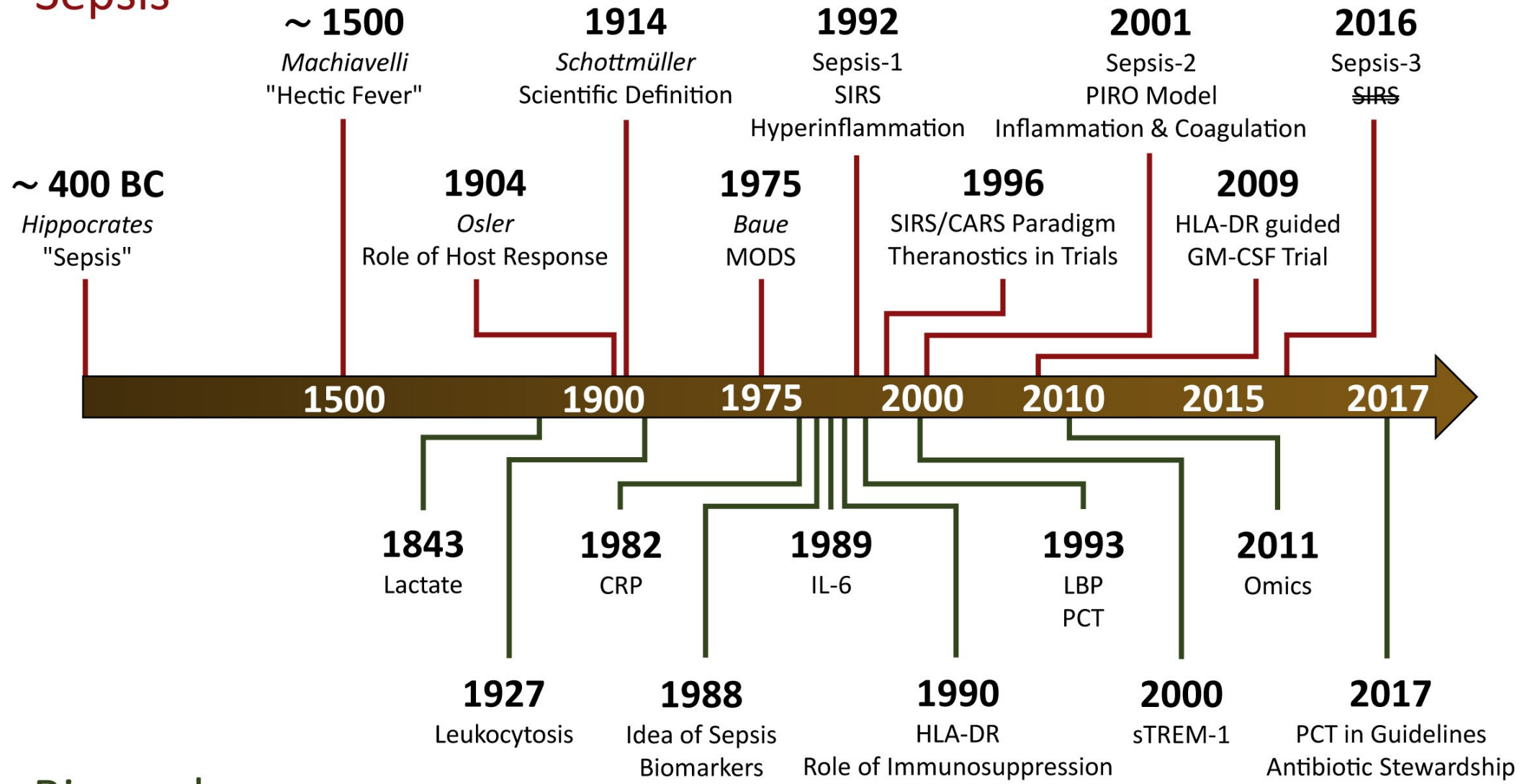


## **1. Úvod do kurzu. Definice, klasifikace a charakterizace biomarkerů.**

# Přehled

- Platformy a vývoj pro objevování biomarkerů
- Typy biomarkerů
- Fáze hodnocení biomarkerů
- Validace biomarkerů
- Návrhy studií pro studie biomarkerů
- Využití biomarkerů
- Limitace biomarkeru v klinických studiích

