

**P2/0290 Použití biomarkerů v diagnostice, terapii a pro odhad prognózy pacienta, biomarkery vybraných onemocnění**

# Biomarker: kategorie

**Biomarker vnímavosti/rizika (rizikový faktor):** Biomarker, který ukazuje potenciál pro rozvoj onemocnění nebo zdravotního stavu u jedince, který v současné době nemá klinicky zjevné onemocnění nebo zdravotní stav.

**Diagnostický biomarker (diagnostický):** Biomarker používaný k detekci nebo potvrzení přítomnosti onemocnění nebo stavu, který je předmětem zájmu, nebo k identifikaci jedinců s podtypem onemocnění.

**Monitorovací biomarker (staging):** Biomarker měřený sériově pro hodnocení stavu onemocnění nebo zdravotního stavu nebo pro důkaz expozice (nebo účinku) lékařského produktu nebo činitele životního prostředí.

**Farmakodynamický biomarker/biomarker odezvy (náhradní koncový bod):** Biomarker používaný k prokázání, že biologická odpověď nastala u jedince, který byl vystaven léčivému přípravku nebo environmentálnímu faktoru

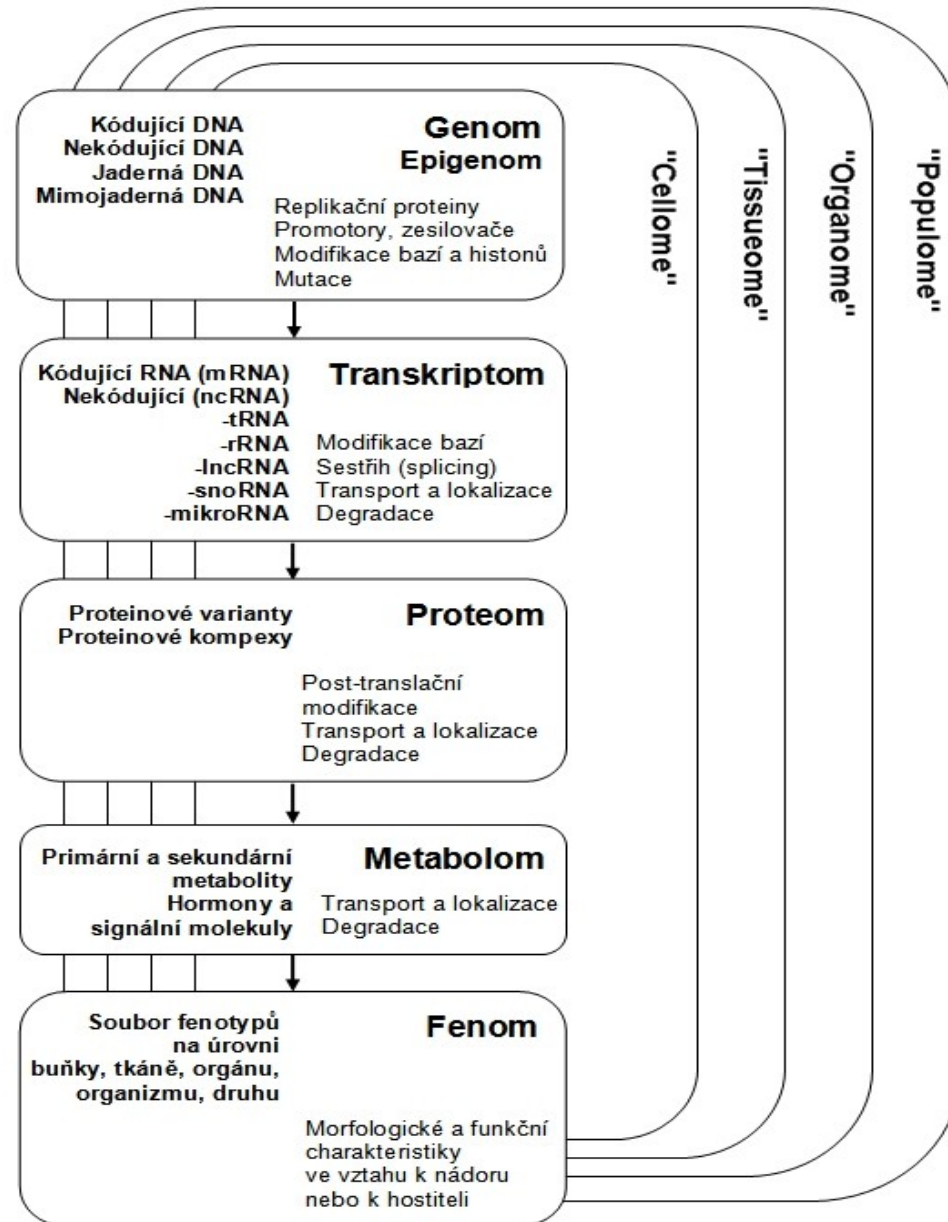
# Biomarker

Nový a nápaditý název pro biologický parametr...

Biomarker: objektivně měřená veličina, která slouží k informování nebo indikaci základního biologického procesu. Biomarker může indikovat nějaký normální proces, patologický stav nebo terapeutickou odpověď.

Podle **charakteru** můžeme biomarkery rozdělit na dvě hlavní skupiny: biomarkery molekulární a klasické. **Molekulární biomarkery** představují látky a biomolekuly utvářející genom, epigenom, transkriptom, proteom nebo metabolom a na základě toho mohou být dále klasifikovány (např. nukleové kyseliny, proteiny, hormony, atd.). Ostatní biomarkery tvoří skupinu **klasických biomarkerů**. Jedná se o morfologické a funkční charakteristiky fenomu (např. velikost, histologie a grading nádoru, přítomnost invaze, mitózy, metastázy; B-symptomy, výsledky funkčních zobrazovacích vyšetření; věk, pohlaví, komorbidity pacienta atd.)

# Kategorizace biomarkerů



Zdroj: Prof. Marek Svoboda

# Biomarkery dle funkce

Typ	Charakteristika	Použití
<b>Biomarkery rizika</b>	Biomarkery predikující vznik onemocnění u dosud zdravého jedince.	Identifikace osob/populací s genetickou predispozicí ke vzniku nádorových onemocnění. Identifikace osob/populací exponovaných fyzikálním, chemickým a biologickým karcinogenům.
<b>Diagnostické biomarkery</b>	Biomarkery asociované s přítomností onemocnění a/nebo jeho rozsahem a/nebo jeho klasifikací.	Diagnostika a staging nádorového onemocnění. Diagnostika minimální reziduální choroby a její monitorování. Diagnostika a monitorování nežádoucích účinků léčby. Vývoj cílených léčiv.
<b>Prognostické biomarkery</b>	Biomarkery asociované s parametry přežití.	Stanovení prognózy pacienta ve vztahu k nádorovému onemocnění nebo ke komplikacím léčby.
<b>Prediktivní biomarkery</b>	Biomarkery predikující odpověď onemocnění na léčbu, metabolismus a toxicitu léčiv.	Predikce účinnosti konkrétního léčiva. Predikce odpovědi nádoru na léčbu. Predikce toxicity léčby.

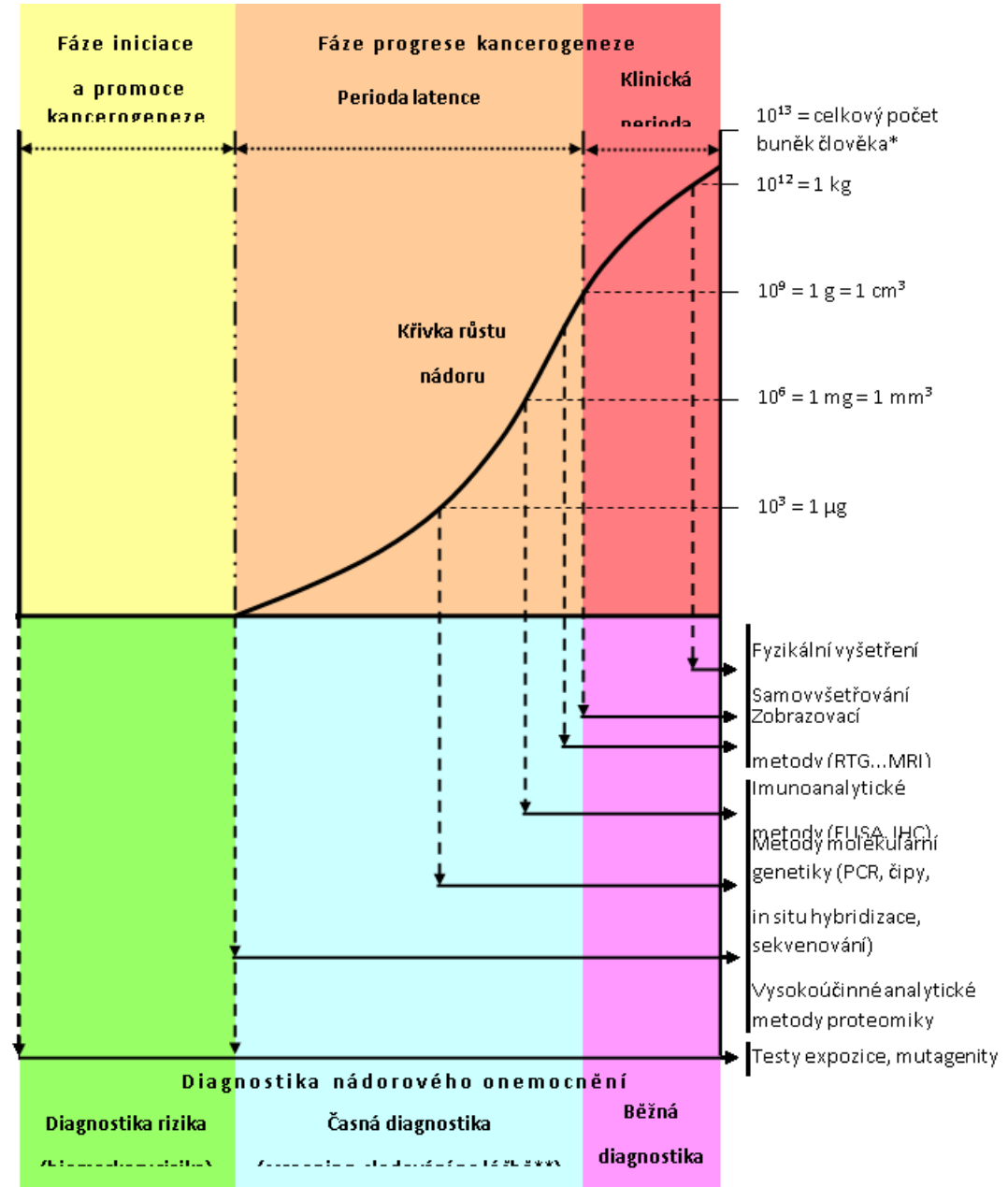
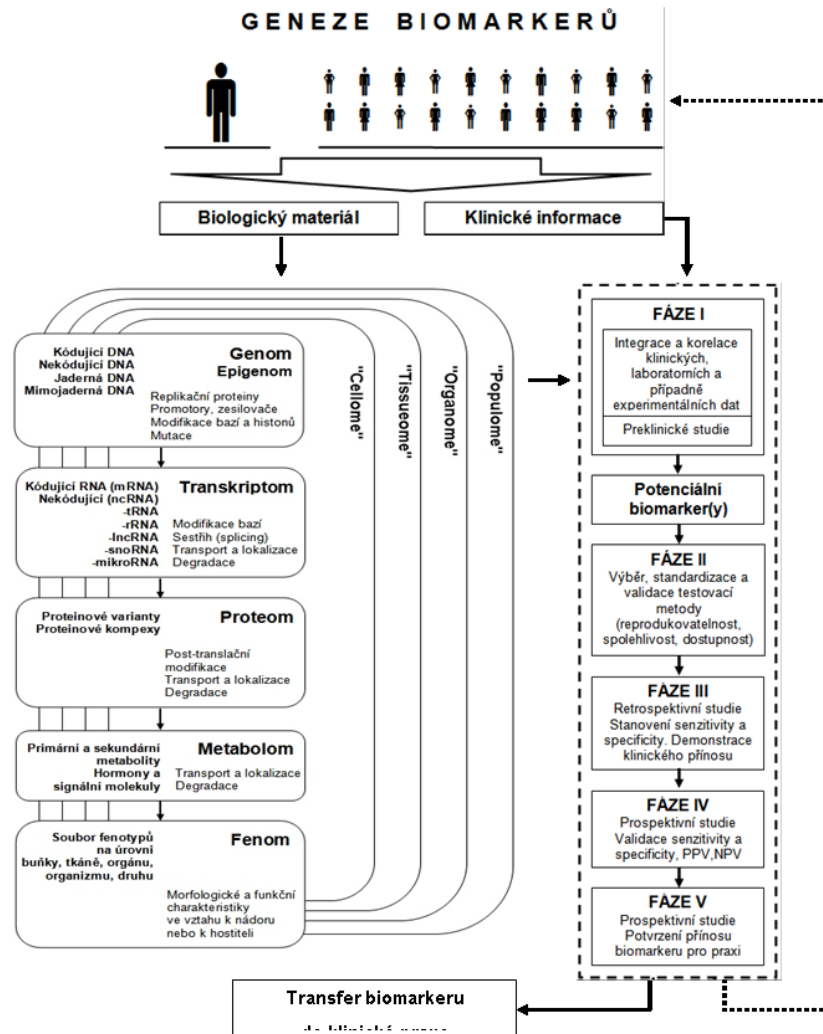
# Biomarkery - Kategorie

