

---

# Εργαστηριακά δεδομένα και βιολογικοί δείκτες

---

Εργαστήριο Υγιεινής και Επιδημιολογίας

---

# Δομή μαθήματος

- Ορισμοί
  - Παραδείγματα
  - Μεγέθη και αριθμοί
  - Σημασία
  - Τιμές αναφοράς
  - Προβλήματα
  - Υποκαταστάτες δείκτες
-

---

# Ορισμοί

- «Ένα χαρακτηριστικό που μπορεί να μετρηθεί αντικειμενικά και αποτελεί δείκτη
  - μιας φυσιολογικής βιολογικής διεργασίας,
  - μιας παθολογικής βιολογικής διεργασίας ή
  - της φαρμακολογικής απάντησης μιας θεραπευτικής παρέμβασης.»

Biomarkers Definition Working Group, NIH 1998

- Συσχέτιση με
    - Έκθεση (correlate)
    - Έκβαση (surrogate)
-

# Παραδείγματα

- Επίπεδα μολύβδου στο αίμα και δηλητηρίαση από μόλυβδο
- Επίπεδα αλκοόλ στο αίμα και μέθη
- Κρεατινίνη ορού και νεφρική λειτουργία
- Οστική πυκνότητα και κατάγματα οστών
- EBV-ειδικά IgM αντισώματα και λοίμωξη από EBV
- PSA και καρκίνος του προστάτη
- Επίπεδο πρωτεϊνικής έκφρασης και πρόγνωση αιματολογικών καρκίνων
- Καρυότυπος και σύνδρομο Down
- Μονήρεις γονιδιακές μεταλλάξεις (SNP) για Μεντελιανά νοσήματα
- Σύνθετες γονιδιακές 'υπογραφές' για σύνθετα νοσήματα

---

# Μεγέθη και αριθμοί

- Προσδιορισμός του γονότυπου 17.000 ατόμων για 500.568 πολυμορφισμούς (Affymetrix chip) σε σχέση με 7 ‘σύνθετα’ νοσήματα *Nature* 2007: (447):661-678
  - Center for Biomarkers in Imaging (Department of Radiology, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School) → 348 ‘απεικονιστικοί’ βιολογικοί δείκτες
    - Χολόλιθοι και χολοκυστίτιδα (U/S)
    - Μέγεθος όγκου και καρκίνος του πνεύμονα (CT)
    - Γαλακτικό και ανταπόκριση στη θεραπεία σε νεοπλάσματα ΚΝΣ (MRS)
- <http://www.biomarkers.org/>
-

---

# Τι μας νοιάζει;

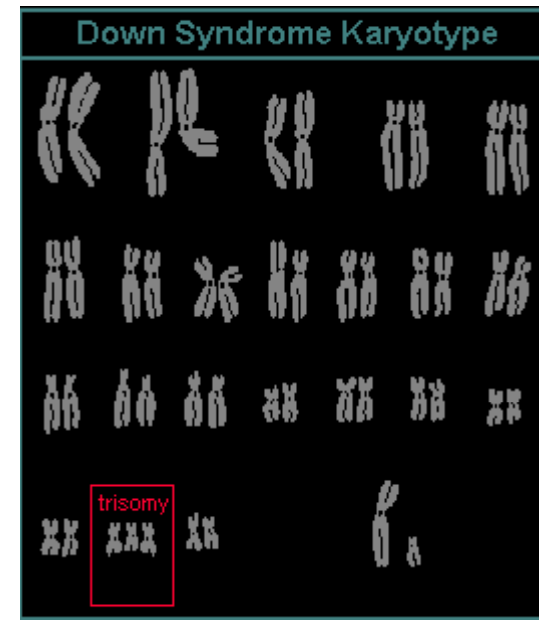
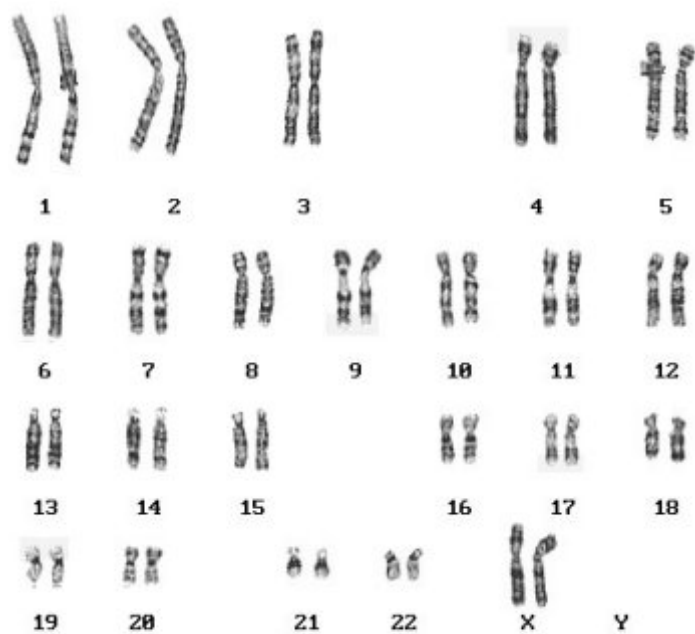
- Οι βιολογικοί δείκτες (θα) εμπλέκονται σε ένα πολύ μεγάλο ποσοστό των κλινικών αποφάσεων στην καθ' ημέρα πράξη.
  - Οι αποφάσεις αυτές αφορούν
    - Την πρόληψη της νόσου
    - Τη διάγνωση της νόσου
    - Την εξέλιξη της νόσου
    - Την πρόγνωση της νόσου
    - Την ανταπόκριση στη θεραπεία
-