# Sepsis



# Biomarker

## 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](http://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

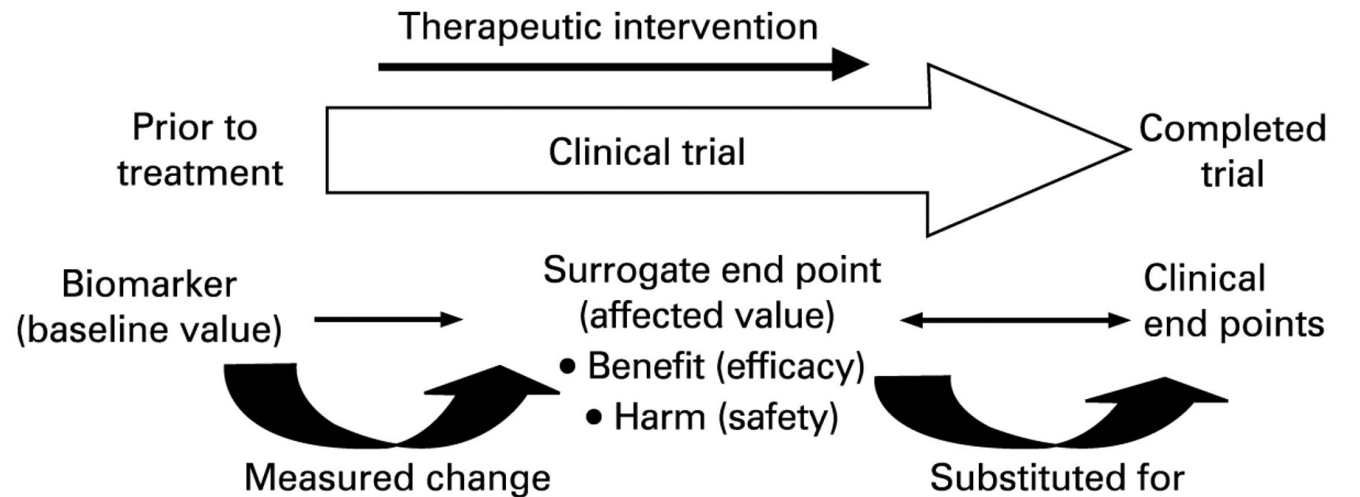
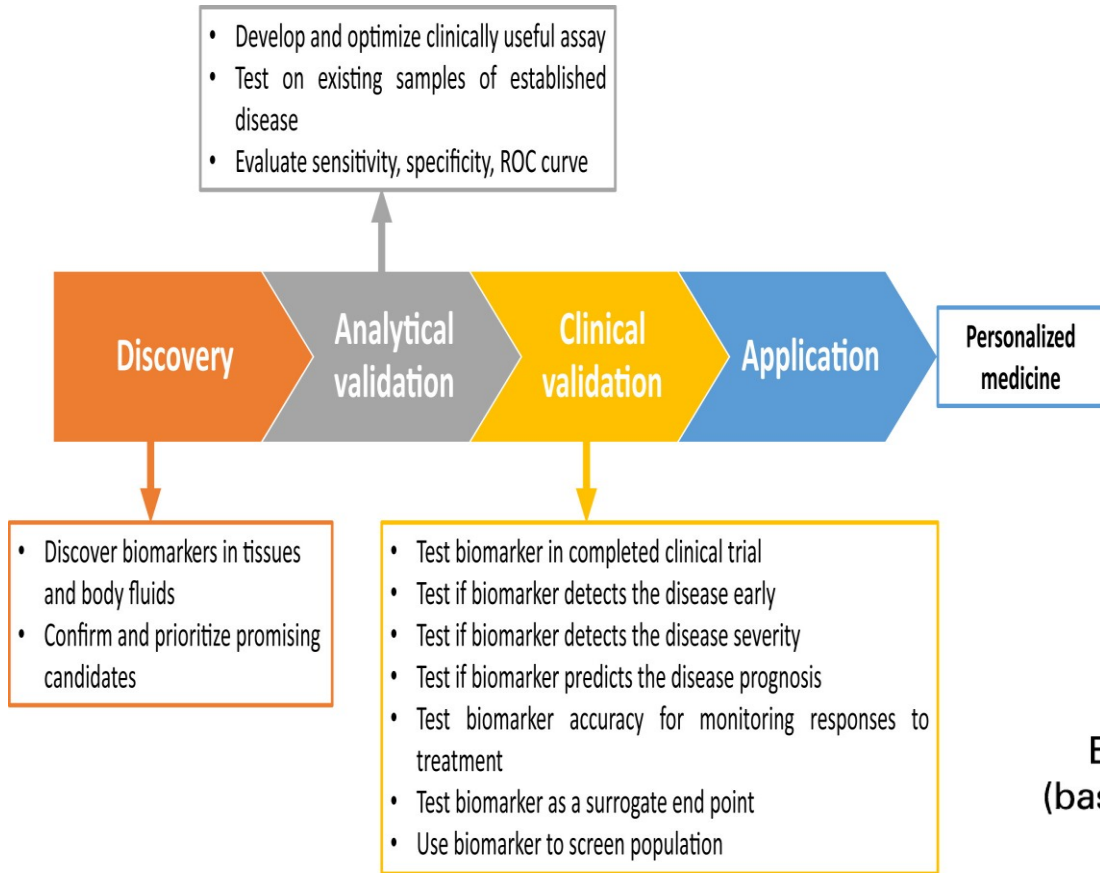


# Různé typ biomarkerů



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](http://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