Dva typy biomarkerů zájmu pro vývoj léčiv:

**Prognostický biomarker (prognóza onemocnění):** Biomarker používaný k identifikaci pravděpodobnosti klinické příhody, recidivy nebo progresu onemocnění u pacientů, kteří mají nemoc nebo zdravotní stav, který je předmětem zájmu.

**Prediktivní biomarker (prediktivní odpověď na léčbu):** Biomarker používaný k identifikaci jedinců, u nichž je vyšší pravděpodobnost než u podobných jedinců bez biomarkeru, že zaznamenají příznivý nebo nepříznivý účinek expozice léčivému produktu nebo činiteli životního prostředí.

# Vývoj biomarkerů



Zdroj: Prof. Marek Svoboda

# Senzitivita – pozitivní u onemocnění

- Senzitivita je schopnost testu správně klasifikovat jedince jako „nemocného“
- Senzitivita =  $a / a+c$
- • =  $a$  (skutečně pozitivní) /  $a+c$  (skutečně pozitivní + falešně negativní)
- • = Pravděpodobnost pozitivního testu, když je přítomna nemoc.



# Specificita – negativní u zdravého

- Schopnost testu správně klasifikovat jedince jako jedince bez onemocnění se nazývá specifická testu.
- $\text{Specificita} = d / b+d$
- $d$  = d (skutečně negativní) /  $b+d$  (skutečně negativní + falešně pozitivní)
- $d$  = Pravděpodobnost negativního testu, pokud onemocnění chybí.

# Pozitivní prediktivní hodnota (PPV)

- Je to procento pacientů s pozitivním testem, kteří skutečně mají nemoc.
- $PPV = a / a+b$
- $a$  (skutečně pozitivní) /  $a+b$  (skutečně pozitivní + falešně pozitivní)
- = Pravděpodobnost (pacient trpící onemocněním, když je test pozitivní)

# Negativní prediktivní hodnota (NPV)

- Je to procento pacientů s negativním testem, kteří tuto nemoc nemají.
- $NPV = d / (c + d)$
- • =  $d$  (skutečně negativní) /  $c + d$  (falešně negativní + skutečně negativní)
- • = Pravděpodobnost (pacient nemá nemoc, když je test negativní)

	Disease present	Disease absent	
Test positive	a	b	Total test positive (a+b)
Test negative	c	d	Total test negative (c+d)
	Total disease present (a+c)	Total normal (b+d)	

Sensitivity=  $a/a+c$

Specificity=  $d/b+d$

Positive predictive value=  $a/a+b$

Negative predictive value=  $d/c+d$

# Strategie pro vývoj biomarkerů

Existují (obecně řečeno) 3 typy klinických strategií k provedení klinického vývoje kolem biomarkeru:

- 1) Klasické paralelní kontrolované klinické studie s různými možnostmi vč. podskupina pacientů BM+ (viz prezentace analýza podskupin)  
podskupina může být průzkumná NEBO inferenční
- 2) Hodnocení typu „deštník“
- 3) Hodnocení typu „košík“

# Diagnostické biomarkery

Diagnostické biomarkery jsou biomarkery asociované s přítomností onemocnění a/nebo jeho rozsahem a/nebo jeho klasifikací. V onkologii se uplatňují především

**v diagnostice a stagingu nádorových onemocnění a v diagnostice a monitorování minimální reziduální choroby a nežádoucích účinků léčby.** Jejich význam narůstá v souvislosti s **vývojem cílené protinádorové léčby**, pro kterou je nádorově specifická molekulární struktura ideálním terčem, a dále s příchodem nových technologií, jejichž vysoká citlivost a rozlišovací schopnost umožňují detekovat až stopová množství molekulárních biomarkerů, případně stanovit jejich jednotlivé molekuly. Toho lze využít pro časnou diagnostiku nádorů.

# Diagnostický biomarker

Je žádoucí, aby diagnostický biomarker dosahoval co **nejvyšší senzitivity a specificity**. Bohužel, kromě strukturních chromozomových aberací, genových mutací a charakteristických přestaveb genů pro imunoglobuliny není naprostá většina dosud identifikovaných diagnostických molekulárních biomarkerů 100% specifická pouze pro nádorovou tkáň/nádorovou buňku. V případě, že potenciální diagnostický molekulární biomarker může být detekovatelný i ve zdravé tkáni nebo za jiných patologických stavů, přichází jeho použití za účelem časně detekce nádorů v úvahu pouze tehdy, pokud testovací metody nebo jejich kombinace s relativně nenákladným a nezatěžujícím klinickým vyšetřením dokážou poskytnout výsledky s vysokou pozitivní prediktivní hodnotou. V opačném případě bychom zbytečně zatěžovali jak testované jedince, tak zdravotní systém, neboť vysoká falešná pozitivita testu by vedla k dalším vyšetřovacím metodám i u zdravých jedinců. Podobně vysoká falešná negativita testu by zvyšovala náklady na léčbu pokročilých stadií a ve svém důsledku by vedla ke ztrátě důvěry odborné i laické veřejnosti k programům časněho zachytu nádorů, které by na detekci molekulárních biomarkerů byly založené

# Ultimativní definice diagnostického biomarkeru

Diagnostický biomarker detekuje nebo potvrzuje přítomnost onemocnění nebo stavu, který nás zajímá, nebo identifikuje jedince s podtypem onemocnění



# Diagnostické biomarkery

Příkladem vhodným pro ilustraci složitosti uvedené situace je testování biomarkeru PSA za účelem časně detekce karcinomu prostaty. Ze 100 testovaných mužů ve věku nad 50 let bude zvýšená hodnota PSA ( $> 4,0$ ) detekována u 10, z nichž pouze u tří bude biopticky prokázán karcinom prostaty, u ostatních bude zjištěna jiná příčina (nejčastěji benigní hyperplazie). U zbývajících 90 jedinců s normální hladinou PSA se u 1 až 2 v budoucnosti rozvine život ohrožující karcinom prostaty. Přitom ze 100 pacientů s karcinomem prostaty je zvýšená hodnota PSA detekována u 70 z nich. Z výše uvedených čísel vyplývá, že **pozitivní prediktivní hodnota testu (PPV)** činí 30 %, senzitivita 70 % a **negativní prediktivní hodnota (NPV)** je přibližně 98 %. Většina mužů tak biopsii prostaty podstoupí zbytečně. Přitom za nepodkročitelné, klinicky akceptovatelné minimum PPV biomarkeru je považováno 10 % (alespoň jedna z 10 biopsií prokáže malignitu), případně senzitivita a specificita 80 % a vyšší (13,24,41). Hodnota PPV může významně narůst v případě, že se testování omezí na populaci s vyšším rizikem. Jako příklad může posloužit měření biomarkeru CA-125 a současné provádění transvaginální ultrasonografie u nosiček mutace v BRCA1 nebo BRCA2 genu. Pokud budeme v budoucnosti schopni identifikovat jedince s vyšším rizikem vzniku nádorů, můžeme v těchto populacích využít i biomarkery s nižší PPV

# Cílená léčba

Cílem precizní medicíny je dosažení co nejlepšího možného klinického výsledku za současné redukce poškození zdravých, nenádorových buněk, a vyžaduje tedy přizpůsobení léčby jednotlivci a jeho onkologickému onemocnění na základě jedinečných molekulárních vlastností. Již nyní terapii indikovanou podle histologie nádoru a jeho stadia často upravujeme na základě stanovení některého z ověřených biomarkerů, precizní medicína však jde v charakterizaci nádoru ještě dál.

K přesnějšímu výběru pacientů, kteří budou mít z konkrétní léčby největší benefit, jsou k dispozici čím dál sofistikovanější nástroje. Sekvenování jednotlivých genů či genomu se již provádí i v některých českých onkologických centrech, a to především tam, kde existuje úzká vazba na akademické prostředí (např. v Brně). Americký Úřad pro kontrolu léků a potravin (FDA) dosud schválil použití více než 40 doplňkových diagnostických testů. Komplexní test pro genomové profilování je mezi nimi ovšem zatím pouze jeden – FoundationOne® CDx.

