

MOLEKULÁRNÍ EPIDEMIOLOGIE (Molecular epidemiology)

Boffetta P.

J Intern Med, Vol. 248, 2000, s. 447 – 454

Volně přeložil a zkrátil MUDr. Vladimír Plesník

Souhrn: Používání tzv. biomarkerů v epidemiologii není žádnou novinkou. Nové poznatky v molekulární biologii a genetice však zvýšily jejich užitečnost a využití. Epidemiologické studie založené na biomarkerech, patří k „molekulární epidemiologii“ a mají stejné problémy při plánování a hodnocení jako „tradiční“ epidemiologické studie. Poskytují-li biomarkery novou příležitost k překonání některých limitů epidemiologické studie, zlepšují výsledky tradičního postupu a mají být systematicky využívány. Validitu (platnost) biomarkerů je třeba ověřovat pomocnými studii. Ty jsou zaměřeny na možné zdroje omylů (bias) a záměny. Studie v rámci molekulární epidemiologie nesmí být méně náročné než tradiční studie.

Úvod

Podle definice je molekulární epidemiologie obor, příslušející jak do veřejného zdravotnictví, tak do laboratorního výzkumu. Není však všeobecné shody na tom, jaký typ výzkumu odpovídá tomuto oboru. Různí badatelé kladou důraz na různé aspekty odpovídající jejich odbornému zaměření. Pro epidemiologa může studie využívající molekulární epidemiologii znamenat práci s měřením různých biologických veličin (třeba včetně krevního tlaku), kdežto pro molekulárního biologa např. pátrání po novém genu mezi několika tucty pacientů. Tyto rozdíly vyplývají ze stále rostoucí dostupnosti molekulárních technik ke sledování jemných odlišností, které mohou mít epidemiologický význam a z potřeby tyto odlišnosti vyhodnotit a uplatnit je v přesně definované populaci.

Přes obojakost je definice molekulární epidemiologie užitečná a široce užívaná v názvech pracovišť, univerzitních kursů a programů, symposií a odborných společností. Bylo o ní také již napsáno několik učebnic.

Již desítky let jsou postupy dnes označované jako molekulární epidemiologie používány v epidemiologii infekcí a kardiovaskulárních nemocí. Příkladem může být sledování hladiny cholesterolu (dnes jako biomarkeru expozice) a ischemické choroby srdeční ve známé Framinghamské studii. Novější práce se týkají sledování biomarkerů chronických nemocí, zvláště při epidemiologii nádorových onemocnění.

Je dobré uvážit využití molekulární epidemiologie při plánování všech studií. Epidemiologie identifikuje rizikové i protektivní faktory nemoci a kvantifikuje jejich význam. Při tom je nutné vzít v úvahu (v rámci možnosti) zdroje náhodných a systematických omylů, stejně jako faktorů pozměňujících účinek sledované determinanty. Ukázalo se například, že v epidemiologické studii svědčí o stoupajícím riziku orálních nádorů u alkoholiků. Několik velkých studií prokázalo statistickou významnost této souvislosti (tj. byla vyloučena náhodná chyba) a bylo potvrzeno, že bez ohledu na způsob zjišťování pití alkoholu a detekce nádoru (tj. byla vyloučena informační bias způsobovaná nepřesným stanovením expozice a jejího důsledku). Ke stejným závěrům vedly různé typy epidemiologických studií, tj. retrospektivní i kohortové což snižuje pravděpodobnost bias ze selekce sledované populační skupiny). Také byl v různých studiích sledován možný vliv kouření tabáku (porovnáváním s nekuřáky) a sklon ke vzniku orálního karcinomu v různých populačních skupinách (tj. možný vztah k etnickému původu).

Biomarkery

Biomarkery se tradičně dělí na ukazatele expozice, nemoci a vnímavosti (viz tab.1). Toto členění je však dosti umělé. Po léta jsou již např. chromosomální aberace užívány ke sledování kancerogenů v zevním prostředí. V tomto ohledu lze aberace považovat za ukazatele expozice. Nové poznatky však svědčí o úloze chromosomálních aberací při prognózování rizika nádorových onemocnění u osob, jejichž buňky obsahují častější aberace a to bez ohledu na jejich příčinu. Takto se stávají i časnými známkami nemoci.