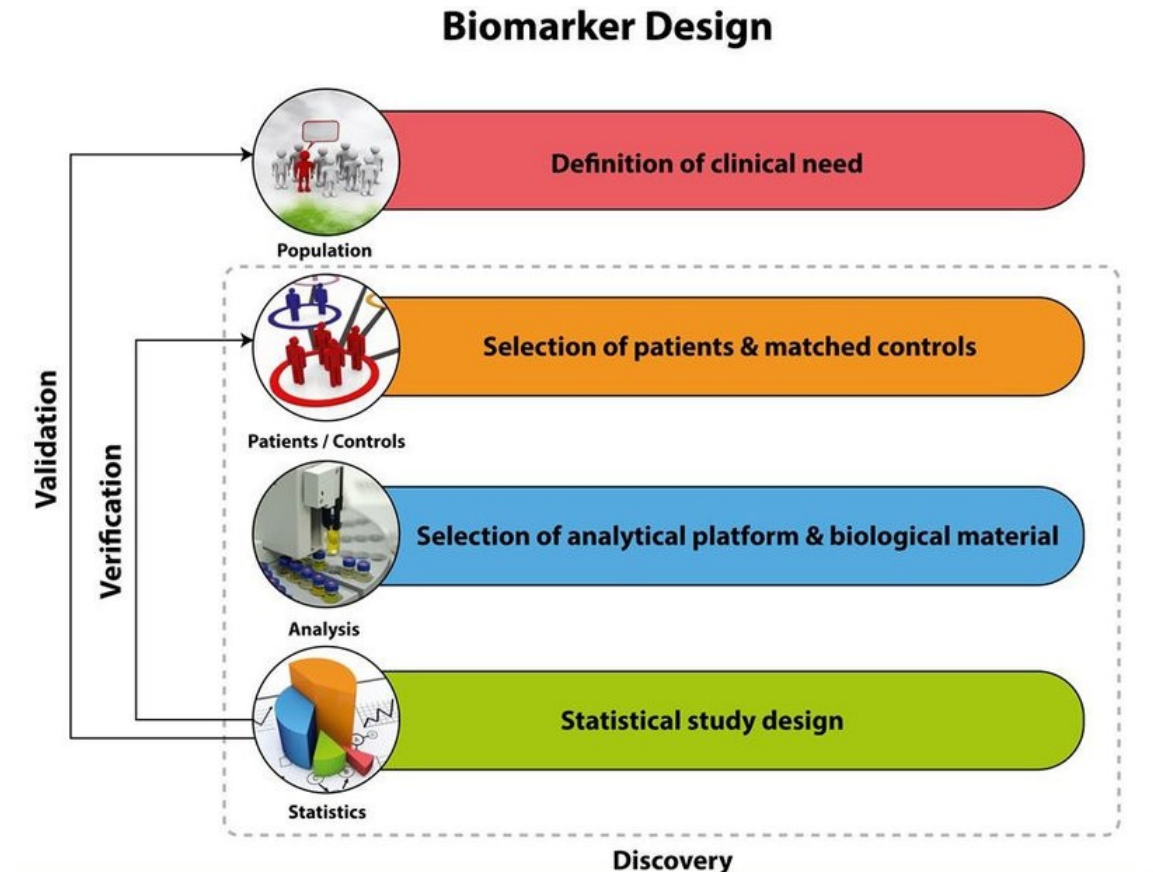
Typy biomarkerů

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.

