

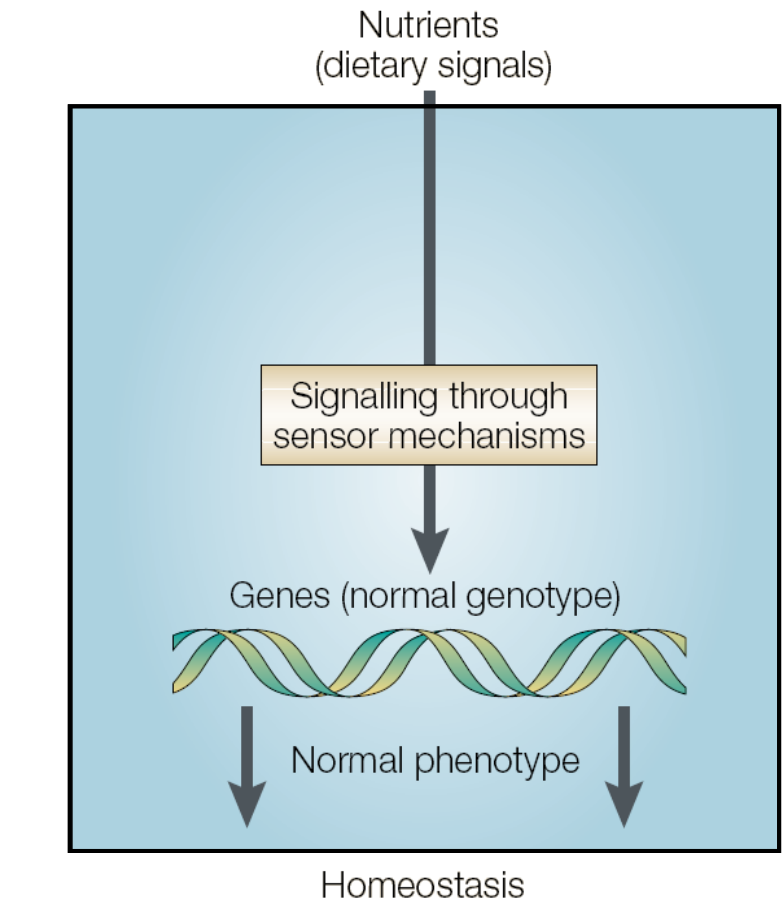
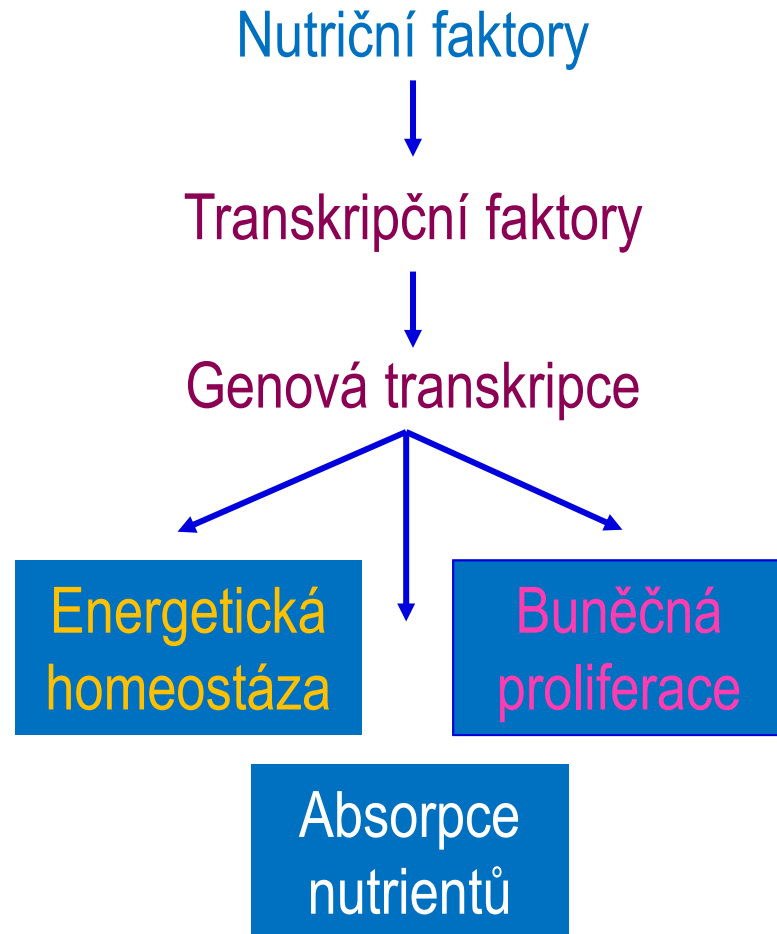
M U N I
M E D

1. Úvod do kurzu. Nutrigenetika, nutrigenomika

Osnova

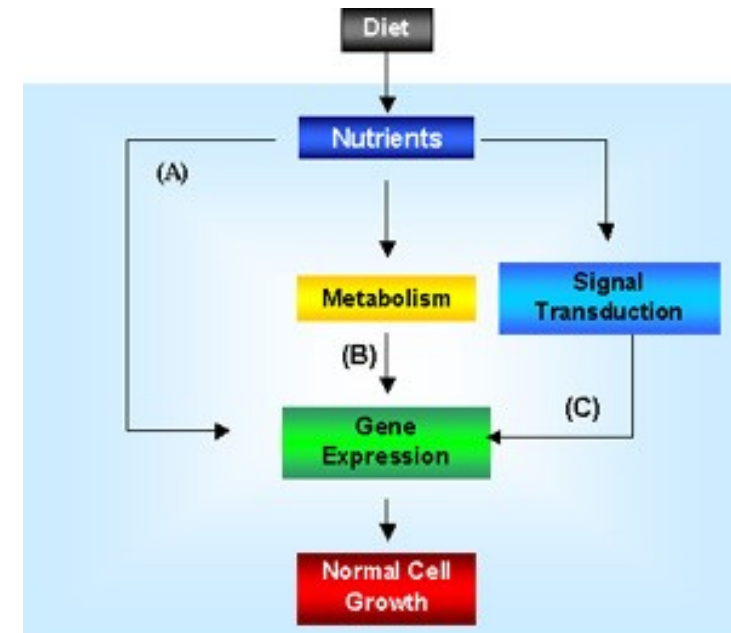
- Nutrigenetika
- Nutrigenomika
- Základy syndromologie
- Základní nosologické jednotky s obezity
- Biomarkery

Nutrienty jako dietní signály

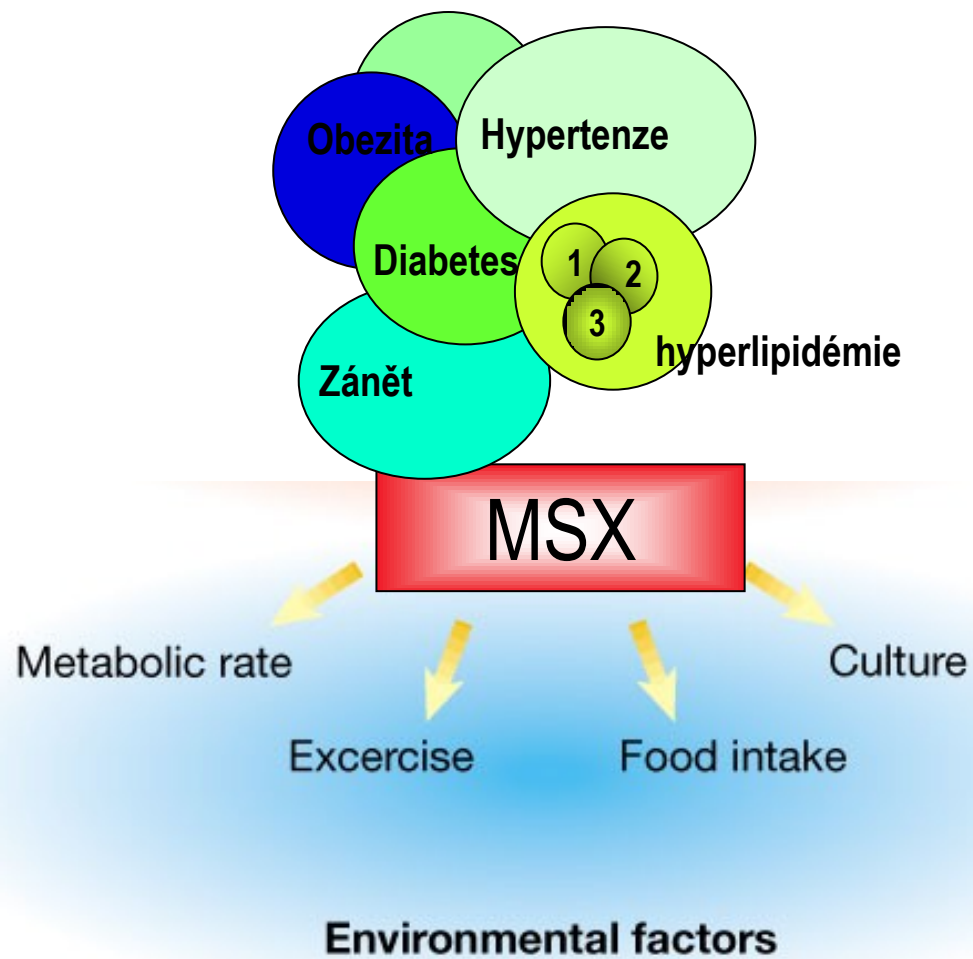


Vztah nutrientů ke genové expresi

- A) Přímý – Nutrienty jsou ligandy receptorů pro transkripční faktory.
- B) Nepřímý – Nutrienty jsou metabolizovány primárními nebo sekundárními metabolickými drahami, mění koncentrace substrátů nebo intermediálních metabolitů
- C) Nepřímý – Nutrienty alterují



Komplexní choroby



Genetická variabilita

- 99.9 % párů nukleotidových bází je u všech lidí totožných

0.1 % zodpovídá za fenotypické rozdíly
~ více než milion míst, kde se vyskytují rozdíly na úrovni jednoho nukleotidu (SNP)

- Např. AGGCCTA na AGGCTTA
- Tyto mohou vést k onemocnění a modulovat odpověď na:

patogeny

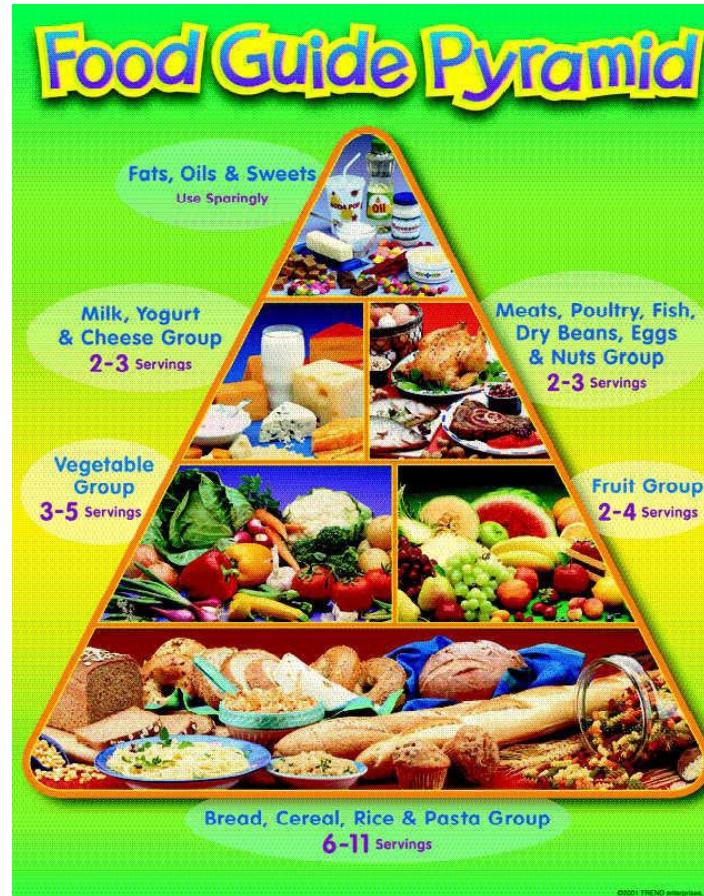
léky

cvičení

výživu



Jsme identičtí?



➔ Doporučení vycházejí z předpokladu, že lidé jsou

kulturně

etnicky

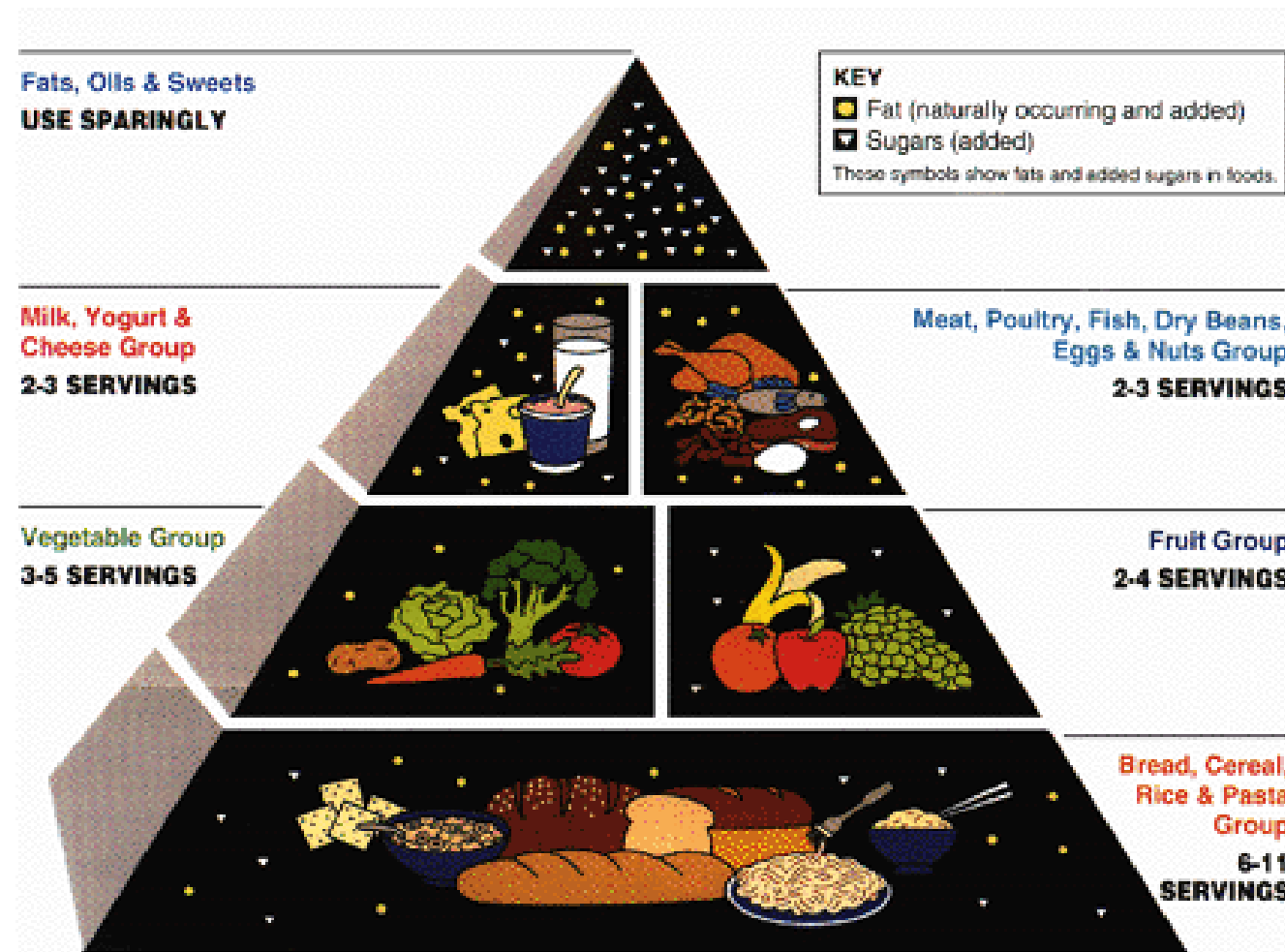
socioekonomicky

geneticky

➔ identiční

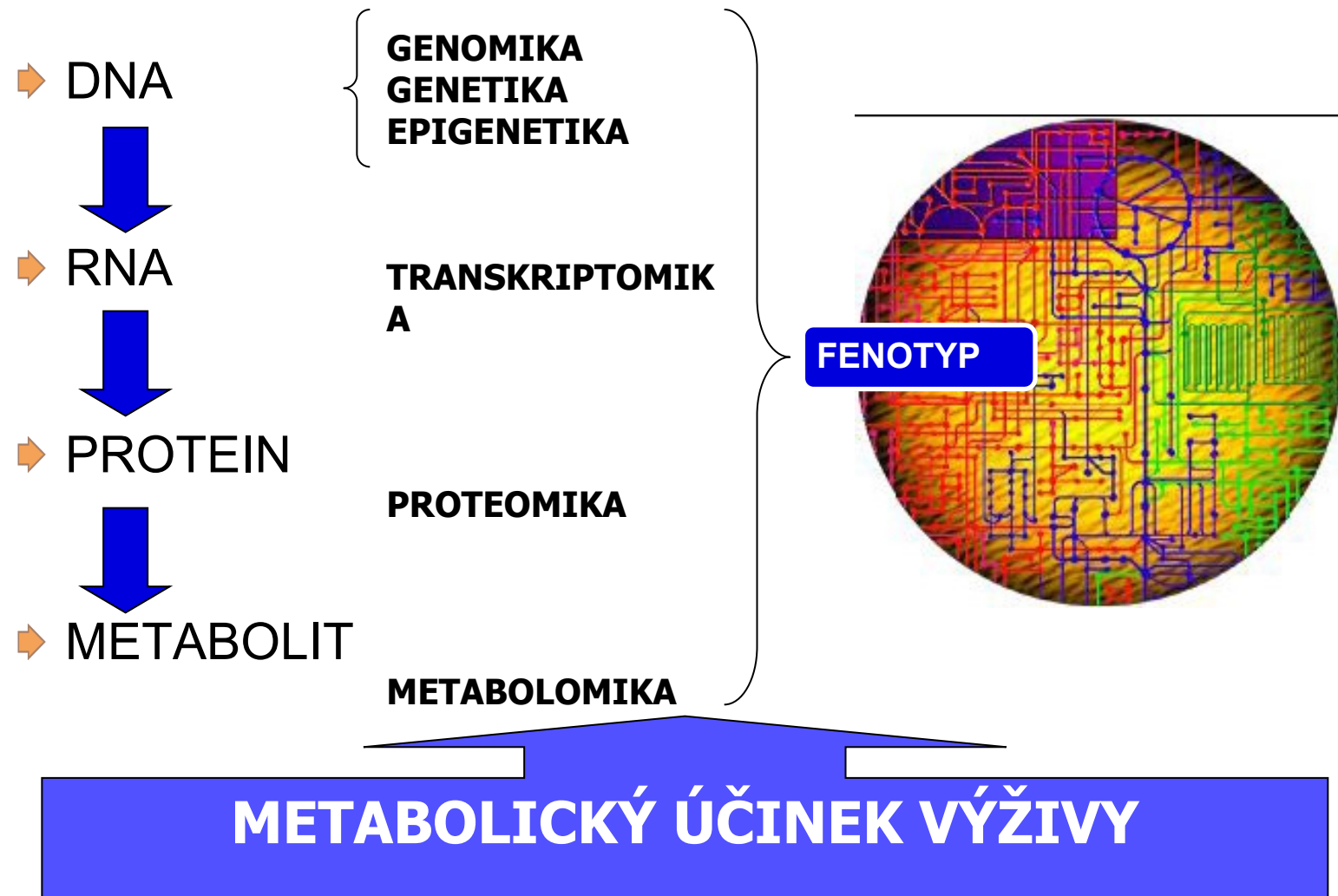
➔ TO ALE NENÍ PRAVDA

Strava – pro všechny?



