

Биомаркери на сърдечно-съдовата болест

Доц. Жанета Георгиева

Катедра по пропедевтика на вътрешните болести,
Медицински университет, Варна; МБАЛ „Св. Марина“, Варна

Терминът биомаркер (биологичен маркер) е въведен през 1989 г. като „количествено измерим биологичен параметър (напр. концентрация на специфичен ензим, концентрация на специфичен хормон, специфично фенотипно разпределение на ген в популацията, наличие на биологична субстанция), които се използват като показатели за физиологичното състояние, като например повишен риск за развитие на болест, експозиция на вредни вещества и техните ефекти, диагноза на болест, метаболитни процеси, злоупотреба с вещества, бременност, развитие на клетъчни линии, епидемиологични проучвания и др.“ През 2001 г. работна група на Американския здравен институт стандартизира определението за биомаркер като „параметър, който може да бъде обективно измерен и е индикатор за нормален биологичен процес, патогенетичен процес или фармакологичен отговор към терапевтична интервенция“ и разграничи няколко типа биомаркери (табл. 1).¹ Биомаркерът може да бъде измерен в биологична проба (кръв, урина, тъканна проба), може да бъде регистрирана стойност от апаратно измерване (артериално налягане, ЕКГ, Холтер) или образно изследване (ехокардиограма, компютърна томография).

Биомаркерите могат да посочат множество характеристики на здравето или болестта, включително ниво или тип на експозиция към фактор на околната среда, генетично предразположение, генетичен отговор към експозиция, маркери за субклинична или клинична болест, отговор към терапията. Следователно, в опростен вид биомаркерите са индикатори за белези на болестта (рискови фактори, рискови маркери), наличие на болестно състояние (предклинично или клинично)

или развитие на болестта (прогресия).² В съответствие с това биомаркерите могат да се класифицират като предшествващи биомаркери (демонстриращи риска за развитие на болест), скринингови биомаркери (скрининг за субклинична болест), диагностични биомаркери (уостоверяващи клинично изявена болест), стадиращи биомаркери (категоризиращи тежестта на заболяването) или прогностични биомаркери (предиктори на бъдещо заболяване, включително рекурентен инцидент и отговор към терапията и проследяване на ефективността на терапията).¹

Биомаркерите могат да бъдат използвани и като сурогатни крайни критерии (табл. 1).¹ Въпреки че няма пълно съгласие по този въпрос, сурогатният краен критерий е параметър, който може да бъде използван за оценка на изхода в клиничните проучвания за оценка на сигурността и ефективността на терапията вместо определяне на реалния проследяван показател. Принциплът, който стои в основата, е, че сурогатният показател отразява прецизно промените на изследвания параметър.^{3, 4} Сурогатният краен критерий има предимството, че може да бъде установен в по-кратък времеви период и с по-малко средства от реален краен показател, като заболяемост или смъртност, който изисква голямо клинично проучване за оценката си. Допълнително предимство на сурогатните критерии е, че те са по-близки до изследваната експозиция/интервенция и по-ясно показват каузалната връзка в сравнение с по-отдалечени клинични инциденти. Важен недостатък на сурогатните критерии е, че изследваните клинични критерии се повлияват от множество фактори (освен сурогатния критерий) и могат да редуцират валидността

на сурогатния краен критерий. Смята се, че валидността на сурогатния критерий е по-висока, ако обяснява поне 50% от ефекта на експозицията или интервенцията върху изследвания изход.⁵

Характеристики на идеалния биомаркер

Основното изискване към сърдечно-съдовия биомаркер е да подобри способността на клинициста да проведе оптимална клинична терапия. Така например при лица с хронична или атипична гръдна болка от биомаркера (напр. тредмил стрес-тест или добутаминава стрес-ехокардиография) се очаква да улесни идентификацията на пациентите с гръдна болка с исхемична етиология (ангина). При пациент в спешното отделение, представящ се със силна гръдна болка (с подозрение за остър коронарен синдром), биомаркерът може да подпомогне диференциацията между остър миокарден инфаркт и нестабилна ангина (напр. тропонин I или T), остър белодробен емболизъм (напр. D-димер или вентилационно-перфузионно сканиране) и аортна дисекция (напр. трансезофагеална ехокардиография) и да улесни избора на целесъобразна терапия. При пациент с диагностициран остър миокарден инфаркт биомаркерът може да покаже терапевтичния отговор (напр. повишение на ST-сегмента на ЕКГ, указващо нужда от тромболиза), степента на миокардното увреждане (напр. тропонин), тежестта на подлежащата коронарна болест (напр. коронарна ангиография), степента на левокамерна дисфункция (напр. ехокардиография), риска от рекурентни инциденти (напр. тест с физическо натоварване) и прогресията към сърдечна негодатъчност (напр. натриуретичен пептид тип B).