---

## Τι μας νοιάζει;

- Η τεχνολογία τροφοδοτεί με αυξανόμενο ρυθμό την ‘κλινική’ ιατρική με νέους βιολογικούς δείκτες με όλο και ευκολότερη πρόσβαση, σε όλο και μικρότερο κόστος.
  - Συχνά, ένα φάρμακο παίρνει αποδοχή για κάποια ένδειξη ταχύτερα απ’ ότι συνήθως για λόγους σοβαρότητας της νόσου ή μη-εναλλακτικής θεραπείας ή επείγουσας παρέμβασης (unmet medical need).
  - Φέρουν την υπόσχεση της εξατομικευμένης θεραπείας.
-

# Παραδείγματα Σύνδρομο Down





# Παραδείγματα

## Γονιδιακή έκφραση καρκίνου στοματικής κοιλότητας

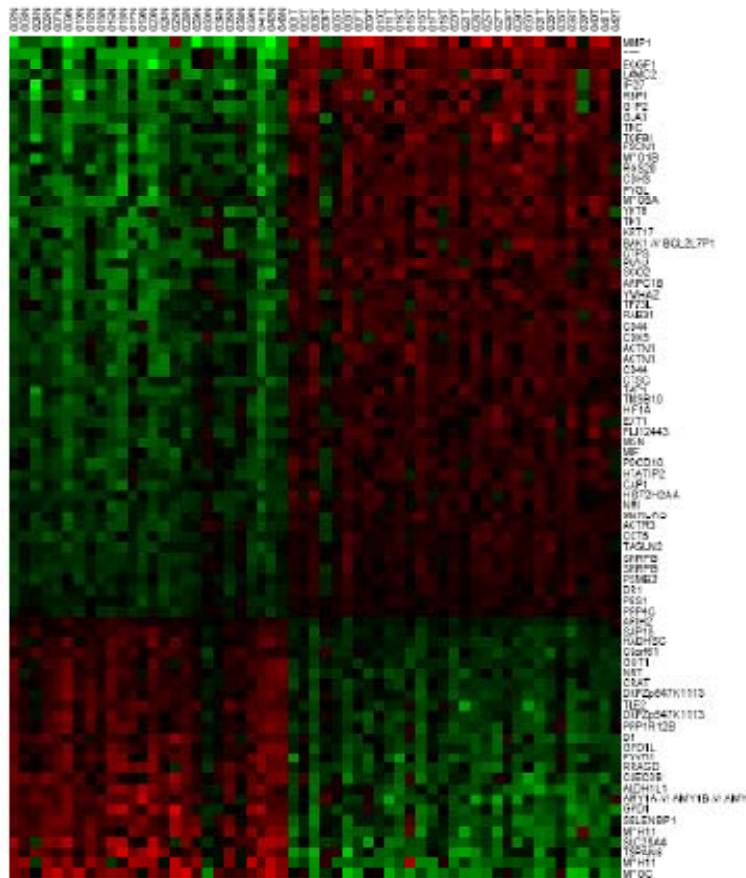
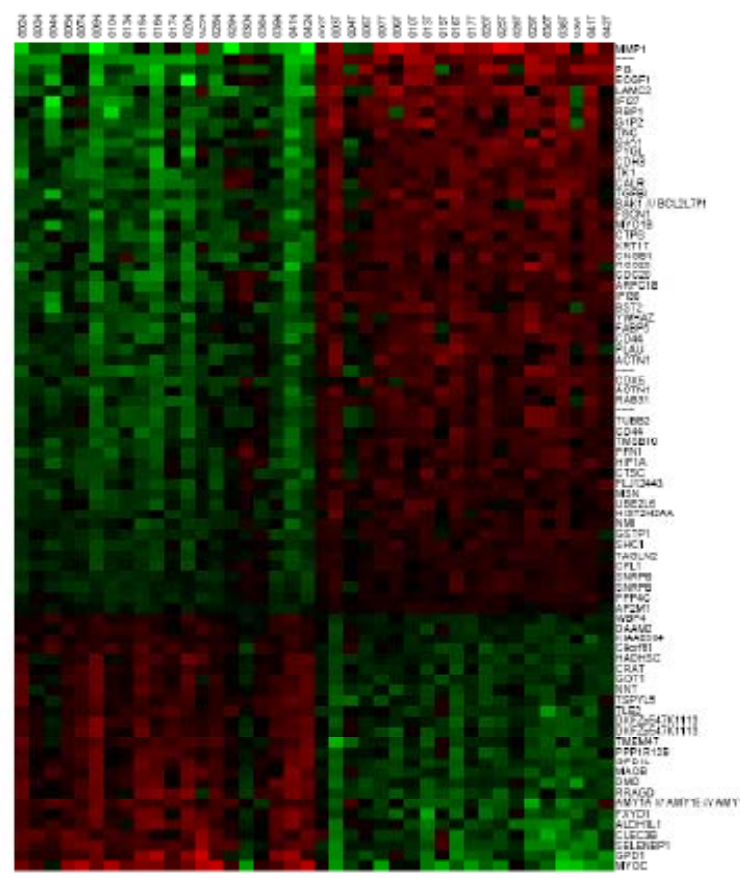