# Klinické studie – nový design

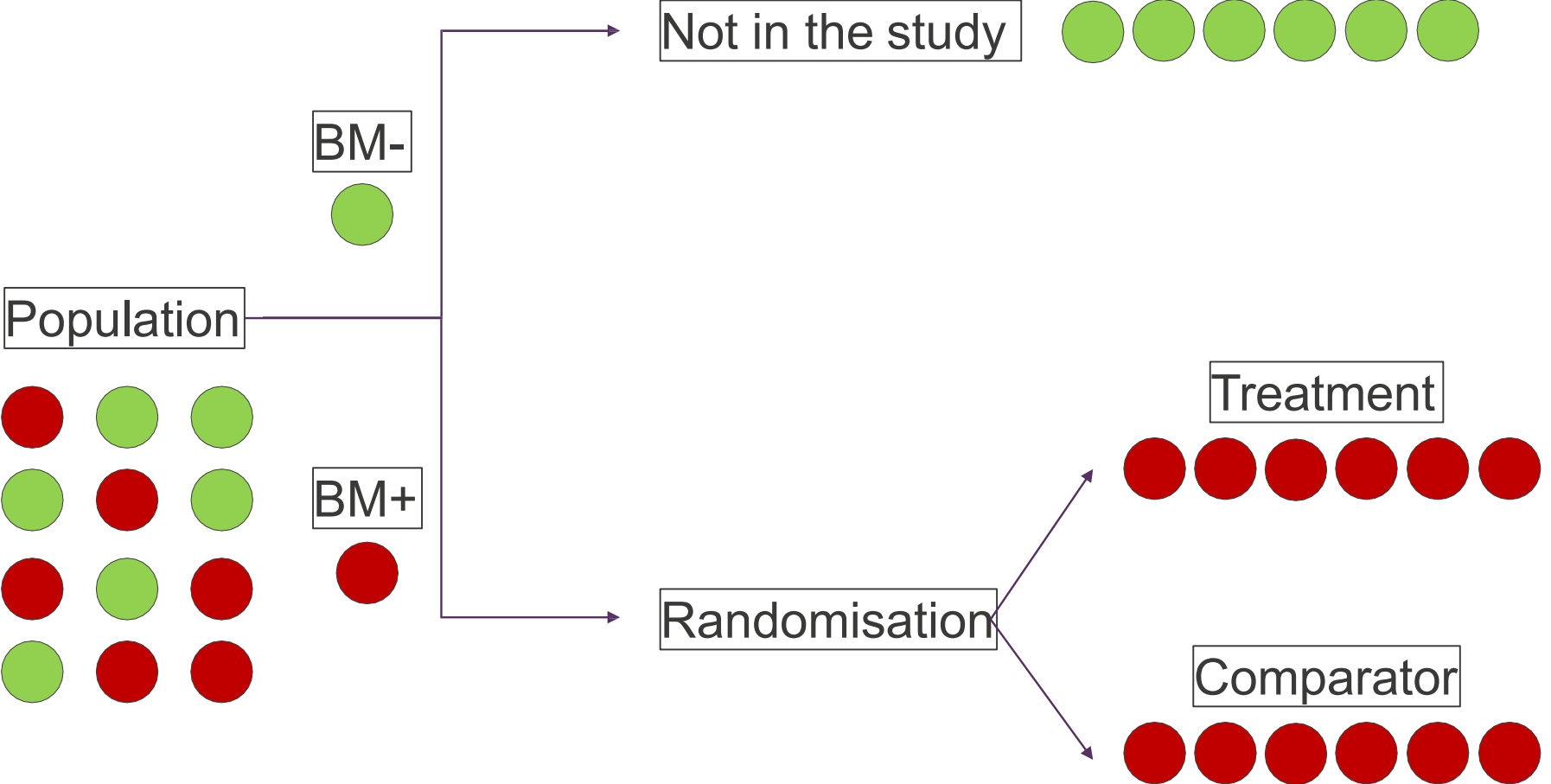
## Úskalí standardních klinických studií

Standardní postup předregistračních klinických hodnocení fází I, II a III s využitím zavedených designů a běžných cílových parametrů je pro ověřování účinnosti a bezpečnosti vysoce individualizované léčby nedostačující. Problematický může být dostatečný nábor pacientů, variabilita molekulárního profilu nádoru v průběhu léčby, ale i prostý fakt, že ne všechny mutace významné pro růst a přežívání nádorových buněk jsou známy.

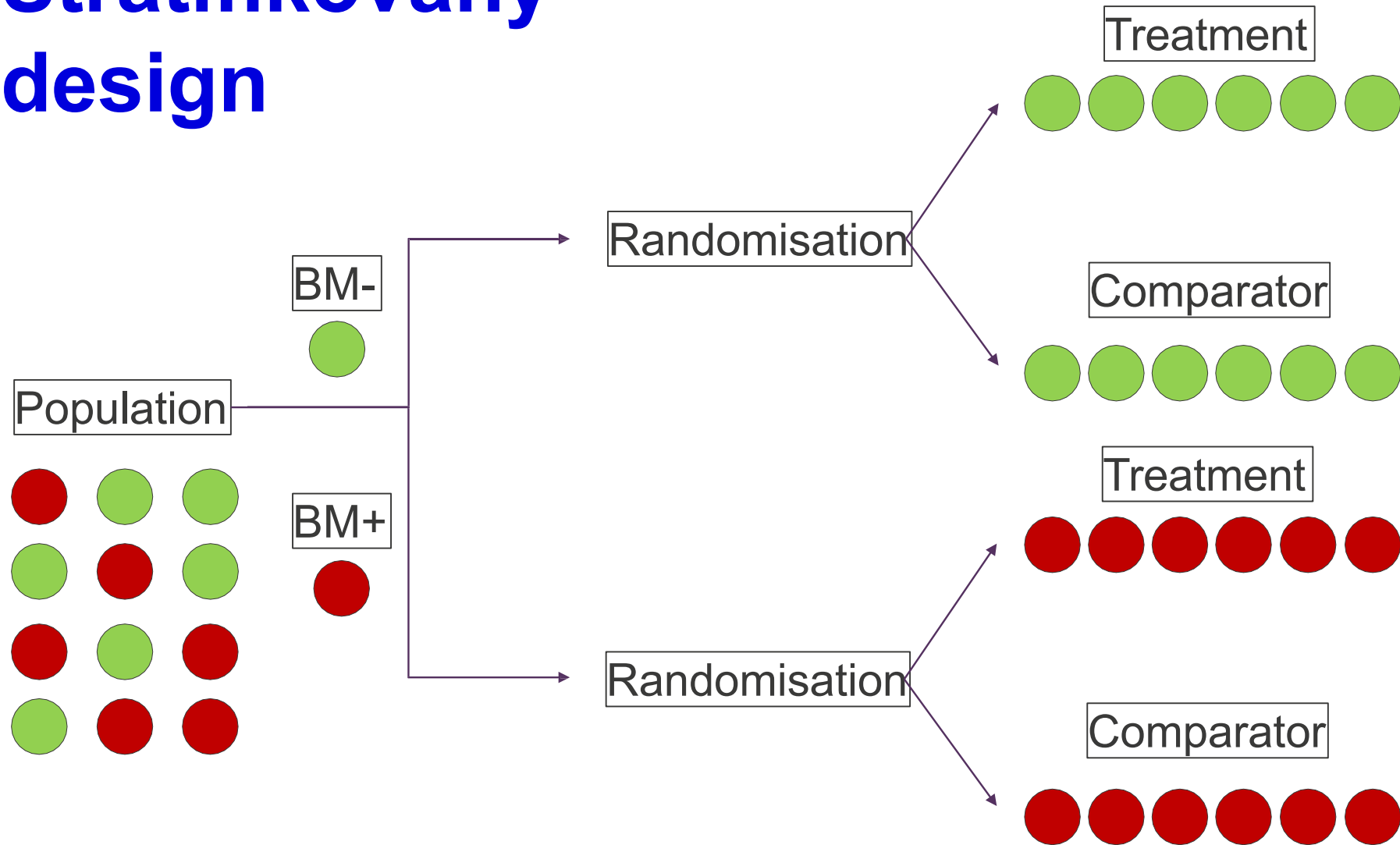
## Nové přístupy k designu klinických studií

V posledních 10 letech proto byly navrženy nové designy klinických studií, které již počítají se vyšetřením většího množství biomarkerů i s inter- a intraindividuální variabilitou molekulárního profilu nádorového onemocnění. V rámci jednoho protokolu klinické studie může být sdruženo až několik desítek podstudií, jež se mohou výrazně lišit v charakteristikách zařazené populace i ve způsobu léčby, který se navíc může měnit v průběhu studie.

