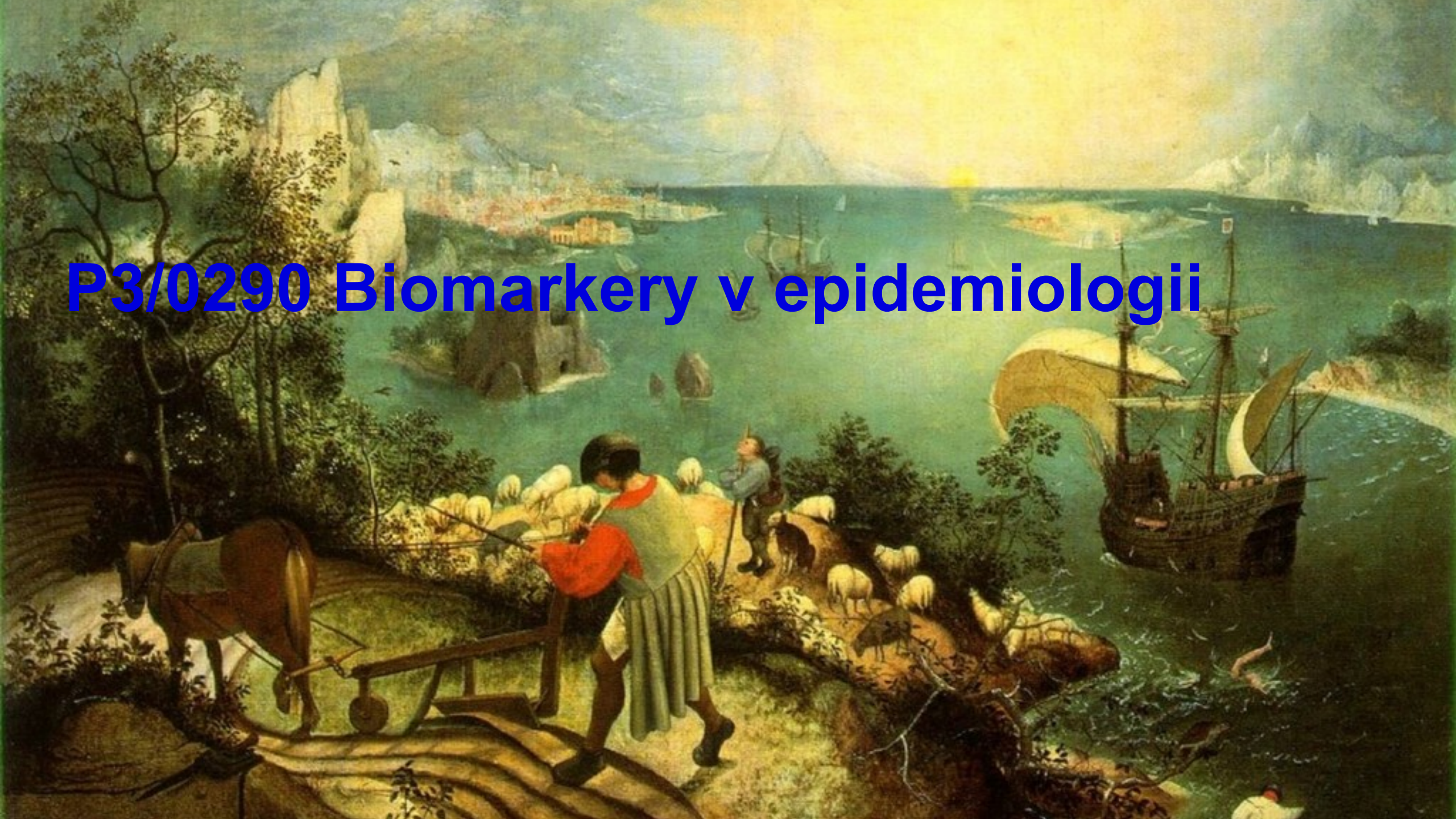


# P3/0290 Biomarkery v epidemiologii



# Cholera

A detailed painting of a coastal scene. In the foreground, a shepherd in a green tunic and red collar leads a flock of sheep down a dirt path. A dog follows them. To the left, a horse-drawn cart is partially visible. In the middle ground, a harbor is filled with several sailing ships of various sizes. The water is a deep blue-green. In the background, a town is built on a hillside overlooking the sea. The sky is a pale, hazy yellow, suggesting a bright day. The overall style is that of a 19th-century landscape painting.

- příčina: z vystavení chorobě
- Proč je kauzalita důležitá?
- Jak rozhodneme, že asociace je kauzální?
- Úspěch a neúspěch
- Exposom, nové paradigma
- Jak objevit kauzální vztahy?

# John Snow (1813 – 58)

Propuknutí cholery v Londýně v roce 1854

Snow zaznamenal místo úmrtí souvisejících s cholerou

Většina byla soustředěna kolem jedné veřejné vodní pumpy v Broad Street v Soho

Přesvědčil úředníky, aby odstranili rukojeť pumpy

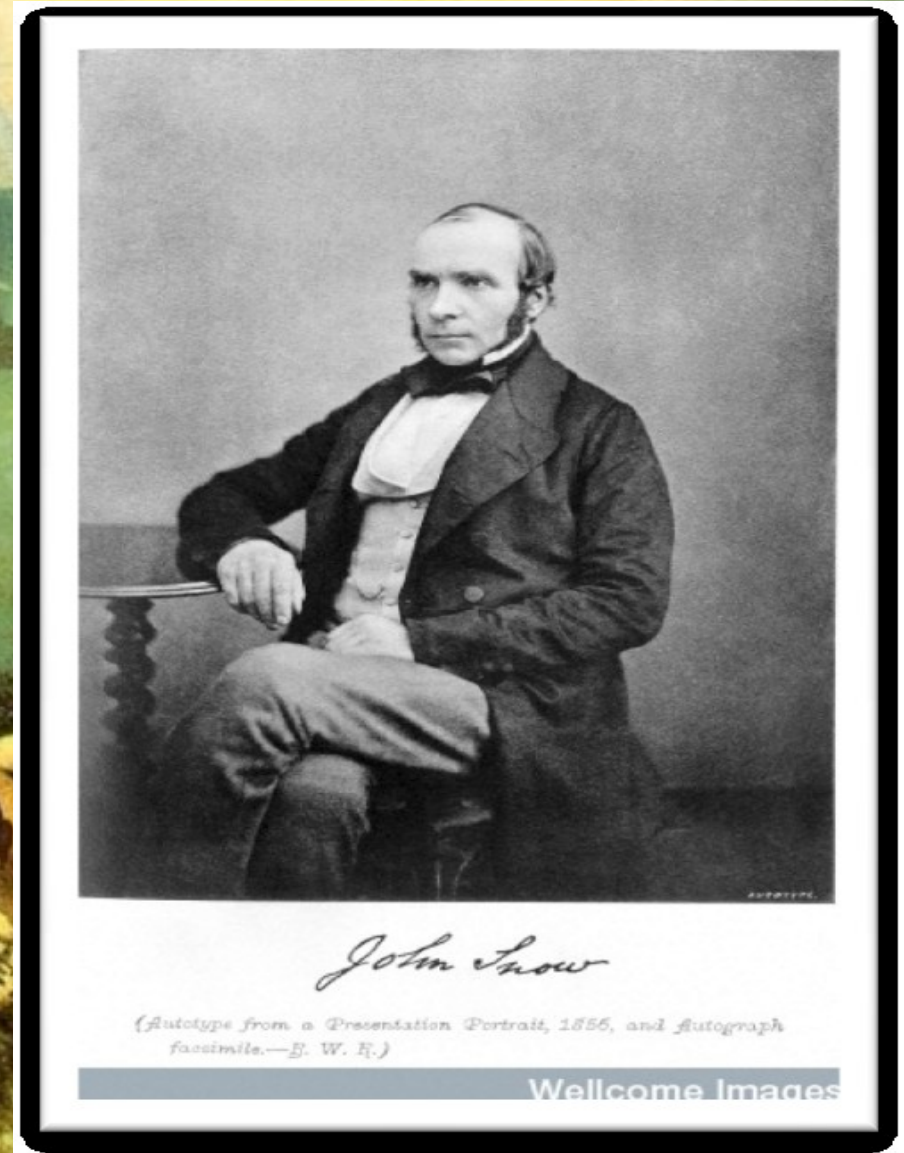
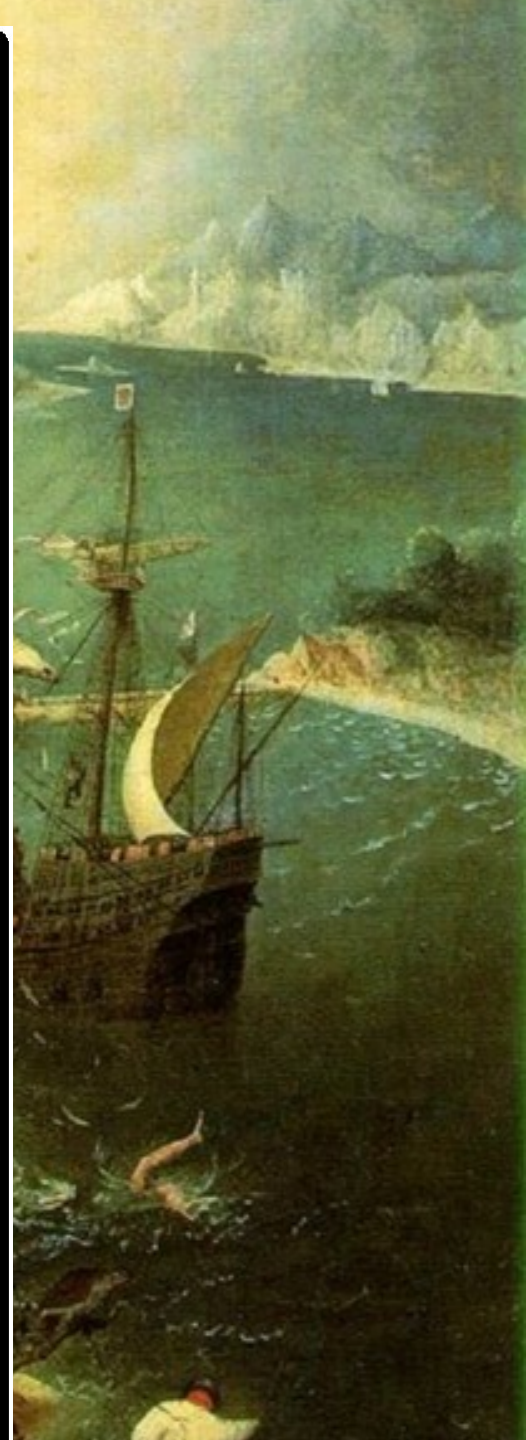




FIG. 10-10 Asiatic cholera and the Broad Street Pump. (John Snow. *Snow on Cholera*. New York: The Commonwealth Fund, 1936.)

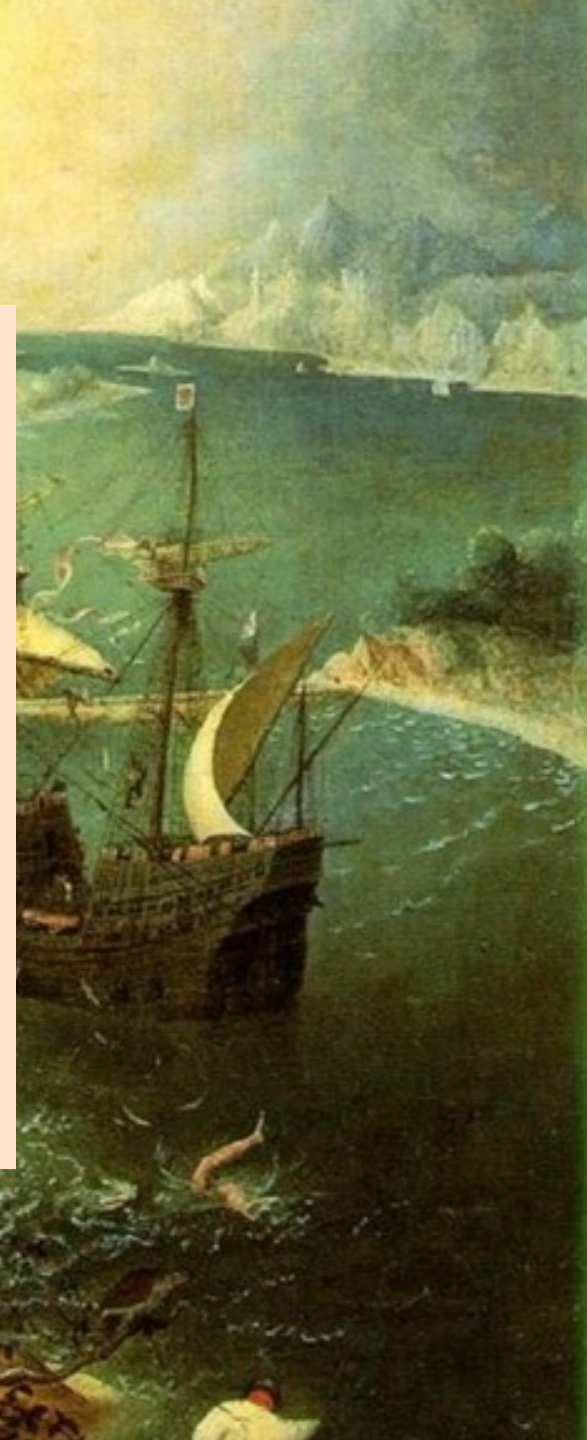


# Příčina

Příčina onemocnění je událost, stav, charakteristika nebo kombinace těchto faktorů, které hrají důležitou roli při vzniku onemocnění

Příčina může být dostatečná nebo nezbytná  
Nezbytná = musí být přítomna, aby se nemoc objevila

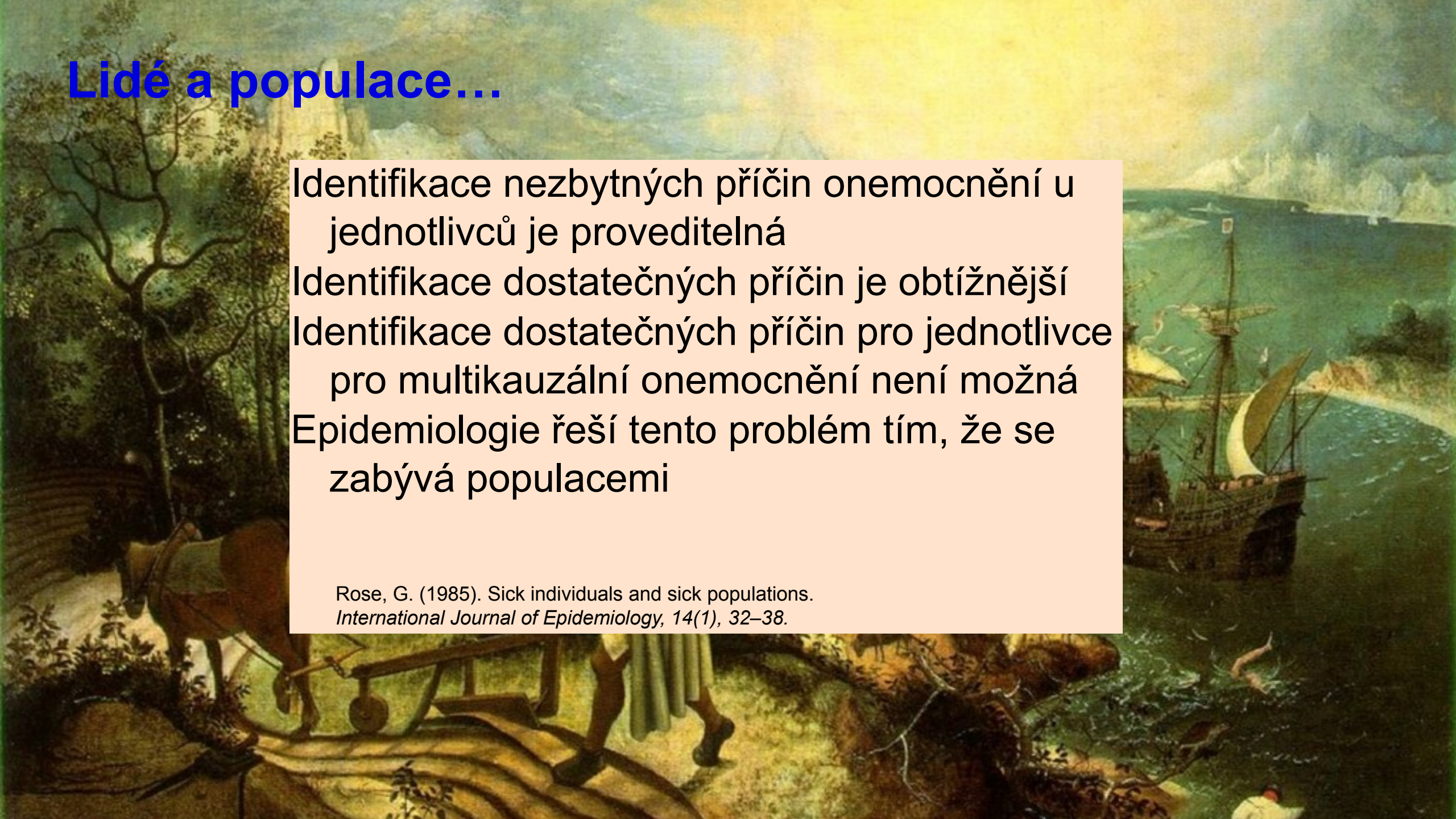
Dostatečná = nevyhnutelně vyvolává nebo spouští nemoc