USDA and the US Department of Health and Human Services

Základní paradigmatata molekulární biologie



Geny nebo životní styl?



Výživa a zdraví - historie

- 1900 – Detekce-prevence selektivních nutričních deficitů, např. vit. A, železo
- 1970 – vyvážené **diety** dodávka dostatečného množství živin (polysacharidy, tuky, proteiny, minerály, vitaminy. Nutriční doporučení “Schijf van 5”
- 1990 – výhody specifických stavěných diet“ jde za vyváženou **dietu**”– bere v úvahu roli ne-nutrientů

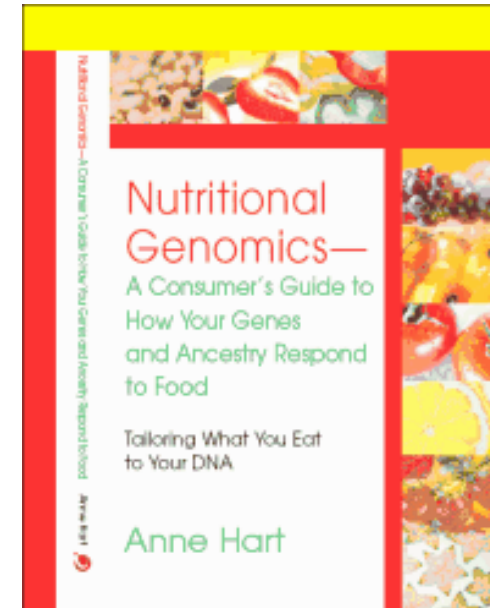
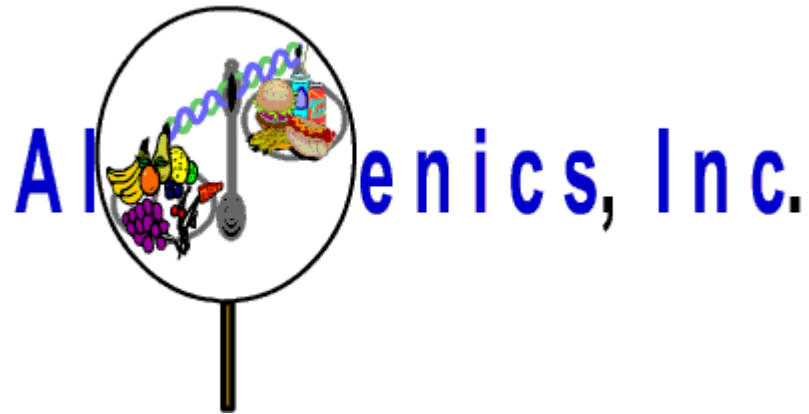
Nárůst specificky fungujících diet na trhu

Nárůst zájmu o terapii výživou

Historie – pokračování

- Asociace mezi výživou a chronickým onemocněním (Ignatovski –1908)
- První příklady prokazatelného vztahu výživy k rozvoji onemocnění (disease-causing):
 - Galaktosémie (1917)
 - Fenyلكetonurie (1934)
- Human Genome Project and SNPs (1998)

Co je nutrigenomika?



- Jezte správně pro váš genotyp, vaše genetické pozadí
- “Dříve byly chytré léky...”**

Nutrigenomika vs. nutrigenetika

Nutrigenomika

- “Nutrigenomika se zabývá aplikací genomiky v nutričním výzkumu, umožňuje poznání souvislostí mezi specifickými nutrienty a genetickými faktory, např. zkoumá způsob, jakým potrava nebo složky potravy ovlivňují genovou expresi. Nutrigenomika by měla umožnit lepší porozumení způsobu, jakým výživa ovlivňuje metabolické cesty a jakým způsobem toto souvisí s chorobami, u nichž existuje souvislost s výživou.” Chadwick R. (2004) Proceedings of the Nutrition Society 63:161-166.

Nutrigenetika

- “Nutrigenetika se zabývá studiem individuálních rozdílů na genetické úrovni, které ovlivňují odpověď na přijímanou stravu. Tyto individuální rozdíly jsou spíše na úrovni SNP polymorfismů než na úrovni poškození celého genu. Nutrigenomika by měla umožnit individualizované nutriční poradenství. “Chadwick R. (2004) Proceedings of the Nutrition Society 63:161-166.

Nutrigenomika vs. nutrigenetika

Nutrigenomika

- “Nutrigenomics se pokouší studovat vlivy výživy na úrovni celého genomu....(a) má za cíl identifikovat geny, které ovlivňují riziko onemocnění se vztahem k výživě na celogenomové úrovni... má za cíl porozumět mechanismům, které jsou podkladem těchto genetických predispozic.“ Muller M & Kersten S. (2003) Nature Reviews Genetics 4:315-322.

Nutrigenetika

- “Nutrigenetika zkoumá účinek genetických variací na interakci mezi stravou a onemocněním nebo nutričními požadavky. Genetika má zásadní úlohu pro identifikaci individuálního rizika rozvoje určitého onemocnění.“ Muller M & Kersten S. (2003) Nature Reviews Genetics 4:315-322.

Nutrigenomika vs. nutrigenetika

Nutrigenomika

- ▶ “Nutrigenomika popisuje použití prostředků funkční genomiky pro zkoumání biologického systému po vydání nutričního signálu, což umožní porozumět mechanismu, jakým molekuly z potravy ovlivňuje metabolické dráhy a kontrolu homeostázy.“ Mutch D, et al. (2005) FASEB Journal 19:1602-1616.
- ▶ “Nutrigenomika se zaměřuje na efekt složek potravy na genom, proteom a metabolom.” Ordovas J & Mooser M. (2004) Current Opinion in Lipidology 15:101-108.

Nutrigenetika

- ▶ “Nutrigenetika představuje vědu zabývající se identifikací a charakterizací genových variant souvisejících s různou odpovědí na různé nutrienty a zaměřuje se na hledání souvislostí mezi těmito variacemi a stavem onemocnění.” Mutch D, et al. (2005) FASEB Journal 19:1602-1616.
- ▶ “Nutrigenetika zkoumá účinek genetických variací na interakci mezi stravou a cvičením. To zahrnuje.... genové varianty související nebo zodpovědné za diferencovanou odpověď na nutrienty ve stravě.“ Ordovas J & Mooser M. (2004) Current Opinion in Lipidology 15:101-108..

Nutrigenomika vs. nutrigenetika

- Genomika: studie lidského genomu
- Geny takéž determinují, jakým způsobem výživa ovlivňuje zdraví, event. souvisí s nemocí
- Komerční potenciál:
 - Individualizované nutriční poradenství
 - Individuálně sestavené produkty

Nutrigenomika principy

- Látky obsažené v potravě (mikro- i makronutrienty) působí přímo či nepřímo na lidský genom a mění tak jeho strukturu či genovou expresi.
- Za určitých okolností může být dieta u některých jedinců významným rizikovým faktorem vzniku řady chorob.
- Některé z cílových genů látek obsažených v potravě hrají pravděpodobně roli v nástupu, incidenci, průběhu a závažnosti některých chronických chorob.
- Míra vlivu diety na rovnováhu mezi stavem zdraví a nemoci může záviset na konkrétní genetické výbavě jednotlivce.
- Nutriční intervence založená na znalosti jak konkrétního nutričního stavu a potřeb, tak genotypu (individualizovaná

Nutrigenomika nástroje

- expresní profilování genů – transkriptomu, např. pomocí expresních cRNA nebo cDNA čipů, analogické postupy vyvinuty pro sledování exprese na úrovni proteinů (proteomu – především dvojrozměrná elektroforéza a různé formy hmotnostní spektrometrie) a metabolitů (metabolomu) = dietní otisky, signatury
- populační izoláty, u kterých je omezena genetická variabilita, umožňují detailní analýzu samotné genetické komponenty komplexních metabolických onemocnění už bez zahrnutí její interakce s prostředím (tj. dietou v případě nutriční genomiky), např. Huterité (původně tyrolská komunita, žijící nyní v oblasti Jižní Dakoty, držící se velmi striktně původní receptů a

Nutrigenomika – další definice

- Nutrigenomika zkoumá celogenomové vlivy a interakce ovlivněné výživou
- Z perspektivy nutrigenomiky jsou nutrienty dietní signály, jež jsou detekovány buněčnými systémy, které ovlivňují genovou a proteinovou expresi a postupně produkci specifických metabolitů
- Vzorce genové exprese, proteinové exprese a produkce metabolitů v odpovědi na přítomnost určitých nutrientů nebo určitých nutričních režimů se označuje jako „dietní podpis=otisk“
- Nutrigenomika se pokouší tyto dietní otisky ve specifických buňkách, tkáních a organizmech studovat a pochopit, jakým způsobem výživa ovlivňuje homeostázu

Müller M, Kersten S. Nutrigenomics: Goals and Perspectives. Nature Reviews Genetics 4, 315-322 (2003)

Nutrigenomika

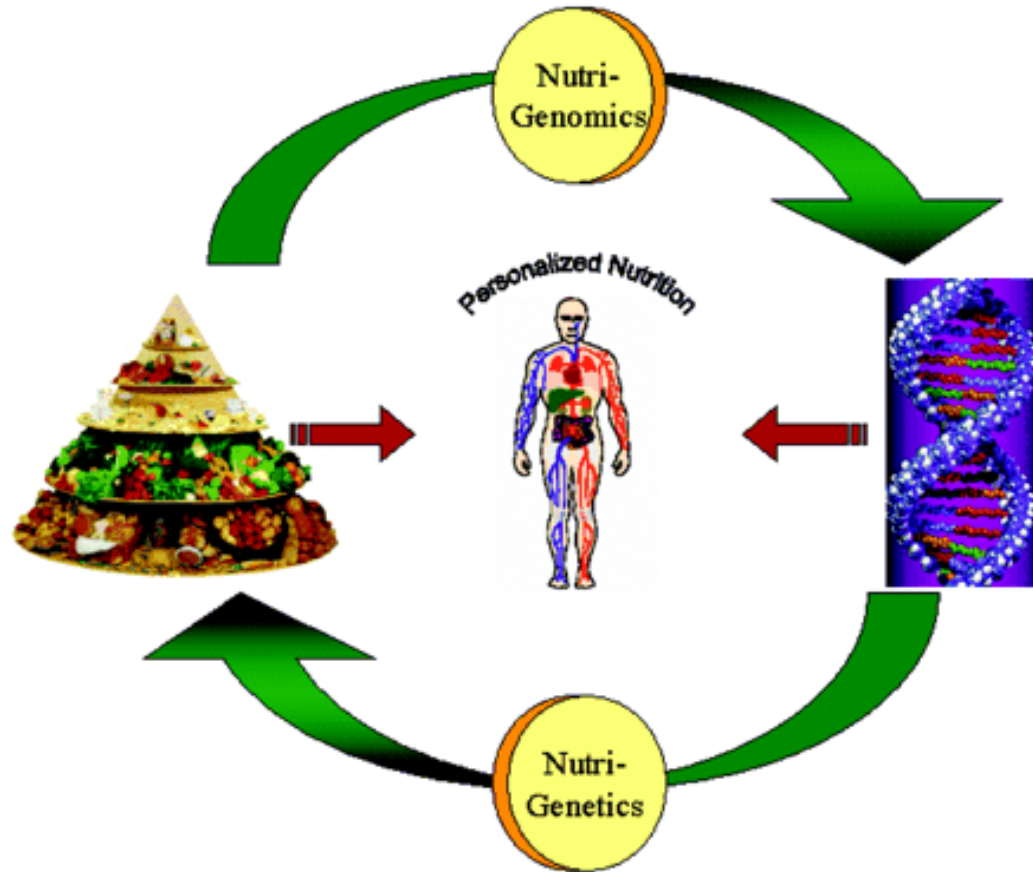
- Studuje, jak různé složky potravy mohou interagovat s určitými geny a zvyšovat tak riziko onemocnění jako je diabetes II. Typu, obezita, kardiovaskulární choroby a některé typy nádorových onemocnění
 - Cíl : použít personalizované diety k prevenci nebo oddálení nástupu onemocnění a optimalizaci a udržení lidského zdraví

<http://nutrigenomics.ucdavis.edu/pressarticles.htm>

Výživa a regulace genové exprese

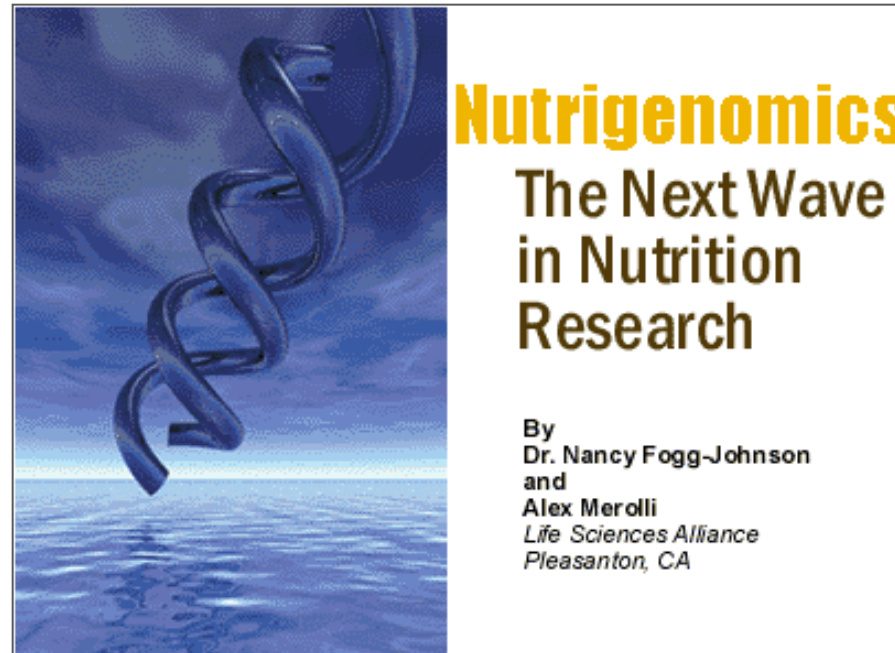
- Přichází éra nutrigenomiky: byl popsán a charakterizován genom člověka a několika rostlin a geneticky modifikované potraviny jsou nyní hojně dostupné
- Nové genomické technologie umožnily výzkum nutriční modulace nejrůznějších patofyziologických drah prostřednictvím nutrientů, mikronutrientů a dalších látek

Nutrigenomika a nutrigenetika – dvě strany téže mince



Mutch D, et al. (2005) *FASEB Journal* 19:1602-1616.

Nutrigenomika – nová vlna v nutričním výzkumu



- Potravinářské a farmaceutické společnosti již na celosvětové úrovni rozpoznaly komerční potenciál nutrigenomiky a začaly vyvíjet výrazné výzkumné úsilí.

Funkční potraviny – potravinářský průmysl

1. generace

Doplňky:

- vitamínové doplňky
- obohacení vápníkem
- vláknina

Components with established efficacy

Research based on epidemiology

2. generace

Celé potraviny:

- brokolice
- jogurt
- zelený čaj
- celozrnné produkty

Research based on safety and efficacy assessment:

'discovery' of positive effects of food compounds

Active component(s) identified or the efficacy confirmed

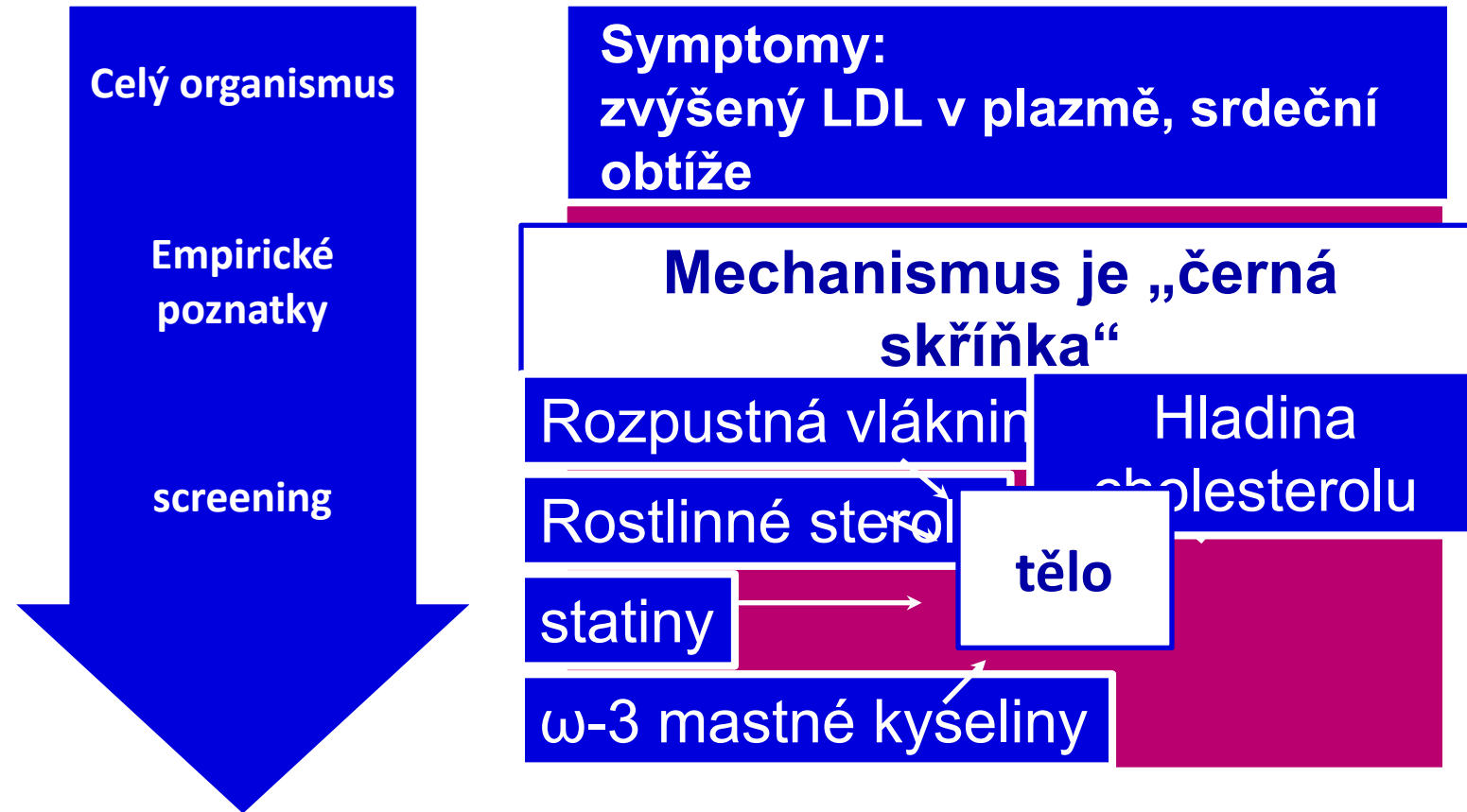
3. generace

„enhanced“ potraviny:

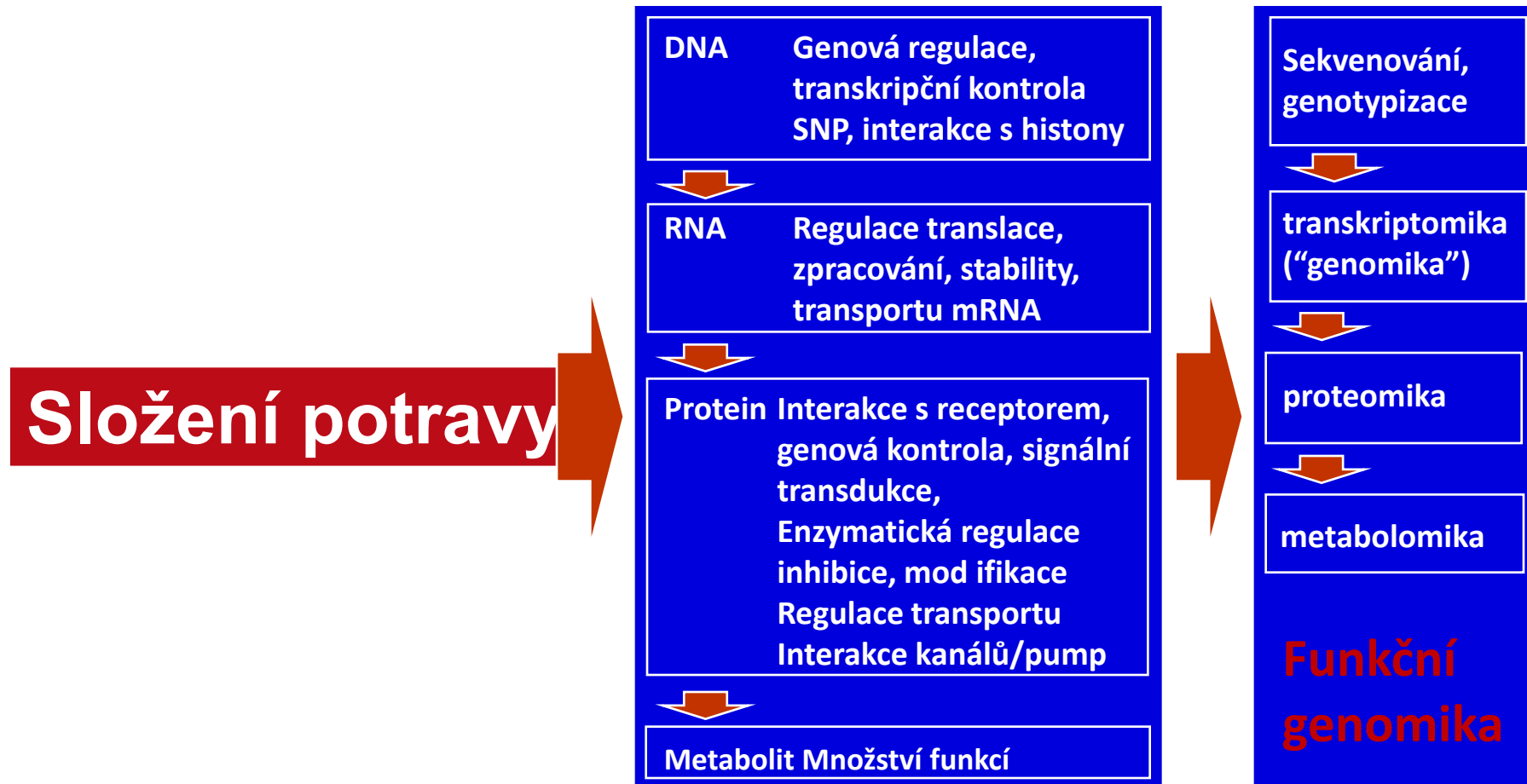
- nové složení?
- nové produkty?
- ??

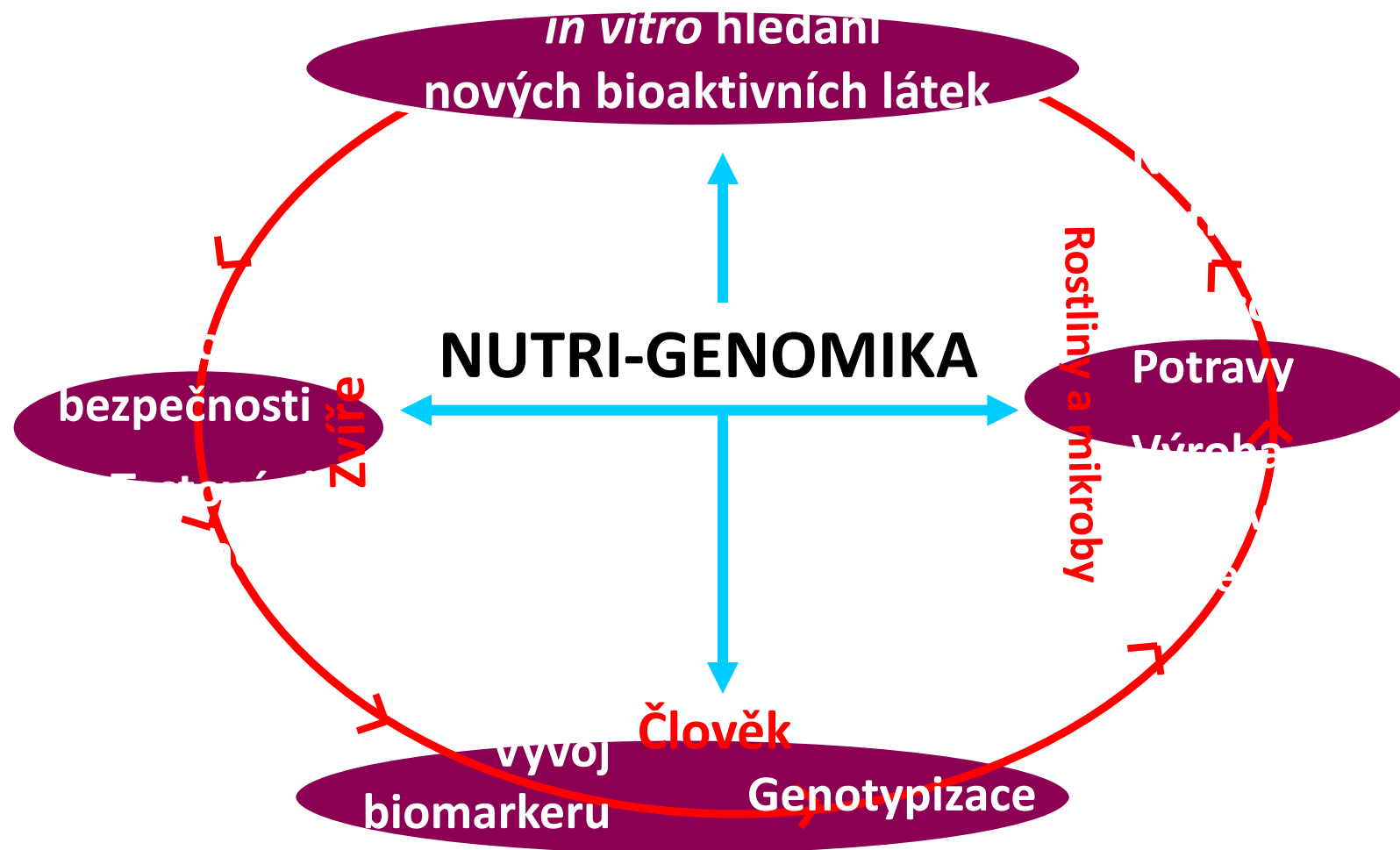
- **Nově vytvořené funkční součásti / potraviny založené na mechanisticky prokázané účinnosti**
- **Výzkum zaměřený na „farmaceutický“ screening: účinek, cílený vývoj, řízená optimalizace, biologická dostupnost**

Tradiční zkoumání biologických cest je mnohostupňový proces



ÚČINEK SLOŽEK POTRAVY NA ZDRAVOTNÍ STAV BÝVÁ NEJČASTĚJI SPOJEN SE SPECIFICKÝMI INTERAKCEMI NA MOLEKULÁRNÍ ÚROVNI





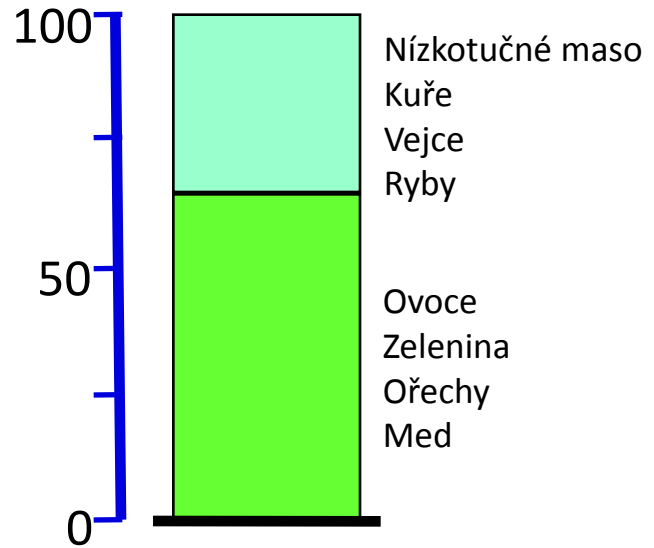
STEJNÉ GENY, RŮZNÁ STRAVA



Paleolit

1.200.000 generací pod hrozbou hladomoru

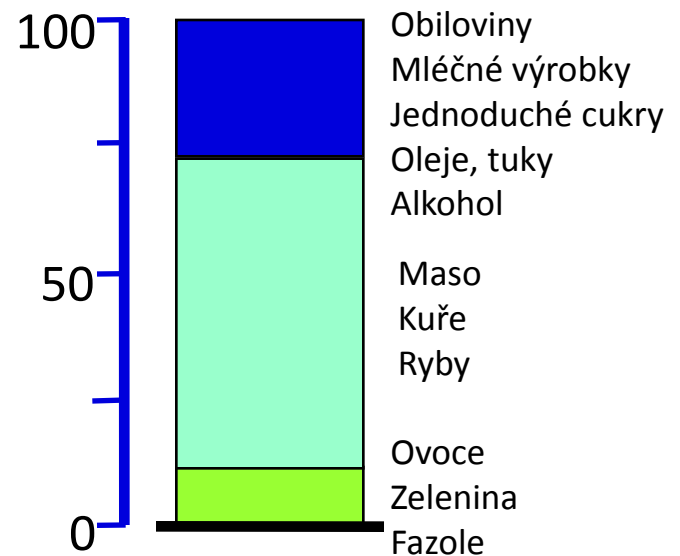
% Energie



Současnost

2-3 Generací v relativním nadbytku

% Energie



Genomika – věda o genomu

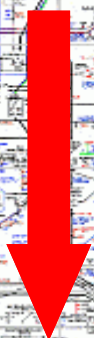


Nutrigenomika



KOMPLEXNÍ PROBLÉMY

JEDNODUCHÉ OTÁZKY



Nutrigenomics

- Now: early stage of development
 - But already happening!

FOOD

navigator.com | europe

[Print](#)

Breaking News on Food & Beverage Development - Europe

Previous page : [DSM dishes \\$6.5m to personalise nutrition](#)

DSM dishes \$6.5m to personalise nutrition

03/04/2006- DSM has re-affirmed its commitment to the innovative field of personalized nutrition, pledging \$6.5m (€5.4) in follow-on funding to US nutrigenomics company Sciona.

The latest funding from DSM Venturing, the venturing unit of Royal DSM, means the Dutch company is now a major shareholder in Sciona. Its initial investment was in September 2004.

Personalized nutrition has been identified as one of DSM's 'emerging business areas', as the one-size-fits-all approach to nutrition is no longer seen as fulfilling all the needs of an increasingly health conscious and ageing population that is determined to remain healthy for longer.

It falls under the broader banner of nutrigenomics – a scientific term coined only in 1999 which also involves the development of new nutrients and understanding of how they work in the human body.

For DSM, this new area is regarded as a good fit with its existing strengths in nutrition, food, and biotechnology.



Personalizované stravování - historie



Nutritional Genetic Profile Request Form

Client Information

To order testing, either contact Genelex directly or complete this form and return it either by fax at (425) 825-1870 or mail to Genelex Corporation, 12277 134th Ct NE, Ste. 130 Redmond, WA 98052.

Name: _____ Phone: _____ E-mail: _____

Address: _____

City: _____ State: _____ Zip: _____

Nutritional Genetic Profile Requested

Item	Number ordered	Cost (per item)	Total
Nutritional Genetic Panel		\$445.00	
Nutritional Genetic Collection Kit (Additional \$410 due with samples)		\$35.00	
International Shipping		\$50.00	
Amount Due			

Payment: Prepayment is required. Send Cash, Check, or Money Order to the address shown above.

Cash Check or Money Order Credit Card (all major cards)

Type of credit card: _____

Print cardholder's name: _____

Card number: _____ Expiration date: _____

For immediate consultation Call 800-TEST-DNA (800-837-8362)

Hours 7:00 AM to 6:00 PM PST, 10:00 AM to 9:00 PM EST, fax 425-825-1870,

e-mail: info@genelex.com

www.genelex.com

©2002 Genelex Corporation

Consumers warned that time is not yet ripe for nutrition profiling

Erika Check

One day, information about your genome may well help you decide what breakfast cereal to eat. But that day's a long way off, the second International Nutrigenomics Conference in Amsterdam was told last week. In the meantime, researchers at the meeting heard, the emerging field badly needs a regulatory framework that will stop its first customers from being scared off.

Nutrigenomics researchers aim to learn how nutrients interact with genes to lead to health or disease. But people eat wildly different levels of nutrients over their lifetimes, and teasing apart the precise interactions is notoriously difficult.

The researchers who gathered in Amsterdam on 6-7 November were in optimistic mood, however. Their science is progressing quickly, and food industry executives have expressed interest in the idea of using genetic information to customize their products.

In January, the US National Institutes of Health used a 5-year, \$6.5-million grant to create a National Center of Excellence for Nutritional Genomics at the University of California, Davis, and the Children's Hospital Oakland Research Institute (CHORI) in Oakland. In July, the European Commission set up the European NutriGenomics Organisation to coordinate work. Now the Netherlands looks set to embark on a \$20-million nutrigenomics project, jointly funded by the government and the food industry.

But some researchers warn that the field is in danger of developing too quickly. They want experts to back off from the sometimes-extravagant claims for the field's potential, and instead to sit down and patiently work out a scientific vision and ethical framework for the discipline.

"Our aim is to bring the field a little bit back down to Earth, because people tend to start with a lot of science fiction," says Michael Müller, a genomicist at Wageningen University in the Netherlands who helped to organize the meeting.

The main fruits of this field are still years away, researchers say. So far, most of the studies on profiling gene expression — measuring genome-wide responses to nutrients —



Looks good, tastes good, and one day individuals may know exactly how much good it does them.

have been done in mice. And much more work is needed on the basic mechanisms by which nutrients turn genes on or off. But that hasn't stopped a handful of companies from selling nutritional profiles directly to consumers over the Internet.

The companies test a tissue sample — such as a cheek swab — from a "patient". The patient can choose which genetic profile he or she wants to learn about, for example skin ageing or susceptibility to osteoporosis. The company then gives the patient a "personalized profile" based on its tests for single nucleotide polymorphisms (SNPs): genetic variants that have been linked to disease. For instance, one company, GeneLink of Margate, New Jersey, tells people what vitamins they should take, based on SNPs involved in cellular responses to certain toxins. GeneLink declined to comment on its products.

But many scientists argue that it's far too early for most of these tests to be useful. "The idea of marketing any individual genetic test at this point assumes there is information to justify the use of that test, and we really don't have evidence that any single genetic marker

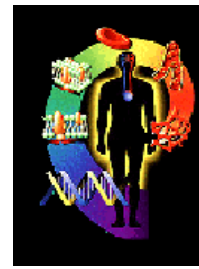
carries enough information to guide dietary treatments," says Ronald Krauss, director of atherosclerosis research at CHORI.

The direct-to-consumer tests also raise ethical issues that affect the whole field. For instance, some companies sell the results of their genetic profiles to other firms, which use the information for research on genes and disease. Although consumers must give their consent, they may not necessarily understand what they're agreeing to, says ethicist David Castle of the University of Guelph. Castle is collaborating with the University of Toronto Joint Center for Bioethics in soliciting comments on a joint working paper on ethics and nutrigenomics.

At the nutrigenomics meeting, Castle argued that even though the field is very young, scientists must begin talking to the public about such issues.

"This technology could end up affecting something that every person does every day, which is eat," Castle says. "It's not a situation where you want to roll out the science and the products and then go back and ask people how they feel about it."