Tabulka č.1: Třídy biomarkerů

Třída	Příklady z nádorové epidemiologie
Expozice	DNA nebo vazba na proteiny
	virová DNA
	močové metabolity
Nemoc	genová mutace
	aberrace chromosomu
	Prekancerózy
Vnímovost	metabolický polymorfismus
	aktivita oprav DNA

Smysl používání biomarkerů k měření expozice spočívá ve snaze zvýšit hodnověrnost a zpřesnit poznatky o biologicky významných proměnných expozice. Někdy představuje tento postup podstatné zlepšení hodnocení expozice.

Dobrým příkladem toho, jak sledování expozice vůči biomarkerům je výrazným pokrokem v odhalování nebezpečí vzniku lidských nádorů, může být expozice aflatoxinu. Plíseň *Aspergillus flavus* běžně kontaminuje potraviny, zejména zeleninu a ořechy v západní Africe a ve východní Asii. Za určitých skladovacích podmínek produkuje aflatoxin, mající u některých zvířat výrazné hepatotoxické a kancerogenní účinky. Aflatoxin nemění ani barvu, ani chuť konzumovaných jídel, takže není žádná jednoduchá známka toho, že potravina je kontaminovaná. Sledování kancerogenity aflatoxinu bylo limitováno obtížností stanovení expozice u konzumenta, byť ekologické studie ve větších kolektivech (obcích) s častým příjmem kontaminovaných potravin svědčily o častějším výskytu karcinomu jater ve srovnání s okolními obcemi s méně často kontaminovanými potravinami. Situace se změnila potom, co byly nalezeny biomarkery expozice aflatoxinu v séru a v moči, zejména jeho metabolity v moči a jeho vazby na DNA. Studie využívající tyto biomarkery bezpečně prokázaly příčinnou souvislost aflatoxinu a rakoviny jater u exponovaných osob.

Bias

Epidemiologie rozlišuje tři hlavní typy bias. Všechny tři se mohou uplatnit ve studiích založených na sledování biomarkerů. Selekční bias vzniká následkem nehomogenity mezi skupinou „pokusnou“ a kontrolní. Informační bias spočívá v nedostatečné identifikaci osob zařazených do studie s ohledem na jejich onemocnění nebo stupeň expozice. Zvláštní formou bias je mylná interpretace (confounding) expozice dalším rizikovým faktorům, ve studii nesledovaným.

Přechodové (transitní) studie

Variabilita výsledků měření pomocí biomarkerů naráží na nezbytnost stanovení jejich platnosti (validity) již při plánování větší studie. Zde je hlavní úloha přechodových studií, jejichž účelem je spíše charakterizovat samotné biomarkery, než studovaný biologický

fenomén. Obvykle slouží ke sledování skupin zdravých osob s různou expozicí. Náplň těchto studií přehledně a stručně vyjadřuje následující tabulka č.2.

Tabulka č.2: *Typy přechodových studií*

Typ studie	Účel studie	Typické příklady
Vývojové	Výběr biomarkerů	Plánování experimentálních studií
		Testování vzorků lidského materiálu
		Ověřování sběru, zpracování a skladování biol.vzorků
Charakterizační	Validita-platnost	Ověřování vhodnosti a přesnosti testů
		Výběr škály biomarkerů na reprezentačních souborech
		Souvislost mezi expozicí a biomarkery
Provozní	Užití v průřezové, metabolické a panelové studii	Kinetika biomarkerů, možné náhodné vlivy
		Hodnocení expozice v různých skupinách populace a nové posouzení vhodnosti biomarkerů

Omyly

Jsou to situace, kdy pozorovaná souvislost mezi suspektním rizikovým faktorem a nemocí je dána jiným rizikovým faktorem, který je skutečnou příčinou nemoci. Klasickým příkladem je v řadě různých populačních skupin pozorovaná korelace mezi kouřením a karcinomem děložního čípku. Zde se však nejspíše jedná o korelaci Ca s nákazou lidským papilomavirem (HPV). Je prokázána vyšší promořenost kuřáků HPV než nekuřáků. Použití biomarkerů nezabrání podobným omylům a u každé zjištěné souvislosti je třeba hledat i jiné její vysvětlení.