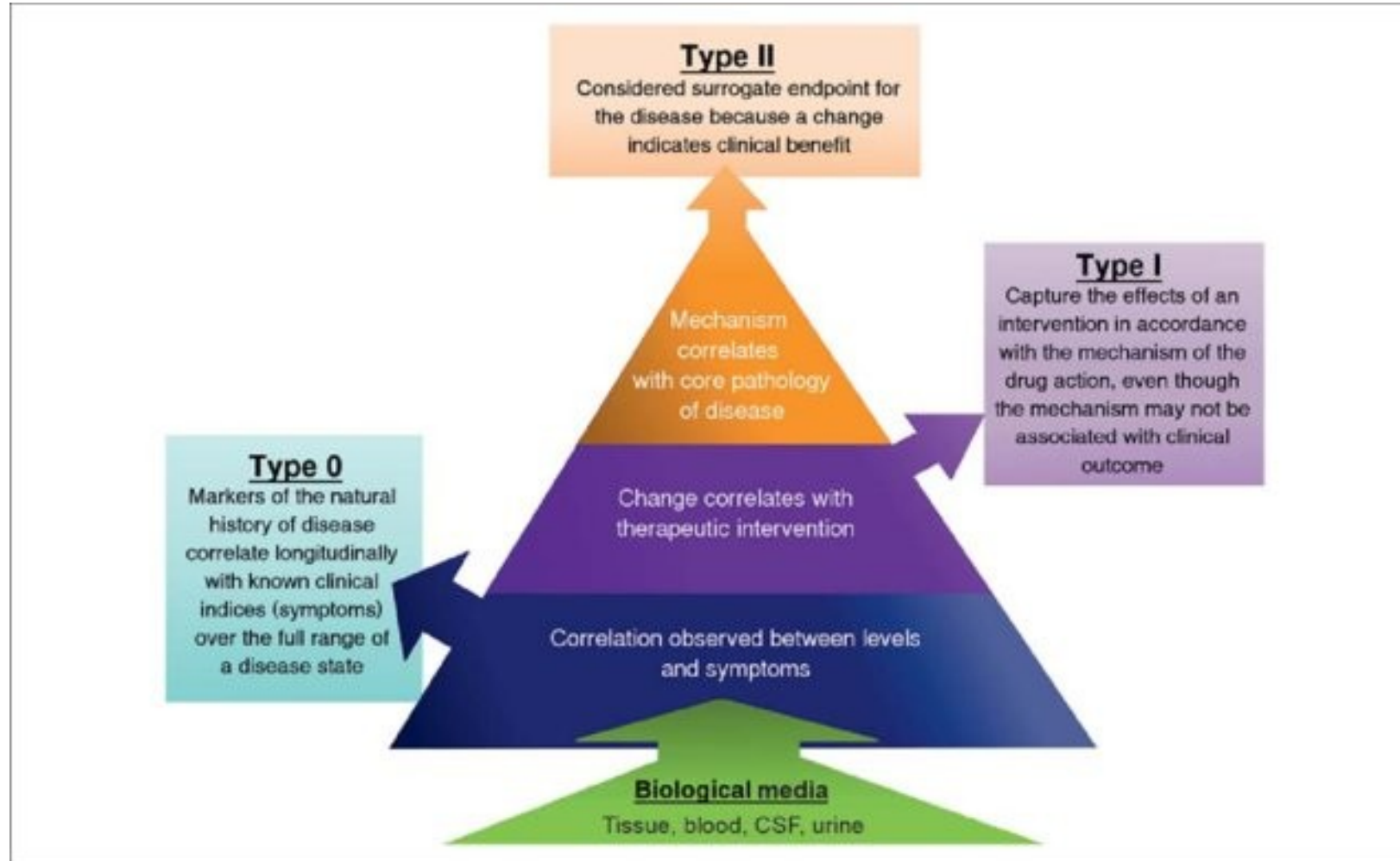
# Biomarker definice

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 body, protože změna tohoto markeru předpovídá klinický přínos. Příklad: LDL-C

# 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

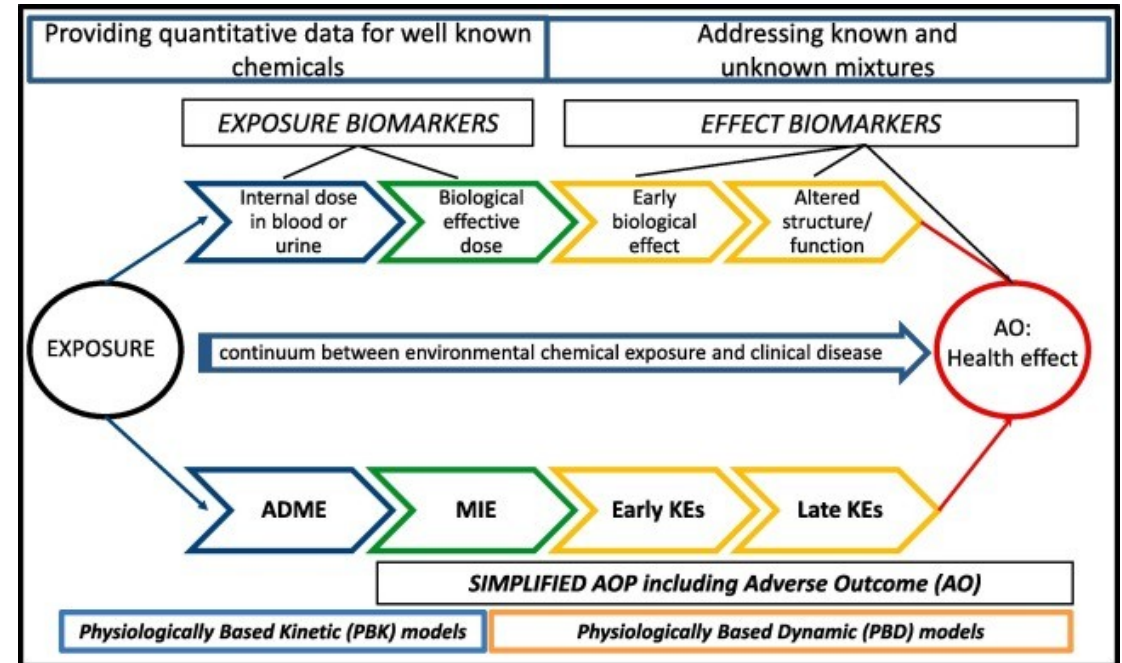
**Biomarkery typu 1** zachycují účinky intervence v souladu s MOA léku: HbA1C