Nutrigenomika



Cílové geny
Mechanismy
Cesty

Molekulární
výživa
a genomika

- identifikace výživových složek
- Identifikace senzorů pro tyto složky
- Identifikace cílových genů
- Rekonstrukce signálních cest

Malé výzkumné subjekty,
malé rozpočty

Strav
a
Výživ
a

Biomarkery

Biologie systémové
výživy

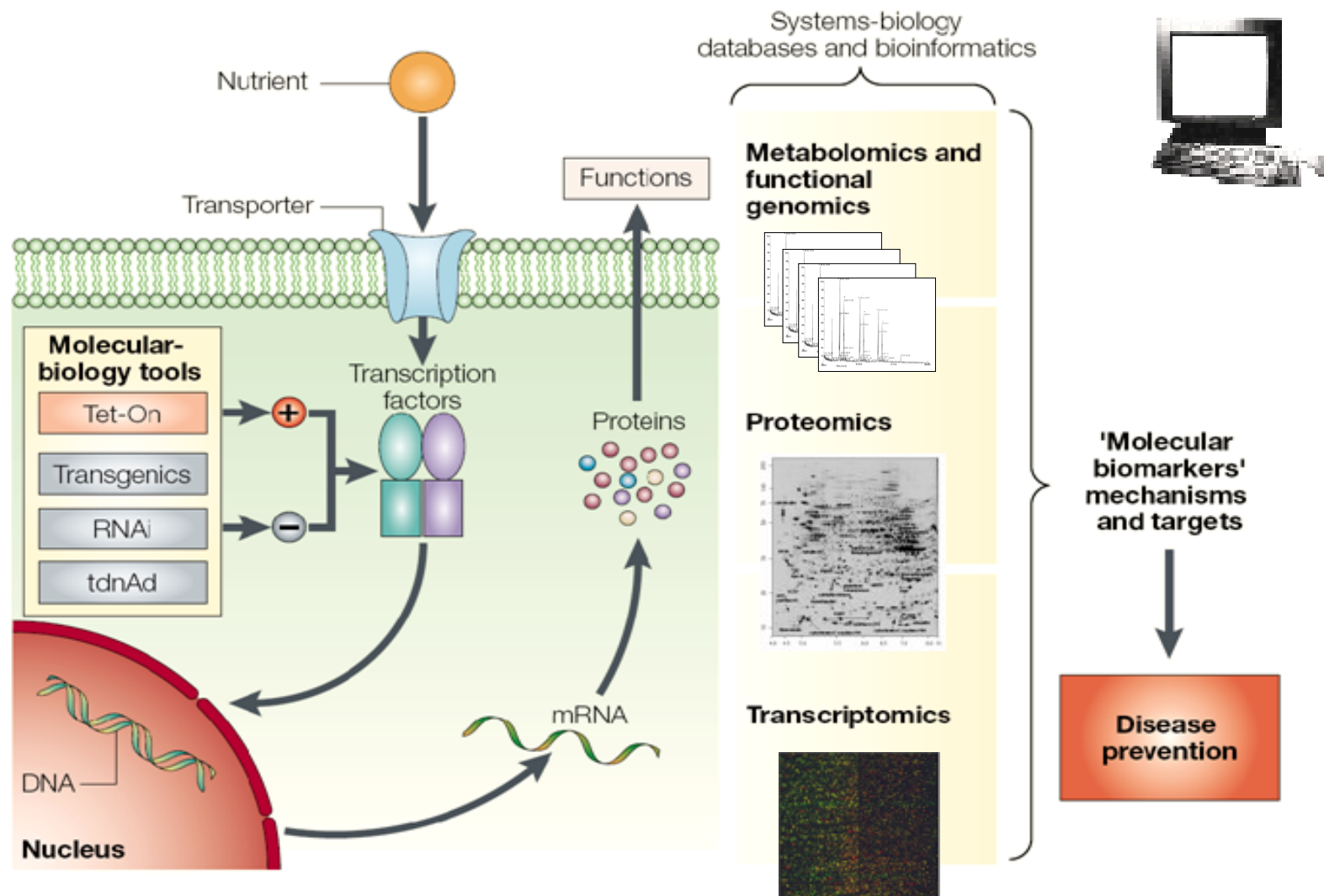
- měření stresových signálů, reakcí
- Identification of early biomarkers
- Velká výzkumná konzorcia

komplexnost

Strategie nutrigenomiky



50000 (?)
metabolitů
↑
80-100000
proteinů
↓
100000
transkriptů
↓
20-25000
genů



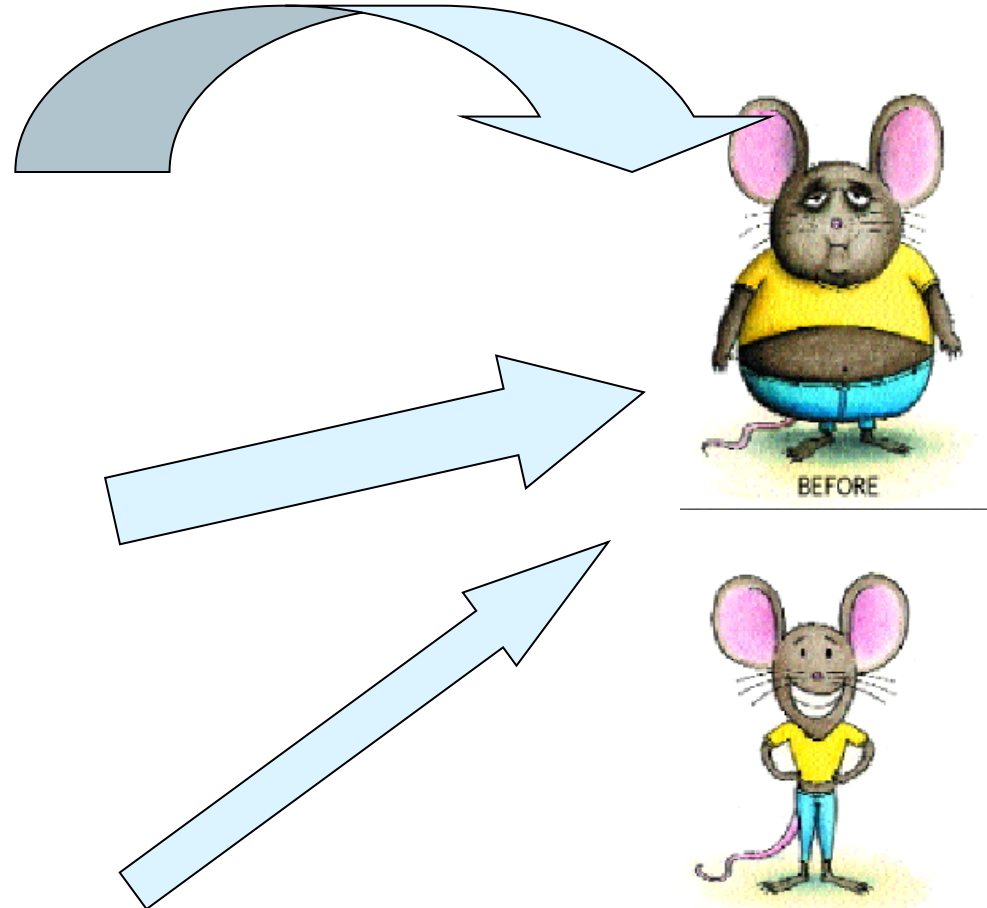
Syndromologie

Klasifikace syndromů obezity

pleiotropní syndromy s obezitou

„monogenní“ syndromy s obezitou

polygenní komplexní syndromy



Obezita: pleiotropní syndromy

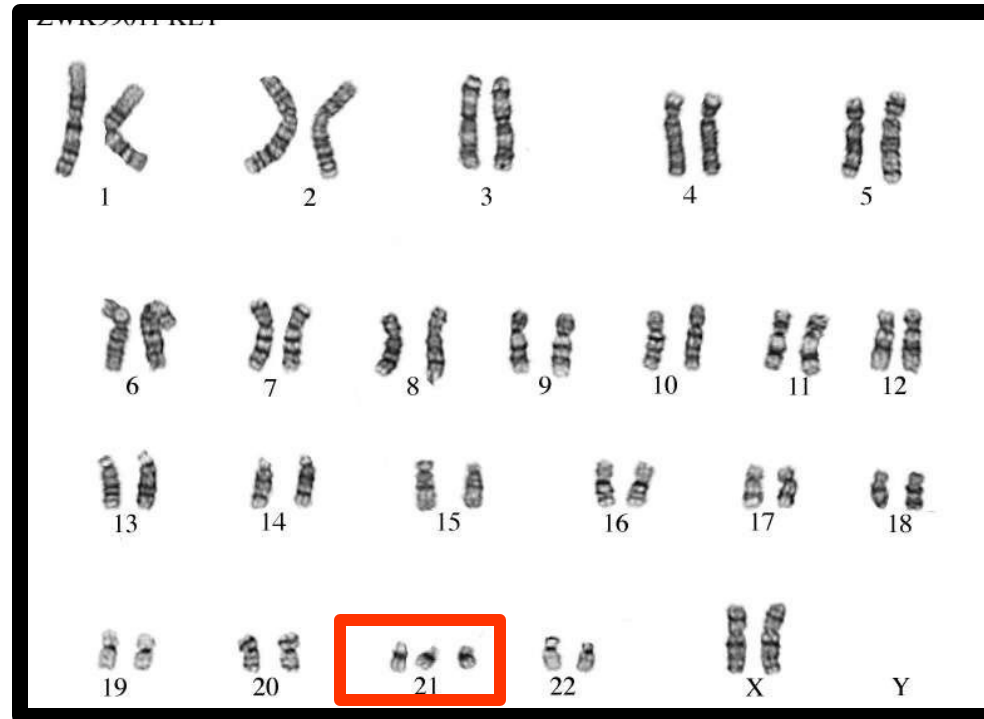
Pleiotropní syndromy: cca 30 syndromů, u nichž obezita představuje konstatní syndromologickou komponentu a jež jsou způsobeny alteracemi známých oblastí



Prader-Willi
15q11.2-q12

Bardet-Biedl
11q13 (BBS1)

Trisomie 21, Downův syndrom



Downův syndrom

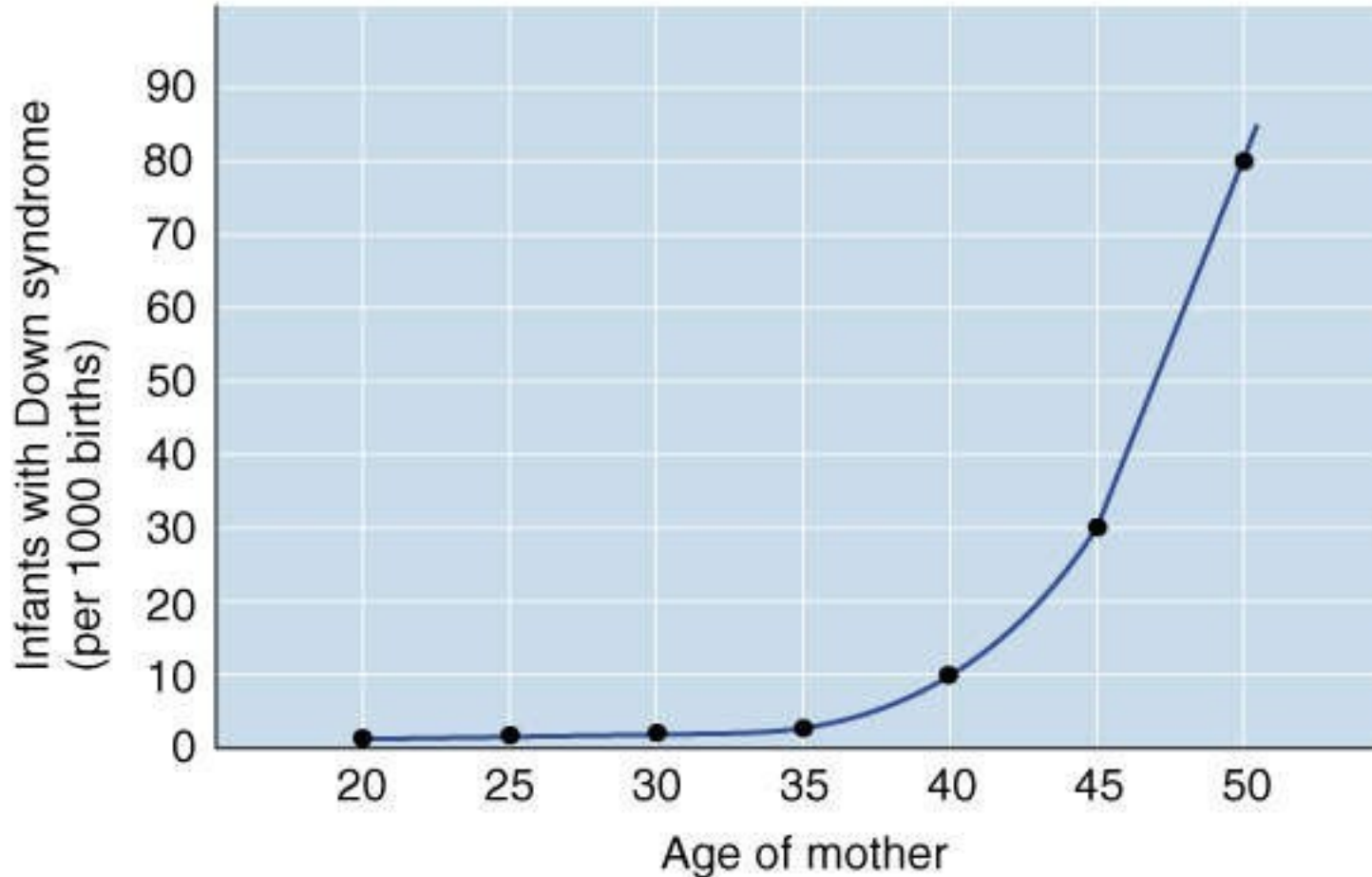
- Velký jazyk
- Zploštělý obličej
- Specifické postavení očních štěrbin
- Opičí rýha
- Opožděný vývoj



Downův syndrom patří mezi nejznámější a nejtypičtější syndromy způsobené chromozomální aberací. V klasické formě jde o nejčastější syndrom způsobený trizomií chromozomu (konkrétně trizomií 21) a nejčastější vrozenou příčinou mentální retardace. Dalšími charakteristickými znaky jsou vrozené vady srdce a typický vzhled. Díky moderním metodám prenatální diagnostiky lze tento syndrom v drtivé většině případů diagnostikovat již v průběhu těhotenství.

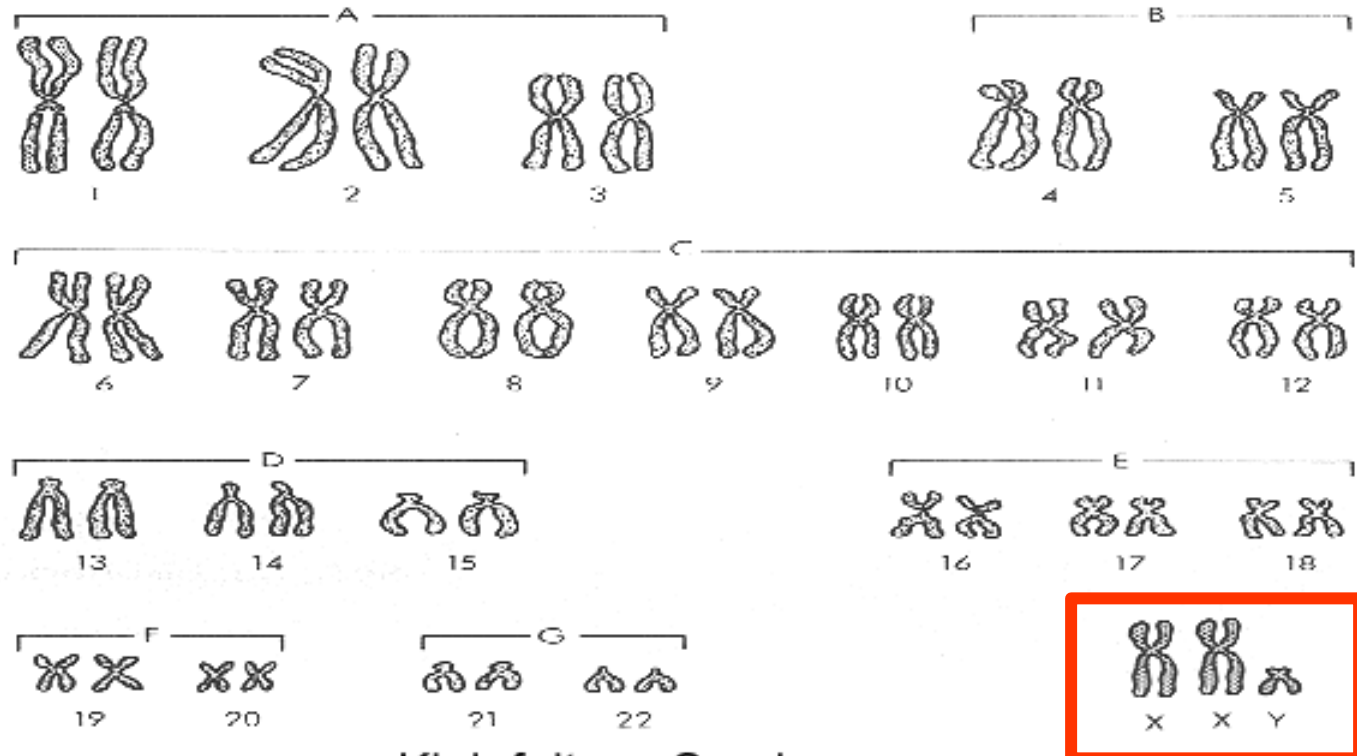


Věk matky a Downův syndrom



Klinefelterův syndrom

Klinefelterův syndrom (KS) vzniká přítomností nadpočetného chromozomu X u muže, jde tedy o gonozomální numerickou aberaci. Nejčastěji je způsoben **karyotypem 47,XXY**, možné jsou i varianty s více chromozomy X (48,XXXY či 49,XXXXY), které mají výraznější manifestaci.



Klinefelter Syndrome

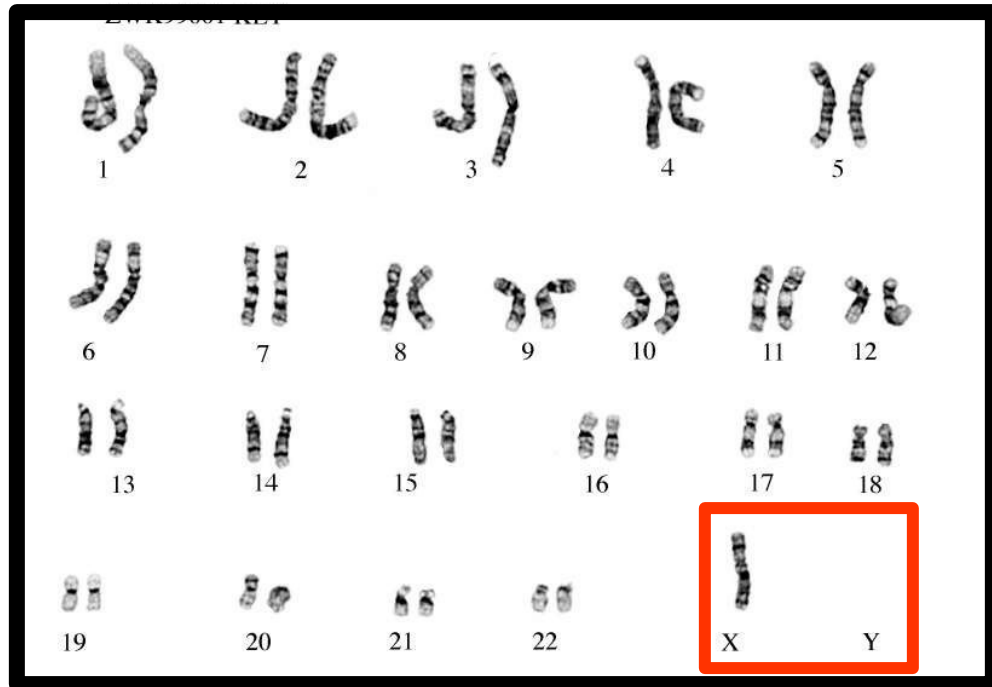


Klinefelterův syndrom

- Rozvoj prsů
 - Malá varlata
 - Porucha plodnosti
 - intelekt **není** výrazněji narušen, mohou se častěji vyskytovat **poruchy učení či depresivní stavy**; psychomotorická retardace se vyskytuje až u forem syndromu s více X chromozomy



Turnerův syndrom



Turnerův syndrom patří mezi klasické syndromy způsobené numerickou chromozomální aberací, mezi které patří i syndromy Downův, [Edwardsův](#), [Patauův](#), [Klinefelterův](#) či syndromy [47,XXX](#) a [47,XYY](#) (dříve nazývané "Superfemale" a "Supermale"). Na rozdíl od těchto syndromů, které jsou (ve většině případů) způsobeny trizomií ať již somatického nebo pohlavního chromozomu, představuje Turnerův syndrom (způsobený nejčastěji karyotypem 45,X) zřejmě **jedinou kompletní monozomií**, jejíž nositelé jsou schopní dlouhodobě přežívat.



Turnerův syndrom

- Poruchy růstu
- Poruchy pohlavního vývoje
- Nízká produkce strogenů
- Sterilita
- Pterygia



Praderův-Williho syndrom

- **Prader–Williho syndrom (PWS)** je geneticky podmíněné onemocnění řazené mezi mikrodeleční syndromy. Projevy PWS jsou způsobené **poruchou funkce hypotalamu** a liší se v závislosti na věku pacienta, onemocnění je charakteristické zejména nezvladatelnou chutí k jídlu, malým vzrůstem, hypogonadismem a mírnou mentální retardací. Prevalence je stejná u dívek i u chlapců.