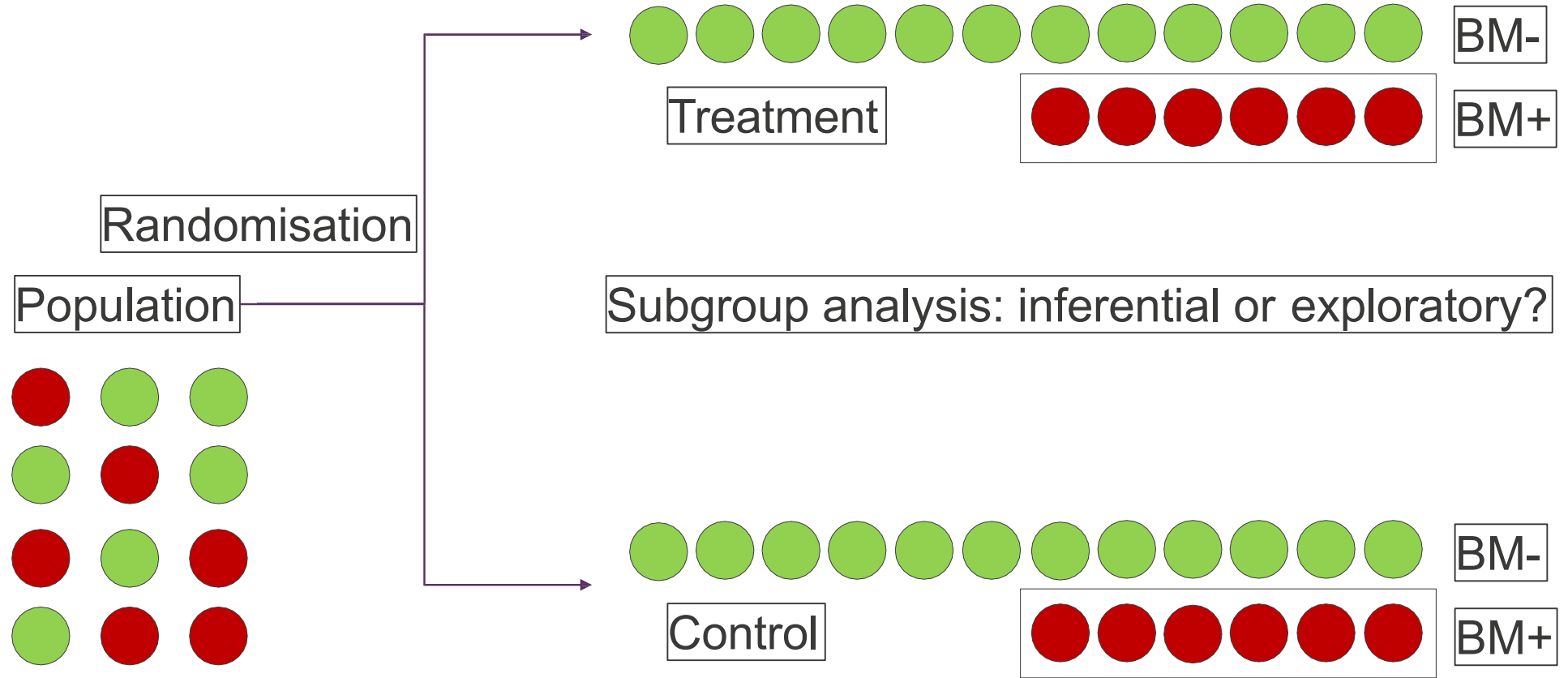
# Design pro enrichment biomarkerů



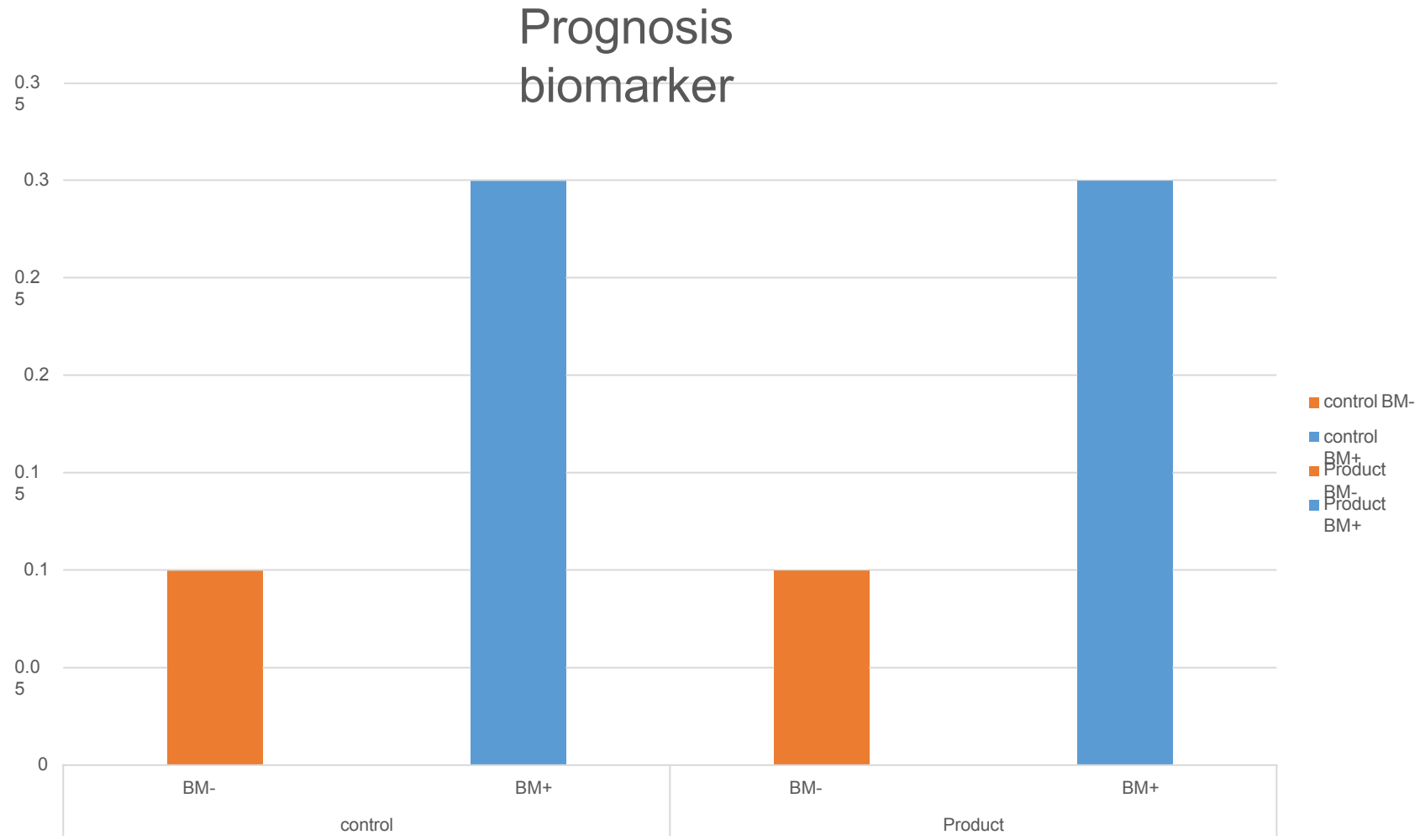
# Stratifikovaný design



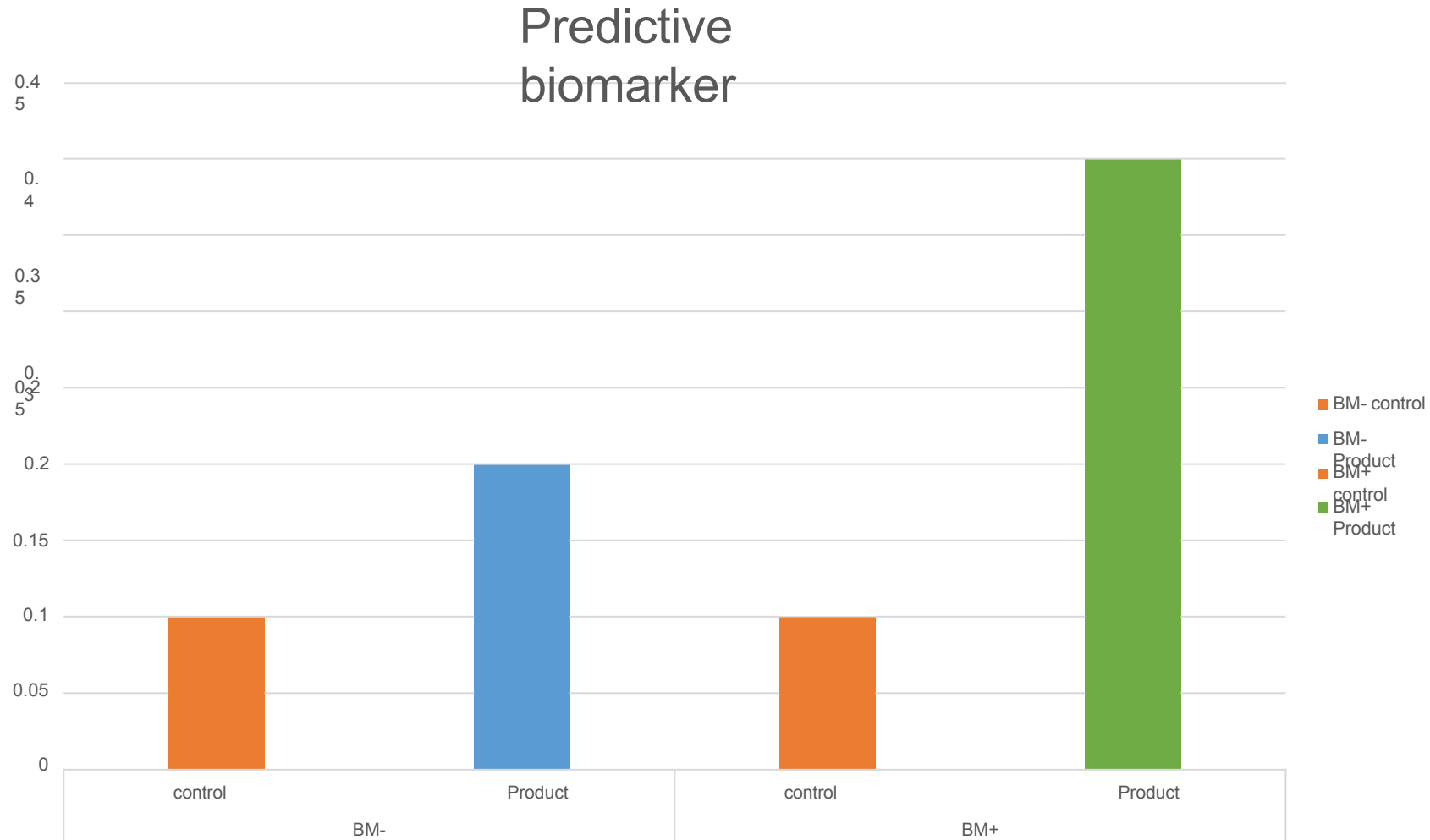
# Stratifikovaný design



# Stratifikovaný design



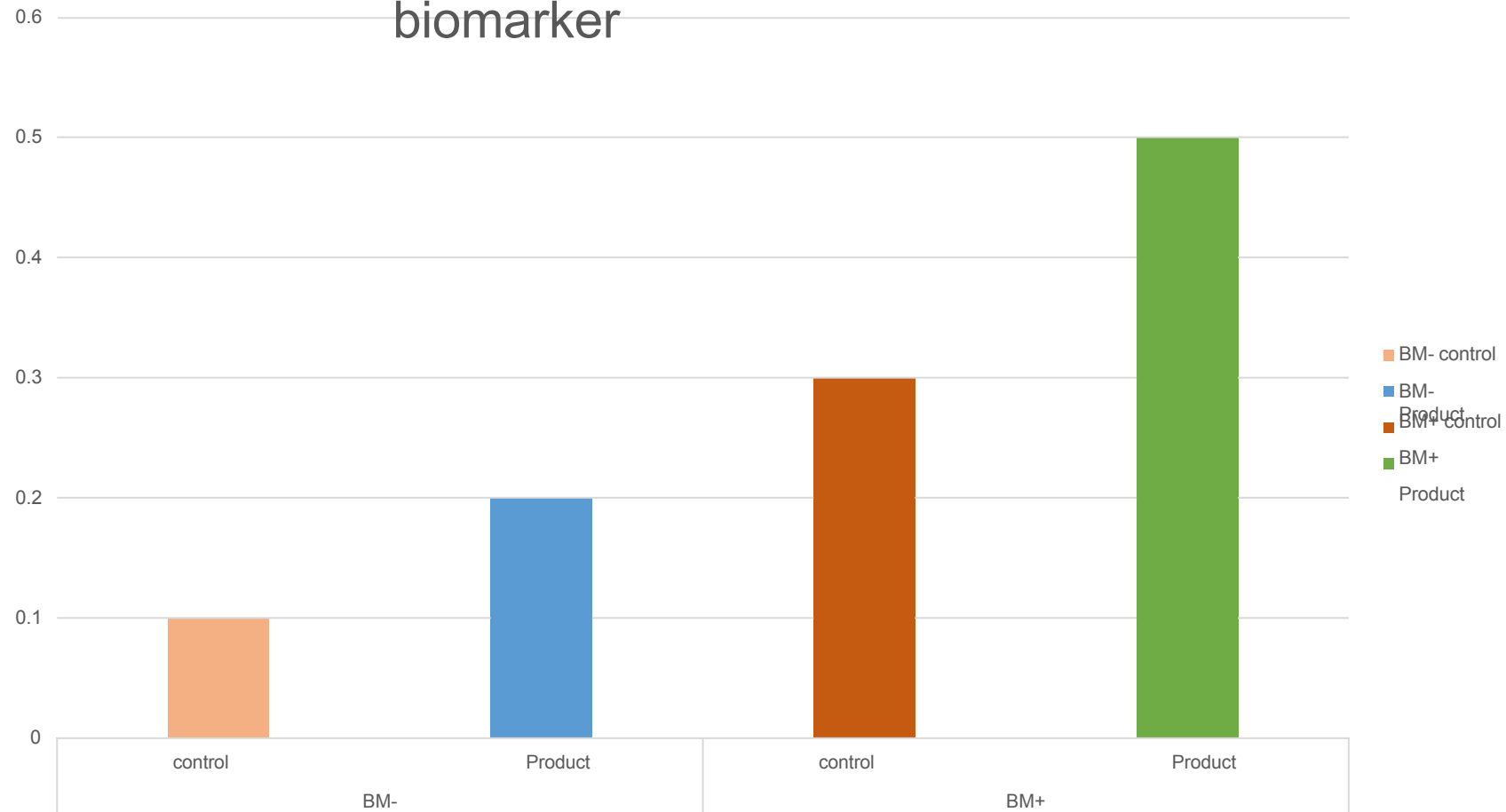
# Stratifikovaný design





# Stratifikovaný design

Prognosis and predictive biomarker



# Velká otázka...

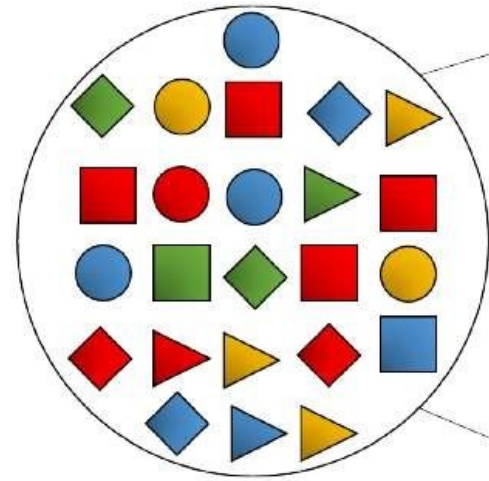
Jaká bude požadovaná indikace?