**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. titer 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

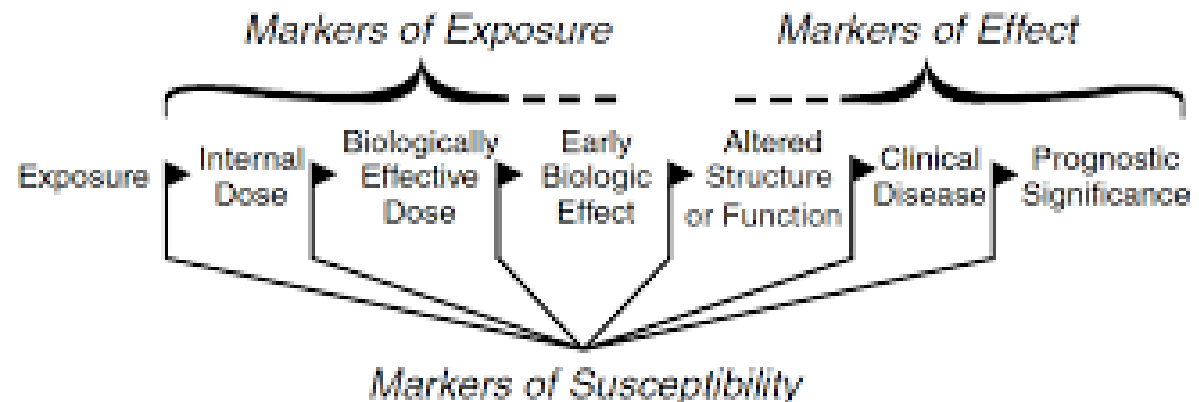


FIGURE 1-1 Simplified flow chart of classes of biomarkers. Source: NRC 1987.

# 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.

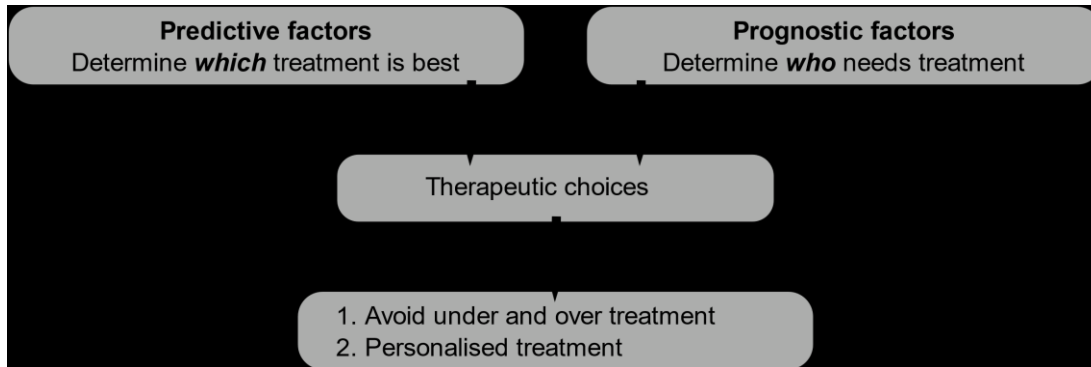
Podobně CA-125, stanovený rovněž z krve, se používá v diagnostice ovariálního karcinomu, v hodnocení odpovědi na léčbu i záchytu rekurence.

# 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).

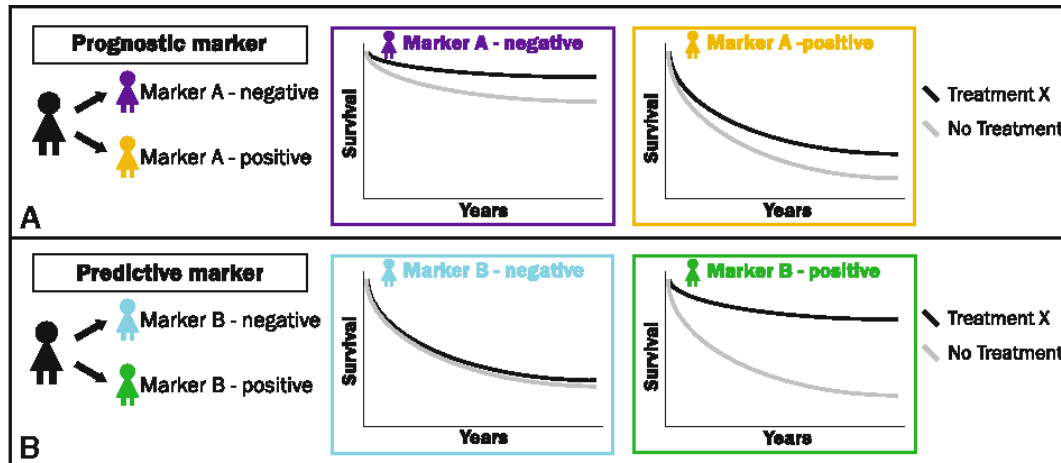
# Prognostické a prediktivní biomarkery



## 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 estrogeních 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