Независимо от целта, с която се използва, биомаркерът може да има клинична стойност, само ако е прецизен, ако е възпроизводим по стандартизирана процедура, ако е приемлив за пациента, ако е лесен за интерпретация от страна на клинициста, има висока чувствителност и висока специфичност по отношение на изхода, който идентифицира, обяснява голяма част от изхода и има доказателства, че нивото на биомаркера помага и подкрепя промяната в терапията (табл. 2).⁶ В табл. 2 са представени желаните характеристики на биомаркерите като цяло и на биомаркерите за скрининг, диагноза и прогноза. Желаните характеристики на биомаркерите варират в зависимост от тяхното приложение. За скрининговите маркери са от значение характеристики като висока чувствителност, специфичност и предиктивна стойност, широки вероятностни отклонения и ниска цена. За диагностичните маркери на острата сърдечна болест (като остър миокарден инфаркт), освен горепосочените характеристики, са от критично значение и бързото повишение, високата тъканна специфичност (указваща миокарден произход) и ниво, съответно на степента на болестната изява.⁷ За биомаркерите за проследяване на прогресията на болестта и отговора към терапията качества като чувствителност и специфичност са от по-малко значение, тъй като изходните стойности се сравняват със стойностите от проследяването. Тясната интраиндивидуална вариация и проследяването на изхода от болестта или терапията са от критично значение. Цената е от по-малко значение за прогностичните фактори, тъй като се изследват само хора с изявена болест. Някои биомаркери (напр. физически стрес тест) могат да

Биологичен маркер (биомаркер): Показател, който подлежи на обективно измерване и оценка като индикатор за нормален биологичен процес, патогенетичен процес или фармакологичен отговор към терапевтична интервенция.

Биомаркер тип 0: Маркер на естествената история на болестта, корелиращ с известни клинични показатели в дългосрочен план.

Биомаркер тип 1: Маркер, който демонстрира ефектите на терапевтична интервенция в съответствие с нейните механизми на действие.

Сурогатен краен показател (биомаркер тип 2): Маркер, който заменя клиничен краен критерий и е предиктор на клиничната полза, клиничната вреда или липсата на полза или вреда въз основа на епидемиологични, терапевтични, патофизиологични и други научни доказателства.

Рисков фактор: Рисковият фактор е асоцииран с болестта, тъй като е в каузално отношение с болестта.

Рисков маркер: Рисковият маркер е асоцииран с болестта (статистически), но може да не е каузално свързан с нея; той може да бъде показател за самия болестен процес.

Клиничен краен показател: Показател или променлива, която отразява начина, по който пациентът се чувства, извършва определени действия или живее.

Междинен показател: Истински клиничен показател (симптом или оценка на функция, като честота на ангинозните симптоми или физически толеранс), но не краен показател (като преживяемост или честота на сериозни или необратими болестни инциденти).

Валидация на биомаркера (валидация на метода): Процес на оценка на характеристиките (чувствителност, специфичност, възпроизводимост) на биомаркера.

Количествена оценка на биомаркера (клинична валидация): Изследване на биомаркера по отношение на болестния процес или клиничния изход.

Оценка на биомаркера: Процес, свързващ биомаркерите с изхода, често с цел установяване на сурогатен статус.