Figure 1 A

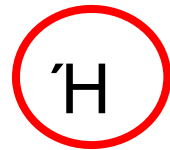


B

---

# Προβλήματα

- Αληθής διαφορά;



- Βιολογική μεταβλητότητα
  - Ακρίβεια
    - Αναλυτική μεταβλητότητα
    - Συγκρίσεις μεταξύ διαφορετικών μεθόδων μέτρησης
    - Συγκρίσεις παλιών και νέων δειγμάτων
-

---

# Βιολογικοί δείκτες

## Τιμές αναφοράς

- Η τιμή ενός βιολογικού δείκτη (το αποτέλεσμα ενός τεστ) για έναν ασθενή (ή υγιή) συγκρίνεται με τις προκαθορισμένες τιμές αναφοράς ('φυσιολογικές' τιμές) και βοηθά στο να ληφθεί μια κλινική απόφαση (διάγνωση ή θεραπεία)
  - Πρώτη χρήση: 1969
  - Οι τιμές αναφοράς ('φυσιολογικές' τιμές) πρέπει να λάβουν υπ' όψιν
    - Τον υπό εξέταση πληθυσμό
    - Το υπό εξέταση νόσημα
    - Την εργαστηριακή μέθοδο (κατασκευαστής, εργαστήριο)
-

---

# Βιολογικοί δείκτες

## Τιμές αναφοράς

- Σχετιζόμενες με την υγεία (health associated)
  - Το 95% των υγιών ατόμων που έχουν εξεταστεί από διάφορα εργαστήρια έχουν τιμές καλίου μεταξύ 3.5 και 5.1 mEq/L,
- Σχετιζόμενες με κλινικές αποφάσεις (decision based)
  - Χοληστερόλη χαμηλής πυκνότητας(LDL) > 160 mg/dL αποτελεί το όριο έναρξης παρέμβασης τροποποίησης του τρόπου ζωής σε υγιής ενήλικες χαμηλού κινδύνου.
  - Συνήθως βασίζονται σε αποτελέσματα κλινικών δοκιμών.