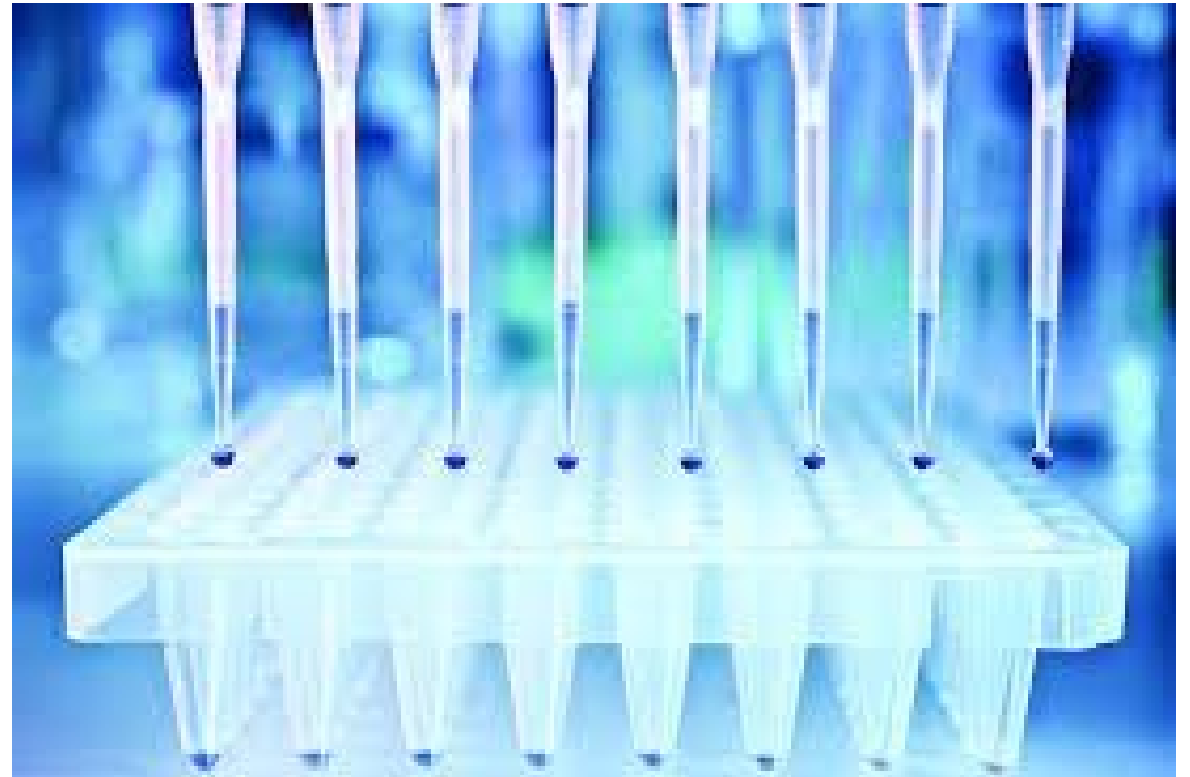
U každého biomarkeru je možné hodnotit více charakteristik, mezi ty nejvýznamnější patří charakteristiky v **ACCE systému (ACCE Model System – analytic validity, clinical validity, clinical utility and ethical, legal and social implication)**, tedy **analytická validita, klinická validita, klinická užitečnost**.

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 a negativní kontrolní vzorky, které jsou definovány konsenzuálně (může jít např. o čistou vodu) nebo použitím tzv. „zlatého standardu“