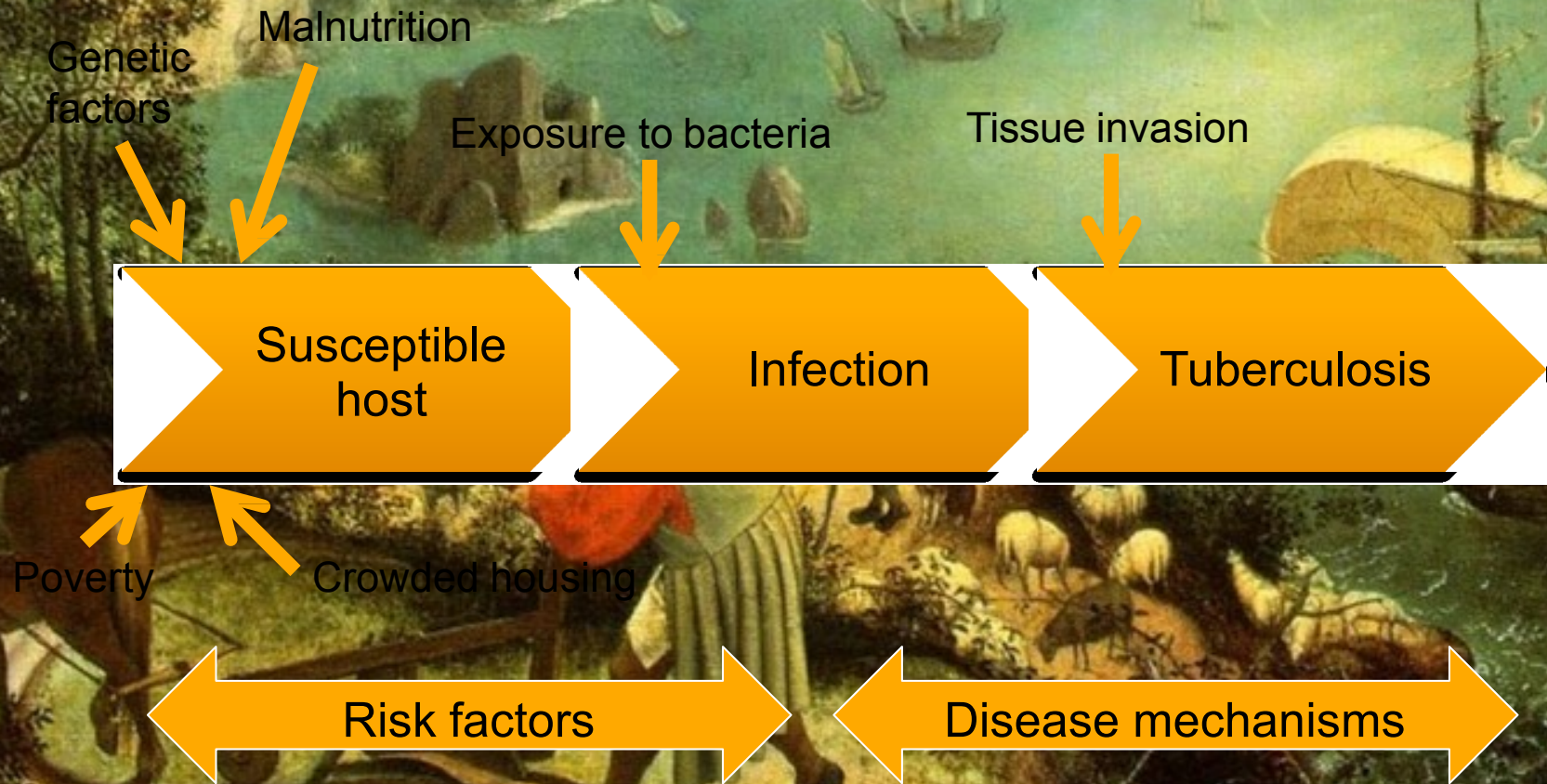
# Lidé a populace...

Identifikace nezbytných příčin onemocnění u jednotlivců je proveditelná  
Identifikace dostatečných příčin je obtížnější  
Identifikace dostatečných příčin pro jednotlivce pro multikauzální onemocnění není možná  
Epidemiologie řeší tento problém tím, že se zabývá populacemi

Rose, G. (1985). Sick individuals and sick populations.  
*International Journal of Epidemiology*, 14(1), 32–38.



# Tuberkuloza



# Odvozování kauzality z asociací

| Methodologic al questions                                  | Evidence questions  |
|--|---|
| Could selection or measurement bias cause the association? | Is there a relationship between exposure and biological response? |
| Could it be due to confounding?                            | Is an association biologically plausible?                         |
| Could it be due to chance?                                 | Is there a strong relationship?                                   |



Sir Austin Bradford-Hill

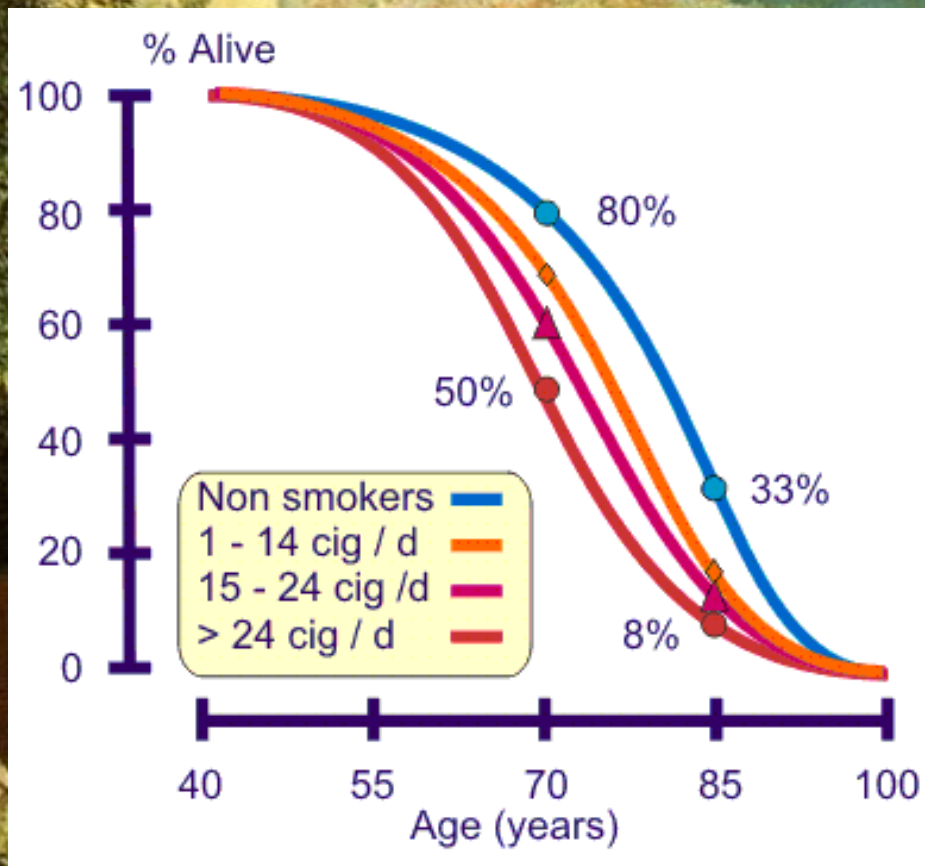
In 1965 Hill proposed nine criteria to judge the scientific evidence for disease causality.



# Bradford-Hillova kritéria kauzality

|                            |   |
|----------------------------|---|
| Časový vztah               | Předchází předpokládaná příčina onemocnění?   |
| Vztah expozice-<br>odpověď | Vedou rozdíly v expozici k rozdílům v manifestaci onemocnění?                                   |
| Síla asociace              | Zvyšuje expozice riziko onemocnění?   |
| Specifická                 | Způsobuje expozice specifická onemocnění a existují onemocnění s omezeným počtem typů expozice? |
| Konzistence                | Je asociace konzistentní napříč studii a populačními podskupinami?                              |
| Experimentální potvrzení   | Může ovlivnění stupně expozice ovlivnit onemocnění?   |
| Biologická přijatelnost    | Je objasněn mechanismus působení?   |

# Austin Bradford Hill (1897-1991)



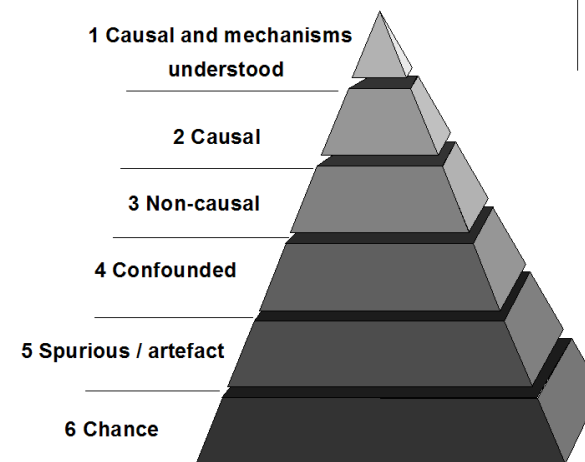
Jako první prokázal vztah kouření a karcinomu plic

**Studie na britských lékařích**  
30 000 účastníků  
prospektivní 50 let trvající studie

# Bradford Hillova kriteria kauzality

- **Korelace (síla asociace)** – čím větší korelace mezi nezávislou proměnnou (expozice) a závislou proměnnou (počet onemocnění), tím vyšší pravděpodobnost kauzálního vztahu mezi proměnnými
  - Semelweis (1818-1865) - významně vyšší úmrtnost na horečku omladnic na klinice řízené lékaři, oproti porodnici s porodními bábami – příčinná souvislost?
  - Durkheim 1951 – počet sebevražd ve 4 pruských regionech na poč. 19 století koreluje s poměrným zastoupením protestantského obyvatelstva – příčinná souvislost?
- **Časová souslednost** – příčina by měla předcházet následek
  - blesk předchází hrom – příčinná souvislost?
  - v letech kdy se začalo s průmyslovým spalováním odpadů vzrostl počet případů rakoviny – příčinná souvislost? (doba latence 20 let !)
  - v letech po zákazu používání azbestu stále stoupá počet případů azbestem vyvolané rakoviny – příčinná souvislost? (doba latence 20 let)

Figure 5.13 The pyramid of associations



# Bradford Hillova kriteria kauzality

- **Konzistence** – čím větší je shoda výsledků různých studií zabývajících se danou dvojicí
- **Koherence** – logická provázanost s výsledky jiných vědních oborů
- **Biologická přijatelnost** (věrohodnost) – existence teoretického mechanismu vysvětlujícího vztah mezi příčinou a následkem
  - formaldehyd je genotoxický a vysoce dráždivý – informace o zvýšeném výskytu tumorů v dýchacích cestách je věrohodná
  - formaldehyd má velký distribuční objem a rychle se v organismu odbourává, ani vysoké koncentrace v ovzduší výrazně nezvyšují jeho koncentraci v tělních tekutinách – informace o zvýšeném výskytu nádorů vnitřních orgánů nevěrohodná
- **Specifická** – čím menší počet příčin postačuje k vysvětlení následku, tím lépe
- **Vztah dávka účinek** – čím větší míra expozice tím větší míra a četnost následků
  - ▣ emise z dieselových motorů – mnoho studií popisuje vztah k rakovině plic, není vztah dávka účinek, patrně vliv kouření (confounding factor)

# Epidemiologické studie

Observační (pozorovací)

**Kauzistiky** (*case reports*)

**Série případů** (*case series*)

**Korelační studie** (*correlational studies*)

**Průřezové studie** (*cross-sectional studies*)

**Studie případů a kontrol** (*case-control studies*)

**Kohortové studie** (*cohort studies*)

Intervenční (experimentální)

**Klinické studie** (*clinical trial*)

**Terénní kontrolované studie** (*field trial*)

DESKRIPTIVNÍ

ANALYTICKÉ

K  
V  
A  
L  
I  
T  
A  
  
V  
Y  
S  
O  
V  
Ě  
D  
I

# Míry efektu – studie případů a kontrol

odd disease (šance onemocnět) (exposure) –  $A/B$

odd disease (šance onemocnět) (no exposure) –  $C/D$

odds ratio (poměr šancí) –  $(A/B)/(C/D)$

**TABLE 21.5 Case–Control Data: Odds Ratio**

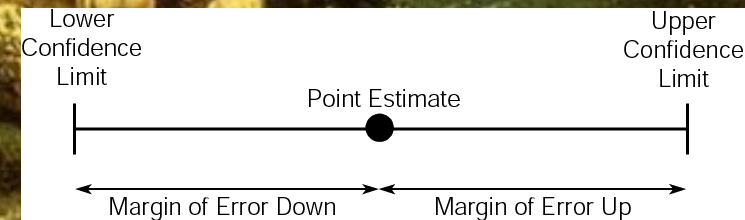
|          |   | Disease  |          |
|----------|---|----------|----------|
|          |   | +        | –        |
| Exposure | + | <i>A</i> | <i>B</i> |
|          | – | <i>C</i> | <i>D</i> |

Rate ratio = odds ratio =  $AD/BC$

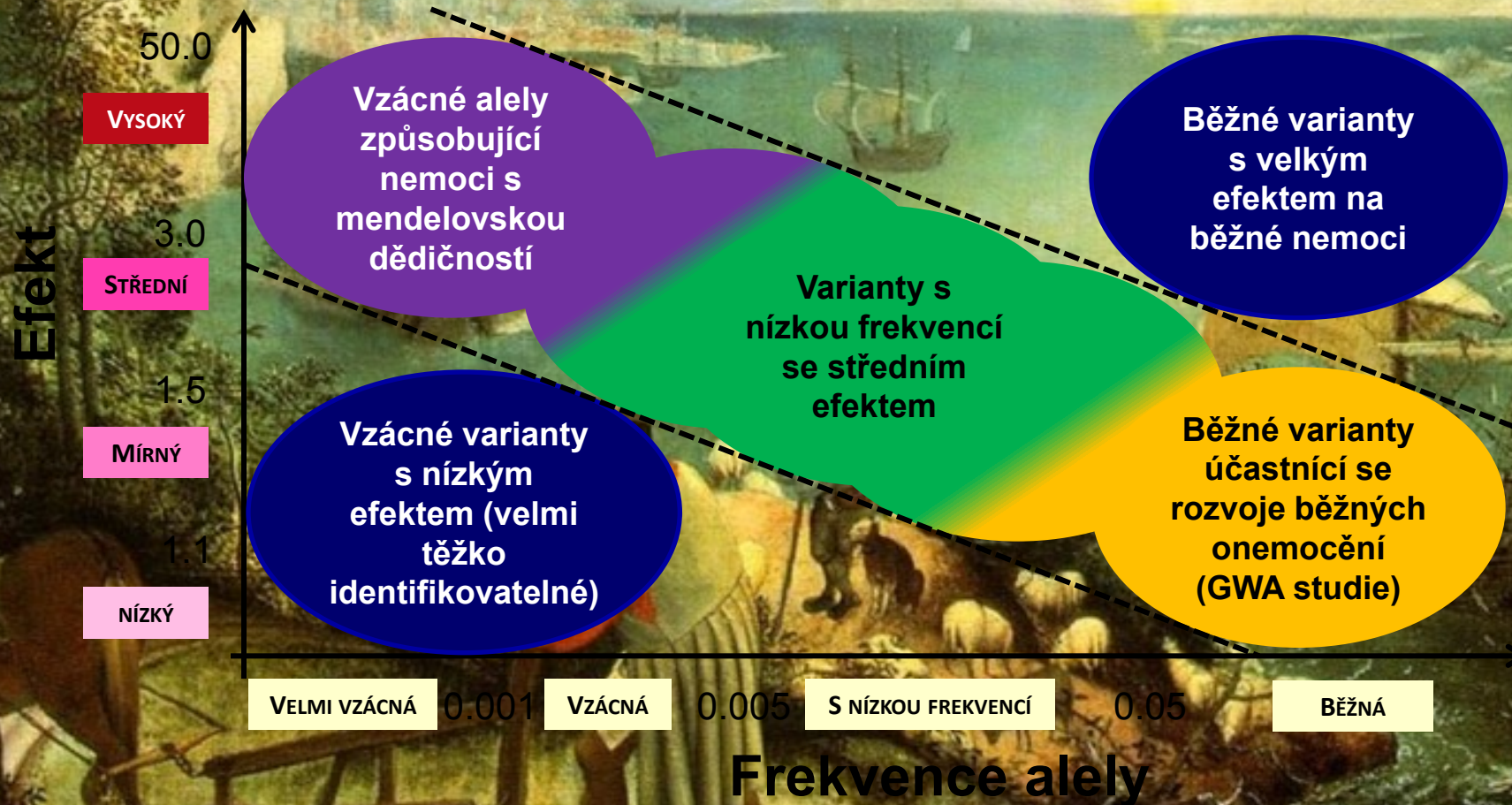
## konfidenční interval (CI - confidence interval)

Interval vypočítaný na základě výběru, ve kterém je neznámý populační parametr obsažen s pravděpodobností 95%.  
šířka CI – míra přesnosti (čím užší CI, tím vyšší přesnost) studie s větším počtem pozorování mívají užší CI

Alela A (OR, 6.3; 95% CI, 3.4-11.6)



# Etiopatogeneze nemocí



Mendelian disorders and multifactorial traits: the big divide or one for all?  
 Stylianos E. Antonarakis, Aravinda Chakravarti, Jonathan C. Cohen & John Hardy  
 Nature Reviews Genetics 11, 380-384 (May 2010)

Prenatální modelování

# Naše geny?

Fenylketonurie (PKU) je vzácné genetické onemocnění - tělo nedokáže rozložit fenylalanin, který se hromadí v krvi a mozku.

Vysoká hladina fenylalaninu může poškodit mozek

Poškození mozku lze předejít speciální dietou s nízkým obsahem bílkovin

## Smrt při autonehodě

Například z řízení v opilosti

Možná má tato osoba genetickou vlastnost, která vede k predispozici k alkoholismu

Rothman, K., & Grónsko, S. (2005). Kauzalita a kauzální inference v epidemiologii.