V celé populaci

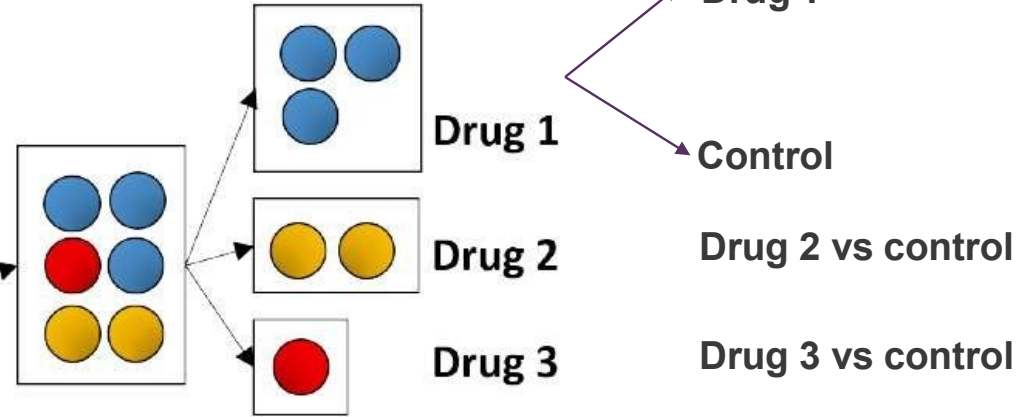
V populaci BM+

Obě

# Studie typu „deštník“

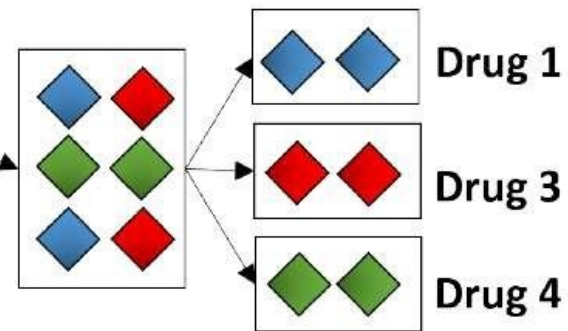


Histology Biomarkers Arms



Trial 1

Trial 2



# Studie typu „deštník“

Design deštníku se zaměřuje na jeden typ nádoru nebo histologii

Důvodem a zdůvodněním návrhu zastřešující studie je především usnadnění screeningu a získávání pacientů

Primární vlastnosti designu deštníku:

Zahrnuje skupinu dvou nebo více návrhů obohacení uvnitř  
stejný protokol

Umožňuje náhodná srovnání

Může mít flexibilní kohorty biomarkerů

Umožňuje přidat/upustit podskupiny biomarkerů.

# Studie typu deštník

*Umbrella* design skutečně připomíná deštník – rukojetí je jednotná histologie nádoru u všech zařazených pacientů, která se rozbíhá do žebíř podskupin různých biomarkerů, jež odpovídají i volbě různých cílených léčiv. Díky tomu se pod deštník může „schovat“ více pacientů s určitou diagnózou.

*Umbrella* design umožňuje jak randomizované, tak nerandomizované provedení, a může proto sloužit nejen pro počáteční fáze klinického výzkumu (nerandomizované *proof-of-concept* studie), ale i pro potvrzování účinnosti a bezpečnosti v pozdějších fázích (randomizace a srovnání se standardní léčbou).

# Studie typu „deštník“

Z hlediska HTA, vzhledem k tomu, že jsou prováděny u histologicky specifických onemocnění:

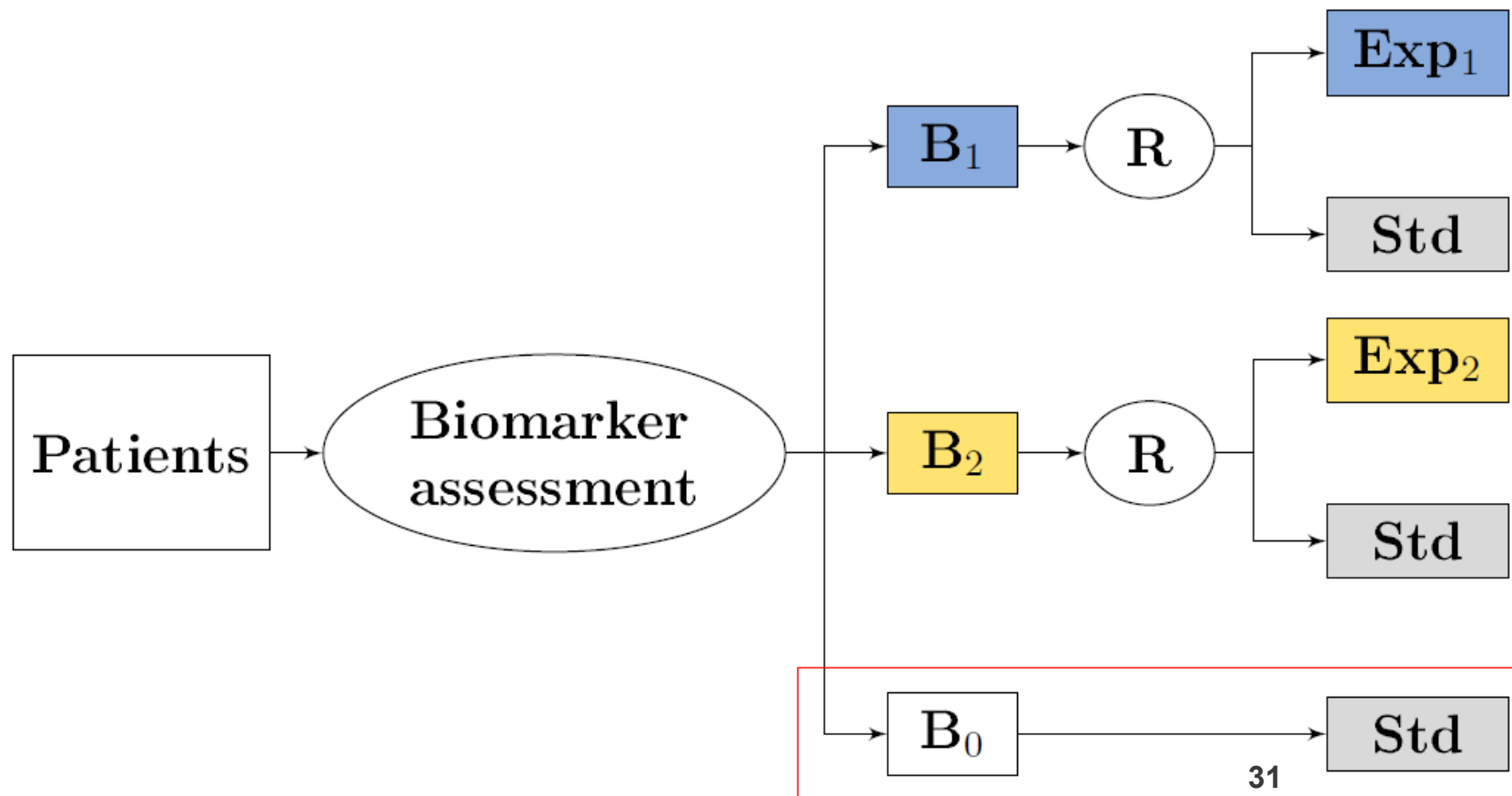
Homogenita populace

Možnost výběru klinicky relevantních koncových bodů (OS)

Možnost integrovat relevantní komparátor pro každou podskupinu (BM) studií

Malý počet pacientů.

# Studie typu deštník – hybridní design se skupinou bez BM



# Studie typu deštník – hybridní design

Potenciální přínos ze zahrnutí pacientů s negativním markerem:

Sbírejte data pro retrospektivní identifikaci biomarkerů

Zkoumejte prognostické vlastnosti biomarkerů

Neprognostické markery: Skupina ramen standardní péče

Prognostické markery: Zahrňte stav biomarkerů jako proměnnou faktoru ve statistickém modelu