## Validní biomarker

*FDA Pharmacogenomics guidance*

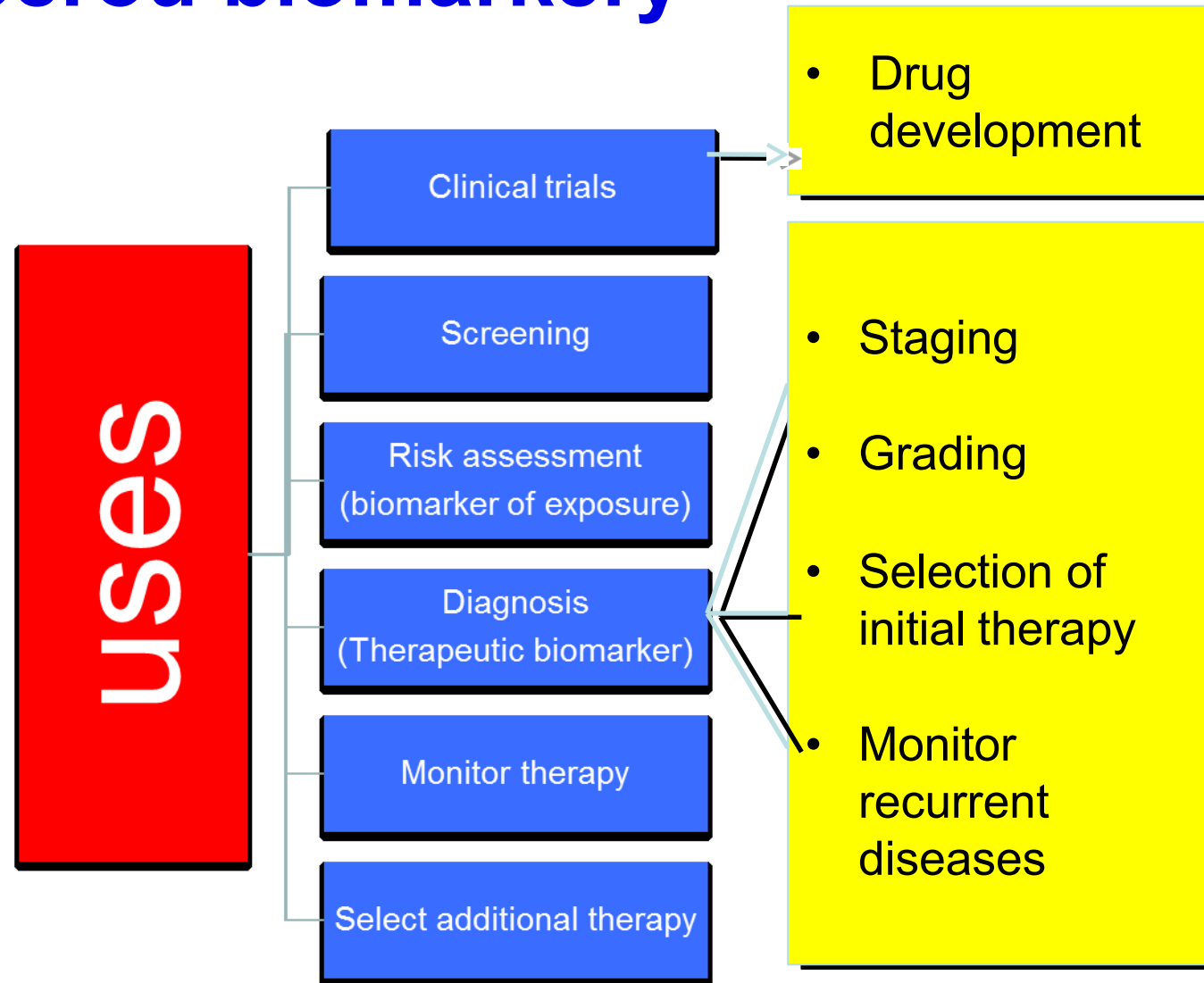
„biomarker, který je měřen v analytickém testovacím systému s dobře zavedenými výkonnostními charakteristikami a pro který existuje zavedený vědecký rámec nebo soubor důkazů, které objasňují fyziologický, toxikologický, farmakologický nebo klinický význam výsledku testu.“



