhet rundt det enorme potensialet som ligger i etablerte tvillingregistre for forskning på genetikk, proteomikk og mikrobiologi, knyttet til komplekse orale sykdommer forårsaket av dental biofilm. Ved å legge til rette for sammenligninger mellom eneggede og toeggede tvillinger, representerer tvillingregistrene en av de aller beste kildene for å evaluere viktigheten av genetisk variasjon relatert til mottagelighet av sykdommer. De er i tillegg en utmerket kilde for å studere signifikans av gen-miljø-interaksjonen. Generelt gir familiebaserte studier større styrke enn populasjonsbaserte studier for påvisning av genetiske variasjoner relatert til sykdom.

Studier basert på eneggede og toeggede tvillinger er mer og mer benyttet til å påvise linker mellom gener samt tendensen for genene og andre genetiske markører til å bli arvet. Eneggede tvillinger utvikles fra ett befruktet egg og har derfor identisk genetisk materiale. Toeggede tvillinger deler i gjennomsnitt halvparten av sine gener og representerer på sin side idealsøsken uten de ulikhetene som følger av aldersforskjeller. Aldersforskjeller mellom personer er av betydning fordi aldersavhengig genekspressjon påvirker ulike helsetilstander. Tvillingstudier har med dette et potensial til å inkludere en multidimensjonal gen-miljøtilnærming til komplekse multifaktorielle sykdommer, som f.eks. karies og periodontitt.

Tidligere studier av genotyper alene har hatt store problemer i forbindelse med å teste og lokalisere aktuelle sykdomsrelaterte gener. Denne type studier gir ofte enorme mengder informasjon og det kan derfor være vanskelig å identifisere genene som forårsaker komplekse multifaktorielle sykdommer. Med dette prosjektet ønsker vi først å definere og karakterisere de kliniske fenotypene til multiple etiologiske faktorer i tverrsnitt- og longitudinelle undersøkel-

ser. Stabilitet og forandringer ved fenotyper vil over tid bidra til forståelse av relativt bidrag fra genetiske og miljøassosierte faktorer til individuell variasjon. Det er derfor åpenbart at en molekylærgenetisk analyse ikke kan utføres før fenotypene er adekvat karakterisert. En naturlig og logisk fremdriftsplan for prosjektet vil være å utføre analyser av fenotyper og deretter inkludere genotyping.

Studier av genetisk variasjon på molekylært nivå er absolutt nødvendig for forståelse av etiologi og patogenese ved en rekke orale sykdommer. Det er økt interesse for studier av arvelige faktors bidrag til utvikling av karies, periodontitt, oral cancer og kraniofacial utviklingsbiologi. I tillegg er det viktig å forstå implikasjonene av genetiske sykdommer på oral helse. Tannleger bør være forberedt på å kunne diskutere genetiske faktors bidrag til orale problemstillinger med pasient og fagpersonell.

Karies

Karies er den vanligste kroniske sykdom blant barn i hele verden. Det overordnede målet for dette prosjektet er å bidra vitenskapelig til videre utvikling av forebyggende tiltak og behandling av denne folkesykdommen. Etiologien til karies er som kjent kompleks, og faktorer innen mikrobiologi, immunologi, genetikk, ernæring og økologi må tas i betraktning. Nevnte faktorer bidrar enkeltvis eller sammen i utviklingen av karies. Mange studier har vist potensielle risikofaktorer for utviklingen av karies, men den underliggende kompleksiteten i etiologien reiser foreløpig mange ubesvarte spørsmål. Identifikasjonen og forståelsen av relative bidrag fra faktorer som er viktige i kariesinitiering og -progresjon, har vært problematisk i lys av mangelfull kontroll av potensielle modifierende faktorer. I mangel av gode studiemodeller har kariesutvikling og de relative bidrag fra genetiske og miljøassosierte faktorer blitt ofret liten oppmerksomhet.

Våre samarbeidspartnere fra NYU og NIH rekruterte 388 tvillingpar i alderen 18 måneder til åtte år fra Montes Claros, Brasil til en tverrsnittsundersøkelse. Det ble utført en detaljert karieseksaminasjon, og det ble konkludert med at karaktertrekk og utvikling av karies var under genetisk påvirkning. Minst 70 % av variasjonen i frekvens og alvorlighet av karies kan forklares av genetisk påvirkning blant tvillinger i denne aldersgruppen (5). I et lengre perspektiv vil vår gruppe kunne følge tvillingenes utvikling fra primær- via blandings- og til permanent tannsett. Det vil bli tatt hensyn til et stort antall etiologiske faktorer for å kunne karakterisere viktige fenotyper samt følge disse fenotypene over tid (longitudinelt). Data om adekvate fenotypers stabilitet og forandringer i et longitudinelt perspektiv åpner for valg av modeller for videre molekylærgenetiske analyser. Oss bekjent vil dette være den første studien som undersøker betydningen av arv og miljø for utvikling av karies, basert på et utvidet sett av kliniske og molekylærbiologiske målinger.

Takk

Knut og Liv Gards minnefond, Norsk Dental Depots fond for odontologisk forskning og Det odontologiske fakultet, UiO takkes for finansiering av utenlandsopphold.

English summary

Aas JA, Magnus P, Skaare AB, Singh PB, Olsen I.

The Oral Health Study for demonstration of genetic disposition for oral diseases

Nor Tannlegeforen Tid 2006; 116: 990–3.

The Oral Health Study is a subproject of The Norwegian Mother and Child Cohort Study. From the cohort, 750 twin pairs in the age range 1–7 years and their parents will be recruited for an international project on oral gene-environment interactions. The Faculty of Dentistry, University of Oslo and The National Institute of Public Health (Norway) will collaborate with New York University and National Institute of Health (USA), and Western Cape University (South Africa) to collect a variety of oral samples from twins in Brazil, Norway and South Africa. The twin model has shown that a wide variety of phenotypes of complex diseases have a genetic component to their etiology. Initially, dental caries and a number of etiologic factors associated with caries are in focus to better understand how the factors contribute alone or together in the progress of the disease. To our knowledge, this study will be the first to examine the genetic and environmental composition of variation in caries development, employing a comprehensive set of clinical and molecular biological measurements.

Referanser

1. Den norske mor-og-barn-undersøkelsen. www.fhi.no/morogbarn (avlest 5.7.2006).
2. Magnus P, Irgens LM, Haug K, Nystad W, Skjærven R, and Stoltenberg C. The MoBa Study Group. Cohort profile: The Norwegian Mother and Child Cohort Study (MoBa). *Int J Epidemiol* 2006; 35: 1146–50.
3. Magnus P, Haug K, Nystad W, Skjærven R. Mor-og-barn-undersøkelsen skal gi nye svar. *Tidsskr Nor Lægeforen* 2006; 126: 1747–9.
4. Daneman D. Type 1 diabetes. *Lancet* 2006; 11: 847–58.
5. Tanzi RE, Bertram L. New frontiers in Alzheimer's disease genetics. *Neuron* 2001; 32: 181–4.
6. Bretz WA, Corby PMA, Hart TC, Costa S, Coelho MO, Wegant RJ. Dental caries and microbial acid production in twins. *Caries Res* 2005; 39: 168–172.

Adresse: Jørn A. Aas, Institutt for oral biologi, UiO, postboks 1052 Blindern, 0316 Oslo. E-post: jornaas@odont.uio.no