Praderův-Williho syndrom - příčiny

- Příčinou na molekulární úrovni je ztráta genové exprese v kritické oblasti na **15. chromozomu** (15q11–13) pocházejícího **od otce** (paternální chromozom). Důvodem může být:
 - **mikrodelece** v kritické oblasti – 70 % případů;
 - **Uniparentální disomie** kritické oblasti (kdy obě přítomné kopie úseku budou maternálního původu) – 25 % případů;
 - jiné poškození daných genů (nebalancované translokace; mutace v imprintingovém centru)
- Důsledkem je porucha funkce hypotalamu, který mimo jiné reguluje pocity hladu a žízně a uvolňuje hormony ovlivňující růst a pohlavní vývoj. Ztráta genové exprese ve stejné oblasti 15. chromozomu - ovšem **maternálního původu** - je molekulární

Praderův-Williho syndrom – klinické projevy

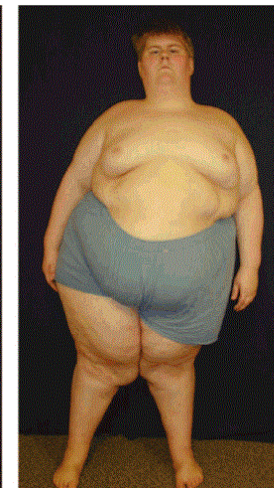
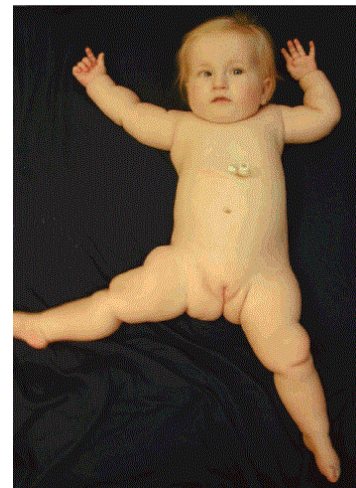
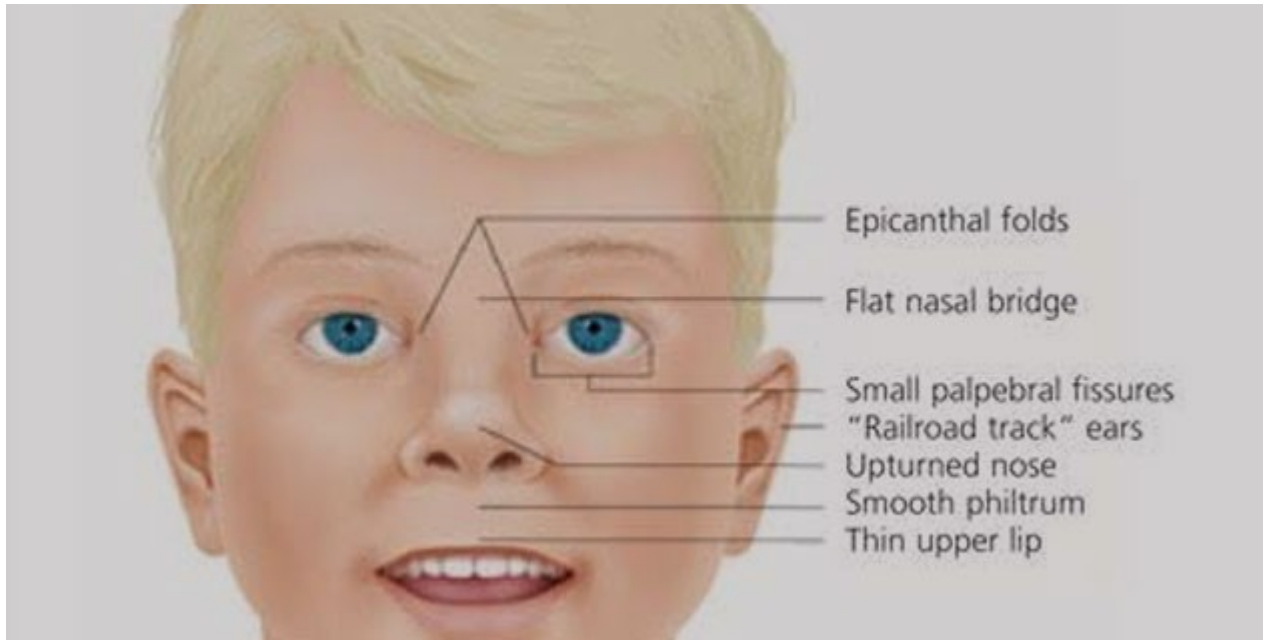
□ Novorozenci a kojenci

- výrazně snížený svalový tonus (**hypotonie**)
- kraniofaciální dysmorfie – oční štěrbiny ve tvaru mandlí, zúžená hlava v oblasti spánků, tenký horní ret
- neprospívání – částečně díky chabému sacímu reflexu
- strabismus
- únava, apatie, špatná reakce na stimulaci, slabý pláč

□ Batolata a předškoláci

- nezvladatelná **touha po jídle** s následnou **obezitou** - příčinou je vysoká hladina **ghrelinu** (orexigení účinky)
- hypogonadotropní **hypogonadismus** – nedostatečná produkce GnRH hypothalamem je příčinou snížené produkce pohlavních hormonů a snížené plodnosti, sekundární pohlavní znaky jsou málo vyvinuté
- **malý vzrůst** (kolem 150 cm), méně svaloviny, krátké ruce a nohy

Praderův-Williho syndrom - typický fenotyp



Monogenní formy obezity

leptin a jeho receptor

(hypogonadotropní hypogonadismus, hyperfágie, hyperinzulinémie, narušená fce T-lymfocytů, časná těžká obezita)

proopiomelanocortin (POMC)

(hypokortizolémie, časná závažná obezita, světlá pleť, červené vlasy)

receptor pro melanokortin-4 (MC4R)

(hyperinzulinémie, hyperfagie zmírňující se s věkem)

prohormonkonverzáza 1(PC1) (těžká

obezita, hypogonadotropní hypogonadismus, těžká hypokortizolémie, hypoinzulinémie a abnormální glukózová tolerance)

single-minded homolog 1 (SIM1)

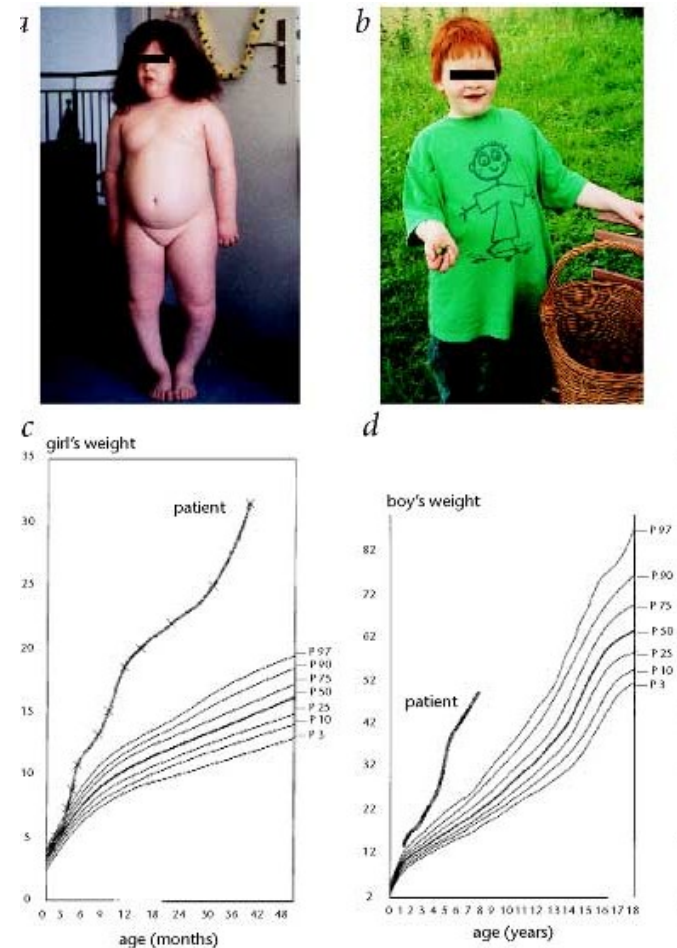


Většinou se jedná o geny kódující proteiny regulující orixigenní-anorexigenní regulace

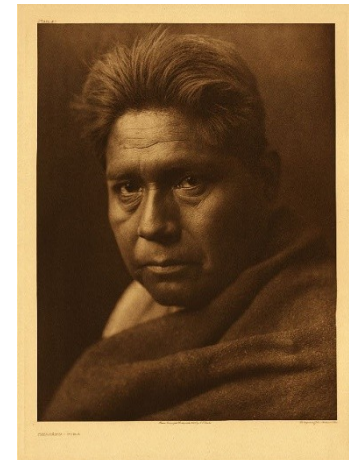
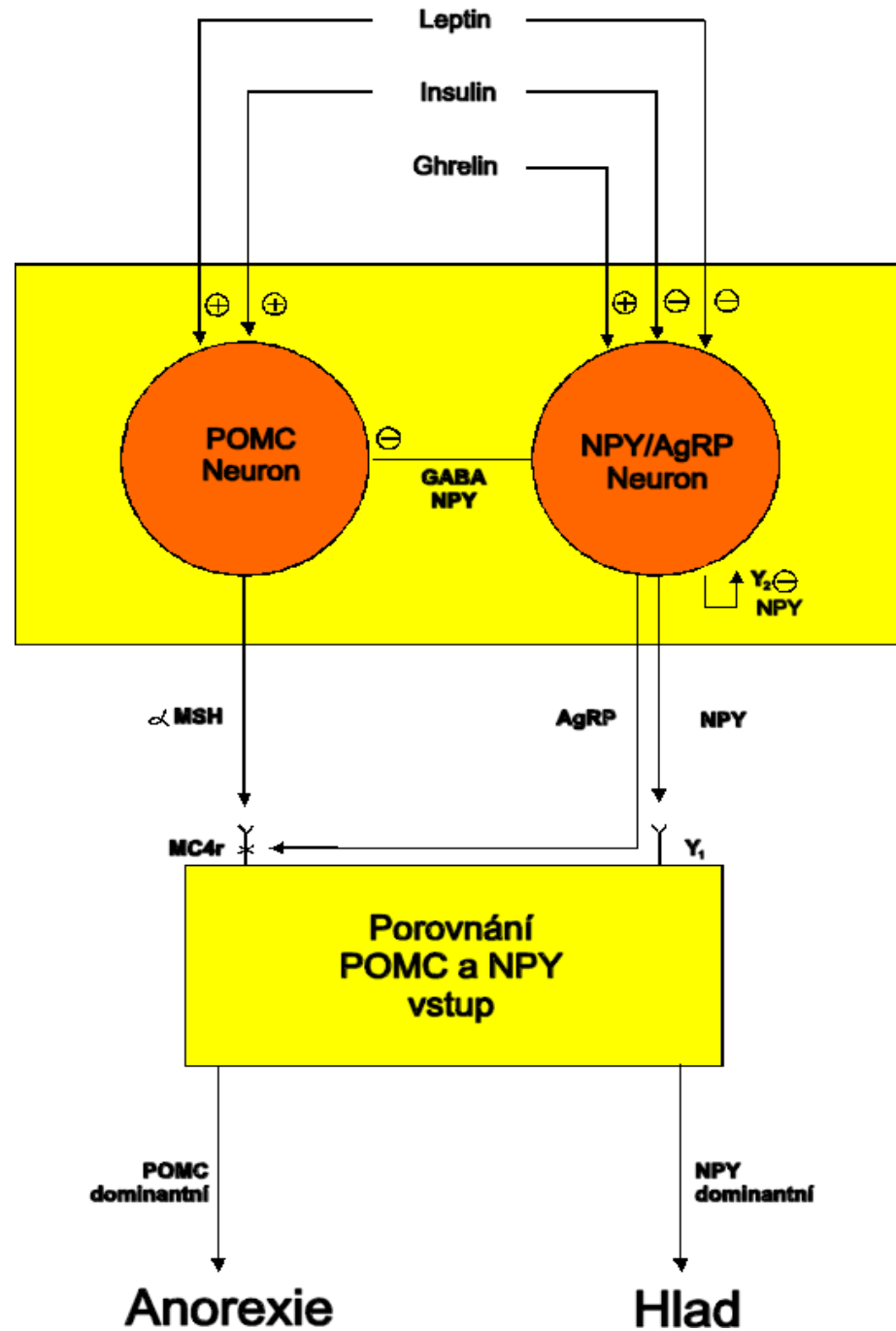
Fenotypické projevy pacientů s monogenní formou obezity



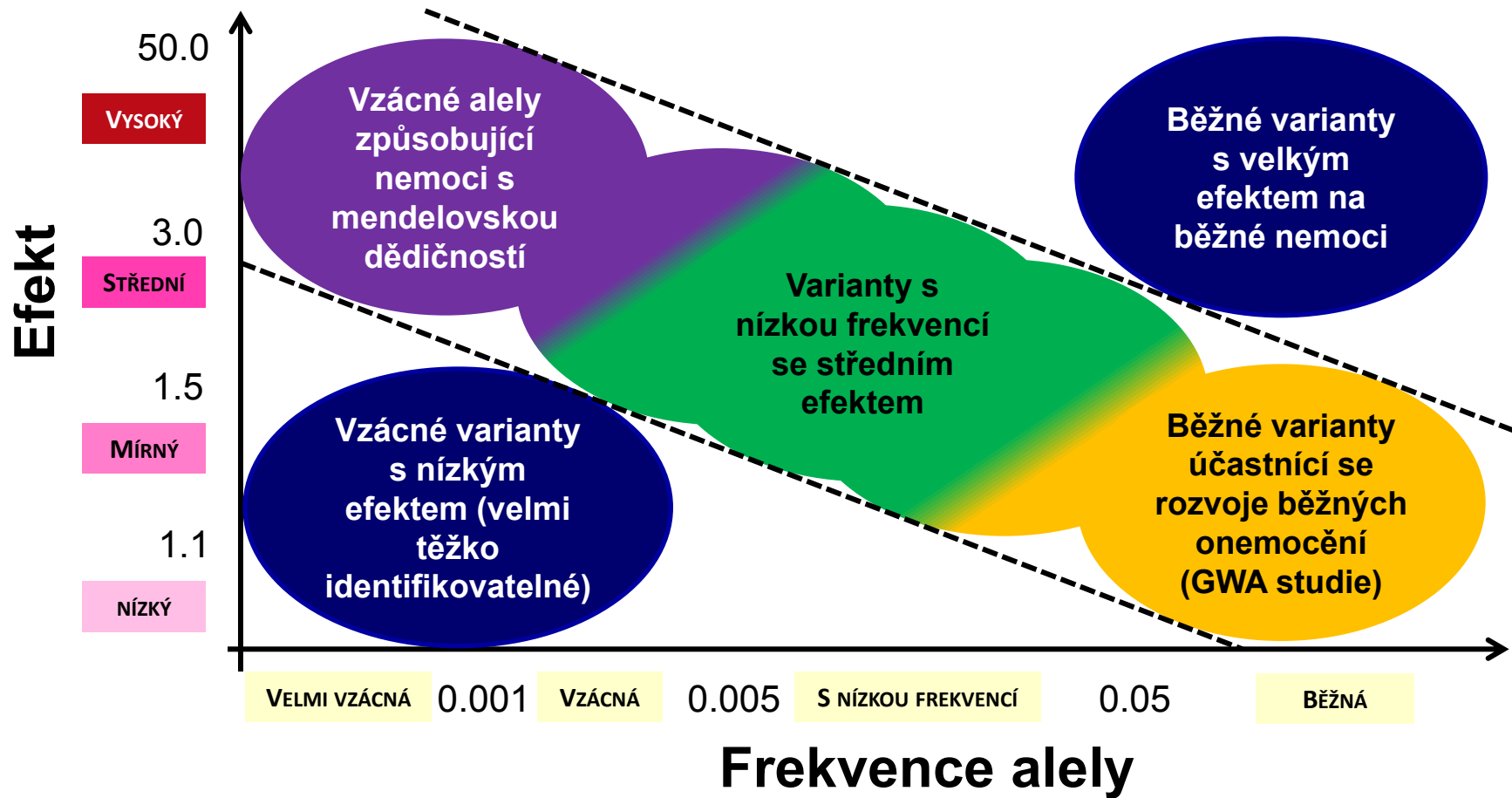
Prof. Stephen O'Rahilly, MD and I. Sadaf Farooqi, MD



Heiko Krude, Heike Biebermann, Werner Luck, Rüdiger Horn, Georg Brabant & Annette Grüters