Табл. 1. Биомаркери¹

Всички биомаркери	Скринингови биомаркери за идентифициране на пациентите с риск	Диагностични биомаркери за идентифициране на исхемия или увреждане ³²	Прогностични/терапевтични биомаркери
<p>Общи характеристики</p> <ul style="list-style-type: none"> • Отражават специфичен патологичен процес • Подпомагат клиничната оценка • Приемливи са за пациента • Линейна зависимост между промяна в маркера и промяна в патологичния процес • Стабилен продукт • Представително единично измерване • Приложимост при мъже и жени, различни възрасти, различни етнически групи • Възпроизводимост в множествени проучвания <p>Характеристики на метода</p> <ul style="list-style-type: none"> • Международна стандартизация • Точност <p>Приложение на метода</p> <ul style="list-style-type: none"> • Тестване при хора с различна степен на изява на патологичния процес • Висока чувствителност и специфичност <p>Лабораторни характеристики</p> <ul style="list-style-type: none"> • Автоматизация • Свързаност с лабораторни информационни системи • Сравнимост със съществуващи лабораторни процеси <p>Желани характеристики на диагностиката <i>in vitro</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Удовлетворяване на нуждите на пациентите • Възвращаемост на инвестицията • Възможност за производство • Възможност за маркетинг <ul style="list-style-type: none"> - Поддръжка на клиента след продажбата - Други маркетингови характеристики (приемливост, конкурентност, регулаторни права, реимбурсиране) 	<p>Известни референтни граници</p> <p>Допълнение към известните сърдечно-съдови индекси</p> <ul style="list-style-type: none"> • Промяна в С или АUC • Приемливо калибриране <p>Висока специфичност</p> <p>Приложимост при по-голямата част от популацията на коронарно болните пациенти</p> <p>Промяна на терапията</p> <ul style="list-style-type: none"> • Прекатегоризиране на риска на пациентите с междинен риск • Идентифициране на пациентите с повишени нива на биомаркера над конвенционалния Rx за редукция на риска <p>Благоприятно отношение цена/полза</p>	<p>Висока миокардна специфичност</p> <p>Не се установяват в нормален серум и екстракардиални тъкани</p> <p>Нулева изходна стойност, незабавно освобождаване (ранна детекция)</p> <p>Дълъг полуживот</p> <p>Продължително време за диагностика</p> <p>Продължителност <24 часа с цел диагностика на рекурентна исхемия</p> <p>Освобождаване, пропорционално на степента на увреждане или исхемия</p> <p>Бързина (результатите да са налични до 1 час)</p> <p>Липса на специална подготовка на тъканта</p> <p>Ниска цена</p> <p>Бърза достъпност</p> <p>Добре диференцирани диагностични граници</p> <p>Промяна на терапията или специфична терапия</p> <p>Висока чувствителност</p> <p>Приемливо отношение цена/ефективност</p> <p>Препоръки STARD</p>	<p>Известни референтни граници</p> <p>Допълнение към известните прогностични индекси</p> <p>Промяната в маркера да води до промяна в терапията</p> <ul style="list-style-type: none"> • Да повлиява избора на медикамент • Да повлиява промяната на дозата на медикамент • Да установява толеранс • Да указва границите на сигурност <p>Възможност за проследяване на прогресията на болестта</p> <p>Висока специфичност</p> <p>Приемливо отношение цена/ефективност</p> <p>Препоръки REMARK</p>
<p>Оценка на ефективността на биомаркера</p> <p><i>Чувствителността</i> се определя като способността на теста да установява наличието на търсената болест, когато последната е клинично изявена – тоест, вероятността за позитивен резултат от теста при пациент, който има изявена болест</p> <p><i>Специфичността</i> е способността на теста да изключва търсената болест при пациентите, които нямат болестта – тоест, вероятността за негативен резултат от теста при пациент, който не е болен</p> <p><i>Предиктивната стойност</i> на теста отразява ефективността на теста по отношение на прогнозирането на наистина позитивните или наистина негативните резултати – тоест, вероятността тестът да постави правилна диагноза</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Позитивната предиктивна стойност</i> е вероятността пациентът да страда от болестта при позитивен резултат от теста • <i>Отрицателната предиктивна стойност</i> е вероятността пациентът да не страда от болестта при отрицателен резултат от теста <p><i>ROC кривата</i> изобразява отношението чувствителност/(1 – специфичност) на диагностичния тест, като различните точки от кривата отразяват различните гранични стойности, използвани да установят дали резултатите от теста са позитивни</p> <p><i>Разпространението</i> се определя като вероятността за наличие на болест преди извършването на теста</p> <p><i>Вероятностното отношение</i> е оценка на диагностичната стойност – отношението на вероятността за резултата от теста при пациентите, които наистина страдат от болестта, към вероятността за резултата от същия тест при пациентите, които не страдат от болестта</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Вероятностно отношение</i> (тест-позитивно) = чувствителност/(1 – специфичност) • <i>Вероятностно отношение</i> (тест-негативно) = (1 – чувствителност)/специфичност <p><i>Брой пациенти, необходими за поставяне на диагноза</i> – извежда се от отношението $1/[чувствителност - (1 - специфичност)]$ – броят на тестовете, които трябва да бъдат извършени, за да бъде получен позитивен отговор за наличието на болест</p> <p><i>Брой пациенти, които трябва да бъдат скринирани</i> – броят на пациентите, които трябва да бъдат скринирани за определен период от време, за да бъде предотвратен един смъртен случай или нежелан инцидент. <i>Брой пациенти, при които трябва да бъде извършен клиничен скрининг</i> – брой пациенти, при които трябва да бъде извършен скрининг, изчислен като отношение 1/редукция на абсолютния риск</p>			