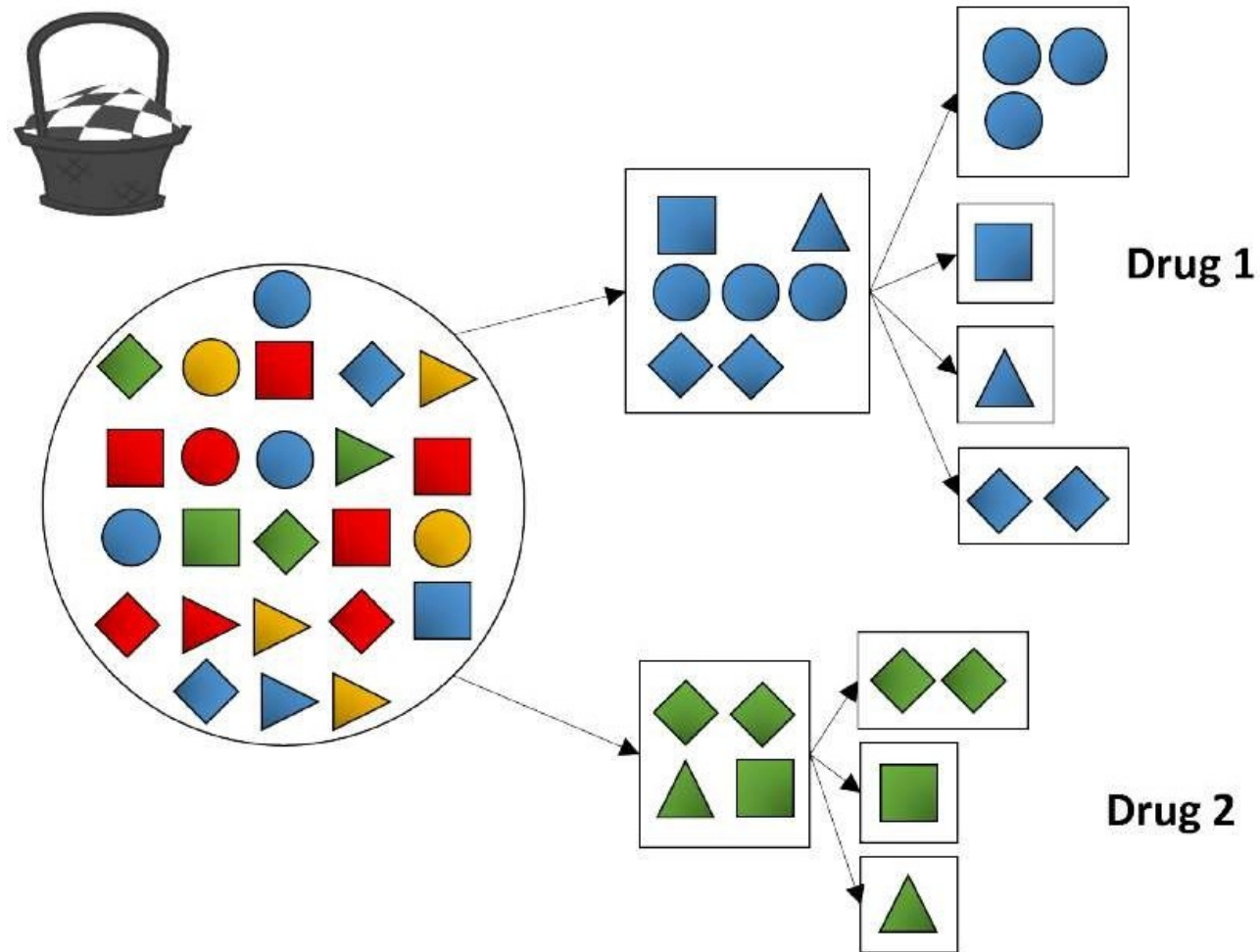


# Studie typu košík

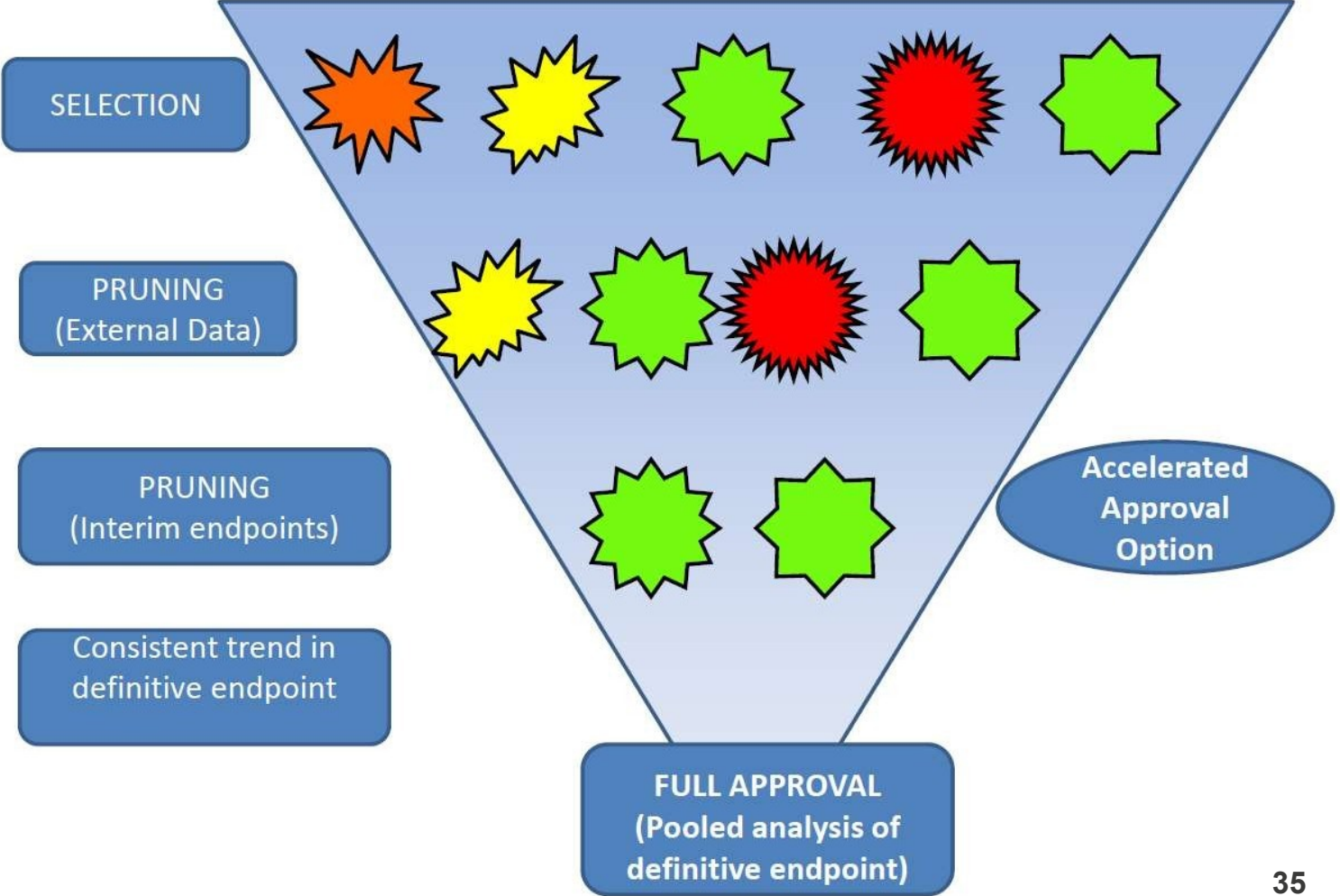
Do „košíku“ klinické studie s *basket* designem jsou vybíráni pacienti dle přítomnosti jednoho či více stanovených biomarkerů, a to nezávisle na histologickém typu nádoru. Léčba může být jednotná nebo specifická pro každou podskupinu. Díky širokému rozpětí zařazovacích kritérií je v těchto studiích možné zachytit také vzácné typy nádorů.

Studie s *basket* designem bývají používány spíše v počátečních fázích klinického výzkumu nebo tam, kde je již léčivo schváleno v určité indikaci dle histologického typu nádoru a cílem je jeho indikace rozšířit.

# Studie typu košík



# Studie typu košík – nezávislé na histologii



# Studie typu košík

Návrhy a procesy studií nejsou zcela vyjasněny a přijaty. Indikace jsou dále „ořezávány“, pokud je nepravděpodobné, že uspějí, na základě:

Externí data (definitivní koncový bod zraní z fáze 2; ostatní data ze třídy); V BUDOUCNU: údaje ze skutečného světa založené na použití mimo označení

Interní údaje o náhradním koncovém bodu

- Velikost vzorku zbývajících indikací může být upravena na základě prořezávání
- Práh chyby typu I bude upraven tak, aby kontroloval chybu typu I (míra falešných pozitivních výsledků) při prořezávání
- Prořezávání na základě externích dat nezpůsobuje statistickou penalizaci.
- **PROŘEZÁVÁNÍ JE NELOGICKÉ!!!!**

# Studie typu košík

Studie typu košík umožňují studium více molekulárních subpopulací různých nádorových nebo histologických typů v rámci jedné studie.

Primární vlastnosti košových zkoušek:

Konstrukce poskytuje flexibilitu pro neustálé otevírání a zavírání ramen studie

Mohou zahrnovat velmi vzácné rakoviny, které by bylo obtížné studovat

v randomizovaných kontrolovaných studiích

Při navrhování a analýze košových studií existuje nespočet možností, jako je sepsání protokolů pro každou kohortu a vytvoření infrastruktury pro screening a léčbu.

# Studie typu košík - pooling

Rizika spojená se sdružováním:

Falešně pozitivní: pokud je účinek léčby řízen účinkem v dané indikaci (zejména v případě nestejných velikostí vzorků napříč rameny studie).

Falešně negativní: pokud je účinek léčby zředěn indikacemi, ve kterých je přípravek neúčinný.

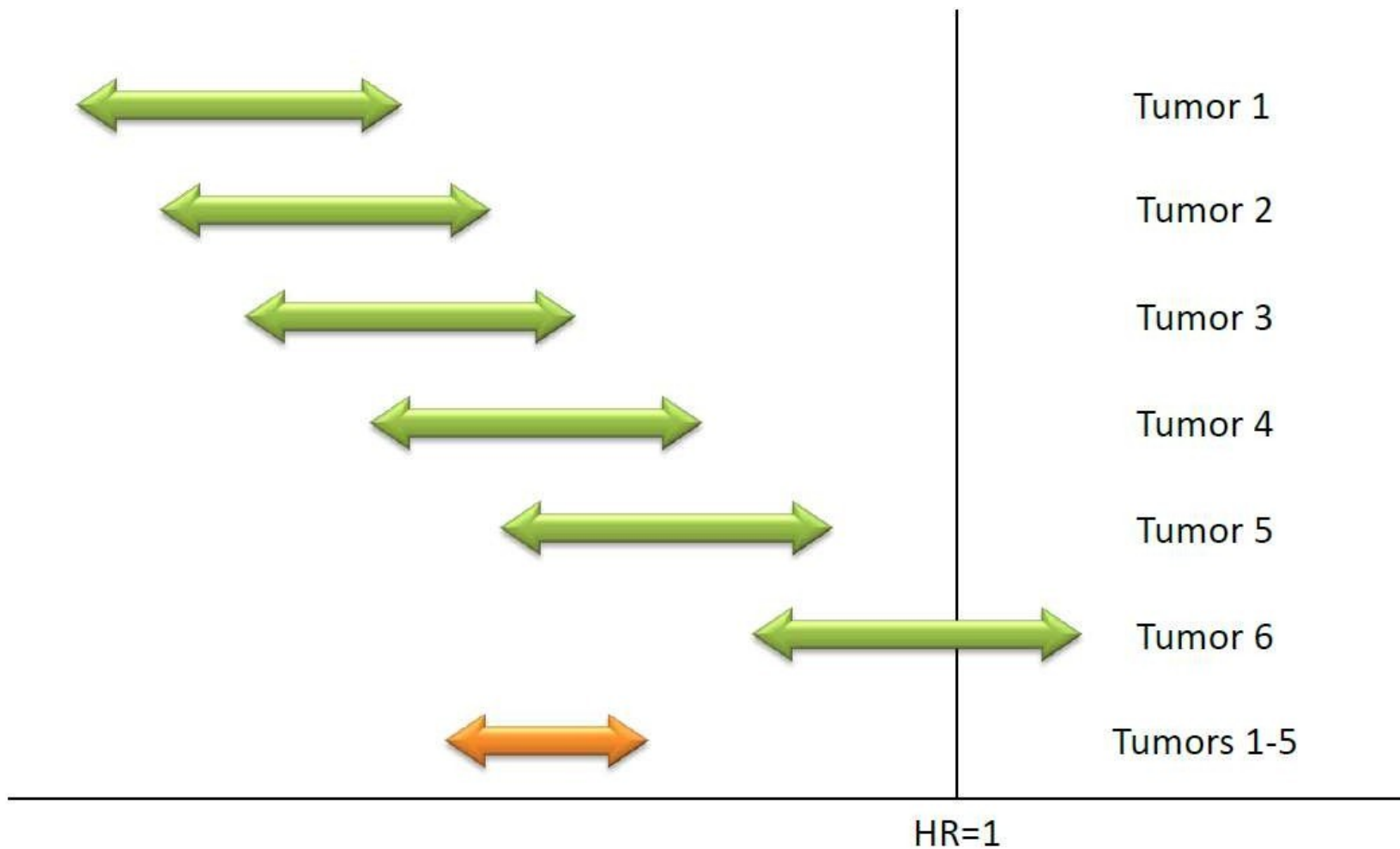
Heterogenita účinku.