American Journal of Public Health. <http://doi.org/10.2105/AJPH.2004.059204>





## Příklad studie případ-kontrola

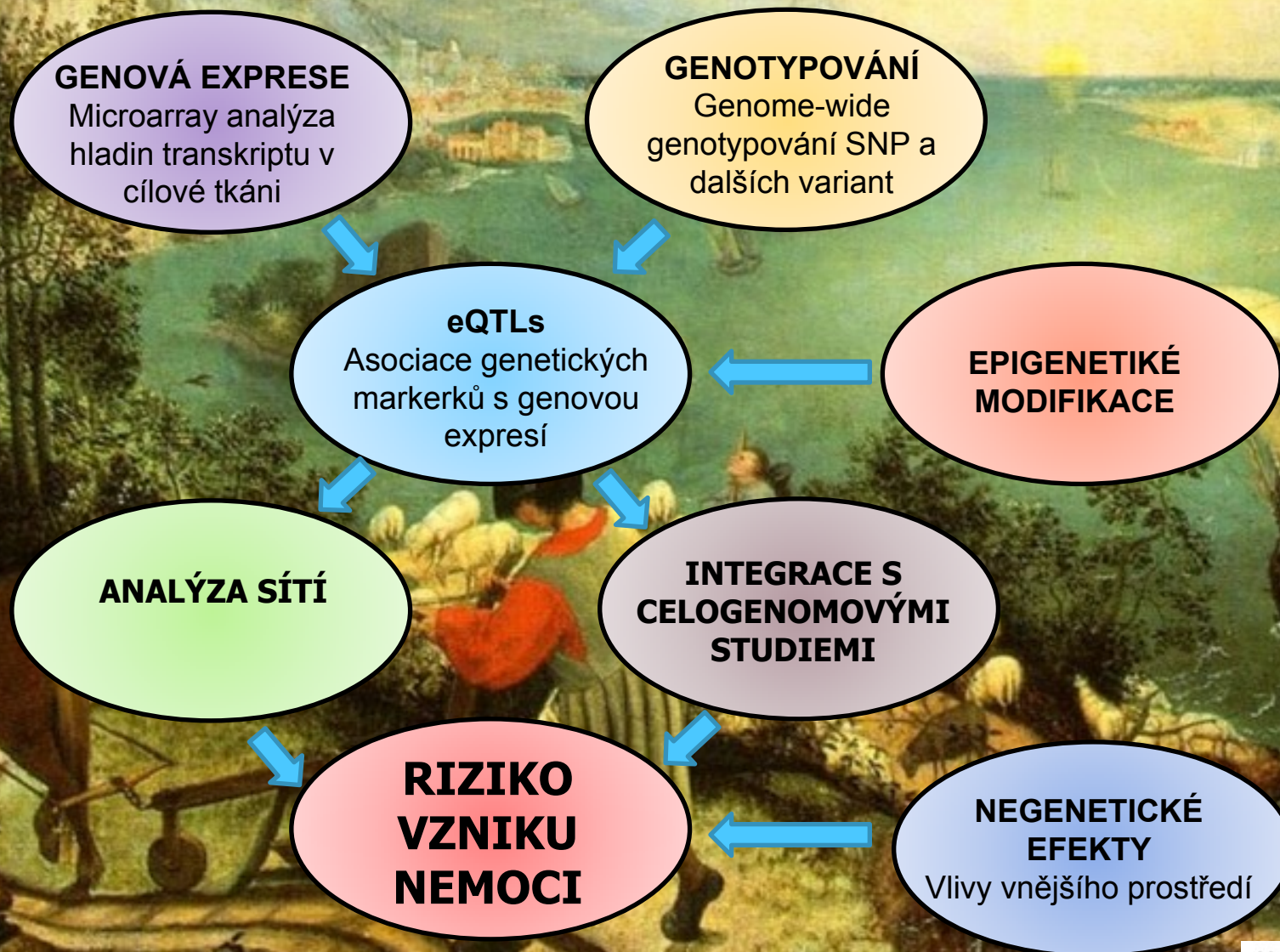
Stanovení OR vyjadřujícího asociaci mezi užíváním salycilátů a Reyova syndromu

|            | Rey. sy ano | Rey. sy ne | Celkem |
|------------|-------------|------------|--------|
| Salyc. Ano | 26          | 53         | 79     |
| Salyc. Ne  | 1           | 87         | 88     |
| celkem     | 27          | 140        | 167    |

**KONTINGENČNÍ TABULKA**  
Tabulka křížových klasifikací  
Čtyřpolní (2x2)

$$OR = AD/BC = 26 \times 87 / 53 \times 1 = 42,7$$

Děti s Reyovým syndromem 42,7 častěji užívaly k léčbě virového onemocnění salyc





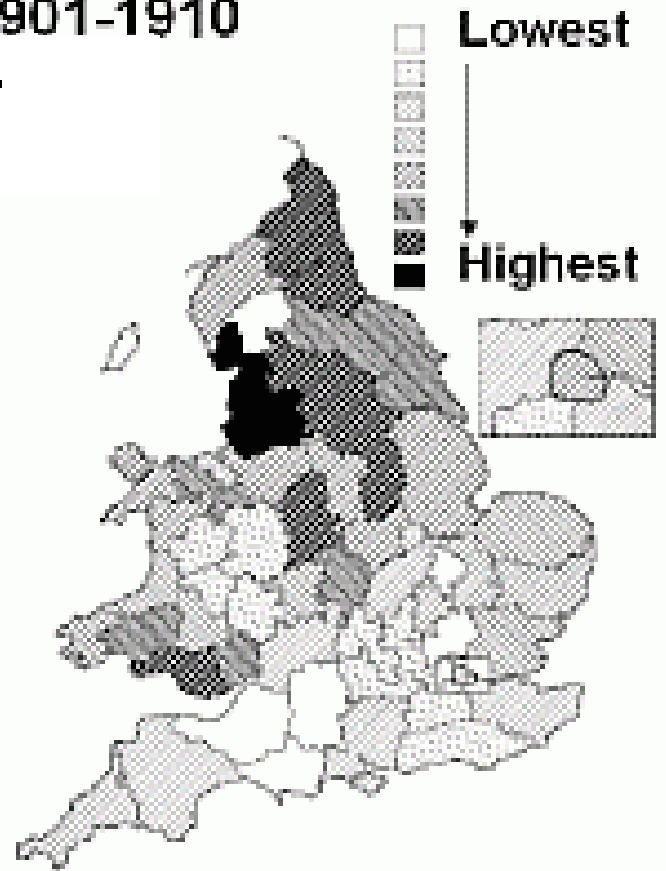
**Nebo je to jinak?**

**Spořivý epigenom?**

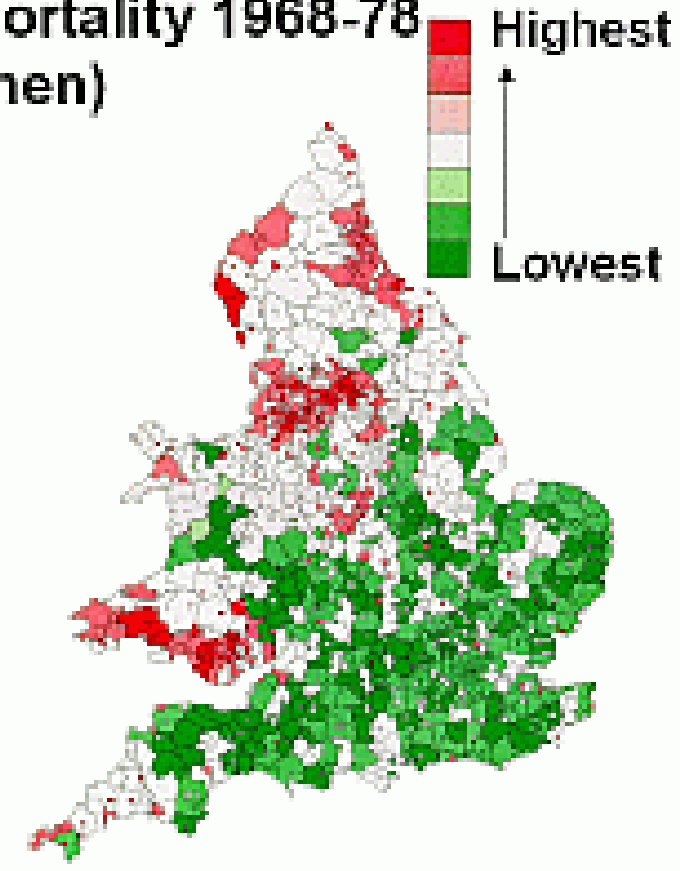
# Mapy pro Barkerovu hypotézu

**1921-  
1925**

Infant mortality  
1901-1910



Coronary Heart Disease  
mortality 1968-78  
(men)



## Přehled stěžejních prací Barkera et al.

Barker DJ et al: Infant mortality, childhood nutrition, ischaemic heart disease in England and Wales.

Barker DJ et al: Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. Lancet. 1989 Sep 9;2(8663):577-80.

Barker DJ et al. Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. Lancet. 1993 Apr 10;341(8850):938-4

Barker DJ: The origins of the developmental origins theory. J Intern Med. 2007 May;261(5):412-7.

Zásadní vliv na vznik onemocnění má nesoulad mezi prostředím, které dítě přes matku vnímalo během intrauterinního života a prostředím, ve kterém v postnatálním období žije.

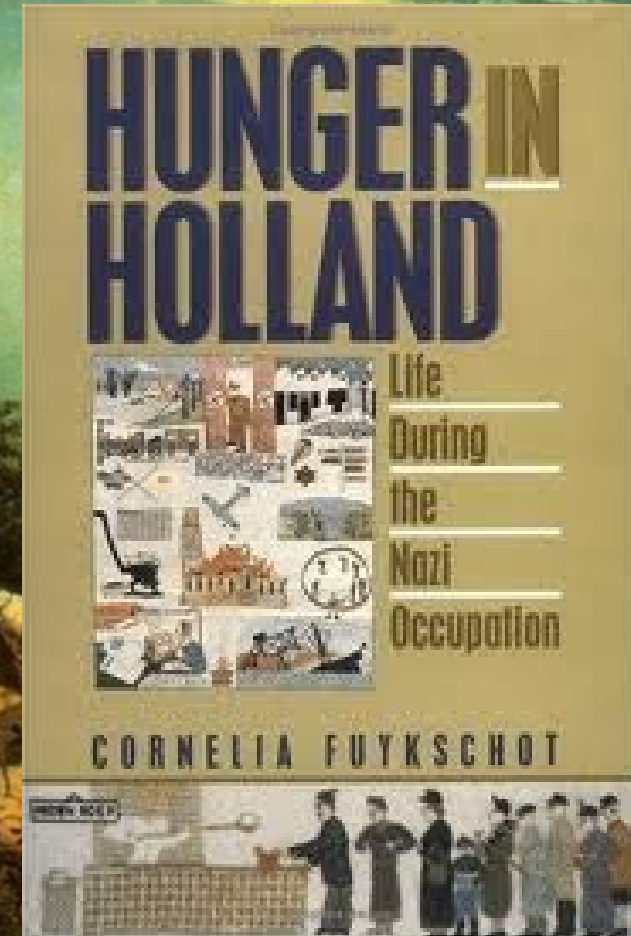
# Offspring birth weights after maternal intrauterine undernutrition: a comparison within sibships.

Lumey LH, Am J Epidemiol 1997; 146:810–819

- ✓ Srpen 1944 – duben 1946, Amsterdam
- ✓ Období válečného hladomoru (zahrnovalo i holandský zimní hladomor)
- ✓ Podvýživa byla definována separátně pro každý trimestr těhotenství, přičemž za hraniční hodnotu byl považován denní příjem 1000 kalorií (4180 kJ)
- ✓ Rodinná anamnéza zahrnovala 437 rodin se dvěma sourozenci a 107 rodin se třemi sourozenci narozenými v letech 1960 až 1985

**Porodní hmotnosti dětí, jejichž matky byly hladomoru vystaveny ve třetím trimestru, sníženy nebyly**

Prenatální modelování



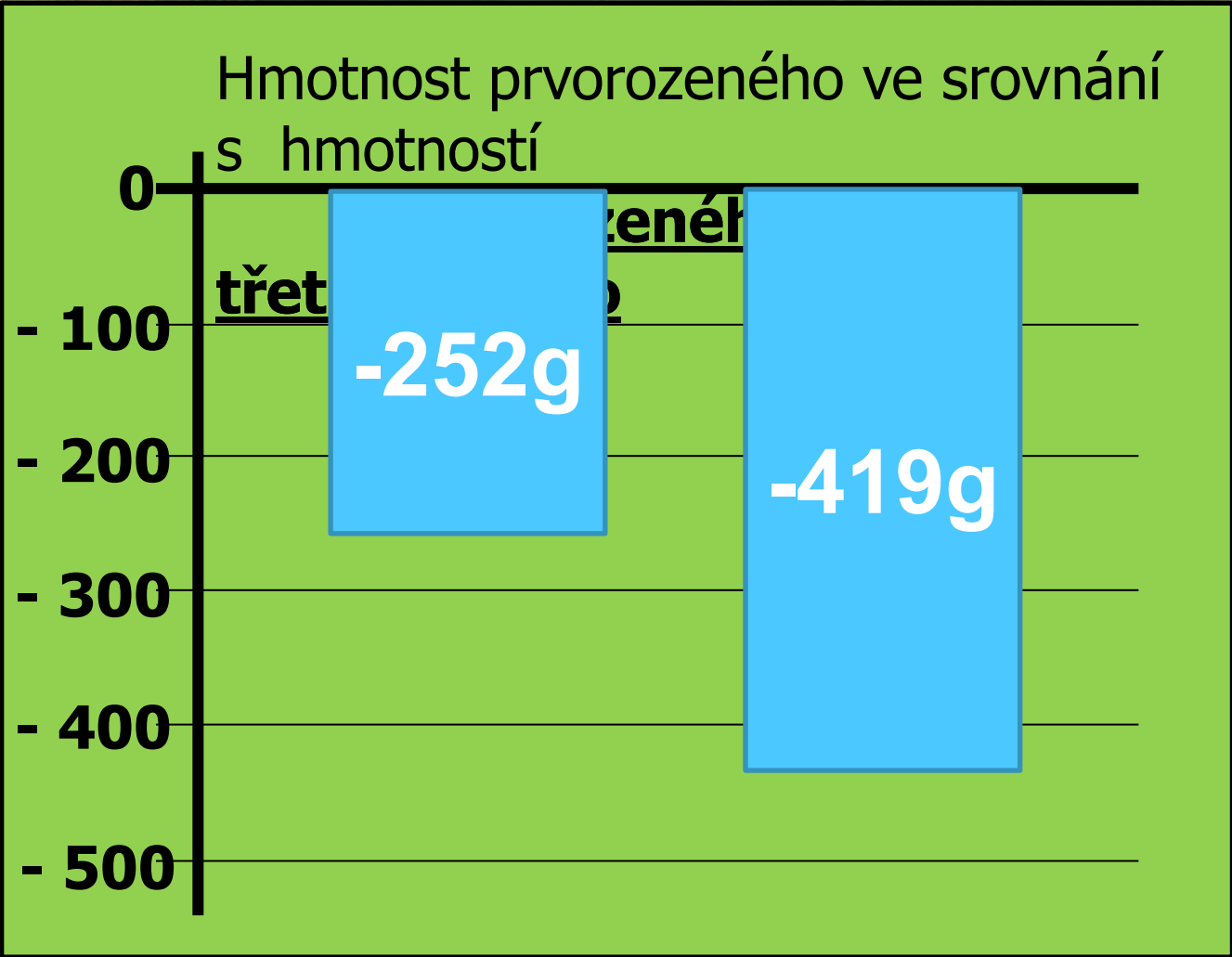
# Offspring birth weights after maternal intrauterine undernutrition: a comparison within sibships.

Lun

✓ 437 rodin se dvěma sourozenci

✓ 107 rodin se třemi sourozenci

✓ narození v letech 1960 až 1985

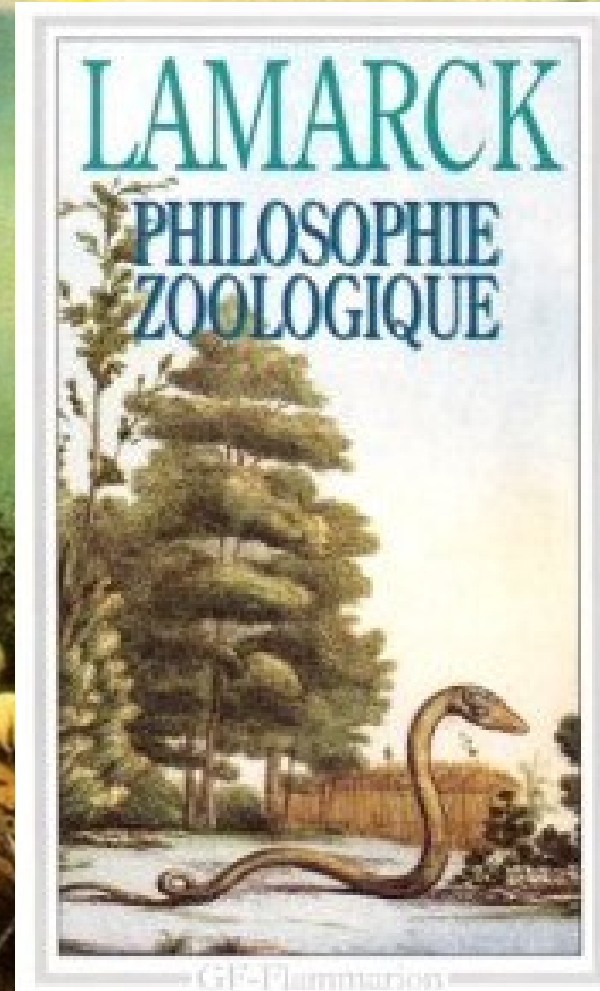


# Transgenerační dědičnost

## Vrozené vs. získané charakteristiky

V své knize z roku 1809 „*Philosophie Zoologique*“ uvádí Jean-Baptiste Lamarck, že každý druh čelí unikátnímu typu stimulace ze svého okolí. Tyto vlivy označil jako „nervová tekutina“. Podle Lamarcka může být tato nervová tekutina přenášena na jednotlivé potomky.