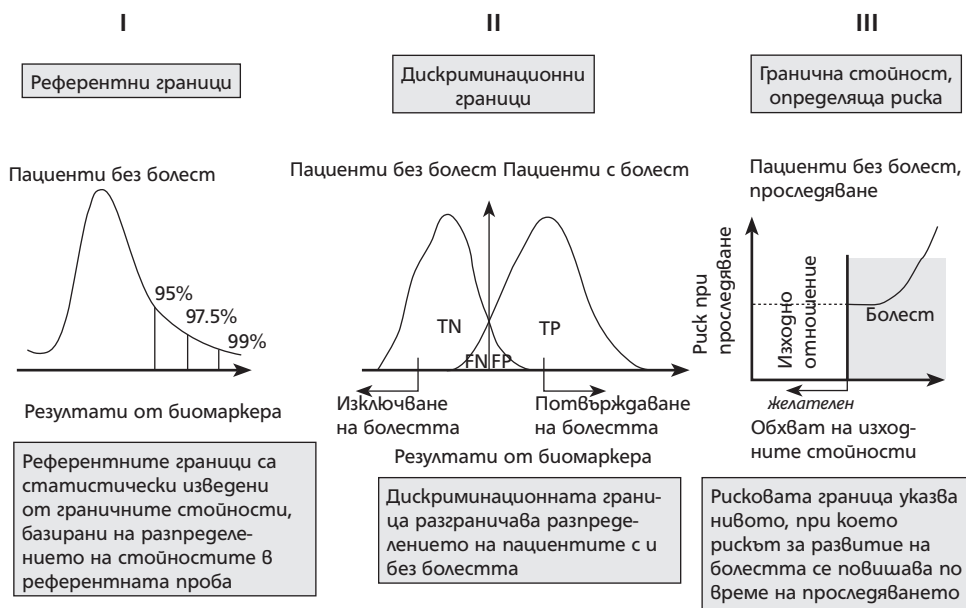
Табл. 2. Желани характеристики на биомаркерите за атеросклеротична сърдечно-съдова болест
REMARK – Reporting recommendations for tumour marker prognostic studies; STARD – Standards for reporting of diagnostic accuracy

бъдат използвани и за диагностични, и за прогностични цели. Установяването на прогностичната стойност на биомаркера е по-трудно, тъй като изисква по-голяма извадка и проспективен дизайн, докато потвърждаването на диагностичната му стойност изисква по-малка извадка и кръстосан дизайн.

Независимо от приложението, важно е да се отбележи, че биомаркерите, които не повлияват избора и промяната на терапията, не могат да окажат влияние върху изхода от болестта и следователно е малко вероятно да покажат добро отношение цена/ефективност (по отношение на удължение на живота в години, ажустирани спрямо качеството му). За да може биомаркерът да промени терапията, е важно да има доказателства, че стратегиите за редукция на риска варират с нивото на биомаркера и направляваният от биомаркера подход води до подобрене на изхода в сравнение със стандартната терапевтична стратегия без използването на биомаркера. Нивата на биомаркера трябва да бъдат директно или индиректно модифицируеми под действие на терапията и това да е потвърдено от проспективни клинични проучвания. Биомаркерите, които не водят до медицински интервенции, също могат да са полезни в някои отношения, като например потвърждение на негативния физически тест при асимптоматични пациенти. В други случаи биомаркерите могат да служат като инструменти в изследването на пациентите и да дават информация относно болестните механизми.

Дефиниране на абнормни стойности на биомаркерите

Дефинирането на абнормните стойности на биомаркерите е критична стъпка преди клиничното приложение на биомаркера. Важно е да бъде определено разпределението на маркера в общата популация и в извадката пациенти, при които биомаркерът ще бъде тестван. Следователно, трябва да бъдат определени вариацията в нивото на маркери в зависимост от възрастта, пола, етническата принадлежност и разпространението на болестта и отношението на биомаркера към известните рискови фактори.⁸ Съществуват поне три метода за дефиниране на абнормните нива на биомаркерите (фиг. 1). Граничните референтни граници се определят при използване на кръстосан анализ на референтна извадка (обикновено здрави лица, които не страдат от изследваната болест) и произволна перцентилна гранична стойност (обикновено се избира 95 или 97.5 перцентил за дефиниране на абнормност). Референтният интервал се определя от минималната и максималната референтна стойност. Около 200 лица са необходими за всяка субпопулация, за да бъдат определени референтните граници за нея (напр. определяне по пол и възраст).⁹ Граничните стойности, които определят абнормните интервали, са обикновено разположени под и над 95% референтен интервал (между 2.5 и 97.5 перцентил), но могат да варират в зависимост от