*Circulation. 2004;110:227-239*

- Δεν υπάρχουν τιμές αναφοράς.
-

---

# Βιολογικοί δείκτες

## Τιμές αναφοράς

- Η πλειοψηφία των κλινικών ιατρών αποδέχονται τα αποτελέσματα των εργαστηριακών εξετάσεων αναντίρρητα.
  - Στην συντριπτική τους πλειοψηφία, οι τιμές αναφοράς είναι πλημμελώς τεκμηριωμένες.
  - Τα περισσότερα εργαστήρια δεν καθορίζουν μόνο τους τις τιμές αναφοράς, αλλά αποδέχονται τιμές αναφοράς, όπως προτείνονται από
    - Τον κατασκευαστή
    - Άλλα εργαστήρια (συγκρίσιμες τιμές;)
    - Επιστημονικούς οργανισμούς (τεκμηρίωση;)
    - Βιβλιογραφία (παλιά, καινούργια, συστηματικό σφάλμα;)
-

---

# Τιμές αναφοράς

## Παράδειγμα I

- 163 εργαστήρια (κυρίως USA) έδωσαν πληροφορίες για τις τιμές αναφοράς (health-associated) που χρησιμοποιούσαν σε 7 βιολογικούς δείκτες εκτεταμένης χρήσης (K, Ca, Mg, TSH, Hb, Plt, aPTT)
- Τα μισά δεν είχαν κάνει δική τους επικύρωση των τιμών αναφοράς.
- Η συντριπτική πλειοψηφία χρησιμοποιούσαν εξωτερικές πηγές για τιμές αναφοράς σε παιδιά.
- 20% των εργαστηρίων είχαν μια ανώτερη ή κατώτερη φυσιολογική τιμή, που ήταν σημαντικά υψηλότερη ή χαμηλότερη από τις τιμές που χρησιμοποιούσε το υπόλοιπο 80% των εργαστηρίων.

---

## Τιμές αναφοράς

### Παράδειγμα II

- Η ραβδομυόλυση είναι μια παρενέργεια των στατινών (φάρμακο για την δυσλιπιδαιμία).
  - Η κινάση της κρεατινίνης (CK) είναι ένα ένζυμο 'ενδεικτικό' μυϊκής προσβολής.
  - Η κινάση της κρεατινίνης χρησιμοποιείται ως βιολογικός δείκτης έναρξης ή διακοπής θεραπείας με στατίνη.
  - Η ανώτερη 'φυσιολογική' τιμή αναφοράς είναι
    - Κατασκευαστής 140IU/l (Θ), 174 IU/l (α)
    - ΠΠΓΝΙ 190 IU/l
-

---

# Τιμές αναφοράς

## Παράδειγμα II

- Προσπάθεια καθορισμού τιμών αναφοράς σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες του National Committee on Clinical Laboratory Standards/Nordic Reference Interval Project σε πληθυσμό 1444 υγιών ατόμων.
- Το ανώτερο 'φυσιολογικό' όριο των τιμών αναφοράς ήταν 2 έως 5 φορές υψηλότερο από αυτό που προτείνεται από τον κατασκευαστή.
- 13% των ατόμων Ευρωπαϊκής καταγωγής, 23% των ατόμων Ασιατικής καταγωγής και 49% των ατόμων Αφρικανικής καταγωγής είχαν παθολογική CK.



---

# Μεθοδολογικά προβλήματα

## Εγκυρότητα

- Οι βιολογικοί δείκτες δεν μετρούν άμεσα το φαινόμενο που μας ενδιαφέρει, αλλά το εκπροσωπούν → εγκυρότητα μέτρησης
    - Εγκυρότητα περιεχομένου
    - Κατασκευαστική εγκυρότητα
    - Εγκυρότητα κριτηρίου
-

---

# Εγκυρότητα περιεχομένου

- Αντιπροσωπεύει ο βιολογικός δείκτης το φαινόμενο που μας ενδιαφέρει;
    - Έκθεση (συνολική ενεργή δόση της έκθεσης)
    - Νόσος
  - Ερμηνεία ευρημάτων βασικής έρευνας
  - Παράδειγμα:
    - Γονιδιακή μετάλλαξη → αντικατάσταση του γλουταμινικού οξέος από βαλίνη στο μόριο της αιμοσφαιρίνης (β αλυσίδα)  
→ HbS → κλινικός φαινότυπος δρεπανοκυτταρικής αναιμίας
    - Ανίχνευση HbS → δρεπανοκυτταρική αναιμία
-

---

# Κατασκευαστική εγκυρότητα

- Αντιστοιχεί ο βιολογικός δείκτης με άλλες παραμέτρους του φαινομένου που μας ενδιαφέρει;
  - Παράδειγμα: Η συσχέτιση της τιμής του PSA με το μέγεθος του όγκου στον καρκίνο του προστάτη
-