Lamarkismus byl standardním vysvětlením některých mechanismů evoluce až do doby, kdy Charles Darwin a Alfred Russel Wallace přišli s teorií evoluce přirozeným výběrem v roce 1859. Revidovaná teorie neolamarkismu už nepřitáhla dostatečnou pozornost v rámci vědecké komunity. Jako obecně přijímaná teorie tedy dlouhou dobu platilo, že získané charakteristiky se nemohou dědit.





# Fetální modelování



Prenatální modelování

## PROSTŘEDÍ

- strava
- toxiny
- intrauterinní prostředí
- infekce
- kouření
- událost v časném postnatálním období
- léky
- ...

Jak?

Prenatální modelování

## STOCHASTICITA

## GENOTYP

- genové polymorfismy
- somatické/zárodečné mutace

Aktivita různých metabolických enzymů

## FENOTYP

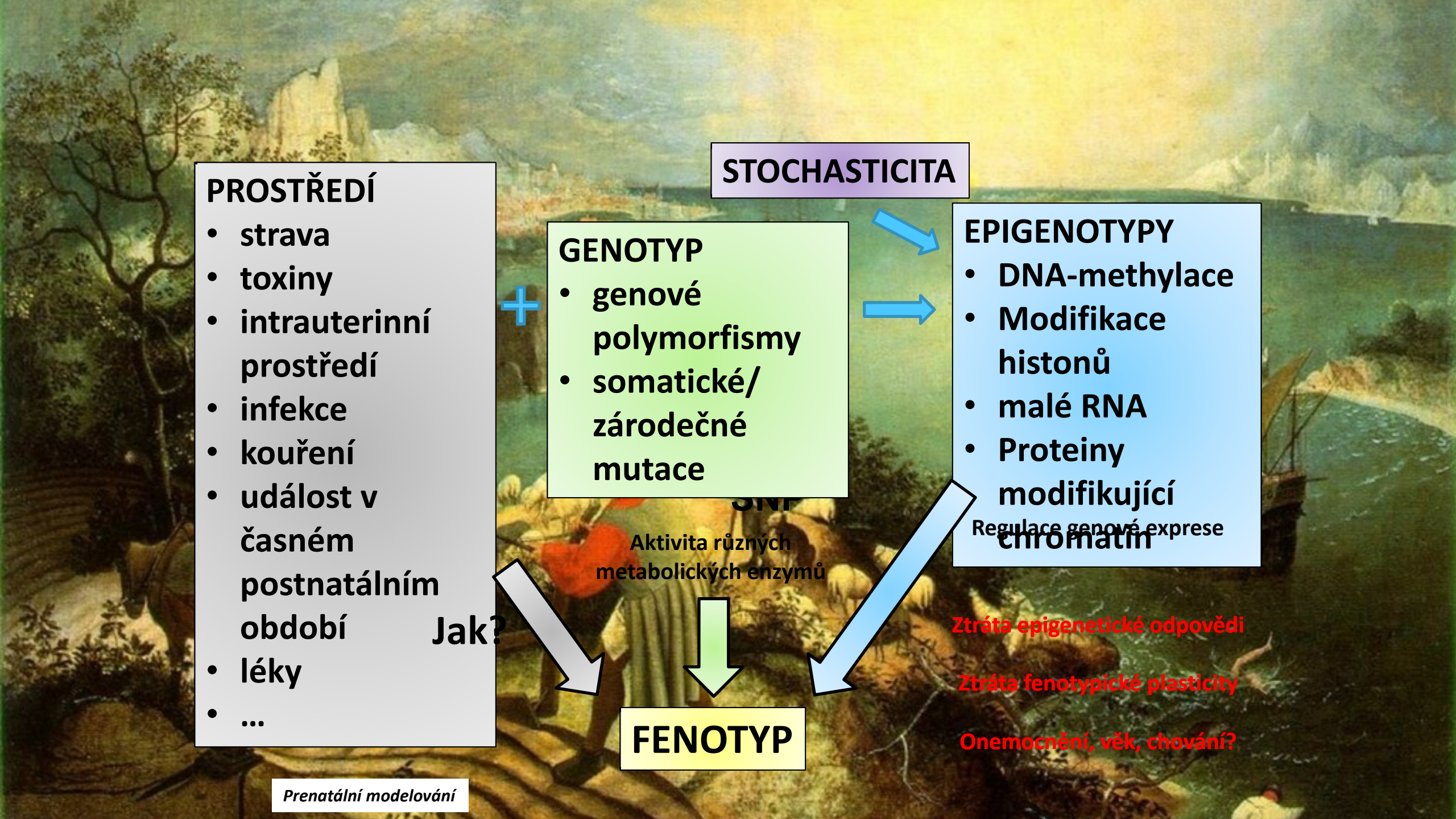
## EPIGENOTYPY

- DNA-methylace
  - Modifikace histonů
  - malé RNA
  - Proteiny modifikující chromatin
- Regulace genové exprese

Ztráta epigenetické odpovědi

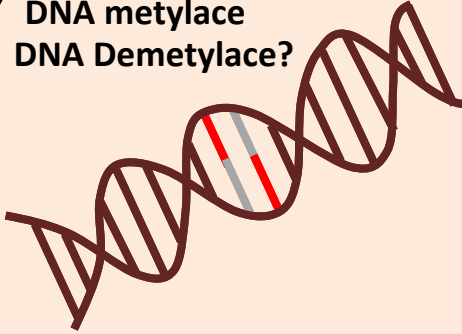
Ztráta fenotypické plasticity

Onemocnění, věk, chování?



# Epigenetické mechanismy v rámci modelování

DNA metylace  
DNA Demethylace?



udržování DNMT

hemimethylovaná DNA

DNMT1

Vazba na methylovanou DNA cestou URHF1

Nepřímá suprese  
miR-29b prostřednictvím SP1

*de novo* DNMT

DNMT3A

Vazba cestou EZH2 a G9A (HMTs)

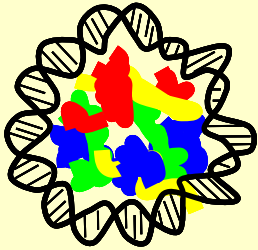
Interakce s nukleozómy obsahujícími  
metylovanou DNA

DNMT3B

Přímá represe miR-29b

DNMT3A vazba cestou HRR3me

Modifikace histonů



Mimo jiné ...

Acetylace

HAT

HDAC1 a 2 mohou být  
vázány přes MeCP2

miR-449a má za cíl HDAC1

HDAC

SET7 (HMT) reguluje  
DNMT1 stabilitu

Methylace

HMT

SETDB1 a Suv39h  
(HMTs) se vážou přes  
MBD1

KDM1B (HDM) je nutný  
pro maternální imprint

HDM

LSD1 je podjednotkou  
komplexu NuRD

Fosforylace

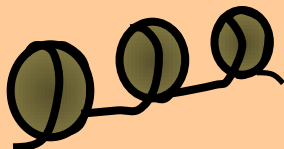
Kinase

H3S10ph blokuje H3K9me  
H3S10ph usnadňuje  
ropoznání H3 přes GCN5  
(HAT)

Phosp.

JAK2 fosforyluje H3, s  
uvolněním HP1 $\alpha$

Remodelace  
chromatinu



SWI/SNF

miR-9\* a miR-124  
zprostředkovávají switch BAF  
npBAF

BRM se váže přes MeCP2  
ISW2 vylučuje SWI/SNF z  
promotorů prostřednictvím  
změny polohy nukleozómů

ISWI

NURF rozpoznává  
H3K4me3

H4K16ac inhibuje remodelaci  
chromatinu cestou ISWI

SET domény (HMT) rozpozná-  
vají ISWI-remodelované typy  
nukleozómů

Mi-2

CHD5 exprese je  
reprimována metylací  
CpG ostrůvků

MBD3 je integrální  
podjednotka Mi-2/NuRD

HDAC a 2 jsou integrální  
součástí Mi-2/NuRD

INO80

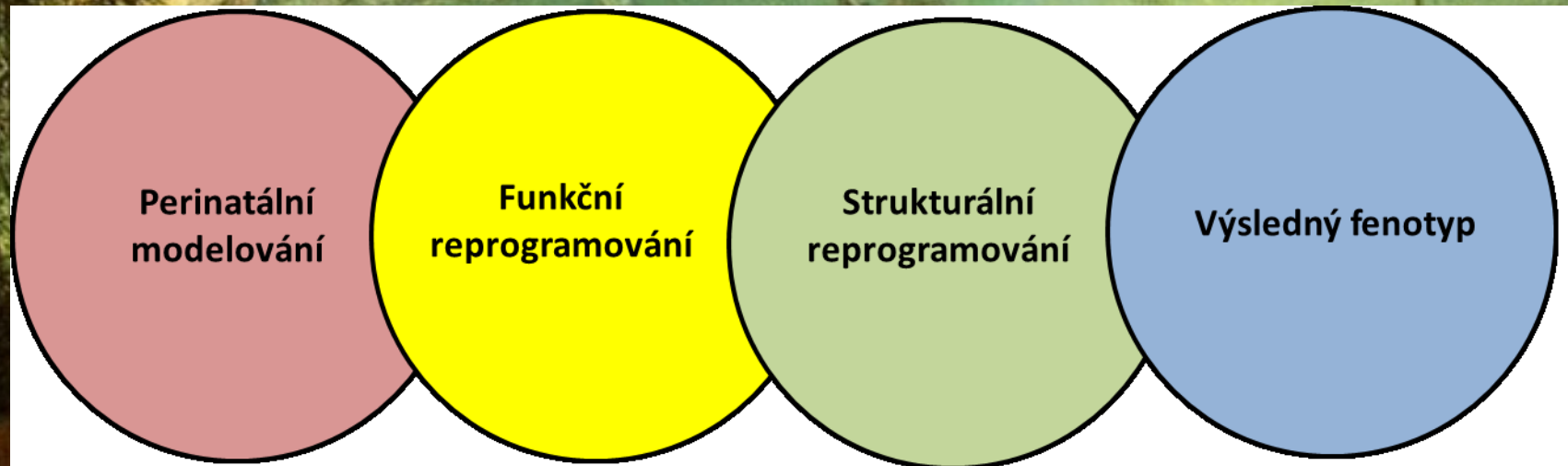
SWR1 removes the H2AH2B  
dimers and replaces them  
with H2A.Z-H2B dimers

p400 má HAT aktivitu

H2Aph zvyšuje vazbu INO80

# Kontinuální model vývojové plasticity

Vývojová plasticita v čase



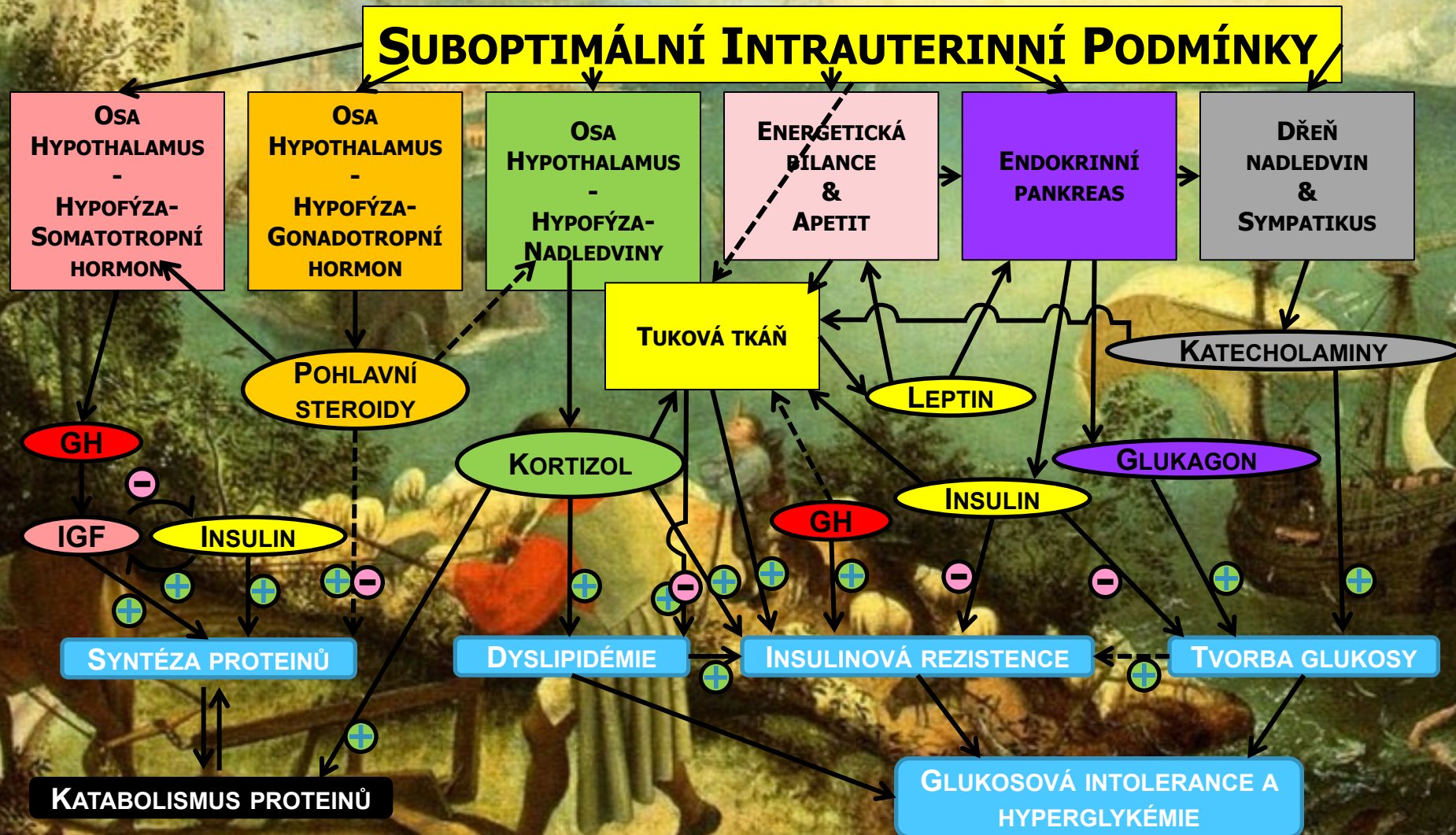
Braam B *et al.* (2007) Technology Insight: innovative options for end-stage renal disease—from kidney refurbishment to artificial kidney *Nat Clin Pract Nephrol* 3: 564–572 doi:10.1038/ncpneph0600

Prenatální modelování

nature CLINICAL PRACTICE  
**NEPHROLOGY**

MUNI  
MED

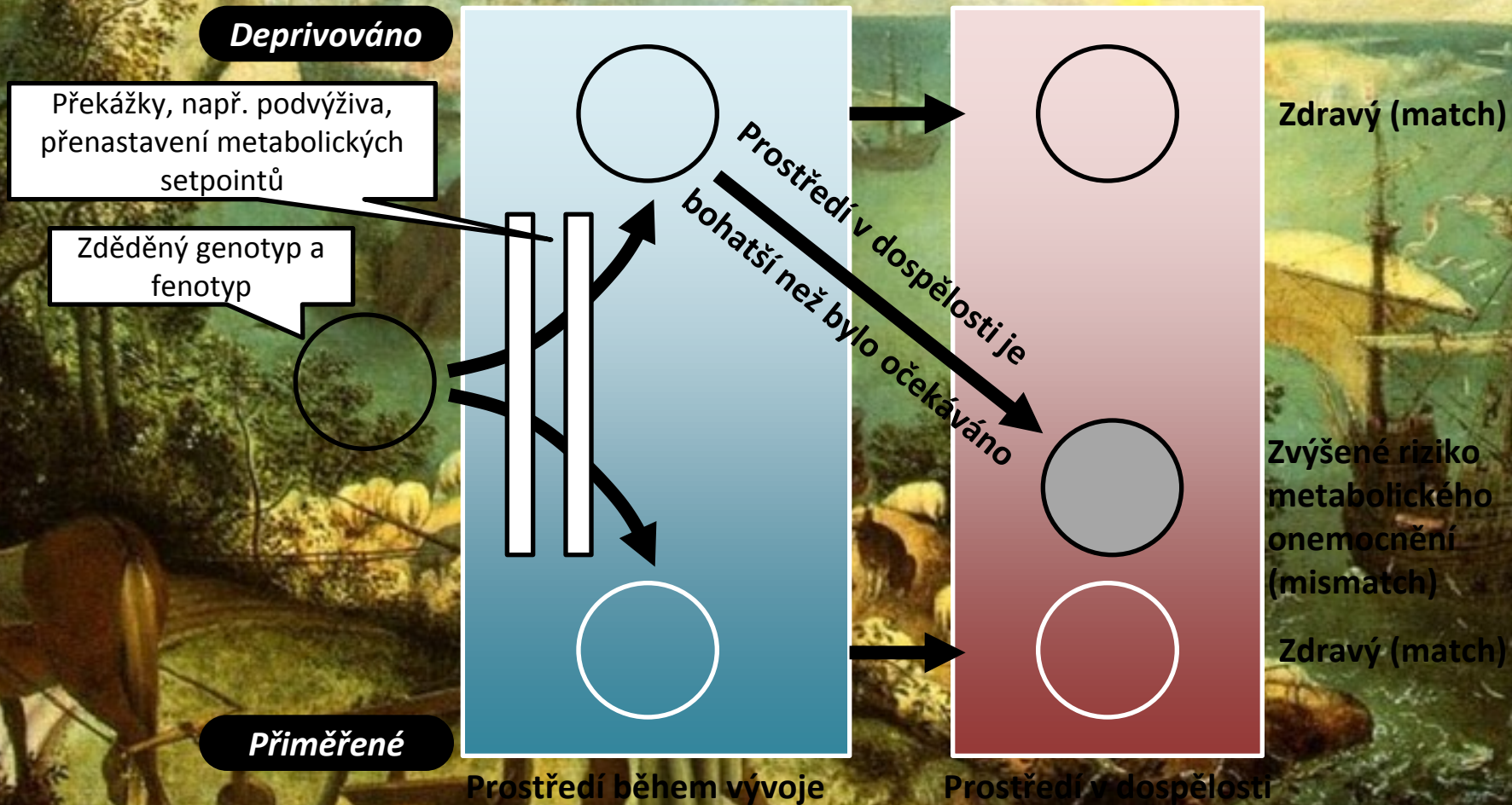
# Fetální modelování – fyziologický význam