Фиг. 1. Подход за определяне на „абнормните“ стойности на биомаркера

FN - фалшиво-негативни, FP - фалшиво-позитивни, TN - наистина негативни, TP - наистина позитивни резултати

конкретния случай. Референтният интервал може да бъде преместен нагоре или надолу в зависимост от приложението (медицинско, етично, социално, психологично, икономическо) на фалшиво-негативните и фалшиво-позитивните резултати, напр. последиците от недиагностициране на болестта, наличността и ефективността на терапия за болните с абнормни стойности, цената, асоциирана с проследяването на абнормните резултати. Така например стойността на 99 перцентил се използва за дефиниране на абнормни нива на тропонин или креатин-киназа; стойностите над тази граница показват наличие на миокардна некроза и остър миокарден инфаркт. Когато се използват по-слабо специфични маркери за миокардна некроза, може да се използва по-висока гранична стойност; например, при използване на нивото на креатинкиназата за диагностиката на остър миокарден инфаркт се препоръчва взимане на стойност, два пъти по-висока от горната гранична стойност.¹⁰

При интерпретацията на граничните стойности трябва да се имат предвид няколко неща. Първо, определен процент от „здравни“ лица ще надвиши референтните граници за избрания перцентил. Второ, стойностите, които са разположени между статистически дефинираните референтни граници, може да не са показателни за здраве при гаген индивид, особено ако лицето принадлежи към група, различна от тази, при която са определени референтните стойности. Трето, промяна в стойностите в референтния интервал може да показва наличие на патология. В съответствие с това са определени делта-границы за оценка на промяната на стойностите на биомаркера при индивидуален пациент (в отговор на болест или терапия) спрямо физиологичната интраиндивидуална флукуация на стойностите. Четвърто, стойност от референтния интервал може да не е непременно желана, особено когато разпространението на нежеланите стойности на биомаркера в популацията е високо. Следователно, абнормното артериално налягане или абнормните стойности на холестерола не са дефинирани на базата на разпределението на тези рискови фактори в обществото; дефинирани са „желани“ нива. Дискриминационните стойности също се използват като указател за абнормни стойности на биомаркерите. Тези граници са определени чрез степента на припокриване между пациентите с и без заболяване в кръстосани проучвания.¹¹ Дискриминационните граници изискват решение – те се определят като гранични стойности, за които е необходимо решение. Стойността на тропонина на 99 перцентил за референтната извадка пред-

ставява дискриминационна граница, тъй като се идентифицира при наличие на миокарден инфаркт. Дискриминационните гранични стойности могат да варират в зависимост от относителната важност на пропуската за диагностициране на болестта спрямо фалшивото диагностициране на болестта при пациенти, които не са болни. Така например плазменото ниво на мозъчен натриуретичен пептид тип В (BNP) >100 pg/mL с теста Biosite може да е съмнително за сърдечна недостатъчност при пациенти с диспнея.¹² Референтните граници на теста Biosite надминават тази гранична стойност при жени над 65-годишна възраст (стойността на 95 перцентил е 120 pg/mL).¹³ Плазмена стойност >200 pg/mL се препоръчва като гранична стойност за диагностициране на сърдечна недостатъчност.¹⁴ Третият метод за дефиниране на „нежелани“ нива на биомаркерите е чрез честотата на заболяването и търсене на прагова стойност, над която рискът се повишава. Така например, желаното систолно налягане може да е под 115 mmHg, тъй като честотата на съдовата болест се повишава непрекъснато над това ниво. Ниво на LDL-холестерола ≤ 2.5 mmol/L се смята за оптимално. За повечето сърдечно-съдови рискови фактори съществува непрекъснат градиент на риска за множество рискови фактори и повечето от индивидите в популацията могат да бъдат определени като лица с нива извън желаните. „Терапевтичните“ нива (особено за медикаментозното лечение) на рисковите фактори следователно могат да се различават от нежеланите нива, дефинирани чрез граничните стойности за рисковите фактори, за които има солидна доказателствена база (обикновено от големи рандомизирани контролирани проучвания). Често тези терапевтични нива могат да бъдат дефинирани не само чрез нивото на специфичните рискови фактори, но и чрез вземане в съображение на абсолютния риск за болестта, базиран на стойностите на някои други рискови фактори. Следователно, ниво на артериалното налягане 140/90 mmHg или по-високо показва системна хипертония. Експертите обаче смятат, че нивата на артериалното налягане над или под тази гранична стойност могат да бъдат третирани на базата на абсолютния риск за сърдечно-съдови инциденти, който на свой ред зависи от тежестта на рисковите фактори.¹⁵ За други биомаркери изборът на оптимални гранични стойности, определящи абнормност, може да варира. Така например, данните от Фрамингамското проучване показват, че плазменото ниво на BNP, надвишаващо стойността за 80 перцентил в кохортата (20.0 pg/mL за мъже и 23.3 pg/mL за жени;