---

## Εγκυρότητα κριτηρίου

- Σε τι βαθμό συσχετίζεται ο βιολογικός δείκτης με το φαινόμενο που μας ενδιαφέρει;
  - Σύγκριση με χρυσό κανόνα (gold standard)  
→ μεθοδολογία διαγνωστικών δοκιμασιών
  - Συνήθως δεν υπάρχει χρυσός κανόνας
-

---

# Υποκαταστάτης δείκτης

Βιολογικοί δείκτες

Κλινικές εκβάσεις

Υποκαταστάτες δείκτες

---

---

## Υποκαταστάτες δείκτες

Βιολογικές ή κλινικές παράμετροι που σχετίζονται με μια κλινική έκβαση και μπορούν να εξηγήσουν τα αποτελέσματα μιας κλινικής δοκιμής ως προς την έκβαση.

---

---

## Τι χρειάζεται για να μετατραπεί ένας βιολογικός δείκτης σε υποκαταστάτη δείκτη;

- Βιολογική συνάφεια με τη νόσο
  - Επιδημιολογικά τεκμήρια
  - Προγνωστικός δείκτης
  - Παρουσία στο βιολογικό μονοπάτι της παρέμβασης
  - Μεταβολές στον βιολογικό δείκτη → μεταβολές στην πρόγνωση
  - Επίδραση της θεραπείας στον βιολογικό δείκτη → επίδραση της θεραπείας στην κλινική έκβαση
  - Φαινόμενο τάξης φαρμάκου
  - Θεραπεία με διάφορες παρεμβάσεις → μεταβολή του βιολογικού δείκτη
-

---

Τι χρειάζεται για να μετατραπεί ένας  
βιολογικός δείκτης σε υποκαταστάτη δείκτη;

Αλλά κυρίως.....

---



---

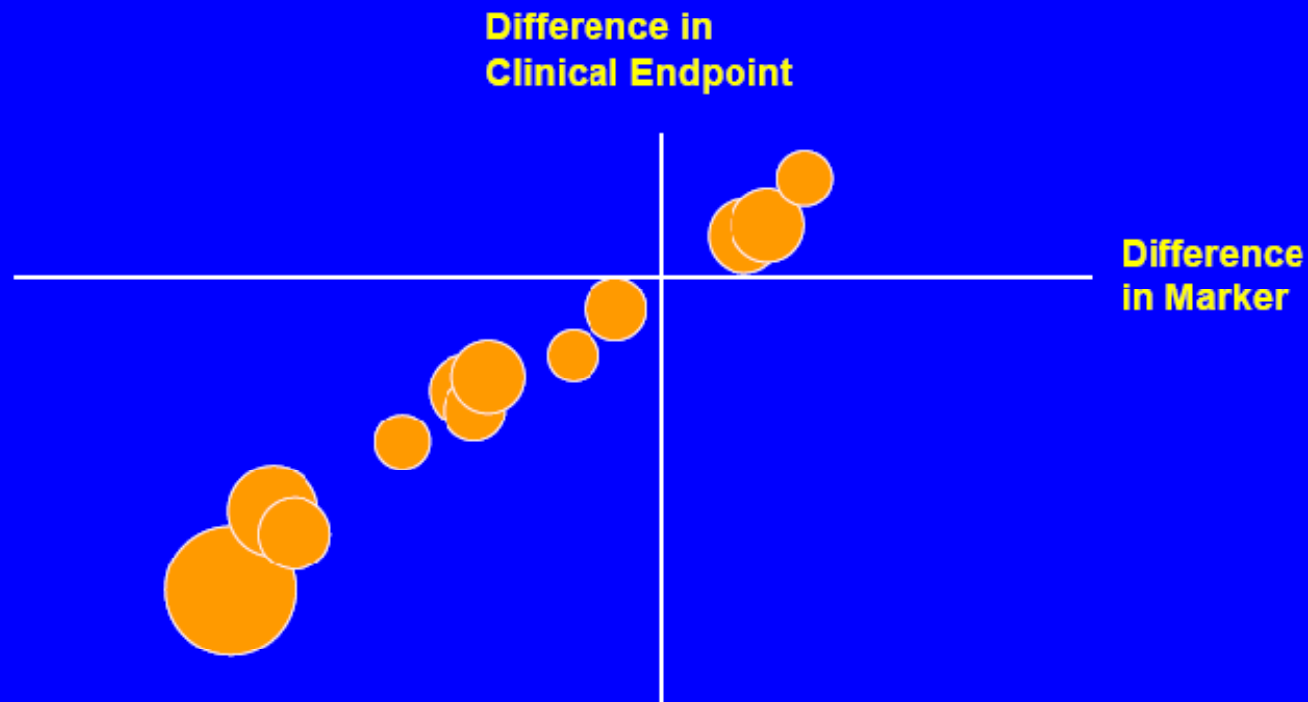
Τι χρειάζεται για να μετατραπεί ένας βιολογικός δείκτης σε υποκαταστάτη δείκτη;