Fowden L et al. Endocrine and metabolic programming during intrauterine development. Early Human Development. Volume 81, Issue 9, September 2005, Pages 723–734

Prenatální modelování

# Fetální modelování – patofyziologie



Hochberg Z et al. Endocrine Reviews 2011;32:159-224

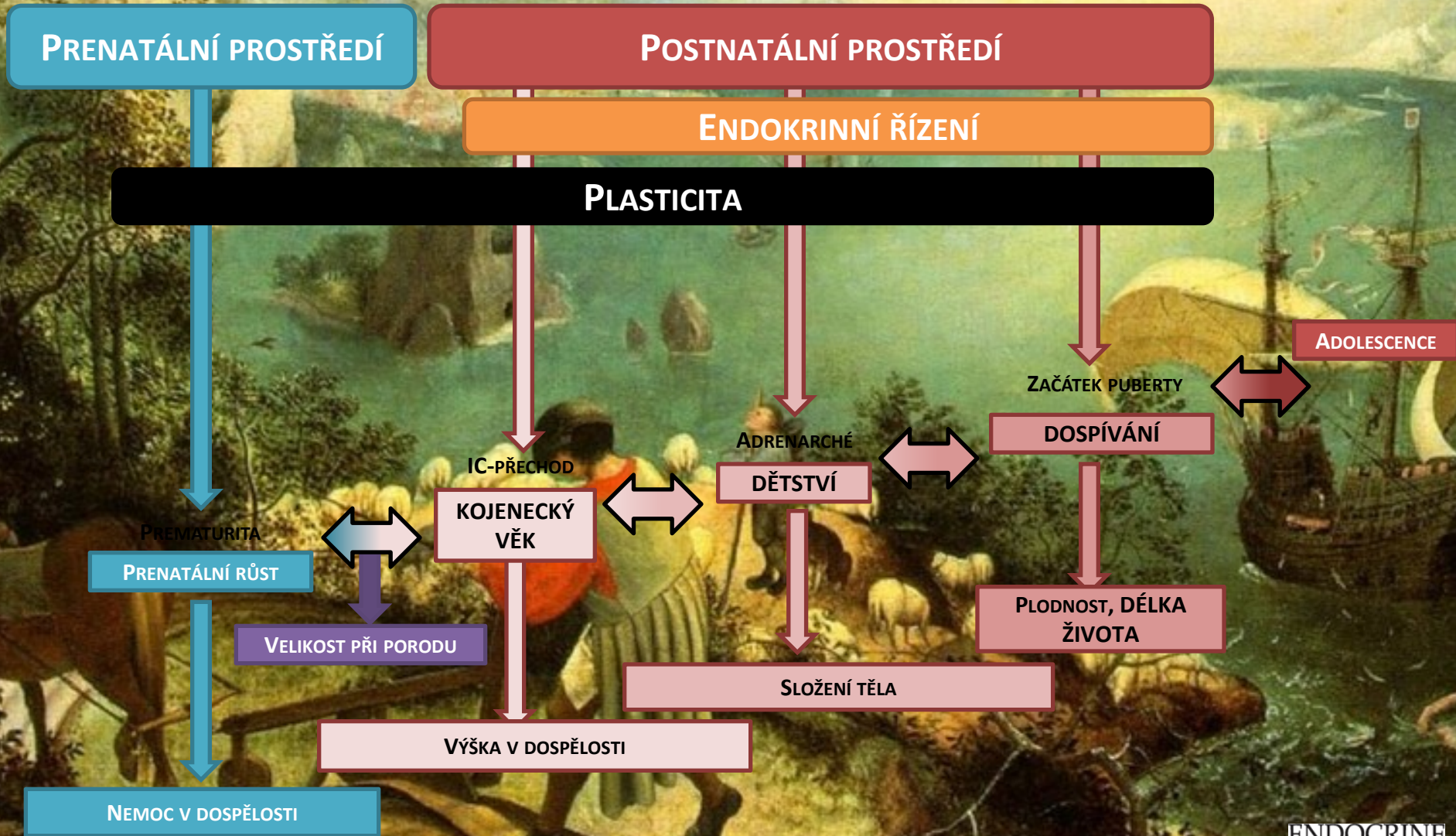
©2011 by Endocrine Society

Prenatální modelování

ENDOCRINE  
REVIEWS

MUNI  
MED

# Prenatální období adaptivní plasticity



Prenatální modelování

Hochberg Z et al. Endocrine Reviews 2011;32:159-224  
©2011 by Endocrine Society

# Epigenomický model původu onemocnění

## Faktory vnějšího prostředí Programming

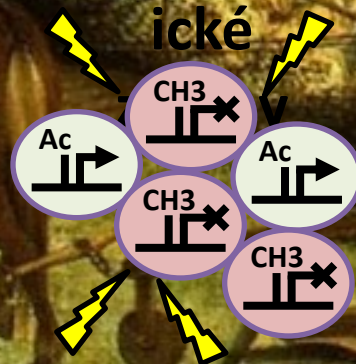


Konflikt s  
postnatálním  
prostředím

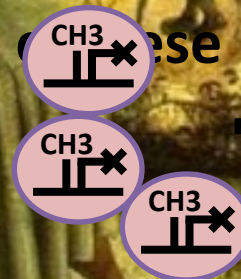
## Nemoci v pozdější životě

- Ischemická choroba srdeční
- Obezita
- Diabetes 2. typu
- Hypertenze
- Rakovina
- Psychiatrická onemocnění

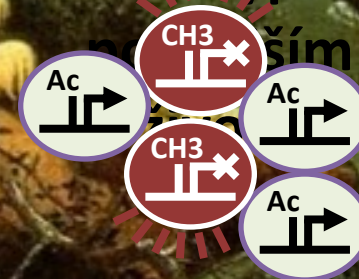
## Epigenom



## Trvalé změny genové exprese



## Vliv na fenotyp v dospělém věku



Hochberg Z et al. Endocrine Reviews 2011;32:159-224

©2011 by Endocrine Society

Prenatální modelování

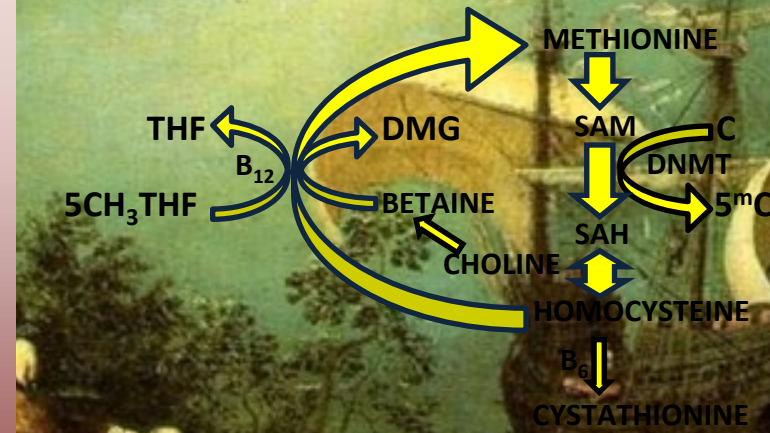
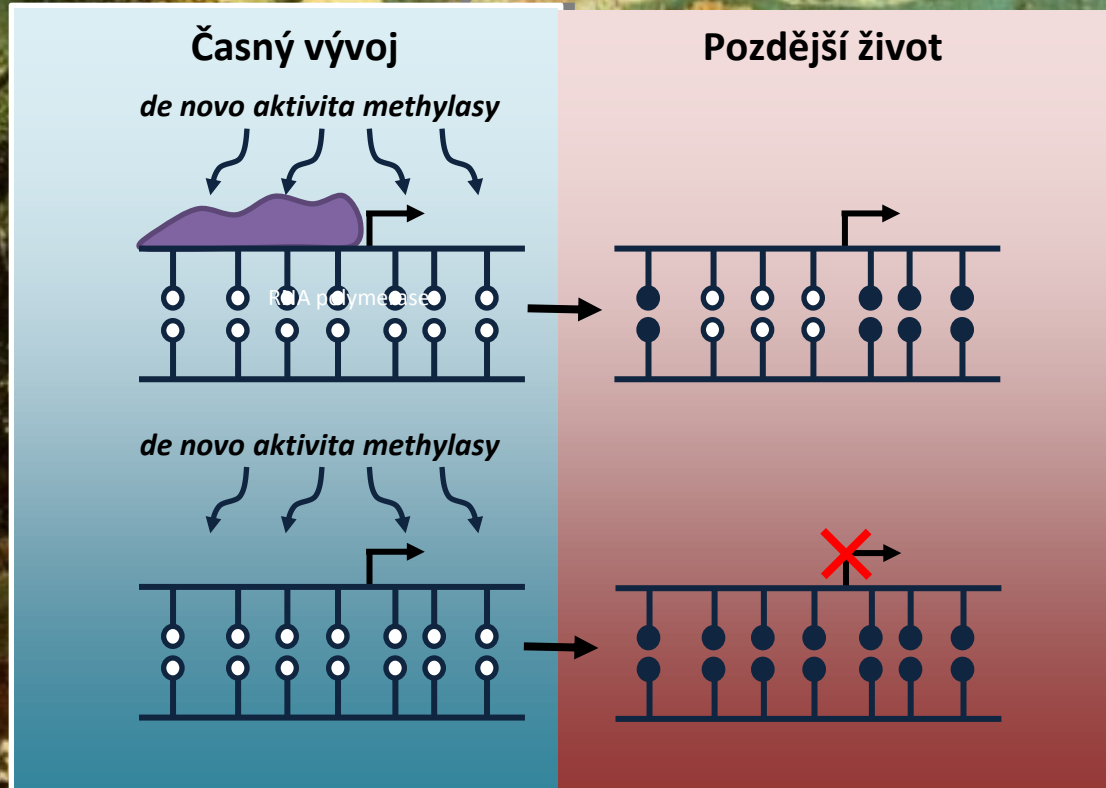
ENDOCRINE  
REVIEWS

MUNI  
MED



# Mechanisms

Potenciální mechanismus působení vnějších faktorů na ustanovení methylace DNA během

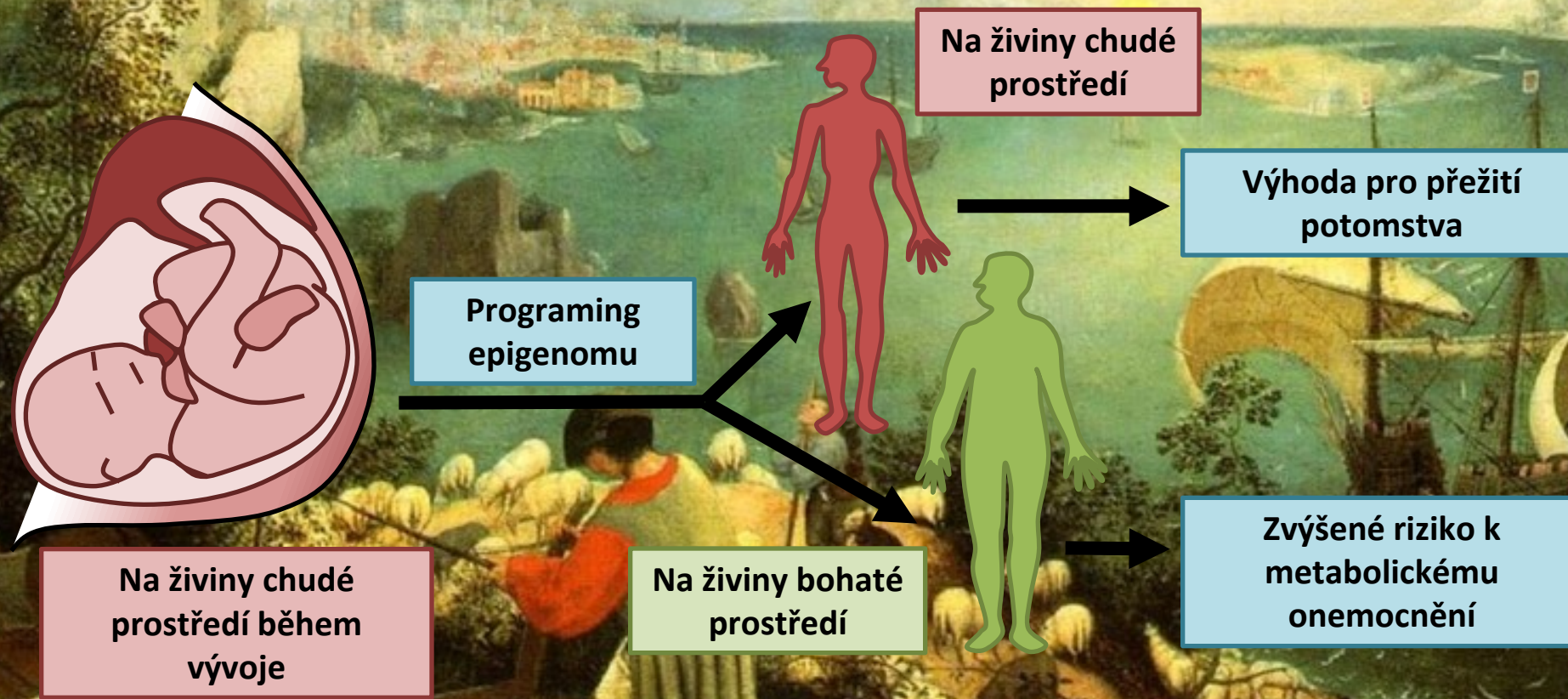


Hochberg Z et al. Endocrine Reviews 2011;32:159-224  
©2011 by Endocrine Society

Prenatální modelování

ENDOCRINE  
REVIEWS

# Mismatch podruhé



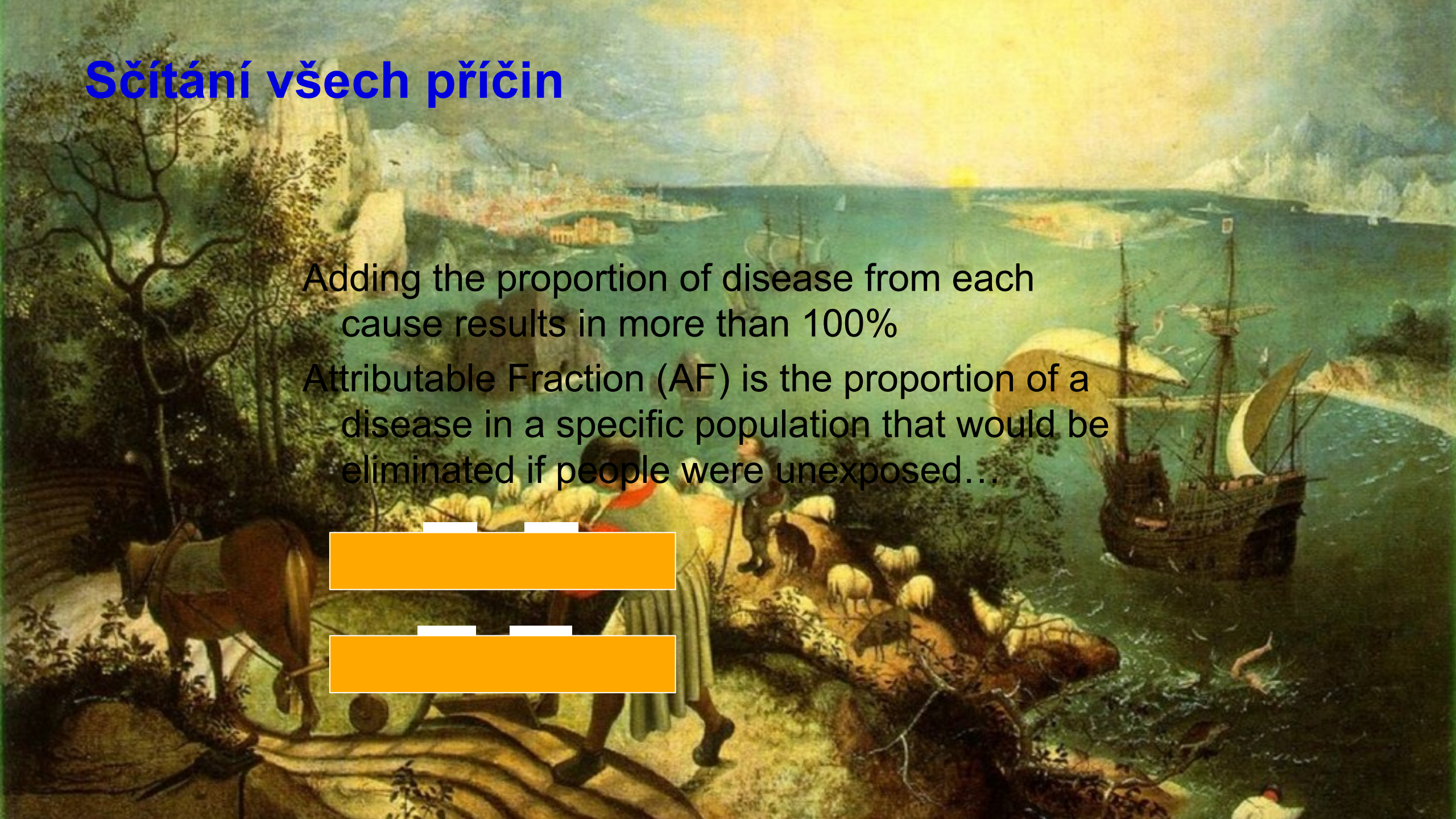
# Sčítání všech příčin

Adding the proportion of disease from each cause results in more than 100%

Attributable Fraction (AF) is the proportion of a disease in a specific population that would be eliminated if people were unexposed...

[Redacted]

[Redacted]



# Azbest a kouření

- Asbestos and smoking both cause lung cancer...