тест Shionogi), е асоциирано с повишение със 76% на сърдечно-съдовия риск и утвърждава риска за развитие на застойна сърдечна недостатъчност.¹⁶ Тези стойности са под стойността за 95 перцентил, изведена от здрави лица на всякаква възраст (тест Shionogi). Следователно, граничните стойности за плазменото ниво на BNP, които установяват дискриминационните граници за диагноза на застойна сърдечна недостатъчност, могат да се различават от горната референтна граница, която пак може да варира от желаните нива.

Оценка на ефективността на биомаркера: общи принципи

Точният показател за оценка на ефективността на биомаркера варира в зависимост от неговото приложение. Качествените проучвания на биомаркера правят независимо сравнение на ефективността на даден биомаркер с референтен стандарт в подходяща извадка от последователни пациенти, които представят пълния спектър на болестта. Предложени са стандарти за дизайн и съобщаване на резултатите от проучвания, изследващи ефективността на биомаркерите за диагноза и прогноза. Точността на тестовете за биомаркери се изследва по отношение на тяхната чувствителност (детекция на болестта, когато болестта е напълно изявена, тоест позитивно идентифициране на налична болест) и специфичност (доказване на липсата на болестта, когато болест наистина липсва, тоест наистина негативен резултат). Някои сърдечно-съдови биомаркери са количествени променливи с непрекъснато разпределение, макар и да съществуват някои важни изключения (например пол, раса, диабет, хипертония, генотип). Следователно, от критично значение е оценката на информационното съдържание на биомаркера по отношение на обхват от стойности, често с използването на ROC криви (receiver operating characteristic). ROC кривите илюстрират компромиса между чувствителност и специфичност, когато нивата на биомаркера се използват за клинична диагностика на болестта. Всяка точка на ROC кривата показва условната вероятност за позитивен резултат от теста при произволен болен, който надвишава риска при произволен здрав човек.¹⁷ Вероятностните отношения са калкулирани въз основа на данните за чувствителността и специфичността (табл. 1) и могат да са от полза за клиницистите, отговаряйки на въпросите: колко вероятно е получаването на позитивен тест при болно лице в сравнение със здраво лице (позитивно вероятностно отношение) и колко веро-

ятно е получаването на негативен резултат при болно лице в сравнение със здраво лице (негативно вероятностно отношение)?

Така например, ако биомаркер се използва за скрининг за рядко състояние при асимптоматични пациенти (напр. предклинична левокамерна систолна дисфункция), той трябва да има висока специфичност, тъй като потвърждаването на диагнозата е по-важно в тези случаи (т. нар. SpIN правило¹⁸). Изразен по отношение на вероятностните отношения, необходим е тест с по-високо позитивно вероятностно отношение (обикновено >10), тъй като цената на фалшивия резултат при здрав индивид може да надвиши цената от пропускане на липсващо рядко състояние. Понякога, когато са предвидени множество тестове за скрининг, те се провеждат в серии. Когато множество тестове се провеждат в серии и заболяването се смята за потвърдено, когато всички тестове са позитивни (AND правило), специфичността е висока, но чувствителността е ниска.¹⁹ Ng et al.²⁰ например смятат, че последователната стратегия за скрининг на хора с начален уринен тест на N-терминалния про-BNP (N-BNP), последван от плазмен N-BNP тест (при позитивен N-BNP тест), може да улесни скрининга за асимптоматична левокамерна систолна дисфункция в обществото чрез понижаване на необходимостта от проследяващи ехокардиограми. Когато множество тестове се провеждат успоредно и заболяването на болестта се потвърждава при позитивиране на който и да е от тях (OR правило), чувствителността е повишена за сметка на специфичността.¹⁹ За да бъде приет като рутинен скринингов тест един биомаркер, е важно да бъде доказано, че стратегията за измерването му подобрява изхода на пациента в сравнение с конвенционална стратегия, която не включва измерване на маркера, обикновено в контекста на рандомизирано, контролирано клинично проучване. Тези клинични проучвания доказват ефективността на скрининговите инструменти и осигуряват валидирани данни за анализа на отношението цена/ефективност. Ако биомаркер се използва за диагностициране на потенциално животно-застрашаващо състояние при симптоматичен пациент (напр. остър миокарден инфаркт при пациент с гръдна болка), той трябва да има висока чувствителност, тъй като изключващата стратегия е ключова в тези случаи (наричаща се също и SnOUT правило³). Изразен по отношение на вероятностното отношение, е необходим тест с по-ниско негативно вероятностно отношение (обикновено <0.10), тъй като цената на пропуснатата болест (установяване на здраве при вероятна болест) надвишава цената на всеки допълнителен тест или фалшивата диагноза.

