



BIYOMARKER (BIYOBELİRTEÇ) ÇALIŞMALARI VE ÇALIŞMA ÖRNEKLERİ

Önder YEŞİLOĞLU¹

Tarihte ilk olarak organik örneklerin içindeki hastalık durumu hakkında bilgi veren analitler olarak ortaya çıkan biyobelirteçler yıllar içinde tanımsal açıdan evrimleşerek genomik analizlerin, fizyolojik mekanizmaların ve ilaç yanıtlarının (etkinlik, toksisite, farmakokinetik) işaretlerine, biyolojik ölçümlere ait göstergelere dönüşmüşlerdir.¹ İlaçların farmakokinetik ve farmakodinamik mekanizmalarının anlaşılabilmesi, yeni farmakolojik ajanların keşfi, hastaların tedaviye vereceği yanıt yada bir hastalığa ve progresyonuna yönelik bireylerin risk durumu gibi farklı unsurların değerlendirilmesindeki potansiyelleri nedeniyle son yıllarda biyobelirteç çalışmalarındaki artış dikkati çekmektedir. Kanser ilaçlarına ilişkin araştırmalar biyobelirteçlerin keşfi ve klinik uygunluğunun onaylanması konularında ilk sıralarda olmakla beraber, son yıllarda biyomedikal, tıp ve farmakoloji sektörlerinde kişiselleştirilmiş tanı ve tedaviye yönelik arzın artmasının bir sonucu olarak biyobelirteçler farklı alanlarda literatürde kendine yoğun yer bulabilen parametreler arasına girmişlerdir.

Biyobelirteç çalışmaları araştırılan neden-sonuç bütünlüğü kapsamında çoğunlukla türünün ilk örneği olmakta, çalışmalar belirli bir biyobelirtecin patofizyolojik, biyokimyasal yada farmakolojik ilişkisini ilk defa ortaya koyma amacı taşımaktadır. Ancak biyobelirteç çalışmaları incelenip meta-analizlerle karşılaştırma yapıldığında, impakt faktörü ve referans sayısı gibi güvenilirlik unsurlarından dahi bağımsız olarak sonuçlar arası bir uyumsuzluk izlenmekte, bu da çoğu çalışmanın sonuçlarında tespit edildiği ifade edilen biyobelirteç-hastalık yada biyobelirteç-ilaç ilişkisinin klinik yansımalarının bu çalışmalarda öngörülen düzeyde olmadığını göstermektedir.² Randomize çalışmaların metodolojisinin iyileştirilmesi üzerine yazılan çok sayıda makale mevcut iken tanısal ve prognostik biyobelirteçlerle ilgili çalışmaların geliştirilmesi üzerine ayrı bir parantez açıldığı nadiren görülmektedir. Bir biyobelirtecin yalnızca pozitif-negatif olarak sınırlarının tespiti, çoğu zaman bu belirteci hedef alan yeni terapötik ajanların geliştirilmesine ilişkin çalışmalar ile sonuçlan-

¹ Uzm. Dr., 25 Aralık Devlet Hastanesi, Dronderyesiloglu@gmail.com



Biyobelirteç Çalışmalarında İstatistiksel Problemler

Tedavi etkinliği ile biyobelirteç ilişkisinin değerlendirildiği klinik çalışmalarda çok sayıda değişken bulunmaktadır. Bu değişkenler uygun bir şekilde kontrol edilemez ise çalışmanın göstermek istediği tedavi etkinliği ile etkileşerek sonuçları şaşırtabilir. Benzer şekilde laboratuvar kökenli test kitleri, cihaz kalibrasyon döngüleri gibi çok sayıda unsurun arasındaki farklar sonuçlar üzerine etkili olma potansiyeli bulunmaktadır. Biyobelirteç çalışmasının tüm aşamalarının dikkatli bir şekilde planlanması, randomizasyon ve dahil etme kriterlerinin dikkatli seçimi bu problemin önüne geçmek için faydalıdır. İstatistiksel analiz safhasında ise alt küme analizi ve model-bazlı analizler sonuçlar üzerindeki bu etkilenimin önüne geçilmesi için biyobelirteç çalışmalarında uygulanmaktadır.