Malé velikosti vzorků v některých větvích studií.

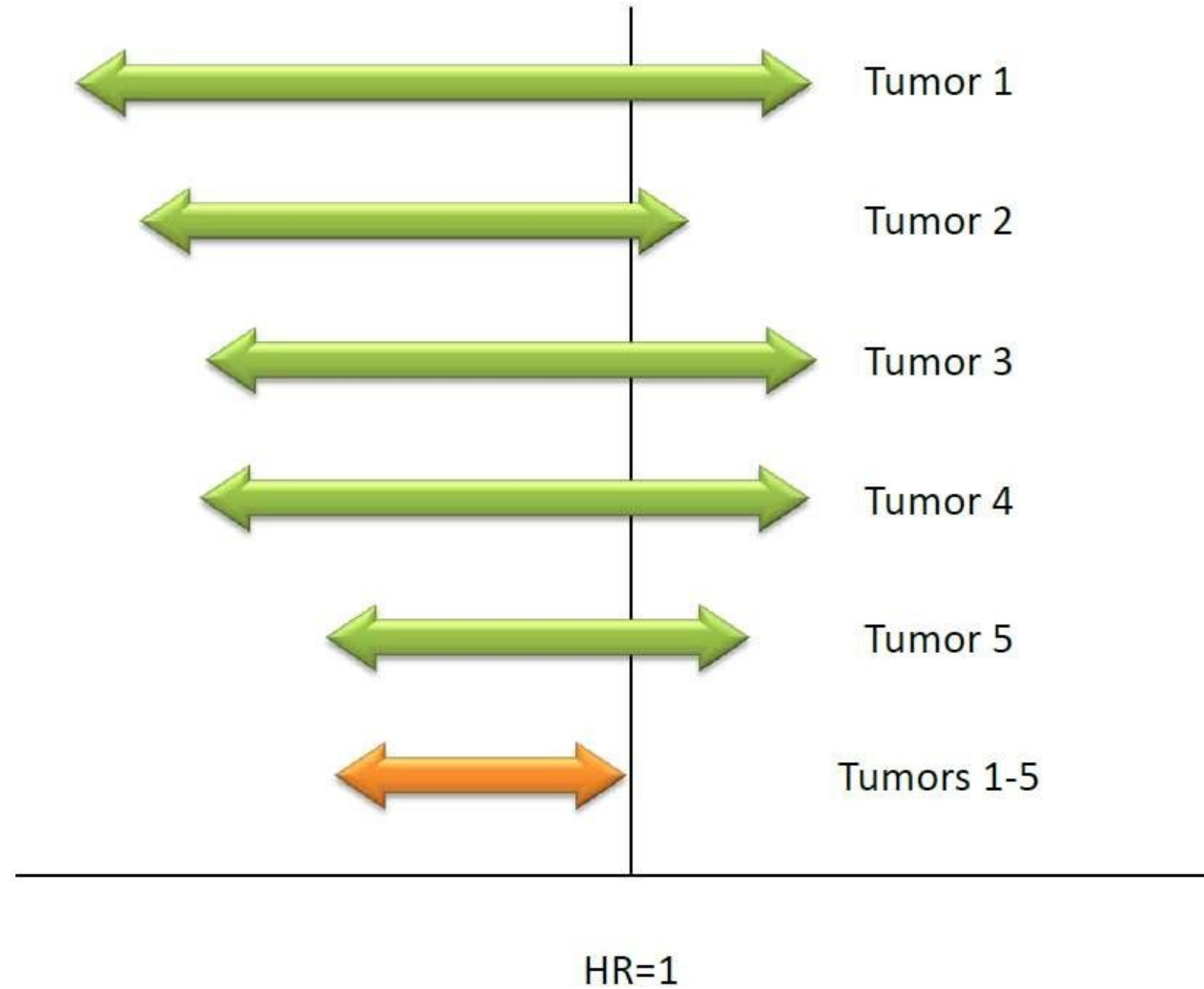
Ořezávání indikací a „náhodné vysoké zkreslení“.

Musíme být velmi opatrní ohledně přístupu biomarkerů: vemurafenib měl být účinný u mutovaných nádorů BRAF je neúčinný u mutovaného kolorektálního karcinomu BRAF (larotrektinib a entrektinib jsou také inhibitory TK).

# Pooling výsledků



# Pooling výsledků





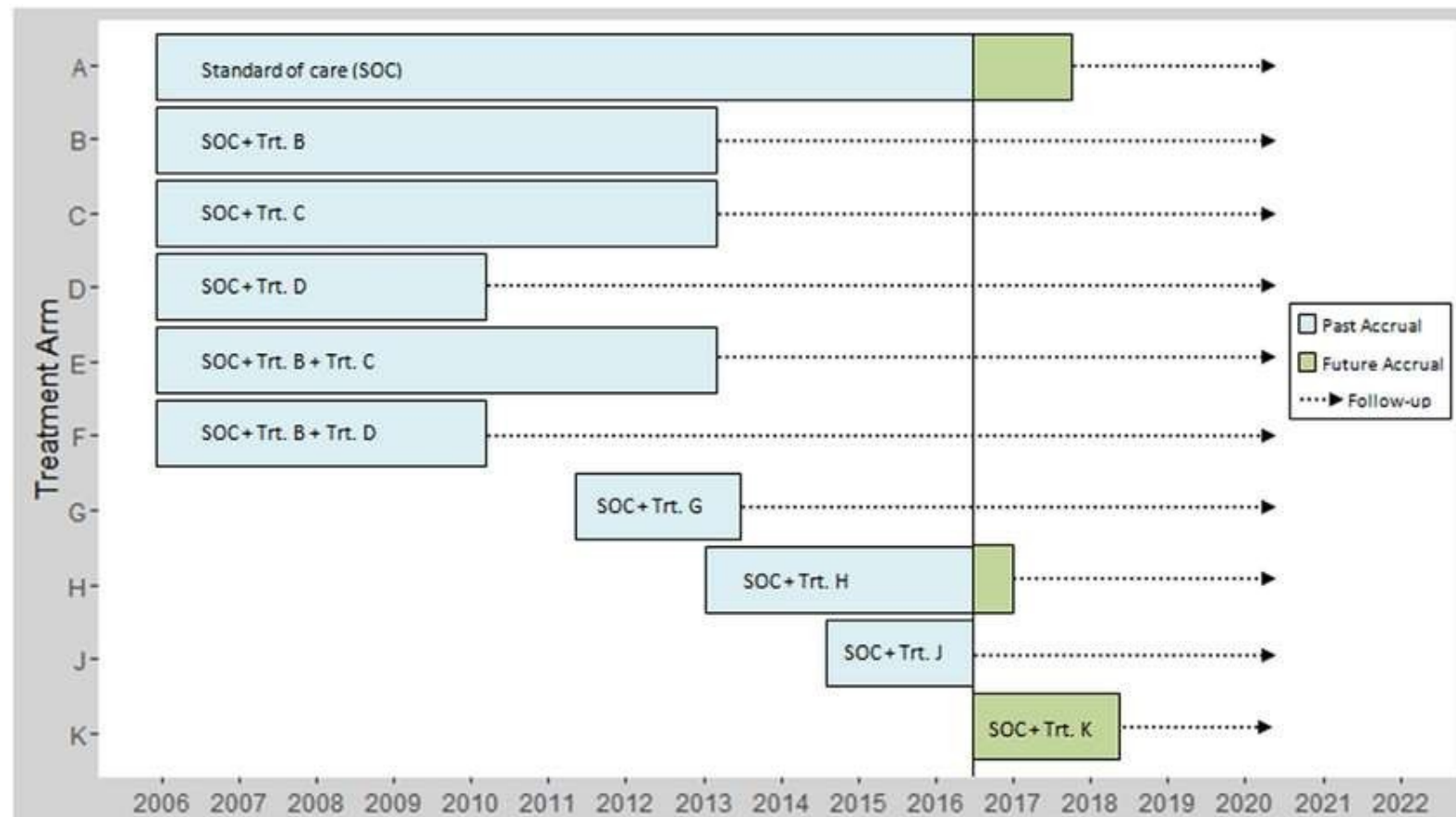
# Potíže související s biomarkery

- Charakterizace přesné role biomarkerů (prognóza vs prediktivní) – košové studie
- Preciznost versus personalizovaná medicína:
- Individuální diagnózy vs profilování
- Prevalence (dMMR u kolorektálního karcinomu je přítomna u 0,5 % pacientů): finanční dopad screeningu populace
- Exprese biomarkeru
- Kvantifikace exprese a reakce na léčbu (ne vždy jasně souvisí)
- Koexprese s jinými molekulárními entitami, jako jsou mechanismy rezistence atd.
- Exprese biomarkeru MŮŽE BÝT spojena s účinností, ale pravděpodobně nesouvisí s bezpečností a HRQL.