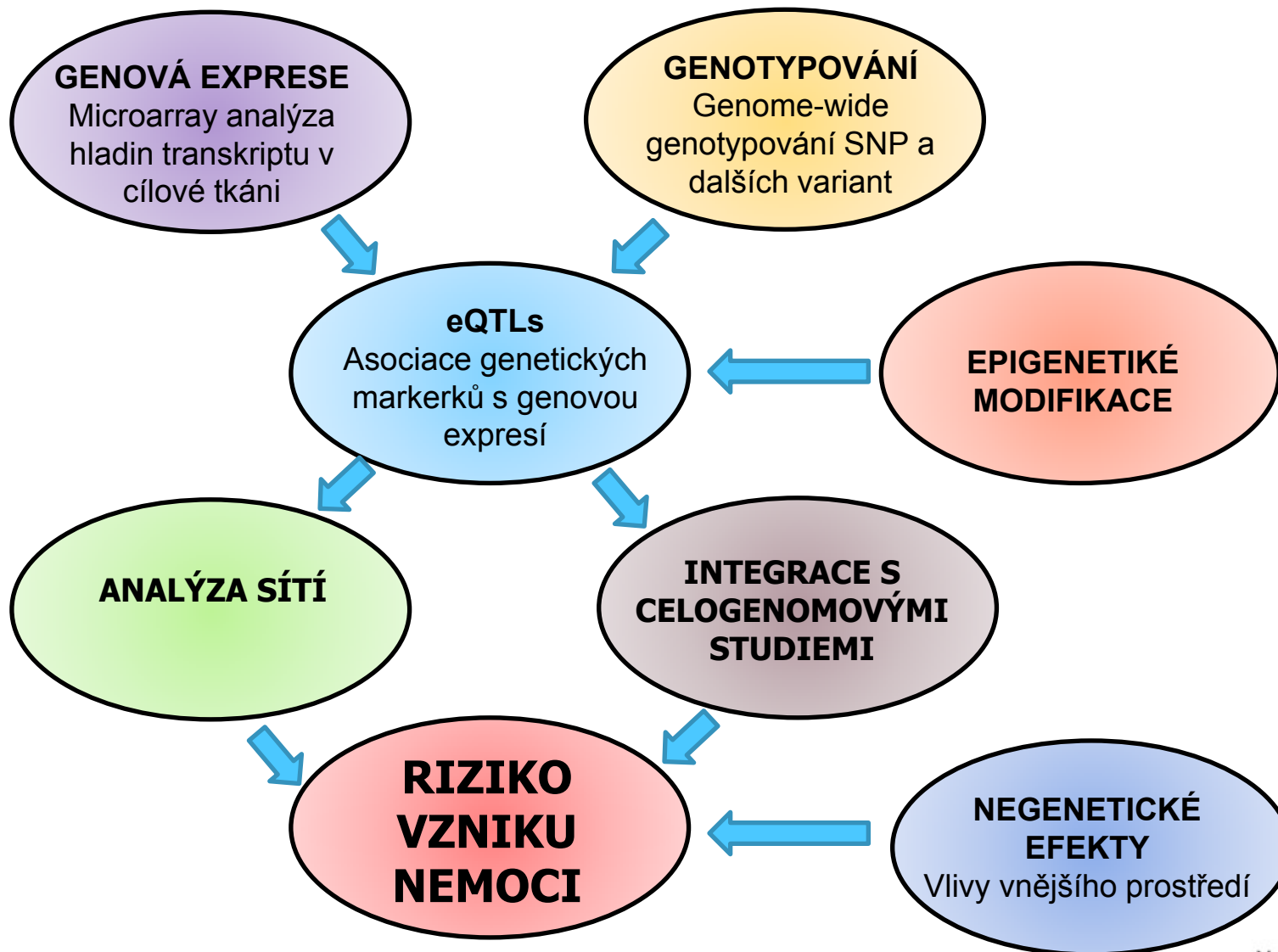
Etiopatogeneze nemocí v kontextu genů

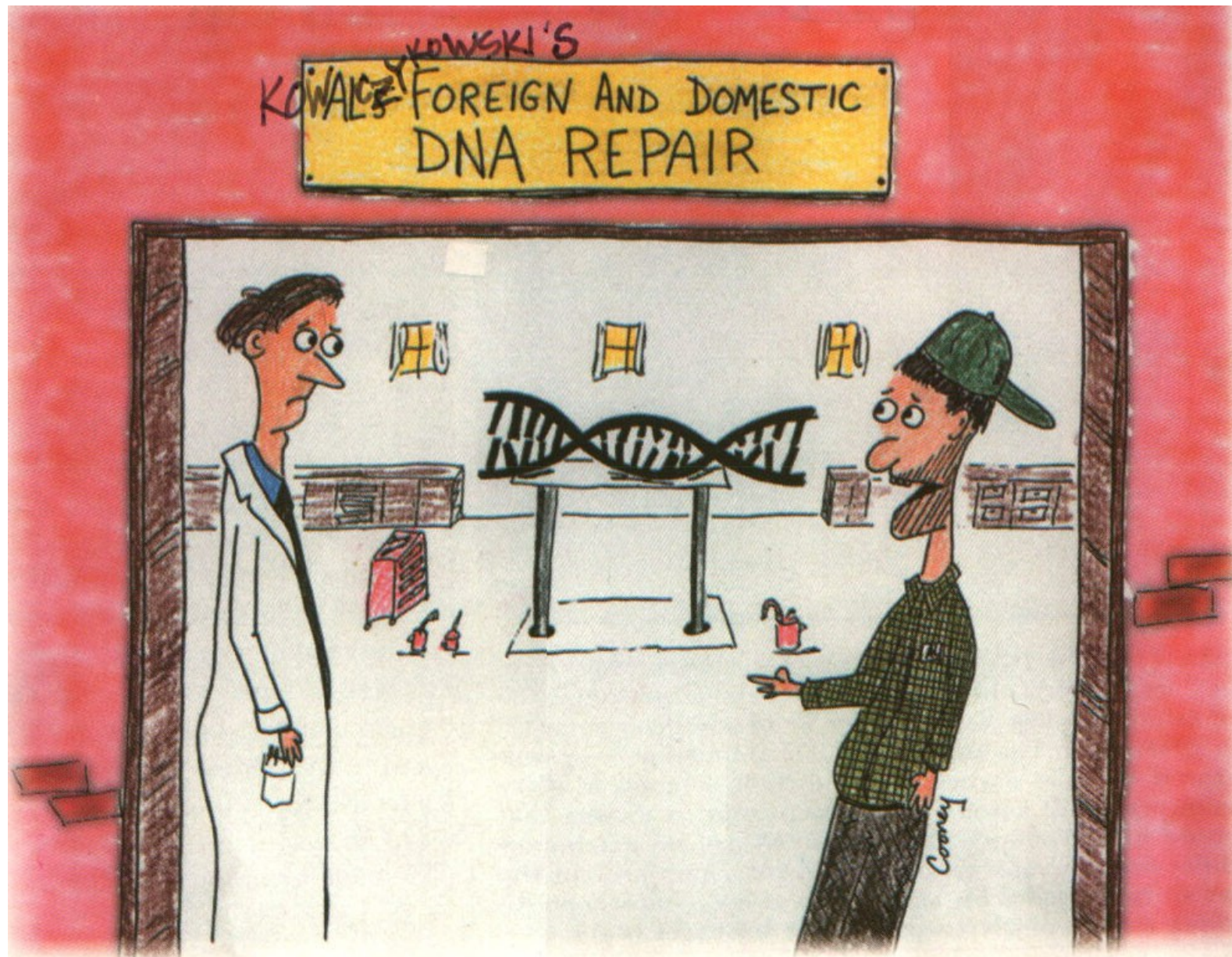


Mendelian disorders and multifactorial traits: the big divide or one for all?
 Stylianos E. Antonarakis, Aravinda Chakravarti, Jonathan C. Cohen & John Hardy
 Nature Reviews Genetics 11, 380-384 (May 2010)

Prenatální modelování

Komplexní onemocnění





"You're lucky nobody was injured. Your base pairs are out of alignment and that has your reading frames all messed up."

Definice biomarkeru

Definovaná charakteristika, která se měří jako indikátor normálních biologických procesů, patogenních procesů nebo reakcí na expozici nebo zásah, včetně terapeutických zásahů

www.fda.gov

Typy: Molekulární, histologické, radiografické a fyziologické charakteristiky jsou typy biomarkerů.

Příklady:

Glukóza v krvi (molekulární)

Velikost nádoru (radiografické)

Krevní tlak (fyziologický)

Různé kategorie biomarkerů definice

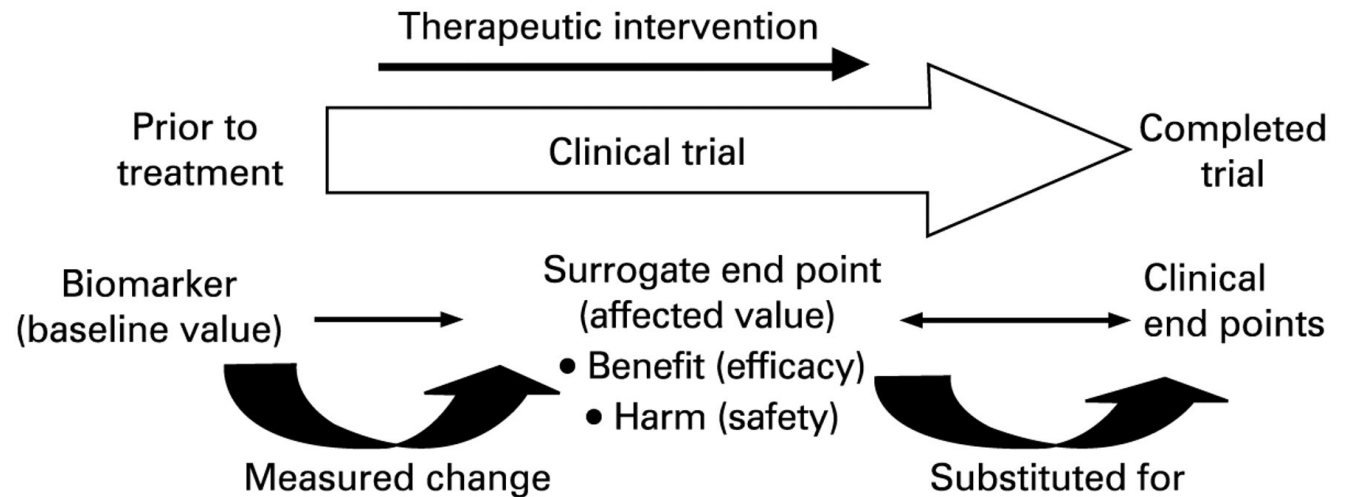
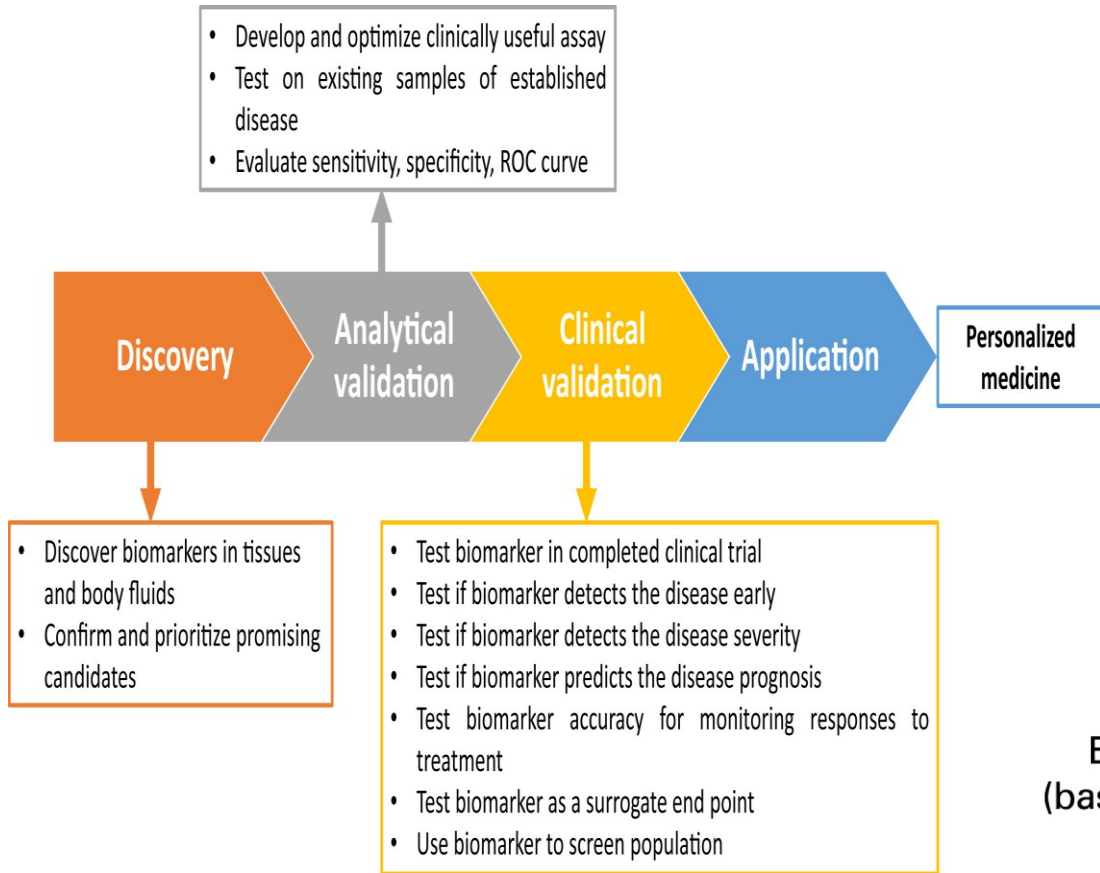


Různé typ biomarkerů



Může být použit k výběru pacientů s větší pravděpodobností výskytu příhody související s onemocněním nebo podstatného zhoršení stavu v klinických studiích.

Například: Celkový objem ledvin pro výběr pacientů s autozomálně dominantním polycystickým onemocněním ledvin s vysokým rizikem progresivního poklesu renálních funkcí pro zařazení do intervenčních klinických studií.



Surogátní (náhradní) koncový bod

Náhradní koncový bod je laboratorní nebo fyzikální měření používané v klinických studiích k indikaci lékové odpovědi a lze jej použít místo klinického koncového bodu, který je obvykle přijatelný jako důkaz účinnosti pro regulační účely.

Může být použit k posouzení přínosu nebo potenciálu poškození ze strany terapeutického činidla.

I když důkazy pro daný surogátní koncový bod nemusejí být zcela dostatečné, takové typy biomarkerů jsou užitečné při dokazování konceptu, pro který má být kandidátní lék použit.

Surogátní (náhradní) koncový bod

Disease	Surrogate Endpoints	Clinical Endpoints
Hypertension	Blood pressure	Stroke
Dyslipidemia	Cholesterol, LDL	Coronary artery disease
Diabetes	Glycosylated hemoglobin (HbA1c)	Retinopathy, nephropathy, neuropathy, heart disease
Glaucoma	Intraocular pressure	Loss of vision
Cancer	Biomarkers Tumor shrinkage, Response rate	Progression-Free Survival Overall Survival

Surogátní (náhradní) koncový bod

Koncový bod, který se používá v klinických studiích jako náhrada za přímé měření toho, jak se pacient cítí, funguje nebo přežívá.

Validovaný surogátní koncový bod

Podporováno jasným mechanistickým zdůvodněním a klinickými údaji poskytujícími silný důkaz, že účinek na náhradní látku předpovídá klinický přínos; proto lze takové koncové body použít k podpoře tradičního schválení bez potřeby dalších informací o účinnosti.

Příklad: Snížení hemoglobinu A1C v klinických studiích diabetu

Přiměřeně pravděpodobný surogátní koncový bod

Podporováno jasným mechanistickým a/nebo epidemiologickým zdůvodněním, ale s nedostatečnými klinickými údaji, které by prokázaly, že se jedná o ověřený náhradní koncový bod; takové koncové body mohou být použity pro urychlené schválení léků nebo zrychlený přístup pro zdravotnické prostředky.

Example: Radiographic evidence of tumor shrinkage in some cancer types

Kandidátní surogátní koncový bod

Náhrada, která je hodnocena pro svou schopnost předvídat klinický přínos

Analytické a klinické validace

Analytická validace: Zajišťuje specifičnost, přesnost, preciznost a další charakteristiky testu biomarkerů nebo zařízení

Stanovení, že výkonnostní charakteristiky testu, nástroje nebo nástroje jsou přijatelné z hlediska jejich citlivosti, specifičnosti, přesnosti, přesnosti a dalších relevantních výkonnostních charakteristik pomocí specifikovaného technického protokolu (který může zahrnovat postupy odběru vzorků, manipulace a skladování) .

Klinická validace: Zajišťuje, že test nebo zařízení funguje tak, jak bylo zamýšleno

Stanovení, že test, nástroj nebo nástroj přijatelně identifikuje, měří nebo předpovídá koncept zájmu.

Koncept: V regulačním kontextu je koncept aspektem individuální zkušenosti nebo klinického, biologického, fyzického nebo funkčního stavu, který má hodnocení zachytit (nebo odrážet).

Kvalifikace biomarkerů

Jakmile se biomarker kvalifikuje pro konkrétní kontext použití, bude veřejně dostupný a lze jej použít v jakémkoli programu vývoje léčiv pro kvalifikovaný kontext použití.

Závěr založený na formálním regulačním procesu, že v rámci stanoveného kontextu použití se lze spolehnout na to, že biomarker bude mít specifickou interpretaci a aplikaci při vývoji léčivých přípravků a regulační kontrole.

www.fda.gov

Kontext použití

Prohlášení, které plně a jasně popisuje způsob použití biomarkeru a účel použití související s vývojem léčiva.



Biomarkery - terminologie

□ Tím, že budeme mluvit stejným „jazykem biomarkerů“, můžeme zlepšit vývoj lékařských produktů a možná budeme schopni pacientům poskytnout nové léčebné postupy dříve.

□ Definice biomarkeru

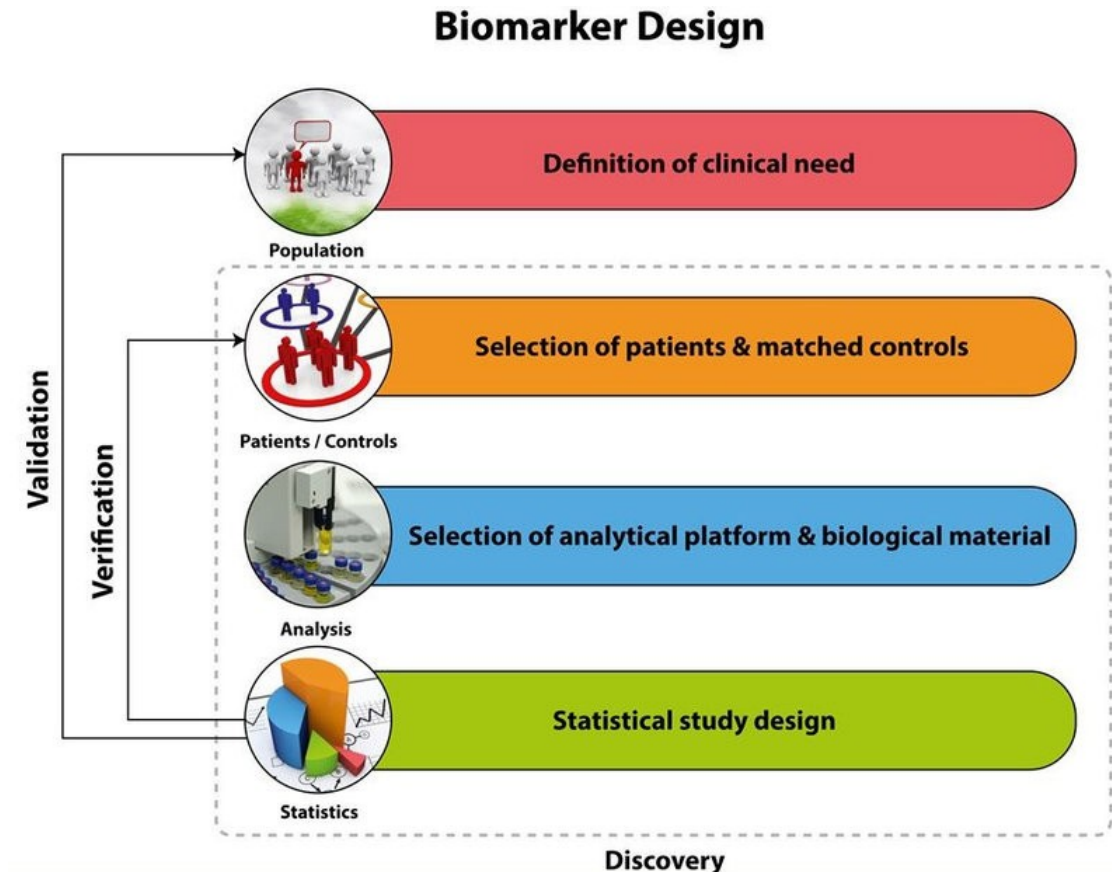
□ Typy biomarkerů

□ Kategorie biomarkerů

□ Validace biomarkerů

□ Kvalifikace biomarkerů

□ Kontext použití



Biomarkery - klasifikace

- Dle Perery a Weinsteina klasifikujeme biomarkery na základě sekvence události od expozice po vznik onemocnění. Ačkoli se biomarkery často využívají v epidemiologických studiích, jsou velmi užitečné i při zkoumání přirozeného průběhu a prognózy onemocnění. Základní vlastnosti biomarkerů definovali Schulte et al. (1994).