- AF for smoking around 90%
- AF asbestos is around 80%
- AF for smoking and asbestos is 98%

Age-standardized lung cancer rates

| Death rate (per 100,000) | Non-smoker | Smoker |
|--------------------------|------------|--------|
| No asbestos              | 11         | 123    |
| Asbestos                 | 58         | 602    |

Hammond EC, Selikoff IJ, Seidman H. Asbestos exposure, cigarette smoking and death rates. Ann N Y Acad Sci 1979;330:473-90.

# Co se nám podařilo

The background of the slide is a reproduction of the painting 'Rain, Steam, and Great Railway Bridge' by the English Romantic painter J.M.W. Turner. The painting depicts a coastal town with a harbor, a large railway bridge, and a foreground scene with a plow and a person, all under a hazy, rainy atmosphere.

## Potvrzení rizika

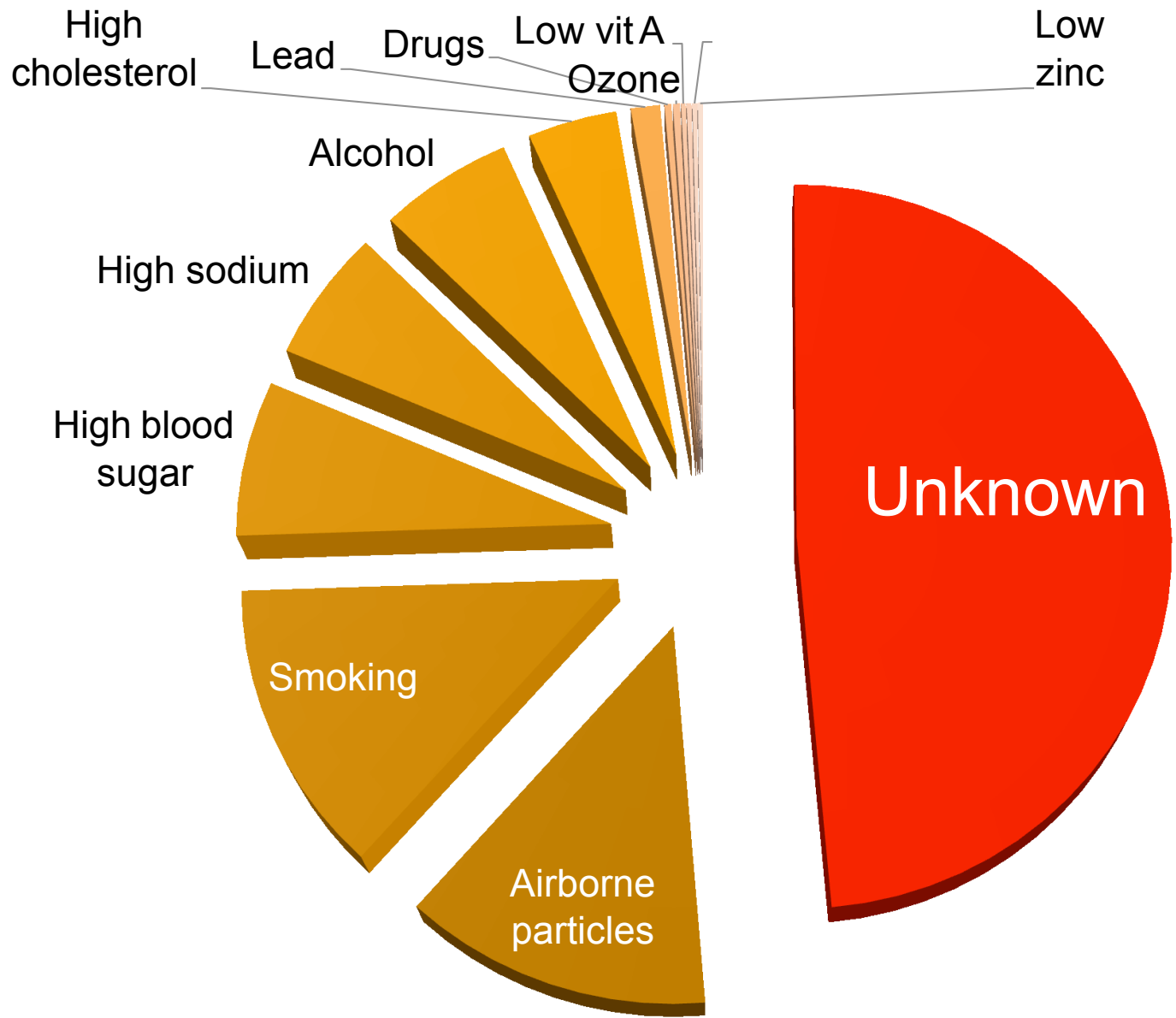
Nedávné epidemiologické studie benzenu ve vztahu k hematologickým malignitám

## Pochopení vztahu mezi expozicí a nemocí

Částice výfukových plynů dieselových motorů a rakovina plic

## Odhalení neznámých příčin

Nádory prsu a práce na směny zahrnující noční práci



Rappaport, S. M., Barupal, D. K., Wishart, D., Vineis, P., & Scalbert, A. (2014). The Blood Exposome and Its Role in Discovering Causes of Disease. *Environmental Health Perspectives*, 1–6.

# Exposom – nové paradigma

*The exposome is composed of every exposure to which an individual is subjected from conception to death.*

It comprises:

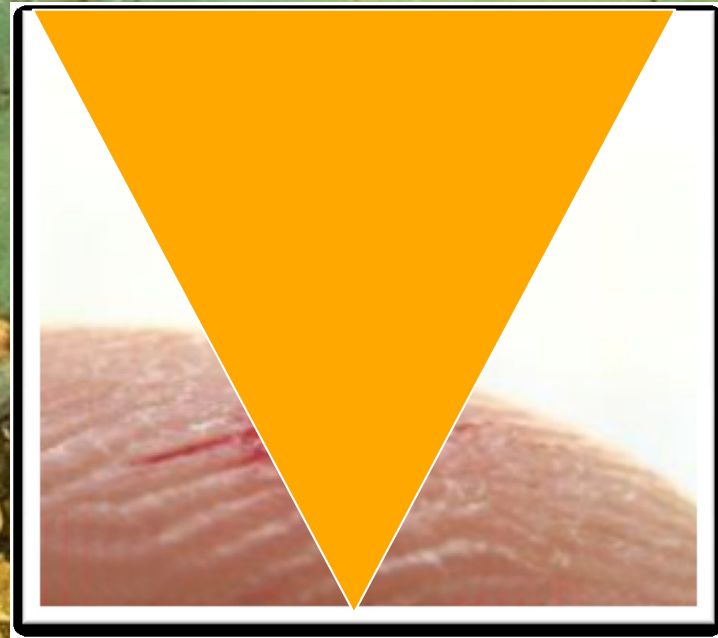
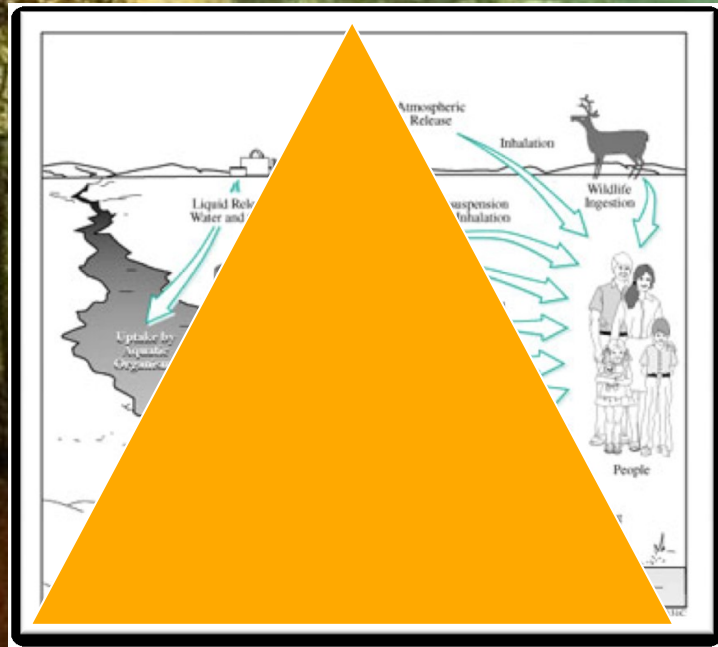
- processes internal to the body such as metabolism, gut microflora, inflammation...
- external exposures including infectious agents, chemical contaminants, diet...
- social, economic and psychological influences.

Wild, C. P. (2012). The exposome: from concept to utility. *International Journal of Epidemiology*, 41(1), 24–32.



Chris Wild

# Bottom-up nebo Top-down



Or a more use a more integrated approach?

van Tongeren, M., & Cherrie, J. (2012). An Integrated Approach to the Exposome. *Environmental Health Perspectives*, 120(3), a103–a104.

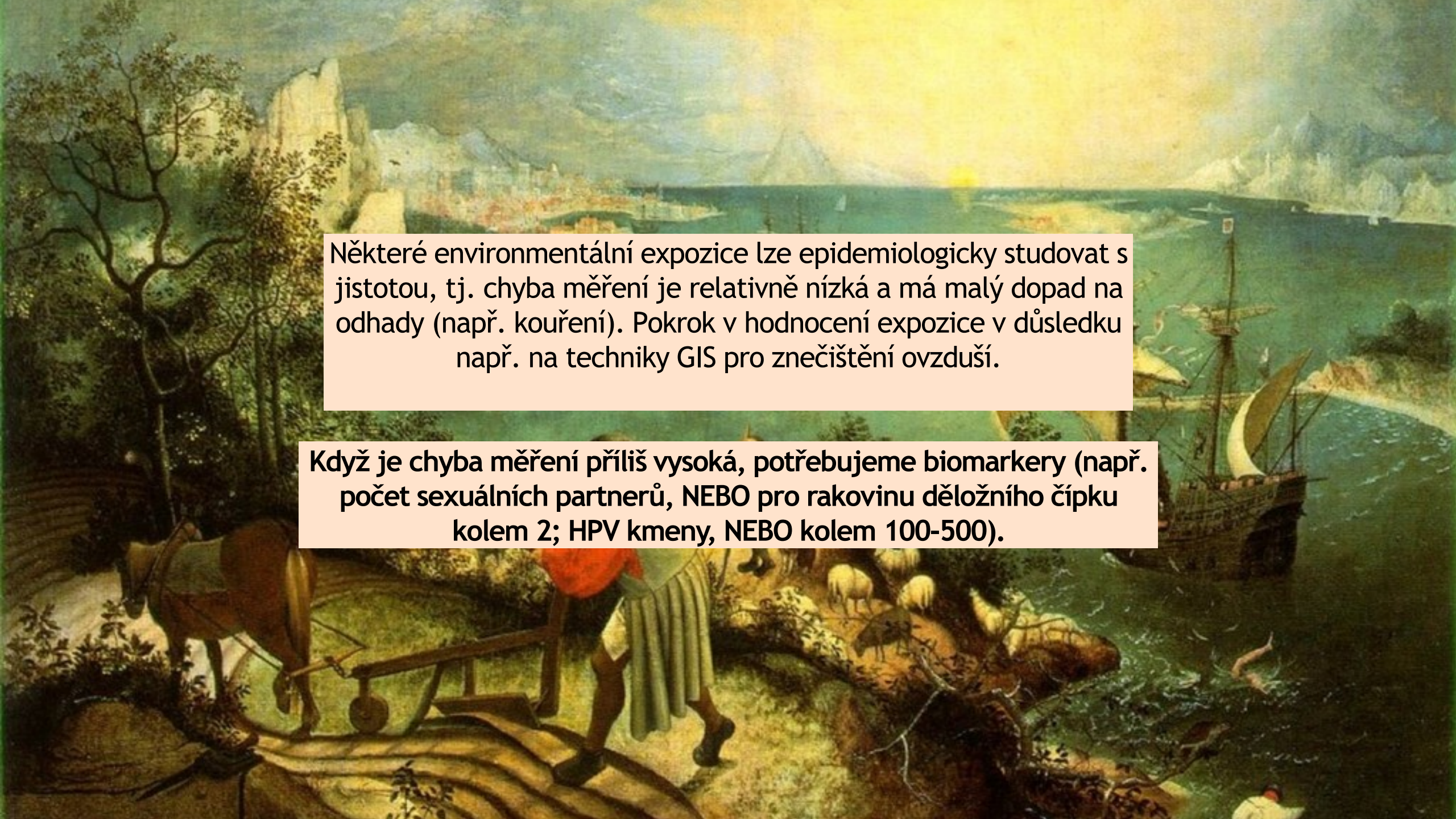


# Problémy?

Podle odhadů má běžná metoda genotypizace Taqman 96% senzitivitu a 98% specificitu, což umožňuje malou chybu v klasifikaci. Senzitivita při hodnocení expozice životního prostředí je naopak poměrně často nižší než 70 % a specificita ještě nižší.

Genotyp je stabilní, přesně měřená (sens, spec=90-100%), frekvence alel je vysoká

Expozice prostředí se mění (životní události), často měřeny nepřesně, frekvence může být příliš nízká



Některé environmentální expozice lze epidemiologicky studovat s jistotou, tj. chyba měření je relativně nízká a má malý dopad na odhady (např. kouření). Pokrok v hodnocení expozice v důsledku např. na techniky GIS pro znečištění ovzduší.

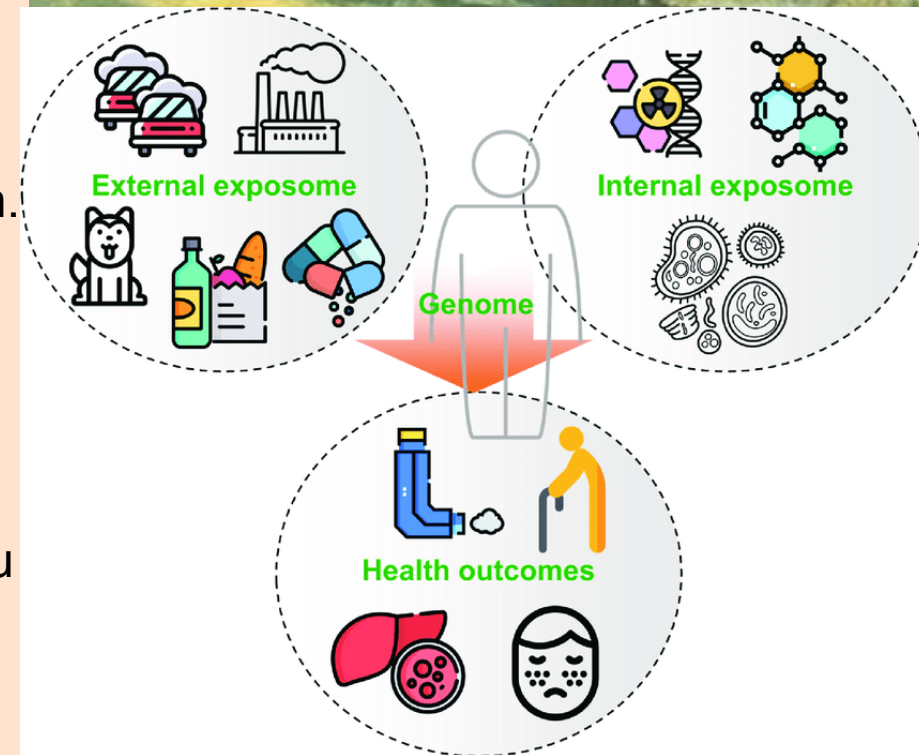
**Když je chyba měření příliš vysoká, potřebujeme biomarkery (např. počet sexuálních partnerů, NEBO pro rakovinu děložního čípku kolem 2; HPV kmeny, NEBO kolem 100-500).**

# Expozom

Koncept exposomu se týká souhrnu environmentálních expozičních faktorů od počítání dále. **Vnitřní exposom** je založen na měření v biologickém materiálu kompletních souborů biomarkerů expozice pomocí opakovaných biologických vzorků zejména v kritických životních fázích.

Biomarkery, které lze v tomto kontextu měřit, pokrývají širokou škálu molekul, od xenobiotik a jejich metabolitů v krvi (metabolomika) až po kovalentní komplexy s DNA a proteiny (aduktomika).

Termín omika obecně označuje rigorózní studium kompletního souboru biologických a nebiologických molekul pomocí vysoce výkonných technik (Rappaport a Smith 2010).



Editorial

# Complementing the Genome with an "Exposome": The Outstanding Challenge of Environmental Exposure Measurement in Molecular Epidemiology

Christopher Paul Wild

Molecular Epidemiology Unit, Centre for Epidemiology and Biostatistics, Leeds Institute of Genetics, Health and Therapeutics, Faculty of Medicine and Health, University of Leeds, Leeds, United Kingdom

EPIDEMIOLOGY

## Environment and Disease Risks

Stephen M. Rappaport and Martyn T. Smith

Although the risks of developing chronic diseases are attributed to both genetic and environmental factors, 70 to 90% of disease risks are probably due to differences in environments (1-3). Yet, epidemiologists increasingly use genome-wide association studies (GWAS) to investigate diseases, while relying on questionnaires to characterize "environmental exposures." This is because GWAS represent the only approach for exploring the totality of any risk factor (genes, in this case) associated with disease prevalence. Moreover, the value of costly genetic information is diminished when inaccurate and imprecise environmental data lead to biased inferences regarding gene-environment interactions (4). A more comprehensive and quantitative view of environmental expo-

School of Public Health, University of California, Berkeley, CA 94720-7356, USA. E-mail: srappaport@berkeley.edu

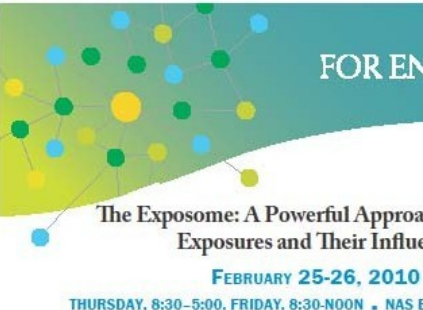
sure is needed if epidemiologists are to discover the major causes of chronic diseases.