# Platformové studie

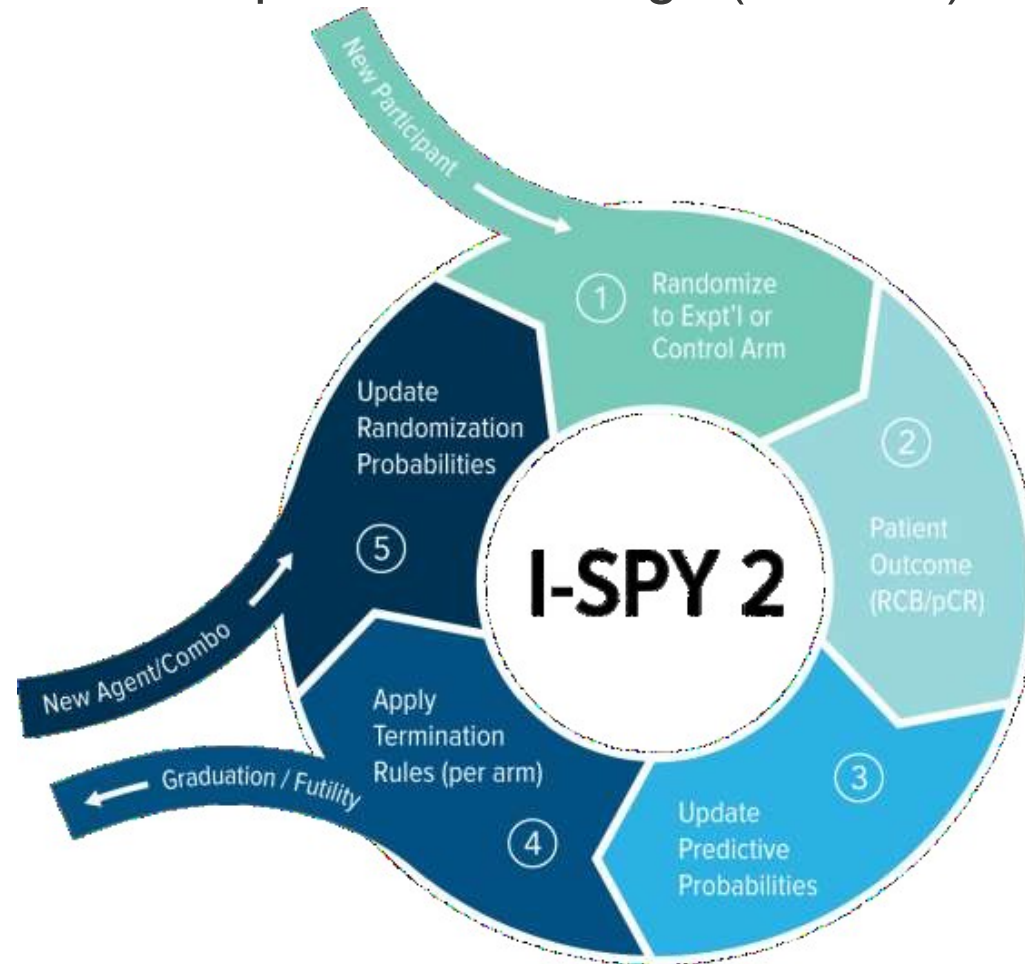


Platformové studie: Studovat více cílených terapií v kontextu jedné nemoci věčným způsobem, přičemž terapie mohou vstoupit nebo opustit platformu na základě rozhodovacího algoritmu.



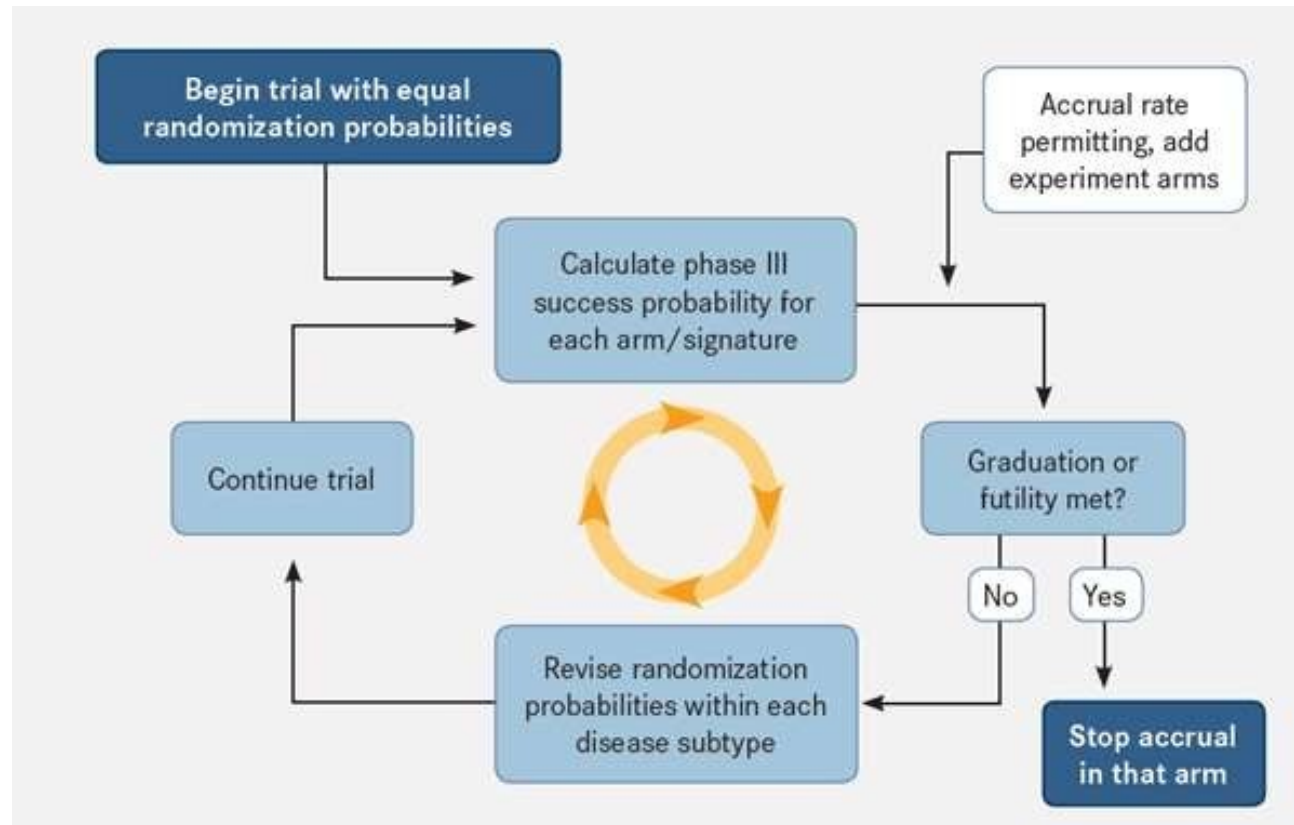
# Platformové studie

Adaptive version of the umbrella and basket clinical trials: adaptive randomisation and drop the loser design (I-SPY 2).



# Platformové studie

I-SPY 2 adaptive randomisation process.



# Příklady diagnostických biomarkerů

Chloridy v potu mohou být použity jako diagnostický biomarker k potvrzení cystické fibrózy (Farrell et al. 2008).

Některé mutace regulátoru transmembránové vodivosti (CFTR) cystické fibrózy mohou být použity jako diagnostické biomarkery v klinických studiích hodnotících léčbu cystické fibrózy, aby se vybrali pacienti s vyšší pravděpodobností odpovědi na konkrétní léčbu (tj. aby sloužili jako prediktivní biomarker) (Davies et al. 2013).

Galaktomannan může být použit jako diagnostický biomarker ke klasifikaci pacientů s pravděpodobnou invazivní aspergilózou pro zařazení do klinických studií antifungálních látek pro léčbu invazivní aspergilózy (Marr 2016; U.S. Food and Drug Administration 2015).

Glykémie nebo hemoglobin A1c (HbA1c) lze použít jako diagnostický biomarker k identifikaci pacientů s diabetes mellitus 2. typu (DM) (U.S. Preventive Services Task Force 2016a).

# Příklady diagnostických biomarkerů

Opakovaně změřené hodnoty krevního tlaku získané mimo klinické prostředí u dospělých ve věku 18 let a starších lze použít jako diagnostický biomarker k identifikaci pacientů s esenciální hypertenzí (U.S. Preventive Services Task Force 2016b).

Glomerulární filtrační rychlost (GFR) může být použita jako diagnostický biomarker k identifikaci pacientů s chronickým onemocněním ledvin (National Kidney Foundation 2002).

Ejekční frakce může být použita jako diagnostický biomarker u pacientů se srdečním selháním k identifikaci pacientů s podskupinou onemocnění (ti s nízkou ejekční frakcí nebo zachovanou ejekční frakcí) (Yancy et al. 2013).

Profilování genové exprese může být použito jako diagnostický biomarker k segregaci pacientů s difúzním velkobuněčným B-lymfomem do podskupin s různými signaturami původu nádorových buněk (Scott et al. 2014).

# Důležitost přesné diagnózy

Důležitost přesné diagnózy vyžaduje posouzení klinické výkonnosti diagnostických biomarkerových testů. Obvykle se test vyhodnocuje oproti referenční diagnóze, aby se vypočítala klinická citlivost, tj. zlomek lidí s onemocněním, kteří byli testováni pozitivně, a specificita, tj. zlomek lidí bez onemocnění, u kterých byl test negativní. Pro dokonalý diagnostický biomarkerový test by byli detekováni všichni pacienti s onemocněním nebo podskupinou onemocnění (100% senzitivita) a u žádného pacienta bez onemocnění by toto onemocnění nebylo diagnostikováno (100% specificita). V praxi nemá žádný test biomarkerů dokonalý klinický a analytický výkon.

# Výkon

Je důležité charakterizovat očekávaný výkon diagnostického biomarkerového testu za definovaných podmínek použití. To zahrnuje pozornost věnovanou populaci se záměrem diagnostikovat a způsobu, jakým je test na tuto populaci aplikován. Například **jediné měření krevního tlaku nemusí přesně diagnostikovat hypertenzi**, protože výsledky měření se mohou lišit v závislosti na podmínkách, za kterých se měření provádějí (např. vleže vs. vzpřímený, klid vs. cvičení, domácí vs. klinické prostředí) jako i aktuální stav pacienta (např. stav základního onemocnění, stav hydratace, léky, komorbidity, stres). Populace s úmyslem diagnostikovat, a zejména prevalence onemocnění nebo stavu, který má test v této populaci diagnostikovat nebo detekovat, je hlavním určujícím faktorem výkonnosti testu, jak se odráží v pozitivní prediktivní hodnotě metrik (PPV, tj. podíl pozitivně testovaných, kteří skutečně mají nemoc nebo stav) a negativní prediktivní hodnotu (NPV, tj. podíl těch s negativním testem, kteří ve skutečnosti nemoc nebo stav nemají). PPV a NPV závisí na citlivosti a specifičnosti testu a také na populační prevalenci onemocnění nebo stavu. Pokud je prevalence v populaci s intent-to-diagnose nízká, je obtížné dosáhnout vysoké PPV; analogicky, pokud je prevalence velmi vysoká, je obtížné dosáhnout vysoké NPV.



# Kompromisy

Přijatelné kompromisy mezi výkonnostními charakteristikami diagnostických biomarkerů, jako je citlivost, specificita, PPV a NPV, budou záviset na relativních potenciálních škodách falešně pozitivních a falešně negativních výsledků. Pokud se například diagnostický test používá pro screening asymptomatické zdánlivě zdravé populace, kde je prevalence cílového onemocnění velmi nízká, obecně upřednostňujeme testy s vysokou specificitou a PPV, aby se zabránilo generování velkého počtu falešně pozitivních výsledků, které mohou spustit zbytečné lékařské zásahy. a možná i psychickou újmu. Naproti tomu, pokud je test použit jako součást diagnostického zpracování u jedinců s vysokým rizikem onemocnění, u kterého včasná intervence prokázala klinický přínos, pak by mohl být kladen větší důraz na citlivost testu a NPV.

Kromě klinické výkonnosti by se očekávala robustní analytická výkonnost, než bude možné považovat test biomarkerů za přijatelný jako klinickou diagnostiku. Například kvalifikovaná pracoviště a operátoři, kteří provádějí stejný test diagnostických biomarkerů, by měli získat vysoce shodné výsledky. Příliš slabý analytický výkon nutně sníží klinický výkon diagnostického testu.

**Děkuji za pozornost**