# 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

# 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 směr 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



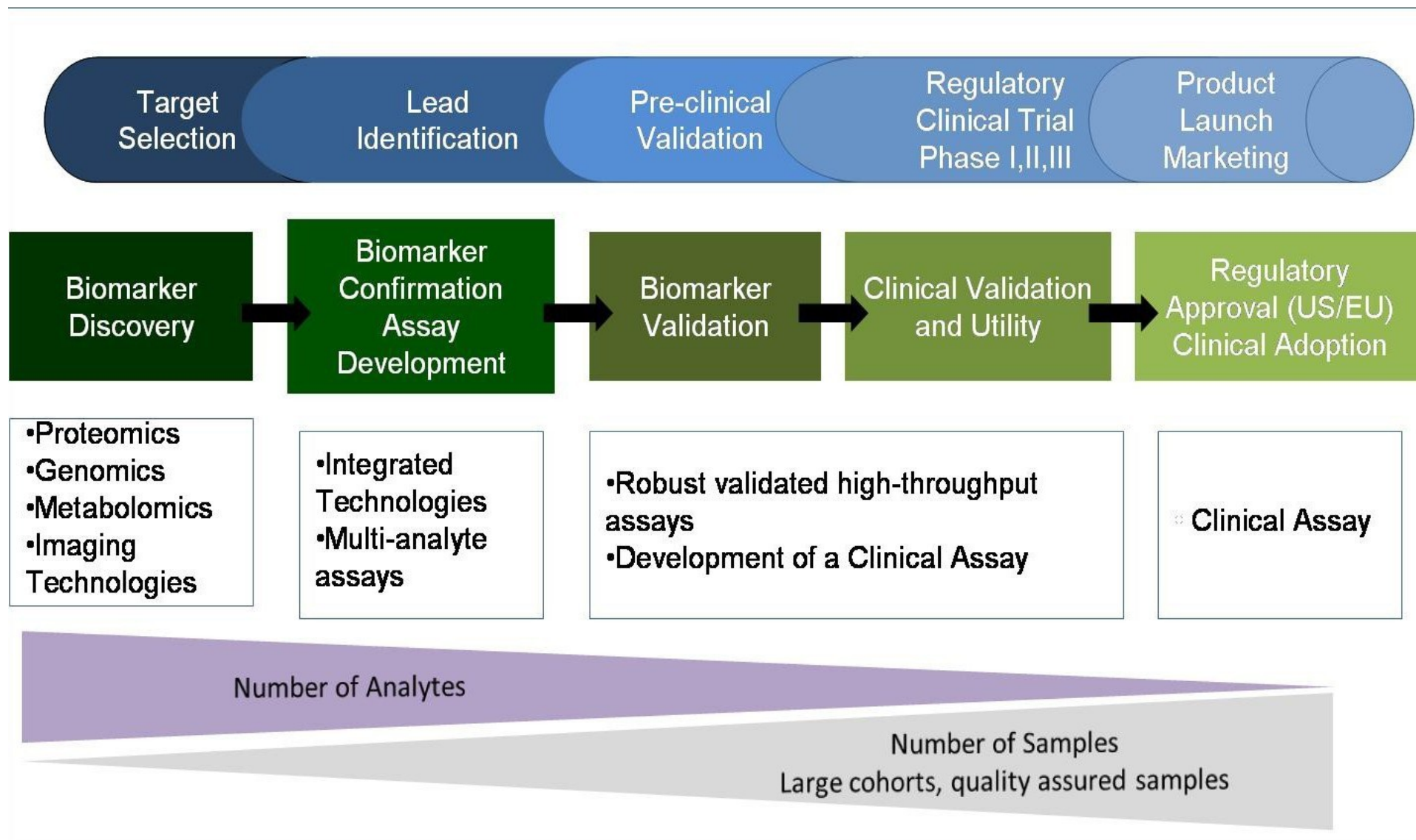
Každé anatomické místo má svůj vlastní histologický systém hodnocení, např. screeningové mamografie, počítačové tomografie (CT) a standardní rentgenové filmy



**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 biomarkerů



## Technologie pro identifikaci nových biomarkerů

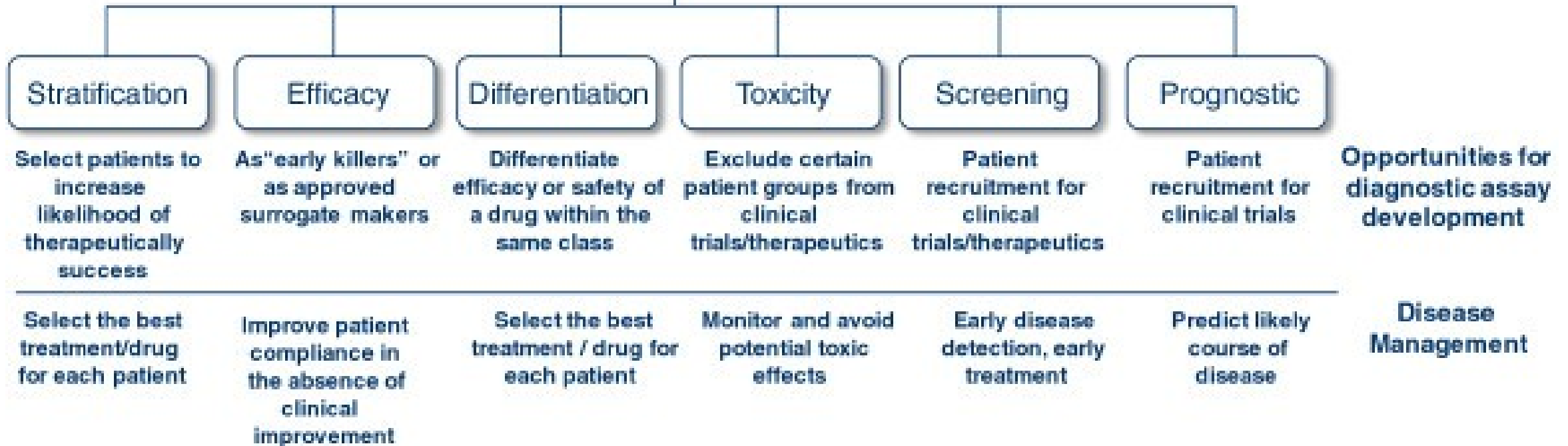
Další technologie -  
Fluorescenční markery  
Laboratoř na čipu  
Nukleární magnetická rezonance  
Hmotnostní  
spektrometrie/kapalinová  
chromatografie  
Nanobiotechnologie  
Zobrazování

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