An obstacle to identifying the most important environmental exposures is the fragmentation of epidemiological research along lines defined by different factors. When epidemiologists investigate environmental risks, they tend to concentrate on a particular category of exposures involving air and water pollution, occupation, diet and obesity, stress and behavior, or types of infection. This slicing of the disease pie along parochial lines leads to scientific separation and confuses the definition of "environmental exposures." In fact, all of these exposure categories are interconnected and collectively rather than

To develop a more comprehensive view of environmental exposure, we need to

A new paradigm is needed to assess how a lifetime of exposure to environmental factors affects the risk of developing chronic diseases.

chemicals that alter critical molecules, cells, and physiological processes inside the body. Thus, it would be reasonable to consider the "environment" as the body's internal chemical environment and "exposures" as the amounts of biologically active chemicals in this internal environment. Under this view, exposures are not restricted to chemicals (toxins) entering the body from air, water, or food, for example, but also include chemicals produced by inflammation, oxidative stress, lipid peroxidation, infections, gut flora, and other natural processes (5, 6) (see the figure). This internal chemical environment continually fluctuates during life due



**EMERGING SCIENCE  
FOR ENVIRONMENTAL  
HEALTH DECISIONS  
WORKSHOP**

**The Exposome: A Powerful Approach for Evaluating Environmental Exposures and Their Influences on Human Disease**

**FEBRUARY 25-26, 2010 • WASHINGTON, DC**  
THURSDAY, 8:30-5:00, FRIDAY, 8:30-NOON • NAS BUILDING, 2100 C STREET, NW, AUDITORIUM

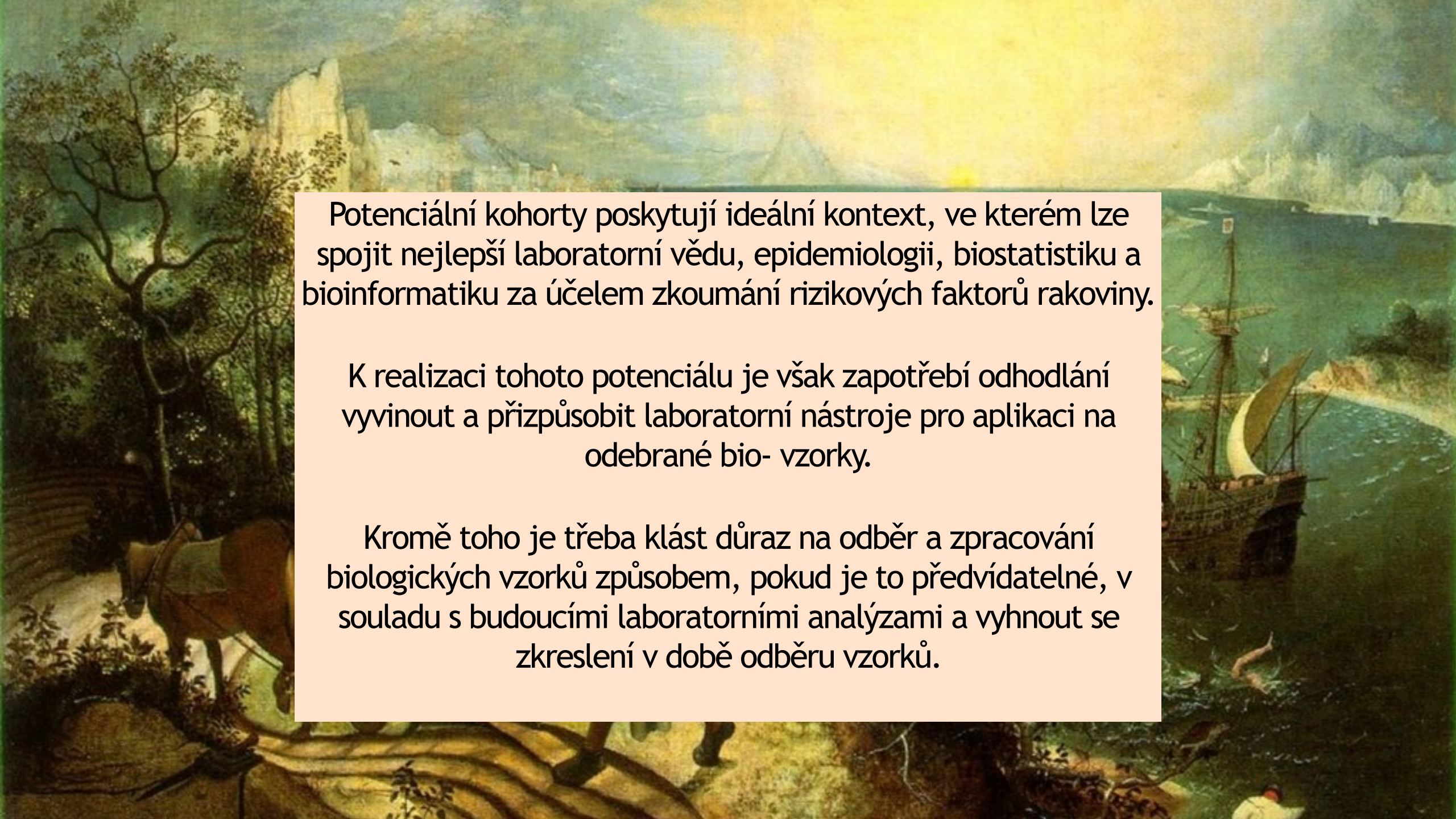


**EMERGING SCIENCE  
FOR ENVIRONMENTAL  
HEALTH DECISIONS  
AGENDA**

**Emerging Technologies for Measuring Individual Exposomes**

**DECEMBER 8-9, 2011 • THURSDAY, 8:30-5:00, FRIDAY, 8:30-NOON\***  
HOUSE OF SWEDEN EVENT CENTER, 2900 K STREET, NW, WASHINGTON, DC

**THIS WORKSHOP WILL BE WEBCAST.**



Potenciální kohorty poskytují ideální kontext, ve kterém lze spojit nejlepší laboratorní vědu, epidemiologii, biostatistiku a bioinformatiku za účelem zkoumání rizikových faktorů rakoviny.

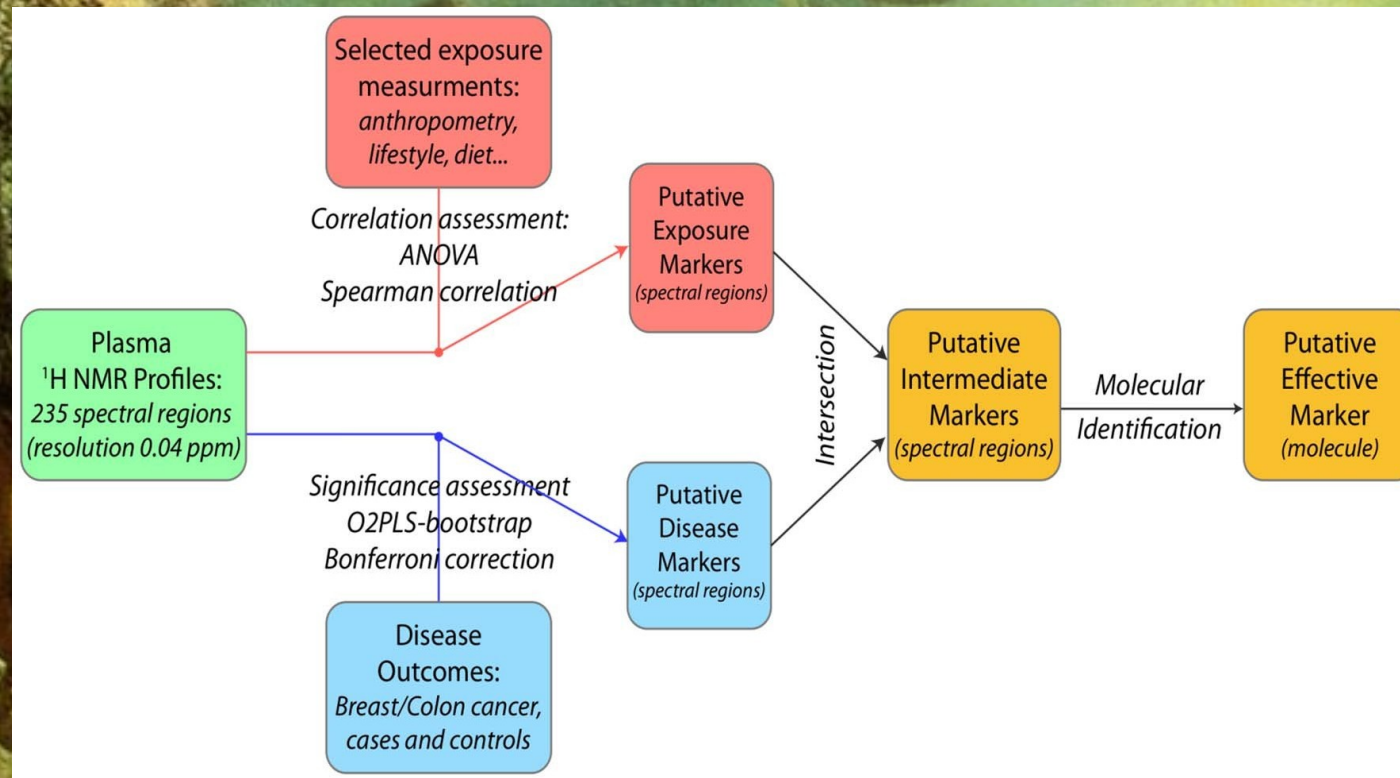
K realizaci tohoto potenciálu je však zapotřebí odhodlání vyvinout a přizpůsobit laboratorní nástroje pro aplikaci na odebrané bio- vzorky.

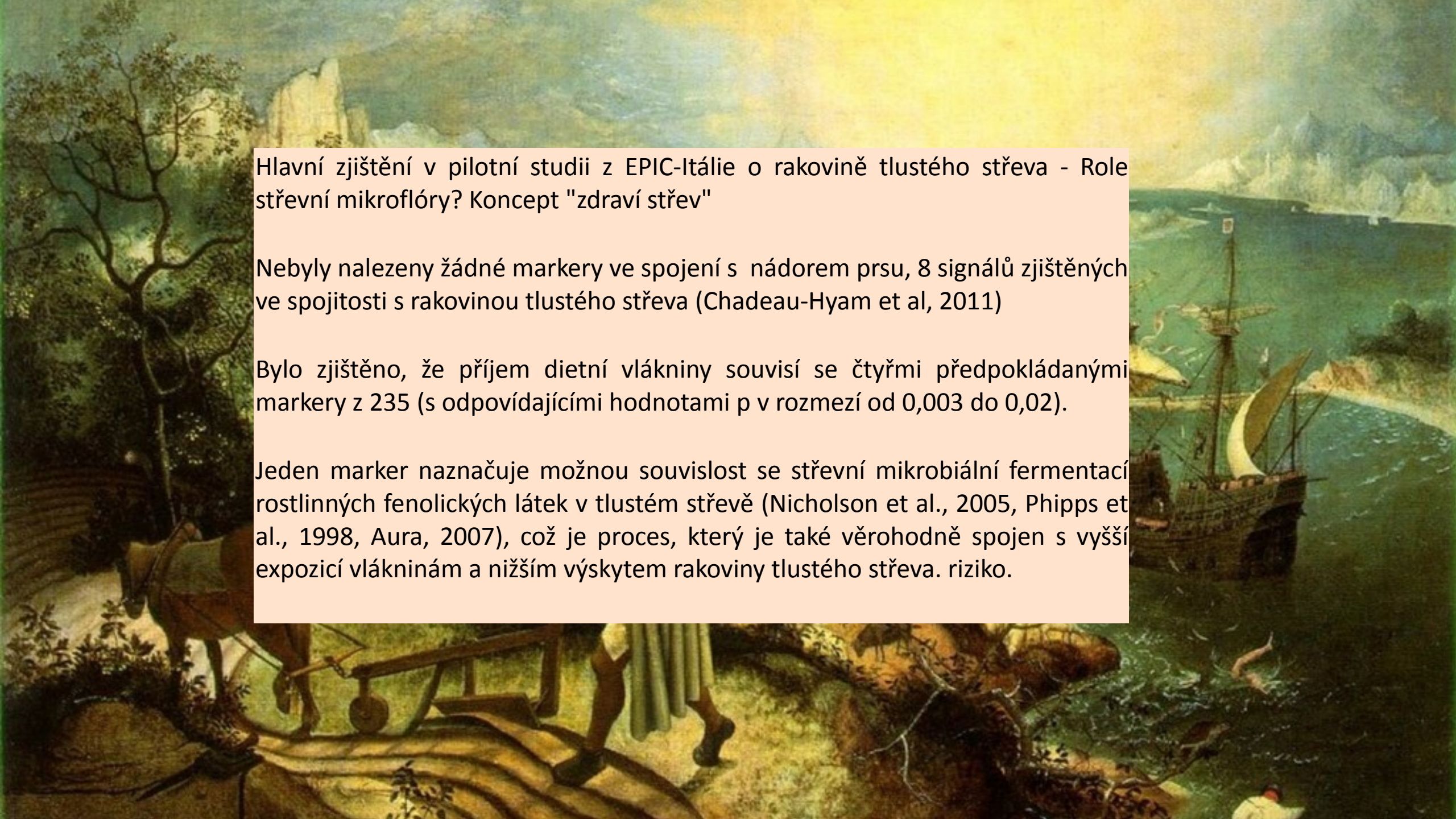
Kromě toho je třeba klást důraz na odběr a zpracování biologických vzorků způsobem, pokud je to předvídatelné, v souladu s budoucími laboratorními analýzami a vyhnout se zkreslení v době odběru vzorků.

# Problémy

1. vzácný a omezený materiál v biobankách, který PI nespádno získávají
2. jednotlivé (bodové) biologické vzorky
3. obvykle krev, ne moč (což může být lepší např. pro metabolomiky)
4. žádné kohorty neumožňují epidemiologii životního běhu
5. hloubkové posouzení expozice je omezeno proveditelností (pro nádorová onemocnění je nutné množství vzorků)
6. laboratorní měření a omics mají stejná omezení týkající se velikosti vzorku a proveditelnosti
7. biostatistické přístupy a kauzální interpretace
8. etické problémy

**Schematic representation of the implementation of the 'meet-in-the middle' approach  
(Chadeau-Hyam et al, Biomarkers 2011).**





Hlavní zjištění v pilotní studii z EPIC-Itálie o rakovině tlustého střeva - Role střevní mikroflóry? Koncept "zdraví střev"

Nebyly nalezeny žádné markery ve spojení s nádorem prsu, 8 signálů zjištěných ve spojitosti s rakovinou tlustého střeva (Chadeau-Hyam et al, 2011)

Bylo zjištěno, že příjem dietní vlákniny souvisí se čtyřmi předpokládanými markery z 235 (s odpovídajícími hodnotami  $p$  v rozmezí od 0,003 do 0,02).

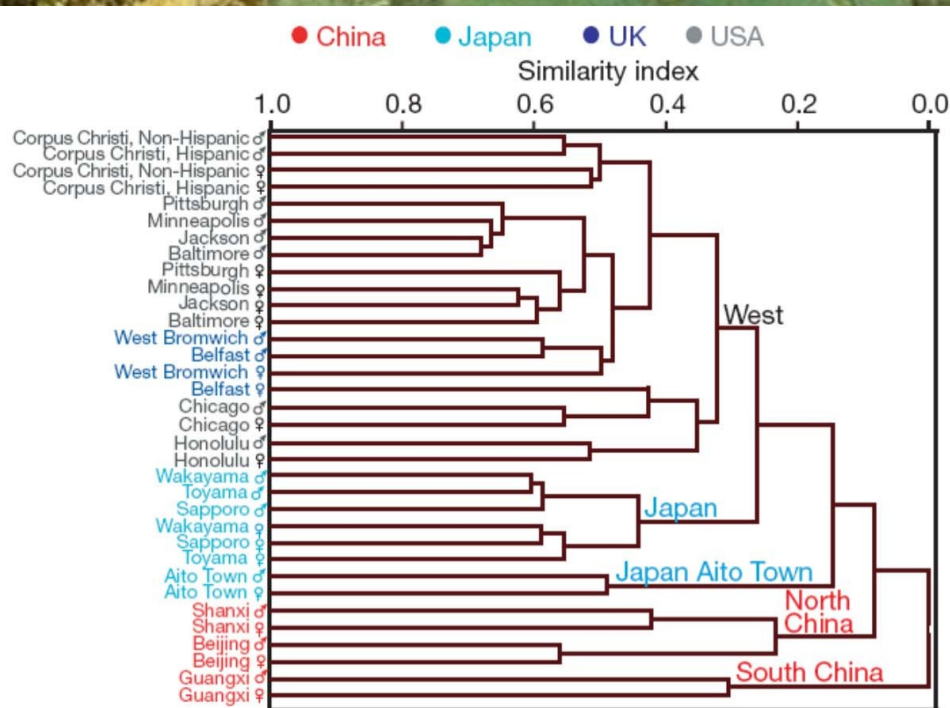
Jeden marker naznačuje možnou souvislost se střevní mikrobiální fermentací rostlinných fenolických látek v tlustém střevě (Nicholson et al., 2005, Phipps et al., 1998, Aura, 2007), což je proces, který je také věrohodně spojen s vyšší expozicí vlákninám a nižším výskytem rakoviny tlustého střeva. riziko.