### Μεγάλες κλινικές δοκιμές

- ❑ Αυτό δεν προσπαθούμε να αποφύγουμε;
  - ❑ Μήπως η επικύρωση της υποκατάστασης (surrogacy) θα πάρει περισσότερο χρόνο από την εκτίμηση 'σκληρών' κλινικών εκβάσεων;
  - ❑ Ποιο θα είναι το κριτήριο(α) της επικύρωσης;
-

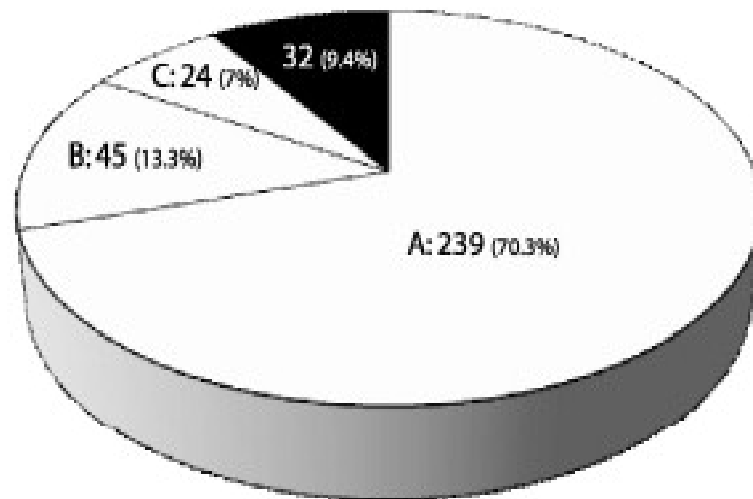
Τι χρειάζεται για να μετατραπεί ένας βιολογικός δείκτης σε υποκαταστάτη δείκτη;

## Schematic of a Good Surrogate

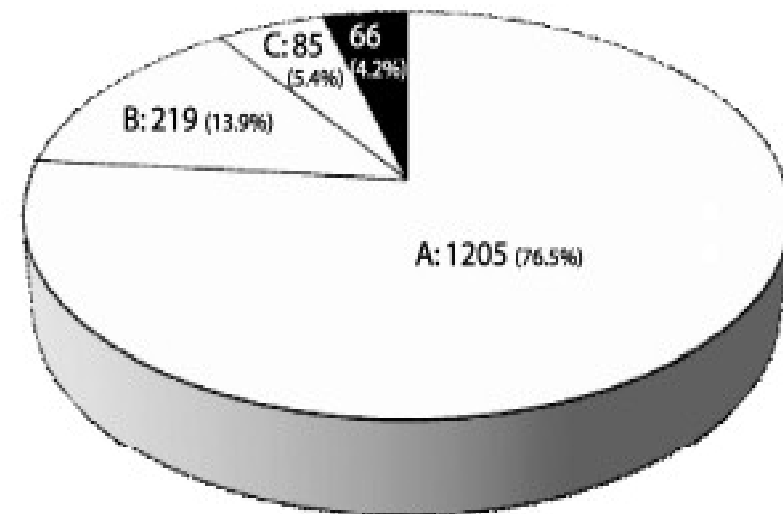


# Συστηματικό σφάλμα επιλεκτικής αναφοράς

Articles included in prognostic marker meta-analyses  
(Database 1, N=340)