Biomarkery – co mezi ně vlastně patří

□ Patří mezi ně:

- popis událostí mezi expozicí a onemocněním,
- stanovení závislosti dávka-odpověď,
- identifikace časných událostí v přirozeném průběhu onemocnění,
- identifikace mechanismů, které spojují expozici a vznik onemocnění,
- snížení výskytu nevhodné klasifikace rizikových faktorů a onemocnění,
- popis variability,
- posílení odhadu individuálního a skupinového rizika.

Biomarkery – účel v klinické medicíně

- Kromě vytyčení vztahu mezi expozicí a onemocněním napomáhají biomarkery identifikovat časně etiopatogenetické momenty v přirozeném průběhu onemocnění, čímž snižují stupeň nevhodné klasifikace onemocnění či expozice a dávají možnost identifikovat patogenetické mechanismy onemocnění.
- Biomarkery mohou také poskytnout určitý vhled do progresu onemocnění a mohou být užitečné pro odhad prognózy a odpovědi na terapii.

Jednotná terminologie

- K popisu povahy onemocnění i účinků léčby se používá řada termínů s nejednoznačným významem, biologické markery, biomarkery, zástupné (surogátní) markery. Na podporu používání biomarkerů při provádění hodnocení v rámci klinického výzkumu bylo v roce 2001 zahájeno jednání k dosažení jednotné terminologie, přičemž výsledkem je první rámcové názvosloví, které definovala **Pracovní skupina pro definici biomarkerů Národního zdravotního ústavu (NIH)** v USA s cílem zdůraznit zásadní úlohu biomarkerů při provádění biologických měření při vývoji terapie či hodnocení klinických studií.

Biomarker definice

□ Tato pracovní skupina definuje biomarker jako objektivně měřenou charakteristiku, která je hodnocena jako ukazatel normálního nebo patologického procesu či farmakologické odpovědi na terapeutickou intervenci,

□

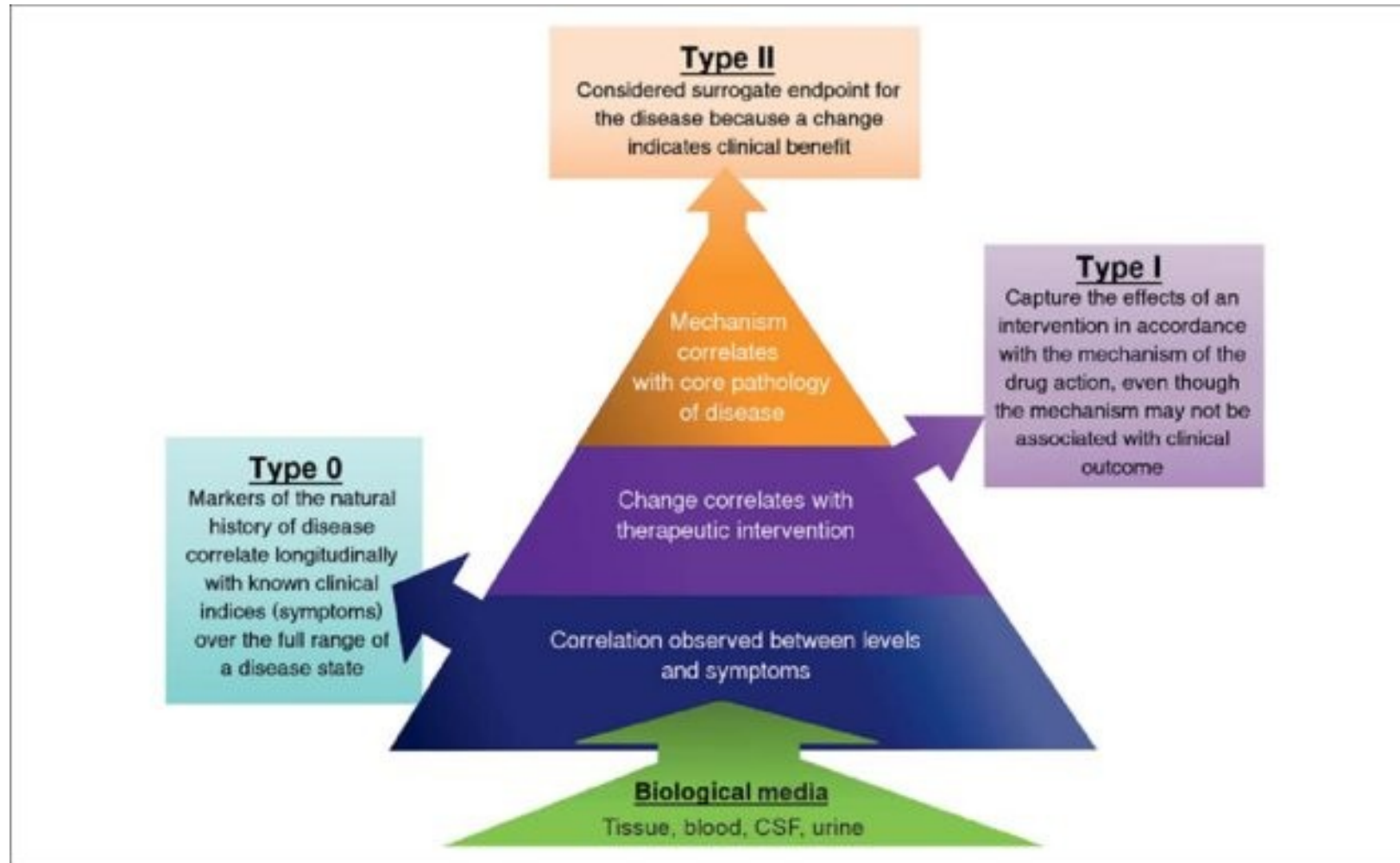
a dále dělí biomarkery na:

1) **biomarker typu 0** – biomarker přirozeného průběhu onemocnění, který longitudinálně koreluje se známými klinickými údaji,

2) **biomarker typu 1** – biomarker, který zachycuje účinky terapeutické intervence v souladu s mechanismem působení terapie.

□ 3) **Biomarker typu 2** - Biomarkery typu 2 jsou považovány za náhradní koncové

Tři typy biomarkerů dle NIH

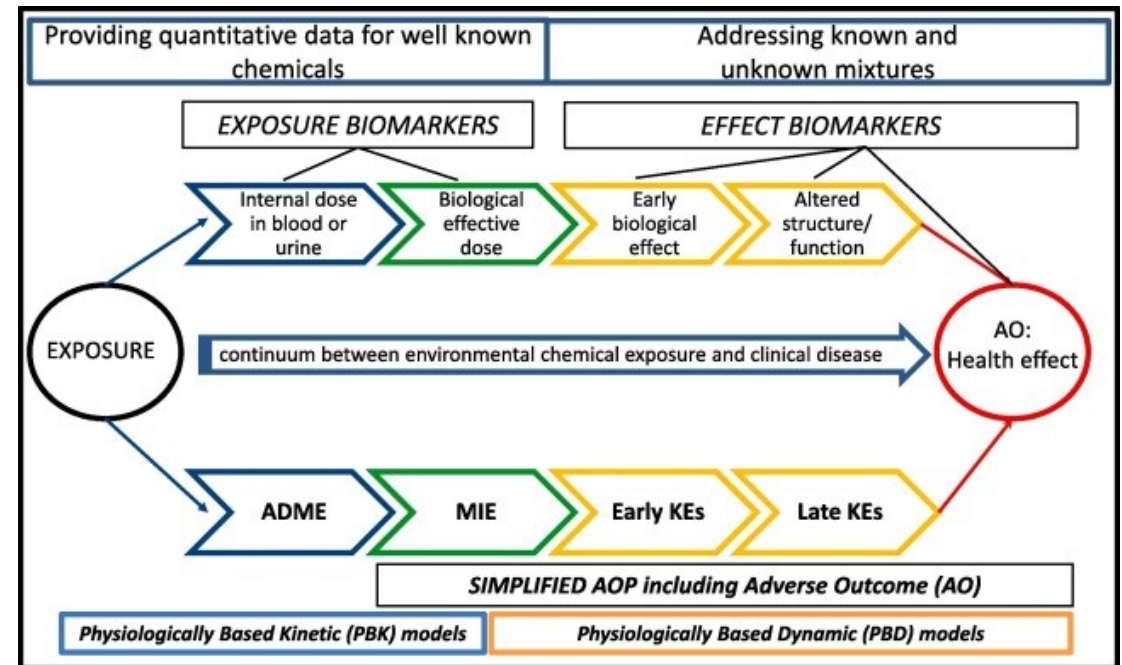


Typy biomarkerů

- **Biomarkery typu 0** jsou markery přirozené historie onemocnění a korelují podélně se známými klinickými ukazateli, jako jsou symptomy v celém rozsahu chorobných stavů. Příklad: CRP
- **Biomarkery typu 1** zachycují účinky intervence v souladu s MOA léku: HbA1C
- **Biomarkery typu 2** jsou považovány za náhradní koncové body, protože změna tohoto markeru předpovídá klinický přínos. Příklad: LDL-C

Biomarkery expozice

- Jedná se o vlastní chemické látky či jejich metabolity, které mohou být měřeny v těle nebo po exkreci z těla ven s účelem stanovit různé charakteristiky expozice organismu konkrétním látkám.
- V klasické epidemiologii by bylo typickým biomarkerem expozice např. sledování hladiny olova v krvi u jedinců, kteří ve stravě přijímají mořské ryby.



Biomarkery expozice

- Biomarkery expozice v pravém slova smyslu se používají nejčastěji, protože poskytují informace o cestě podání, metabolické dráze a často i o zdroji expozice.
- Tyto indikátory pak umožňují stanovit rozsah celkové expozice a v některých případech této expozici dále zabránit nebo zmírnit její účinky. Tím se liší od následující skupiny biomarkerů interní dávky nebo biomarkerů biologicky účinné dávky, protože zde se postupuje velmi často retrospektivně a v době odhalení proběhlé expozice a konkrétního expozičního agens již může být na terapeutické opatření příliš pozdě.

Biomarkery expozice - dělení

□ Biomarkery expozice lze dále rozlišit na:

- markery dávky (např. titr konkrétního onkogenního viru, kterému byl jedinec vystaven),
- markery interní dávky (např. množství DNA aduktů s karcinogenem při expozici karcinogenní látky),
- markery biologicky účinné dávky (somatické mutace nádorového supresoru p53 působením karcinogenu).

□ Markery interní dávky se velmi často označují i jako markery účinku a lze je obecně považovat za měřitelnou biochemickou, fyziologickou, behaviorální či jinou změnu v organismu, která v závislosti na velikosti může být spojena se stávajícím či možným budoucím poškozením zdraví či onemocněním.

Biomarkery interní dávky

- Zásadní problém spojený s měřením markerů interní dávky spočívá v tom, že není vždy jasné, zda se měří expozice, biologický účinek nebo určité stadium samotného procesu onemocnění.
- Proto mohou být výsledky někdy velmi těžko interpretovatelné ve smyslu kauzální souvislosti mezi expozicí a onemocněním. Pokud je v daném případě známo, že „biologicky účinná dávka“ je nejvhodnějším parametrem, má použití souvisejících biomarkerů bezesporu řadu výhod. Výběr takových biomarkerů ovšem opět představuje značné dilema a často jsou biomarkery vybírány na základě nedostatečného, nebo dokonce chybného chápání etiologického procesu (často proto, že měřit lze jen omezené množství markerů apod.).

Biomarkery účinku

- Měřitelný biochemický, fyziologický, behaviorální rys, popř. jiná změna v organismu, která v závislosti na velikosti může být
- uznána za spojenou s prokázaným nebo možným poškozením zdraví nebo chorobou

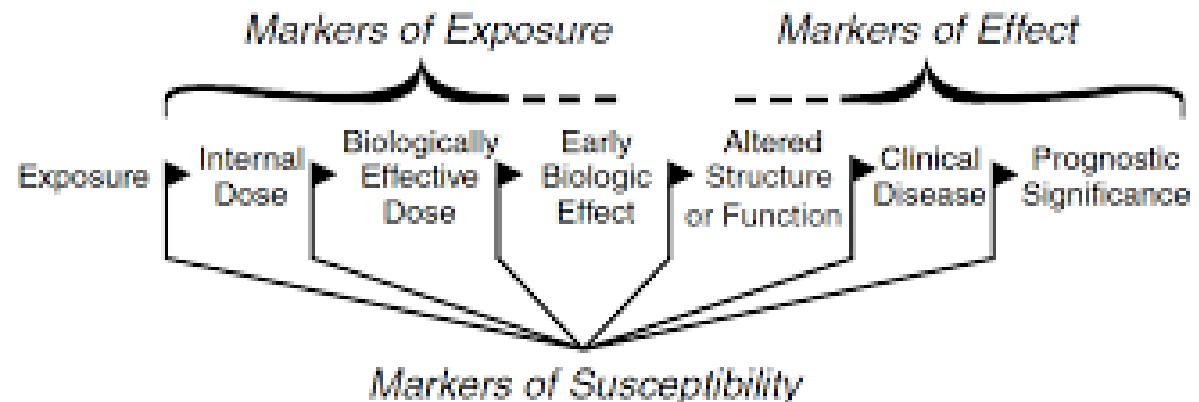


FIGURE 1-1 Simplified flow chart of classes of biomarkers. Source: NRC 1987.

Biomarkery onemocnění

- Je nutné výrazně odlišovat biomarkery související s onemocněním, které a) mohou poukazovat na přítomnost daného onemocnění (diagnostické biomarkery)
- b) Nebo mohou ukazovat, jak se bude onemocnění u daného jedince vyvíjet bez ohledu na léčbu (**prognostické biomarkery**)
- c) mohou poukazovat na případný účinek léčby na pacienta (**prediktivní biomarkery**)
- d) Biomarkery související s odpovědí na léčivo, které naznačují, zda bude léčivo navozovat danou léčebnou odpověď

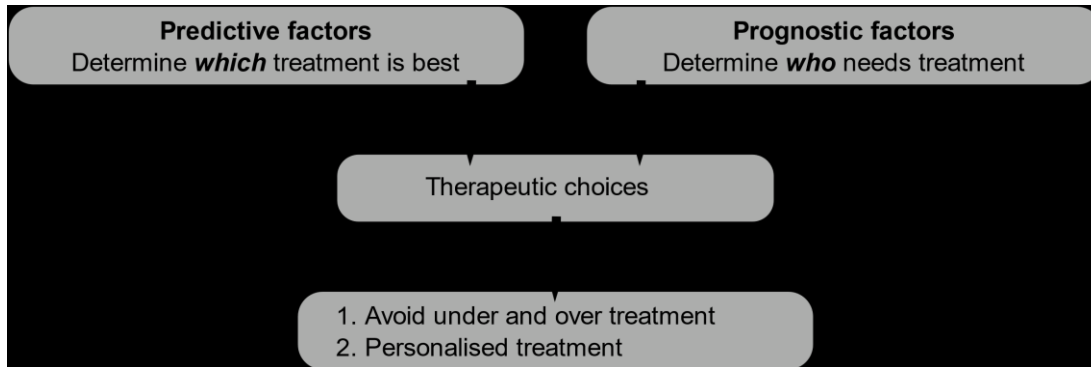
Diagnostické biomarkery

- Diagnostické biomarkery poukazují na přítomnost daného onemocnění a jsou důležité buď pouze v čase stanovení diagnózy, nebo i během terapeutického procesu ke sledování odpovědi na léčbu. Dnes již tradičním diagnostickým biomarkerem je např. prostatický specifický antigen (PSA), stanovený z krve, který napomáhá při diagnostice onemocnění, ovšem účelný je i při hodnocení odpovědi na terapii a sledování za účelem časného záchytu rekurence onemocnění.
- Podobně CA-125, stanovený rovněž z krve, se používá v diagnostice ovariálního karcinomu, v hodnocení odpovědi na léčbu i záchytu rekurence.

Prognostické a prediktivní biomarkery

- V případě prognostických a prediktivních biomarkerů existují určité nejasnosti v terminologii dané nepřesnými překlady a rozmanitým chápáním různých pojmů v různých jazycích.
- Velmi často se tyto pojmy zaměňují, i když z hlediska molekulární epidemiologie rozhodně neoznačují totéž. Dle obecně přijímané definice poskytuje prognostický biomarker informace o „pravděpodobném průběhu onemocnění u neléčeného jedince“. Typicky se o prognostických biomarkerech hovoří u nádorových chorob, kde dnes lékaři u většiny pacientů s nádorovým onemocněním nabízejí určitý typ postchirurgické léčby (adjuvantní léčba).

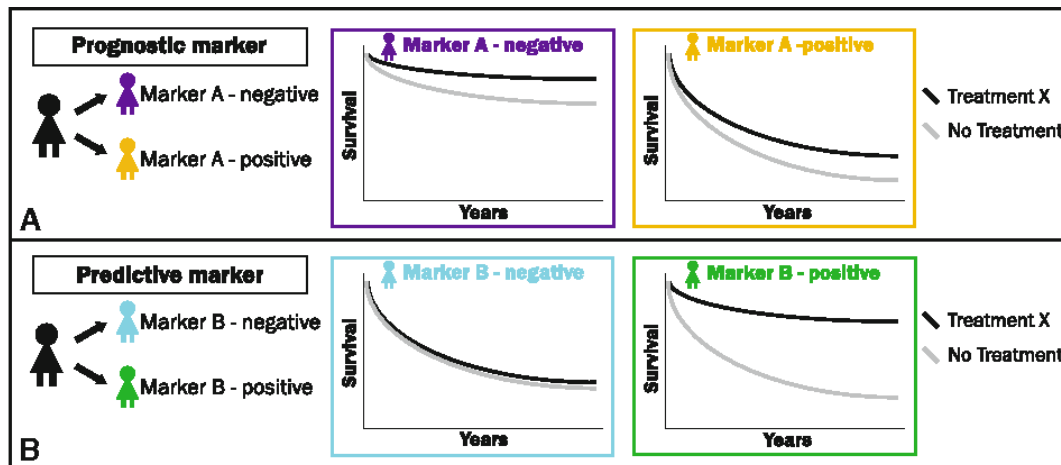
Prognostické a prediktivní biomarkery



Definice

Z toho důvodu dnes mnoho „prognostických“ studií zahrnuje i pacienty, kteří dostávají systémovou protinádorovou léčbu, která samozřejmě přirozený průběh onemocnění ovlivňuje. Stále však existují pacienti s nádorovým onemocněním časného stadia, např. pacientky s karcinomem prsu nízkého rizika nebo pacienti s kolorektálním karcinomem stadia I–II, kteří rutinně nedostávají protinádorovou léčbu.

Hodnocení prognostických biomarkerů může mít pro tyto pacienty zásadní význam, protože umožní identifikovat podskupiny pacientů se špatnou prognózou, kteří by mohli mít z adjuvantní systémové léčby benefit.



Prediktivní markery

- Prediktivní markery by měly usnadnit výběr terapie s největší předpokládanou účinností u daného pacienta, a představují tak základ individualizované či „personalizované“ léčby, do níž jsou vkládány velké naděje. Typickým příkladem prediktivního biomarkeru užívaného v každodenní onkologické praxi je stanovení estrogenních a progesteronových receptorů pro predikci senzitivity na endokrinní terapii u karcinomu prsu nebo stanovení HER2 statutu k predikci senzitivity na léčbu herceptinem u téhož onemocnění.