Interakce

Při studiu patogeneze nádorů a chronických nemocí se často vychází ze sledování interakcí mezi geny a zevním prostředím, nebo mezi různými geny. K hodnocení významnosti interakce se zpravidla užívá čtyřpolní tabulka jako u chí-kvadrát testu. Studie zabývající se interakcí mezi více faktory jsou obdobné. Například ve výše zmíněné studii expozice aflatoxinu a karcinomu jater byla také pojata v úvahu infekce virem HB. Srovnání HBV-negativních osob exponovaných aflatoxinu se stejnou expozicí u HBV pozitivních osob se ukázalo mnohem vyšší (60) relativní riziko Ca jater, ačkoliv RR pro tyto dva samostatné faktory bylo mnohem menší (4,8 pro HBV a 1,9 pro aflatoxin). To naznačuje možné synergické působení HBV a aflatoxinu při vzniku Ca jater. Studie se však uskutečnila jen u 7 pacientů a 2 kontrolních osob, takže výsledky nejsou statisticky významné.

Náhodná chyba

Největší problém epidemiologických studií využívajících biomarkery je malý počet sledovaných ve studii. Příčinou bývají finanční i organizační překážky. Mimo organizace nákladné velké studie se někdy využívá tzv. metaanalýzy, při níž se spojují výsledky získané v menších studiích. K tomu je však třeba značné opatrnosti a zkušeného statistika.

Publikační bias

Jedním z typických rysů studií využívajících molekulární epidemiologii je poměrně velký počet proměnných veličin expozice. V těchto případech narůstá pravděpodobnost náhodného získání statisticky významných výsledků. Zpravidla bývají častěji publikovány signifikantní

nálezy, zvláště když se objeví v předpokládaném směru. Následkem toho dochází k bias častějších publikací pozitivních, než negativních zjištění.

Mohlo by se zdát, že falešně pozitivní nálezy takových počátečních (pilotních) studií nejsou z hlediska vědy závažné, protože následné ověřovací studie ukážou skutečný stav věcí. Vždy však představují ztrátu času, zbytečnou práci a náklady zejména při používání drahých vyšetřovacích postupů, jako je sledování biomarkerů. Vyplatí se kritické hodnocení výsledků, neomezující se jen na statistickou významnost, ale hlavně na biologickou přijatelnost, na možná bias a omyly a na počet vyšetřovaných objektů.

Závěry

Uplynulo již téměř třicet let od zavedení pojmu „molekulární epidemiologie“. Je nepochybné, že molekulární techniky se ukázaly být stále důležitější součástí epidemiologických studií. Až dosud je však tradiční epidemiologické metody využívají jen nedostatečně. Průkaz expozice aflatoxinu, zvýšená citlivost a specifčnost důkazů o dřívějším prožití virové infekce, nález vazby reaktivních chemikálií (např. etyleoxidu) na proteiny a DNA, to jsou příklady, u nichž molekulární epidemiologie podstatně přispěla k objasnění vzniku nádorů lidí. V řadě jiných případů však slibné pilotní výsledky nebyly potvrzeny následnými ověřovacími testy. Budou-li epidemiologové více využívat možností tzv. molekulární epidemiologie v souladu se stále se zdokonalujícími postupy a s prohlubujícími se poznatky, budou také výsledky jejich práce společensky přínosnější.

22 citací, kopie uložena v archivu epid. odd. KHES Ostrava

Poznámka překladatele

Čtenářům SMD se bude asi zdát toto téma příliš „nadčasové“, čili v našich současných poměrech nevyužitelné. Ale již samotné povědomí o tom, co to je molekulární epidemiologie a k čemu může sloužit, je samo o sobě užitečné. A kdo ví – jste mladí a za pár let se dnešní možnosti mohou podstatně změnit. Zejména obrátíte-li svou pozornost také k tématům neinfekčním !