Правилното приложение на резултатите от теста с биомаркер изисква интегриране на предместовите вероятности с резултатите от теста (изразени като чувствителност/специфичност или като вероятностно отношение) за оценка на следтестовата вероятност за заболяване.²¹ Предиктивната стойност на тази концепция за улесняване на интерпретацията на резултатите от тест взема предвид разпространението на болестта. Дори за тест с висока чувствителност и специфичност фалшиво-положителните резултати ще надвишат наистина позитивните резултати, когато разпространението на болестта е много ниско, а фалшиво-отрицателните резултати ще надвишат наистина негативните резултати, когато разпространението на болестта е много високо. Предместовите вероятности за оценката на предиктивните стойности могат да бъдат изведени въз основа на публикуваната литература и клиничните данни. Налични са номограми, които използват предместовата вероятност за заболяване и вероятностните отношения на диагностичния тест, за да генерират посттестовата вероятност за състоянието. Биомаркерите (скринингови, диагностични или прогностични) се оценяват и по отношение на техните дискриминационни и калибриращи възможности. Дискриминационната способност на маркера определя способността му (самостоятелно или като част от комплексна оценка) да разграничи „случаите“ от „не-случаите“ в кръстосани проучвания или да диференцира „лицата, които ще развият болестта“ от „лицата, които няма да развият болестта“ при дългосрочни проучвания. Обикновено се използва с статистически метод (или конкурдантен индекс) за оценка на дискриминацията на модела, еквивалентен на областта под ROC кривата. Статистическият метод с представлява вероятността при две произволно избрани лица (едно болно и едно здраво) даден тест коректно да идентифицира болното лице. Важно е да се отбележи, че с статистическият метод представлява оценка на общата производителност. Възможно е два теста да имат една и съща стойност и единият биомаркер да превъзхожда другия по отношение на производителност при определени гранични нива.

Оценка на инкременталната стойност на новите биомаркери и мултимаркерна концепция

За да оценят инкременталната стойност на нов биомаркер, изследователите трябва да докажат повишение на риска за даден изход, асоциирано с по-

високата стойност на нов биомаркер с ажустиране на други установени рискови фактори. Тези резултати обикновено се представят като честотни отношения (оценка на относителния риск в Cox модел) и вероятностен тест за сигнификантност на маркера в мултивариантен модел. Смята се, че интерпретацията на асоциацията на нов биомаркер с риска като отражение на неговата прогностична стойност може да бъде неправилна, тъй като „честотното отношение е зависимо от скалата, по която се определя маркера, граничните стойности, използвани за новия маркер, и начина на моделиране на установените променливи“. С други думи, високо честотно отношение за маркер в зависимост към изхода от болестта не определя задължително по-добра производителност. Много силни асоциации на маркера с болестта са необходими, за да има един маркер добри дискриминационни качества.²² Дори когато граничната стойност на биомаркера е асоциирана с много висока вероятност за болестта, той често може да установи само малка част от хората с болестта, ако фалшиво-позитивните резултати са с ниска честота. Така например, относителният риск за коронарна смъртност в сравнение с най-ниския децил на разпределението на серумния холестерол е около 3 в голямо проучване, показващо силна асоциация. Ако обаче се възприеме гранична терапевтична стойност за серумното ниво на холестерола, която е свързана само с 5% фалшиво-положителни резултати (гранична стойност, често използвана в скрининговите проучвания), само 12% от хората, които по-късно ще умрат от коронарна болест, ще бъдат идентифицирани при тази гранична стойност. С други думи, рисковите фактори за болестта не са задължително добри скринингови инструменти.²³ Това е така, тъй като – въпреки асоциацията на рисковия фактор с болестта – разпределението на нивата на рисковия фактор при хората с и без заболяване може да се припокрива значително.²³

Когато нов биомаркер X се изследва, важно е да се помни, че въпросът не е дали X е по-добър предиктор на болестта от предходния биомаркер Y. Истинският въпрос е дали X подобрява предиктивната точност на най-добрия наличен модел (представляващ стандарт за съответната болест), който включва няколко известни предиктори на болестта, включително Y. Следователно, относителната добавена стойност на новия биомаркер най-добре се изследва чрез оценка на стойността в сравнение със стойността от модела, който включва и други известни предиктори. Така например, Фрамингамската система за оценка на коронарния риск включва няколко би-