Biomarkery vnímavosti

- Biomarkery vnímavosti jsou indikátory přirozených charakteristik organismu, které zvyšují vnímavost organismu vůči účinkům vnějšího faktoru. Pomáhají definovat citlivost vůči danému rizikovému faktoru i kritické období působení expozice. Mezi tyto biomarkery vnímavosti lze tak např. zařadit aktivitu konkrétních detoxikačních enzymů, můžeme mezi ně zařadit např. jednonukleotidové polymorfizmy v genech pro glutathion-S-transferázy nebo zárodečné mutace v DNA reparačních genech u hereditárních syndromů.
- Za biomarker vnímavosti lze tedy obecně považovat získanou či vrozenou schopnost organismu odpovídat na vnější prostředí prostřednictvím specifické chemické látky (např. deficiencie glukóza-6-fosfát dehydrogenázy).

Validita biomarkerů

- Validita je vyjádřením stupně schopnosti testu (či biomarkeru) měřit veličinu k měření určenou.
- Studie je tedy validní, jestliže výsledky korespondují s realitou, neměla by se v ní vyskytovat žádná systematická chyba a náhodná chyba by měla být co nejmenší. Existuje přímá souvislost mezi validitou a spolehlivostí výsledků studie.

U studií s nízkou spolehlivostí, ale vysokou validitou jsou sice měřené hodnoty široce rozprostřené, ale průměr měřených hodnot se nachází poblíž skutečné hodnoty.

Na druhou stranu vysoká spolehlivost měření nezajišťuje vysokou validitu, protože všechny měřené hodnoty mohou být vzdálené od skutečné hodnoty.

Interní validita

- Interní validita je stupeň správnosti výsledků pozorování u konkrétní sledované skupiny populace zařazené do studie. Např. měření hemoglobinu v krvi musí přesně vyčlenit jedince s anémií definovanou ve studii. Analýza krve v různých laboratořích může vést z důvodu soustavné chyby k různým chybným výsledkům, ovšem hodnocení asociací sledovaného parametru, např. hemoglobinu s anémií na základě výsledků jedné laboratoře, může být stále interně validní.
- Aby studie měla smysl, musí být interně validní, ačkoli ani studie s vynikající interní validitou nemusí být srovnatelná s dalšími studiemi. Interní validita může být negativně ovlivněna nepřesnostmi při sběru a analýze dat.

Externí validita

- Externí validita nebo též zobecnitelnost označuje rozsah, v jakém lze uplatnit výsledky studie na jedince, kteří ve studii nejsou zahrnuti, nebo např. na laboratoře, které neparticipují v dané studii. Interní validita je pro externí validitu nezbytná, ale není její zárukou. Externí validita vyžaduje externí kontrolu jakosti měření a též přemýšlení o možném stupni extrapolace výsledků. To nezbytně nevyžaduje, aby sledovaná populace byla vůči referenční populaci reprezentativní. Např. důkaz o účinku snižování hladiny cholesterolu v krvi na riziko kardiovaskulárních chorob získaný u mužů je relevantní také u žen, vyžaduje však posouzení externí validity studií u mužů pro populaci žen. Externí validitu podporuje design studie, který jasně definuje hypotézy u dobře definovaných populací. Externí validitu studie dále podporuje, jestliže jsou ve studiích jiných populací nalezeny podobné výsledky, což je podkladem validačních prací na různých etnických kohortách a do značné míry to vysvětluje jejich realizaci.

Analytická validita, klinická validita

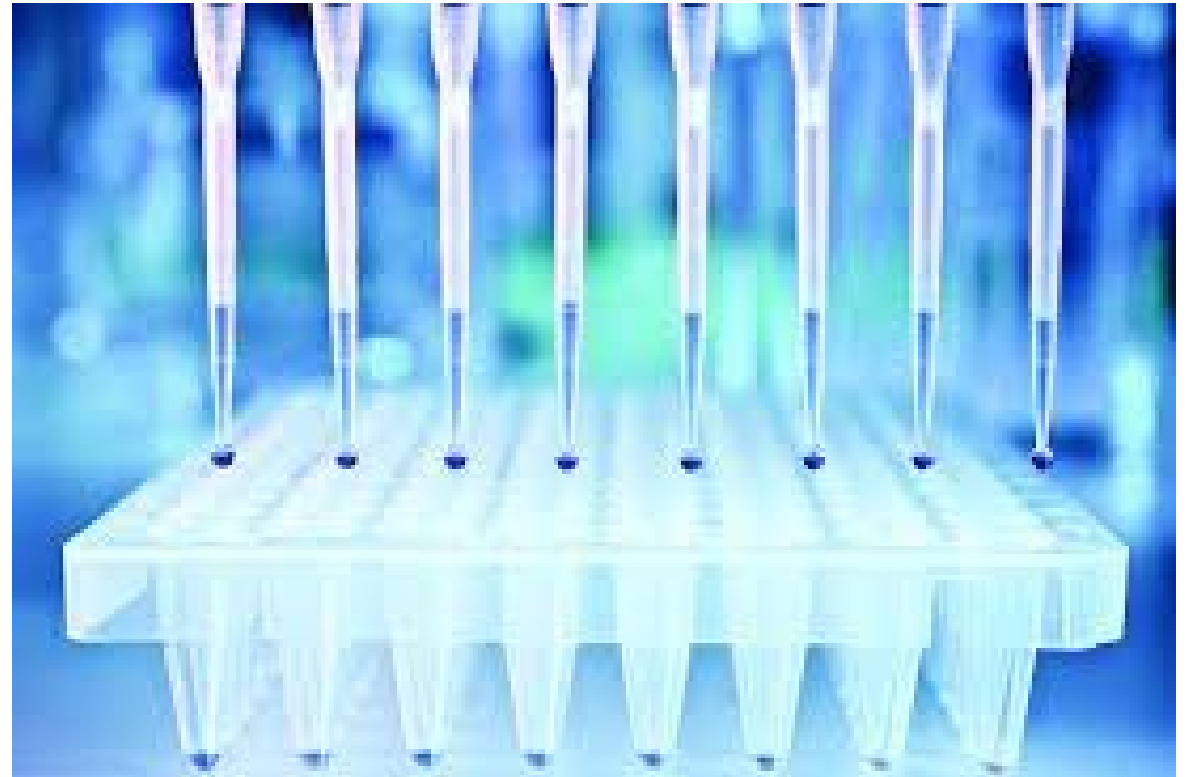
- U každého biomarkeru je možné hodnotit více charakteristik, mezi ty nejvýznamnější patří charakteristiky v **ACCE systému (ACCE Model System – analytic validity, clinical validity, clinical utility and ethical, legal and social implication), tedy analytická validita, klinická validita, klinická užitečnost.**

Analytická validita definuje schopnost testu přesně a spolehlivě zjistit nebo změřit analyt či genetický marker, který je předmětem zkoumání. S pojmem analytické validity úzce souvisí analytická specificita a senzitivita, přičemž senzitivita je definována jako podíl pozitivních výsledků, jestliže varianta/analyt je přítomen, zatímco specificita je podíl negativních výsledků, jestliže je varianta/analyt nepřítomen. Tyto parametry se používají zejména k měření vnitřního výkonu laboratorních technologií a bývají nedílnou součástí validace laboratorních metod před jejich použitím. Často se používají pozitivní

Validní biomarker

FDA Pharmacogenomics guidance

„biomarker, který je měřen v analytickém testovacím systému s dobře zavedenými výkonnostními charakteristikami a pro který existuje zavedený vědecký rámec nebo soubor důkazů, které objasňují fyziologický, toxikologický, farmakologický nebo klinický význam výsledku testu.“

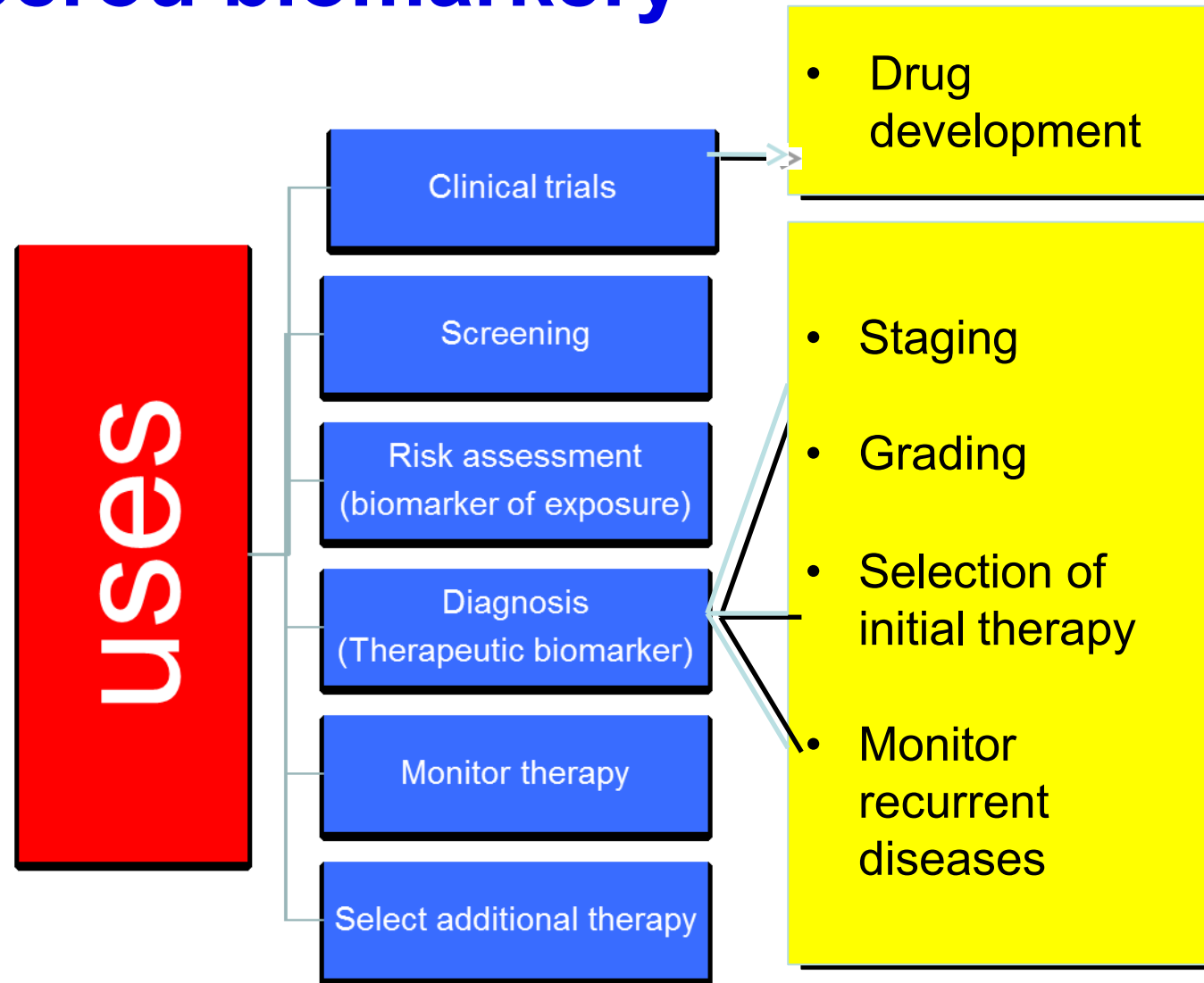


Ideální biomarkery

- Mají velkou citlivost, specifitu, přesnost, vysokou prediktivní hodnotu
- Bezpečné a snadno měřitelné
- Nákladově efektivní sledování
- Modifikovatelné ošetřením
- Konzistentní napříč pohlavími a etnickými skupinami

MANOJ KUMAR, SHIV K SARIN. Biomarkers of diseases in medicine. Current trends in sciences. platinum jubilee issue

Odkud se berou biomarkery



K čemu slouží biomarkery

K čemu nám mohou sloužit

Screening – rozlišuje zdravé od asymptomatického onemocnění. Např.: mamografie u rakoviny prsu, pap stěr u karcinomu děložního čípku

Posouzení rizik – skutečná nebo potenciální přítomnost specifických rizikových charakteristik. Např.: Hodnocení kardiovaskulárního rizika – fosfolipáza A2 spojená s lipoproteinem, vitamín B6, IL-6, C-reaktivní protein



Klasifikace tkáně původu je prvním krokem k predikci přežití a výběru terapie, např.: vysoce výkonné technologie RNA, proteinů a tkáňových mikročipů

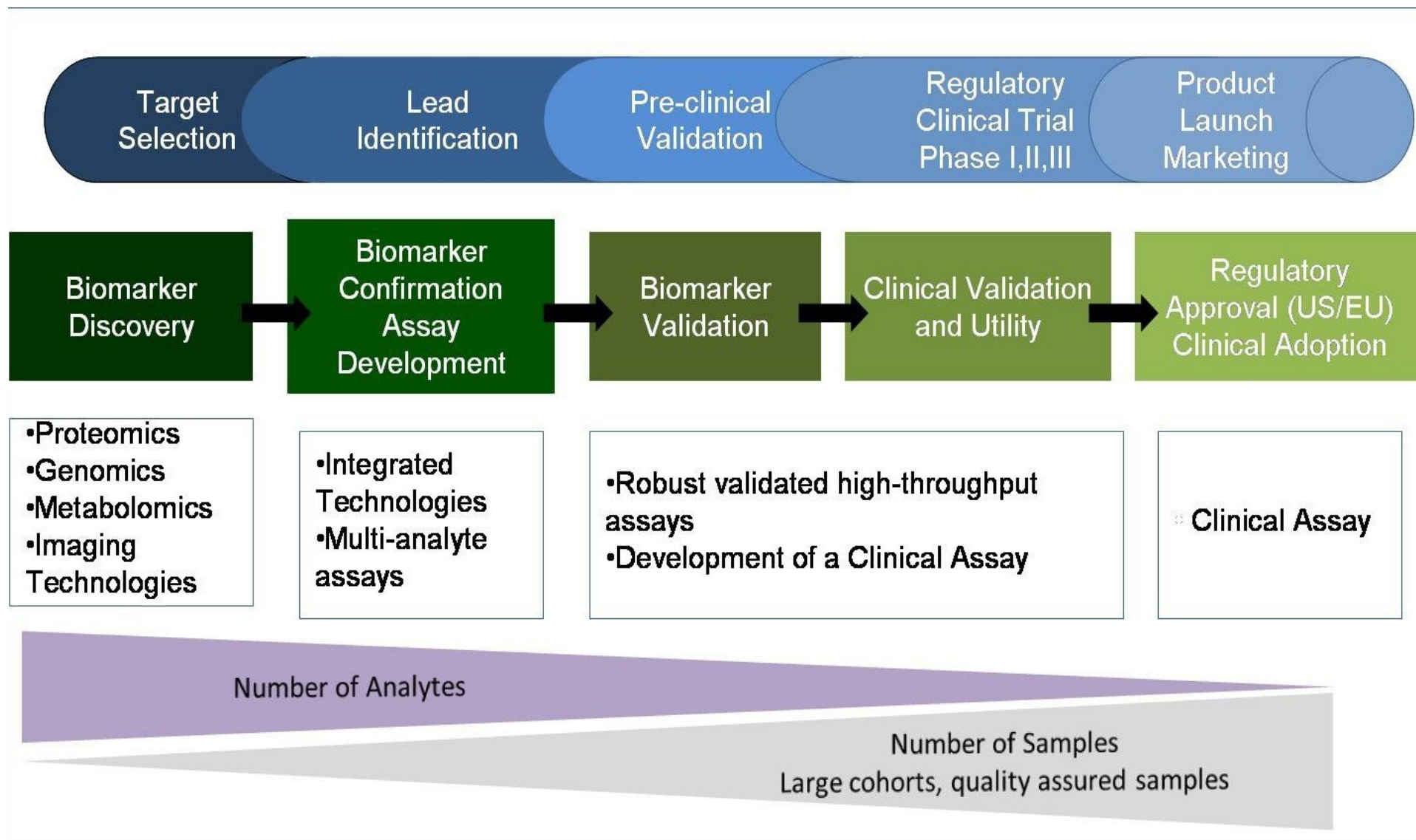


Každé anatomické místo má svůj vlastní histologický systém hodnocení, např. screeningové mamografie, počítačové tomografie (CT) a standardní rentgenové filmy



Staging – klinický+ patologický např.: RTG, CT, MRI, PET, endoskopické vyšetření, biopsie a chirurgické vyšetření, F-FDG, C-acetát a duální indikátor PET/CT pro stanovení stadia HCC (metastázy)

Evolve biomarker



Technologie pro identifikaci nových biomarkerů

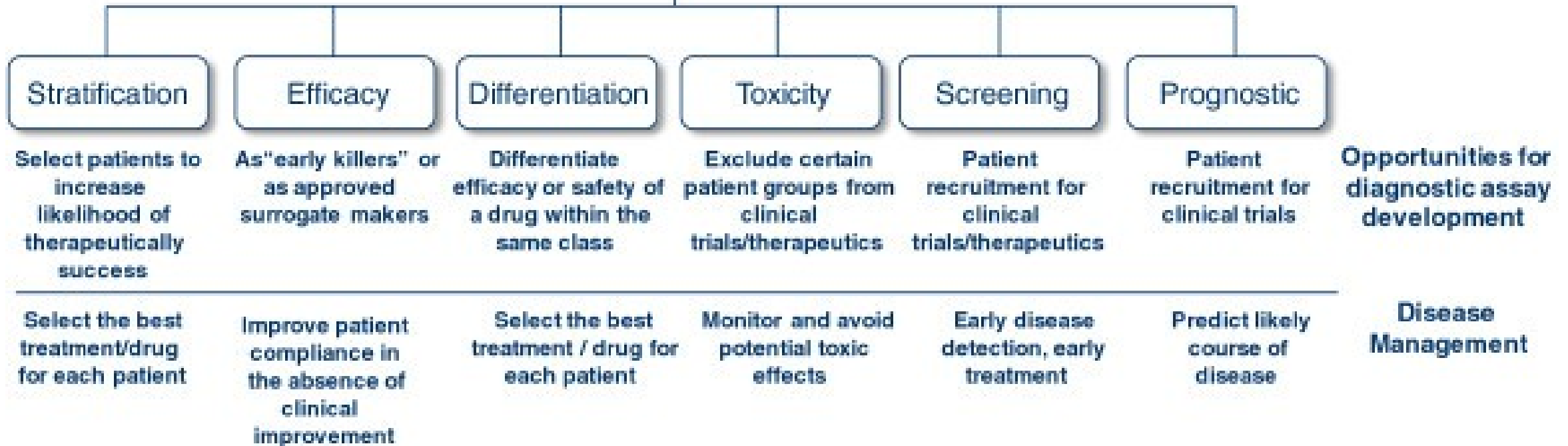
Další technologie -
Fluorescenční markery
Laboratoř na čipu
Nukleární magnetická rezonance
Hmotnostní
spektrometrie/kapalinová
chromatografie
Nanobiotechnologie
Zobrazování

Ideální biomarkery

Vysoce výkonné technologie	Genomika	Sekvenování genomu
Variace genomu	Epigenomika	Transkriptomika
Microarrays	Údaje o genové expresi	Proteomika
Y2H metoda	Hmotnostní spektrometrie	Proteinové chipy
Metabolomika	NMR	Hmotnostní spektrometrie

Clinical Biomarkers

Molecular Diagnostics (Proteins, Ab, Peptides, Ag, CNAPS, DNA, RNA)



Děkuji za pozornost