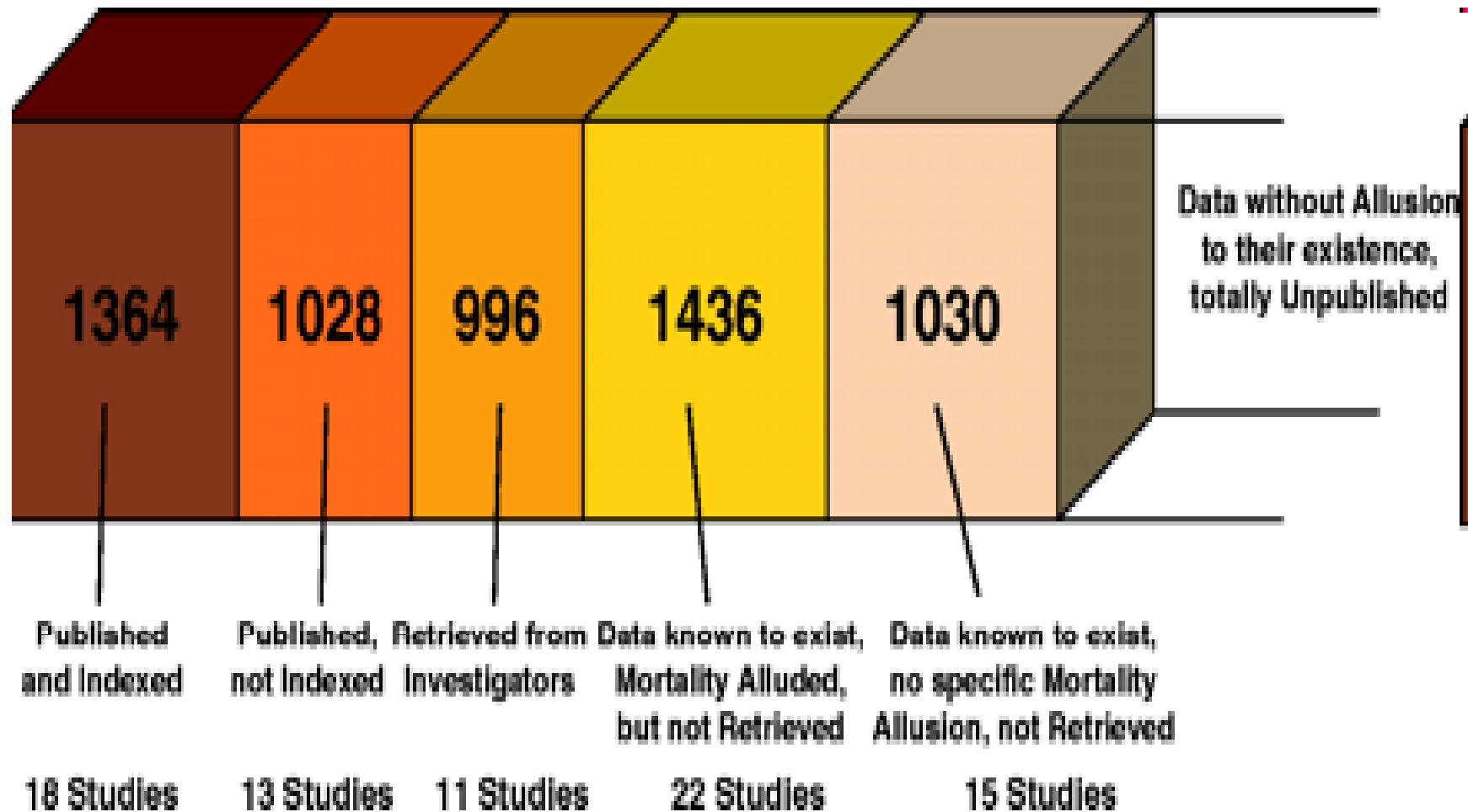


Articles on cancer prognostic markers published in 2005  
(Database 2, N=1575)