омаркера със с стойност (изразяваща прогностичната им точност), варираща между 0.74 и 0.76, която се смята за незадоволителна производителност на теста. Малко рисков фактори могат да подобрят с стойността по отношение на предикцията на коронарния риск на тази на Фрамингамската система за оценка на риска;²⁴ например, докато С-реактивният протеин (CRP) е асоцииран със съдов риск в две отделни проучвания, добавката на CRP не подобрява предиктивната стойност на модела, който включва установени рискови фактори и представлява стандарт понастоящем. Друг начин за оценка на новите рискови фактори е да бъде установено дали информацията за предполагаеми рискови фактори променя вероятността за възникване на заболяване (напр. дали променя рисковата категория – от нисък в междинен риск), оценена чрез използване на точкова система за оценка на глобалния коронарен риск при промяна на препоръчаните таргетни гранични стойности за модифицируеми рискови фактори (напр. промяна на таргетното ниво на LDL-холестерола от 3.4 до 2.6 mmol/L). Съществува значителен интерес към създаването на мултимаркерни системи за оценка на риска, които използват комбинация от няколко биомаркера (измервани успоредно) с цел прогнозиране на риска и изхода от болестта. При сравнението между няколко предполагаеми биомаркери и създаването на мултимаркерна система за оценка на риска трябва да се вземат предвид няколко фактора. Първо, сравнението на биомаркери, измерени от един и същи екип специалисти, може да бъде причина за тяхното съответствие (пациентите с високи стойности за един маркер е вероятно да имат високи стойности и за друг маркер). Второ, добавената полза при добавката на нов биомаркер към известна комбинация от биомаркери често се оценява чрез ROC анализ. Важно е да се отбележи, че способността на биомаркера да установи случай на болест, която обичайно използваните предиктори не са успели да установят, изисква спецификация на граничните стойности за комбинацията от биомаркери, а производителността на новия маркер зависи от избора на тези гранични стойности. Уравненията за прогнозиране на риска, които включват множество маркери, често се използват за прогноза

на коронарния риск. Използването на глобални системи за оценка на риска въз основа на оценката на множество рискови фактори е от критично значение поради синергичното им влияние и важността на определянето на таргетните нежелани нива на няколко рискови фактори с цел повишение на ползата за пациента.²⁵ За системите за оценка на риска, формулирани на базата на извадката, трябва да бъде потвърдена възпроизводимостта в същата популация (при използването на подходящи техники). Освен това, за да се превърне в рутинна част от клиничната практика, системата за оценка на риска трябва да бъде „транспортируема“: географски до различни места; до различни етнически популации; до широк спектър от пациенти; за предикция на инциденти при различна продължителност на проследяването. Системата за оценка на риска, изведена въз основа на популация, трябва да бъде рекалибрирана при приложение към друга, много различна популация. Въпреки че обикновено се смята, че новите биомаркери трябва да бъдат добавени към с стойността, за да бъдат полезни, има изключения от това правило. Новите биомаркери (напр. хомоцистеин), които нямат инкрементална стойност към известни рискови фактори, могат да бъдат измервани в определени клинични ситуации, като например: асимптоматични лица без ясно повишение на конвенционалните рискови фактори, но с много силна фамилна анамнеза за съдова болест; пациенти с преждевременна съдова болест, но без изразени рискови фактори; пациенти с агресивна рекурентна съдова болест при наличие на добре контролирани нива на конвенционалните рискови фактори.

При проучвания, при които се използват генетични биомаркери, важен въпрос е фалшиво-позитивната асоциация с болестта (или фенотипите), която се дължи на множество допълнителни фактори – генетична хетерогенност на извадките, популационна структура, грешки при определяне на изхода, алелна хетерогенност, малки размери на извадките, невъзможност за множество тестване (включително вероятност за случайни резултати).²⁶ Репликацията на резултатите от множество независими извадки остава златен стандарт при генетичното изследване на комплексните заболявания.²⁷

Книгопис

1. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69:89–95.
2. Fox N, Growdon JH. Biomarkers and surrogates. *Neuro Rx* 2004; 1:181.
3. Prentice RL. Surrogate endpoints in clinical trials: definition and operational criteria. *Stat Med* 1989; 8:431–440.
4. Colburn WA. Optimizing the use of biomarkers, surrogate endpoints, and clinical endpoints for more efficient drug development. *J Clin Pharmacol* 2000; 40:1419–1427.

Пълната библиографска справка е на разположение в издателството и може да бъде представена при поискване.