# Human metabolic phenotype diversity and its association with diet and blood pressure

Elaine Holmes<sup>1\*</sup>, Ruey Leng Loo<sup>1,2\*</sup>, Jeremiah Stamler<sup>3</sup>, Magda Bictash<sup>1,2</sup>, Ivan K. S. Yap<sup>1,2</sup>, Queenie Chan<sup>2</sup>, Tim Ebbels<sup>1</sup>, Maria De Iorio<sup>2</sup>, Ian J. Brown<sup>2</sup>, Kirill A. Veselkov<sup>1</sup>, Martha L. Daviglus<sup>3</sup>, Hugo Kesteloot<sup>4</sup>, Hirotugu Ueshima<sup>5</sup>, Liancheng Zhao<sup>6</sup>, Jeremy K. Nicholson<sup>1</sup> & Paul Elliott<sup>2</sup>

Nature 2008



**Figure 1 | Hierarchical cluster analysis using group average linkage based on median <sup>1</sup>H NMR urine spectra, by population sample and gender (n = 4,630). Data for first 24-h urinary specimens.**

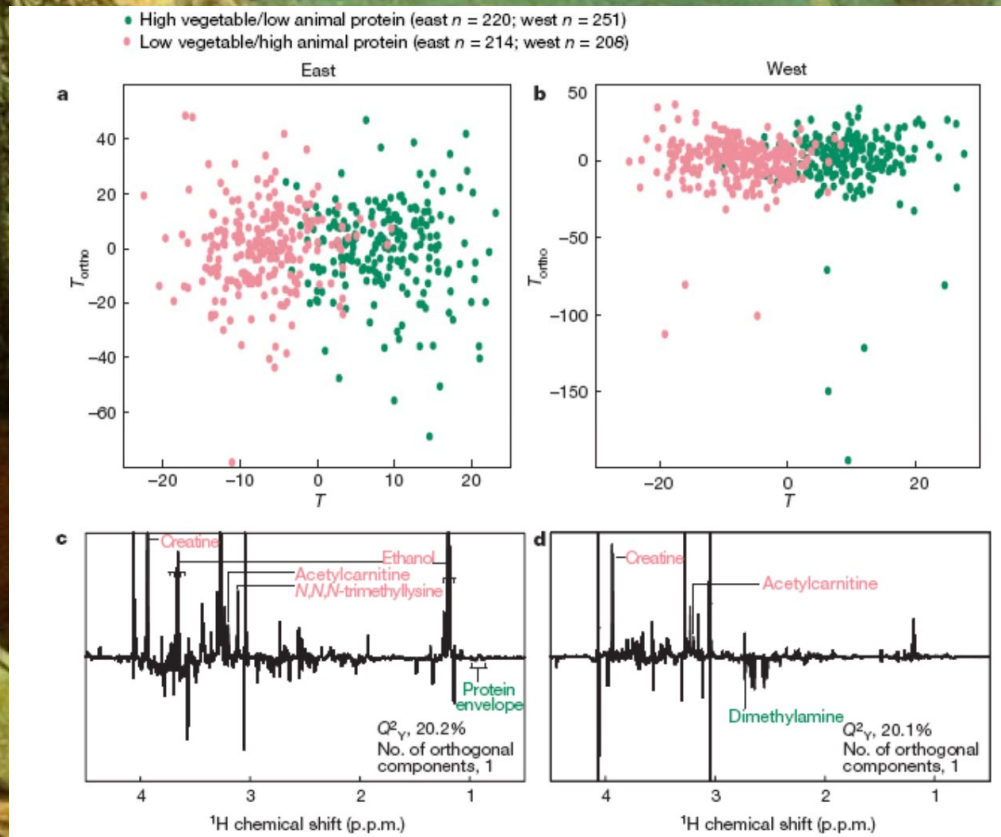
**Table 1 | Estimated mean differences in systolic and diastolic BP**

| Urinary metabolite | A*                    |         |
|--------------------|-----------------------|---------|
|                    | Not adjusted for BMI‡ |         |
| Alanine            | 2.69                  | (6.06)  |
| Formate            | -1.19                 | (-2.62) |
| Hippurate          | -2.10                 | (-4.85) |
| N-methylnicotinate | -0.09                 | (-0.21) |
| Alanine            | 1.57                  | (5.17)  |
| Formate            | -0.90                 | (-2.96) |
| Hippurate          | -0.98                 | (-3.33) |
| N-methylnicotinate | -0.07                 | (-0.25) |

‡ ≥ 1.96, P < 0.05; ≥ 2.58, P < 0.01; ≥ 3.29, P < 0.001; ≥ 3.89, P < 0.0001

# Human metabolic phenotype diversity and its association with diet and blood pressure

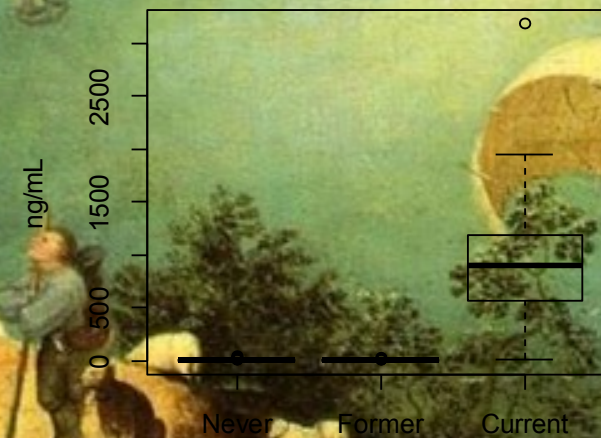
Elaine Holmes<sup>1\*</sup>, Ruey Leng Loo<sup>1,2\*</sup>, Jeremiah Stamler<sup>3</sup>, Magda Bictash<sup>1,2</sup>, Ivan K. S. Yap<sup>1,2</sup>, Queenie Chan<sup>2</sup>, Tim Ebbels<sup>1</sup>, Maria De Iorio<sup>2</sup>, Ian J. Brown<sup>2</sup>, Kirill A. Veselkov<sup>1</sup>, Martha L. Daviglus<sup>3</sup>, Hugo Kesteloot<sup>4</sup>, Hirotsugu Ueshima<sup>5</sup>, Liancheng Zhao<sup>6</sup>, Jeremy K. Nicholson<sup>1</sup> & Paul Elliott<sup>2</sup>



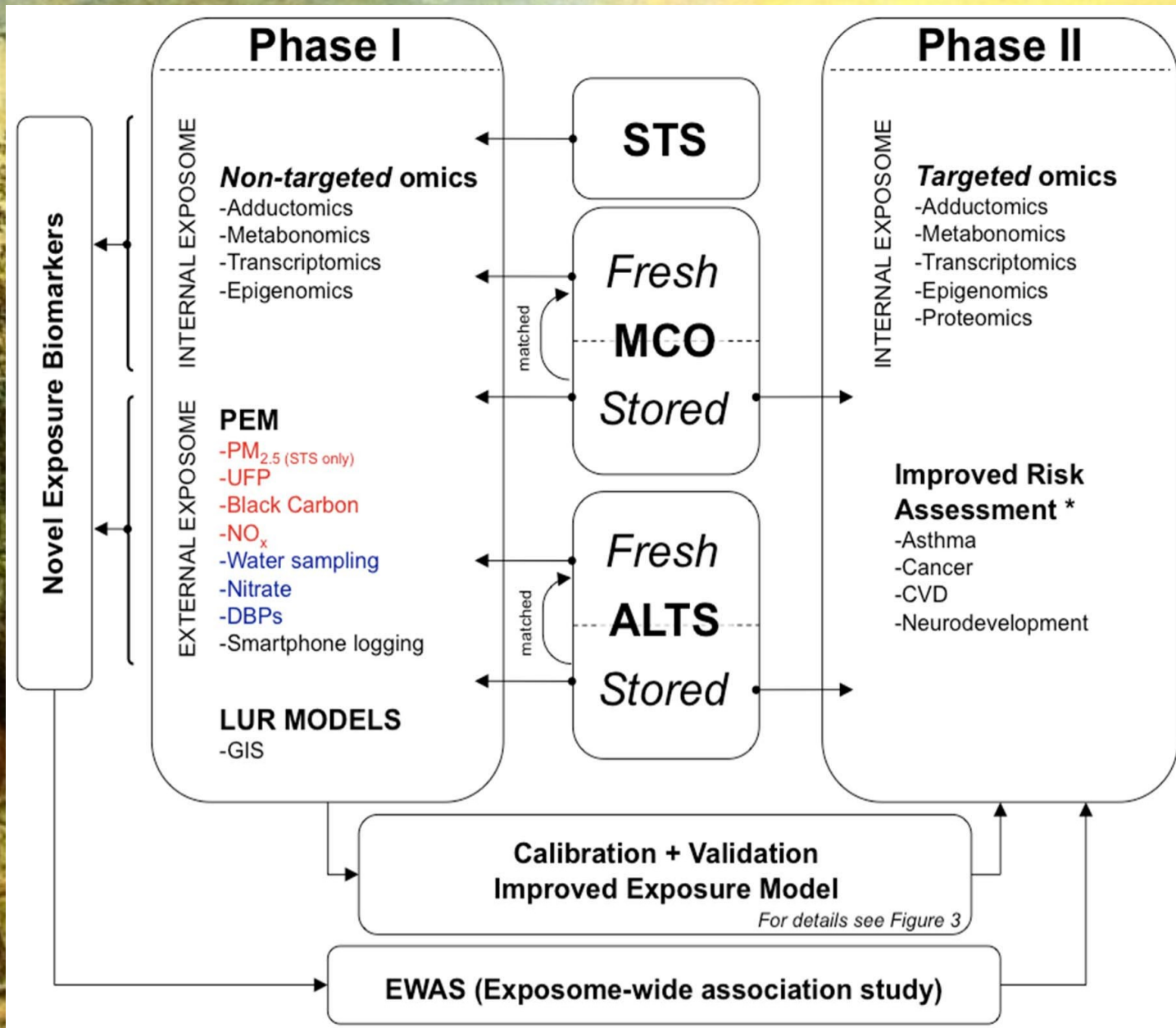
Supervised analysis defined profiles robustly associated with known dietary factors



**Cotinine vs Smoking Status**



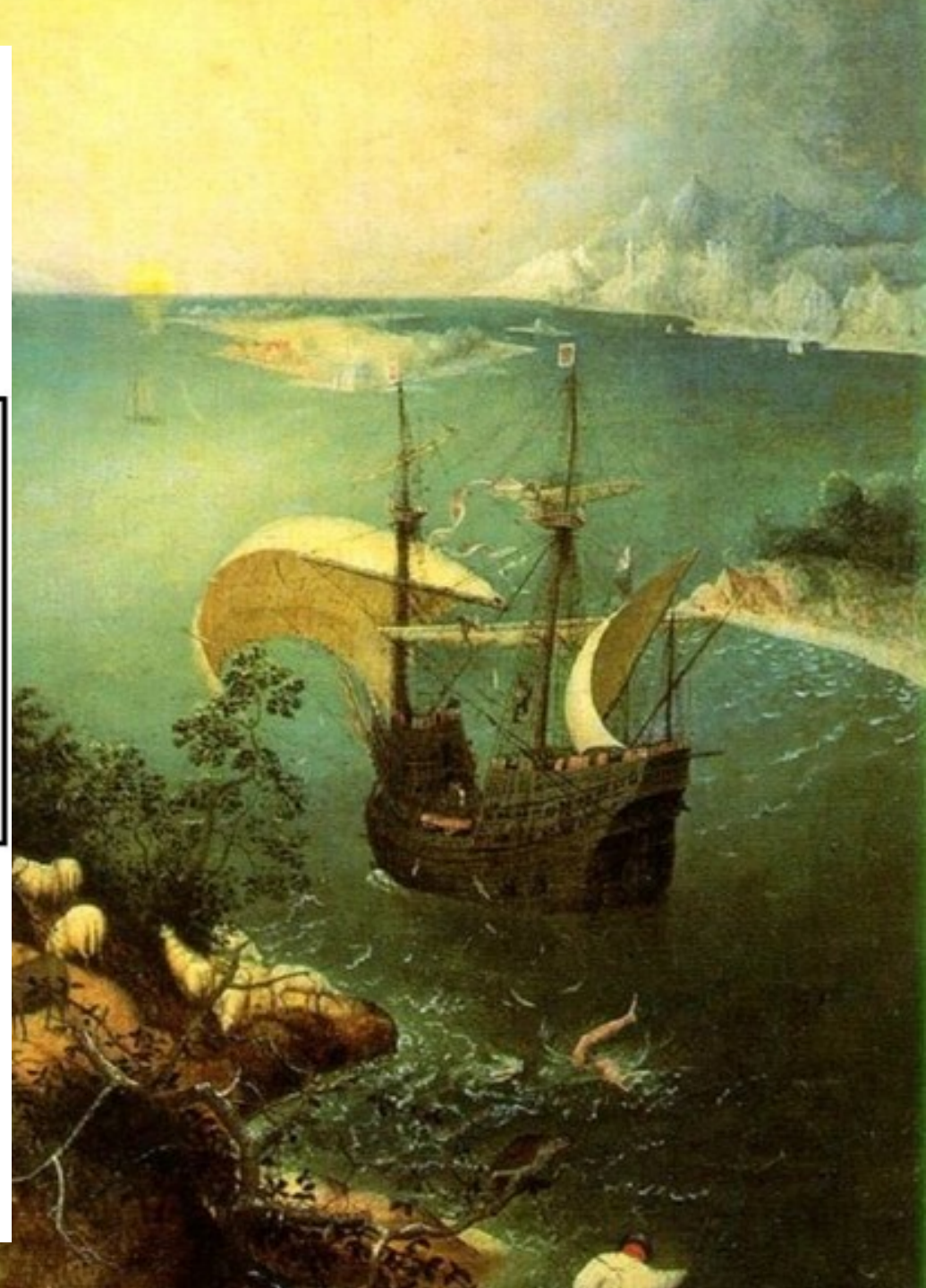
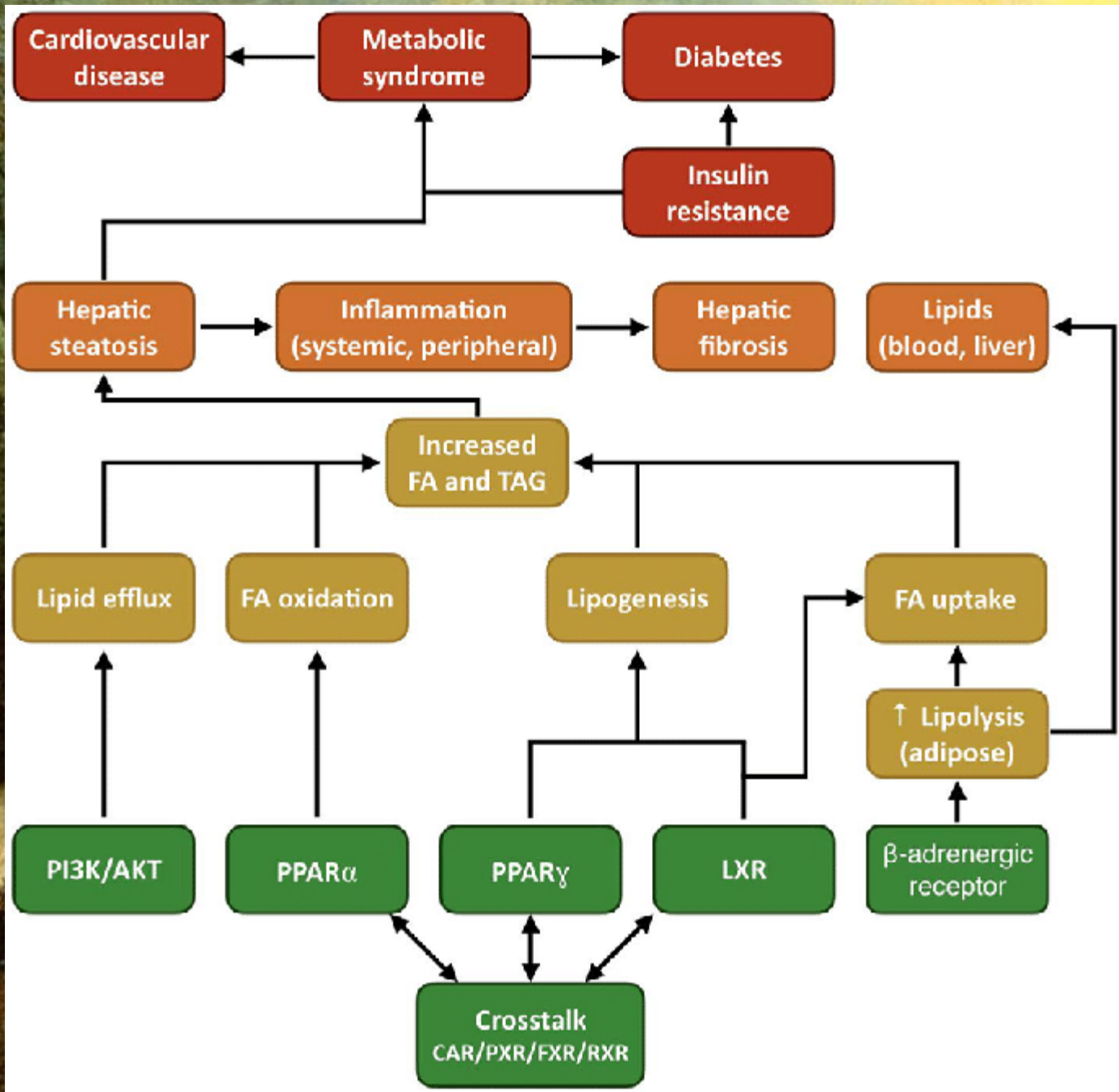
**Exposure marker - AHRR methylation is strongly associated with former smoking (first marker of past smoking). (Shenker et al, Human Molecular Genetics 2013; Epidemiology, in press)**



# Kritické a senzitivní fáze

Populační studie chronických onemocnění tradičně přijímají subjekty středního věku. Existují však pádné důkazy, že a) riziko onemocnění je ovlivněno ranou expozicí, včetně in utero; b) životní fáze zahrnují **kritická období** (během kterých mají změny expozice dlouhodobé účinky na rizika onemocnění nebo související přechodné markery) a **citlivá období** (během kterých má expozice silnější vliv na vývoj, a tedy i riziko onemocnění, než při jindy).

Myšlenka posloupnosti kritických a citlivých období vede ke konceptu „řetězce rizika“, tedy souhry časných expozic a pozdních expozic. Použití tohoto konceptu v praxi znamená mít přístup k několika životním fázím při hodnocení expozice a epidemiologických studiích a opakovaným měřením biomarkerů v různých časových oknech. Tento přístup vyžaduje návrh mezigenerační epidemiologické studie a nové statistické analýzy.



**Děkuji za pozornost**