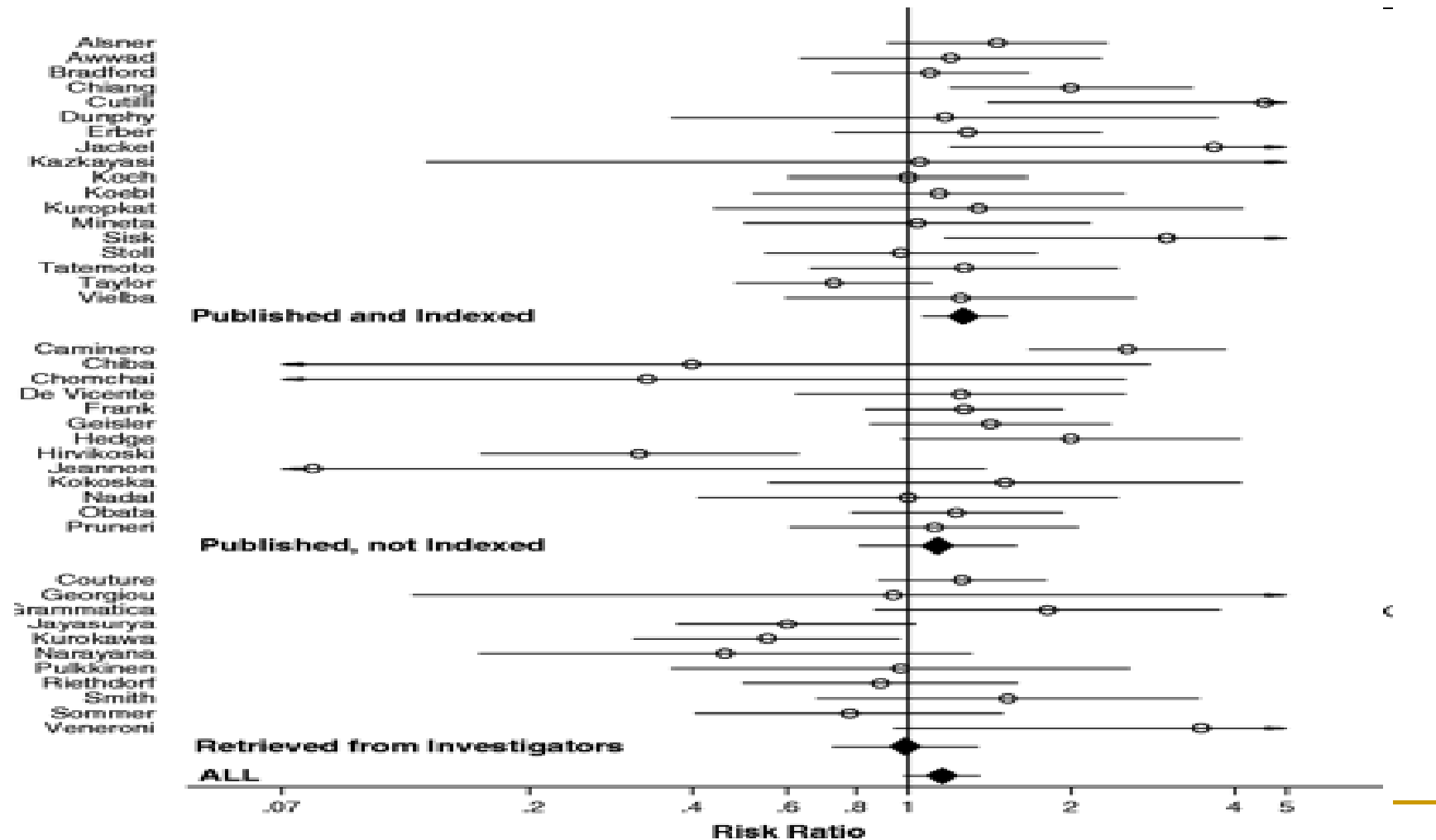


- Positive articles on prognostic markers
  - A: Based on presented p-value or CI
  - B: Based on "statistical(ly)" and/or "significantly"
  - C: Based on other language (confirmed in full text)
- Negative articles on prognostic markers

# Συστηματικό σφάλμα επιλεκτικής αναφοράς



# Συστηματικό σφάλμα επιλεκτικής αναφοράς



---

## Take home message

- Οι βιολογικοί δείκτες δεν μετρούν άμεσα το φαινόμενο που μας ενδιαφέρει, αλλά το εκπροσωπούν.
  - Κάθε αποτέλεσμα μιας εργαστηριακής εξέτασης εμπεριέχει ένα βαθμό αβεβαιότητας.
  - Στην συντριπτική τους πλειοψηφία, οι τιμές αναφοράς είναι πλημμελώς τεκμηριωμένες.
-

---

## Take home message

- Οι βιολογικοί δείκτες (θα) εμπλέκονται σε ένα πολύ μεγάλο ποσοστό των κλινικών αποφάσεων στην καθ' ημέρα πράξη.
  - Η τεχνολογία τροφοδοτεί με αυξανόμενο ρυθμό την 'κλινική' ιατρική με νέους βιολογικούς δείκτες με όλο και ευκολότερη πρόσβαση, σε όλο και μικρότερο κόστος.
  - Η επικύρωσή τους ως υποκαταστάτες δείκτες απαιτεί αυστηρά κριτήρια και μεθοδολογική ετοιμότητα.
-