Bazı biyobelirteç çalışmalarında çok sayıda istatistiksel etkileşimin eşzamanlı olarak değerlendirilmesi gerekmektedir. Klinik çalışmalar genelde birden çok sonlanım, çalışma ilerledikçe ara analizlerle tekrarlanan istatistiksel anlamlılık testleri, belli hasta alt gruplarında etkinlik ve güvenilirlikle ilgili soruların yanıtını bulabilmek için yapılan alt küme analizleri ve bunların türlü kombinasyonlarını dahil eden tasarım metodlarından faydalanmaktadır. Bu çok sayıda faktör nedeniyle planlama, analiz ve yorumlanma aşamalarında çokluk (multiplicity) hatası ortaya çıkabilmektedir. Çokluk (multiplicity), aynı anda birden çok hipotezin belli bir p-değerinde test edilmesi sonucu tip-I hata olasılığında katlı bir artış olmasından kaynaklanır. Birden fazla test kullanıldığında, bu testlerden en az birinin şans eseri hatalı bir şekilde istatistiksel olarak anlamlı tespit edilme olasılığı artar. Bu çokluluk probleminin en sade çözümlerinden biri test sayısına göre istatistiksel anlamlılık düzeyinin ayarlanmasıdır, bunun için bir çok metod önerilmiş olmakla beraber Bonferroni düzeltmesi ile (her testin anlamlılık düzeyini uygulanan test sayısına bölerek) sağlanabilir.³⁵

Tüm bunların yanı sıra, istatistiksel ve klinik anlamlılığın aynı olmadığını hatırlanması gerekmektedir. Biyobelirteç çalışmalarında klinik anlam varlığını değerlendirmek için güven aralığına bakılması faydalı olacaktır; istatistiksel anlamlı çok sayıda sonuç bile düşük klinik etki yüzeyinden önemsiz olabilirken sınırlı örnek sayısı nedeniyle istatistiksel gücün zayıf olması sonucu istatistiksel olarak anlamsız sonuçlar elde edilmesi her zaman klinik faydasızlık anlamına gelmeyebilir.

Ölçülebilir biyolojik süreçlerin fizyolojik, patolojik ve terapötik ilişkilerinin tanımlanması, hastalıkların tanı, takip ve tedavisinde kritik öneme sahiptir. Çok sayıda bağımsız çalışma tarafından bildirilen tutarlı sonuçlar, potansiyel biyobelirteçler adaylarının geçerliliği veya genellenebilirliği için bir kilit faktör olup bu biyobelirteçlerin rutin kullanıma dahil olabilmesi için büyük önem arz etmektedir. Bu sonuçların klinik anlamda geçerli olması ve kalıcı hale gelebilmesi ise ancak her biyobelirteç için özgün bir yaklaşım ve etkin bir çalışma planı, uygun çalışma tasarımı ve metodolojik hatalara karşı dikkatli olunması ile mümkün olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Patrick Ray, Yannick Le Manach, Bruno Riou, Tim T. Houle, David S. Warner; Statistical Evaluation of a Biomarker. *Anesthesiology* 2010; 112:1023-1040.
2. Ioannidis JP, Panagiotou OA. Comparison of effect sizes associated with biomarkers reported in highly cited individual articles and in subsequent meta-analyses. *JAMA*. 2011 Jun 1;305(21):2200-10. doi: 10.1001/jama.2011.713. PMID: 21632484.
3. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001;69:89-95
4. WHO International Programme on Chemical Safety Biomarkers and Risk Assessment: Concepts and Principles.



1993.

5. Jenkins M., Flynn A., Smart T., et al. On behalf of the PSI Biomarker Special Interest Group. A statistician's perspective on biomarkers in drug development. *Pharm. Stat.* 2011;6:494–507.
6. Konstantinides S, Geibel A, Olschewski M, et al. Importance of cardiac troponins I and T in risk stratification of patients with acute pulmonary embolism. *Circulation* 2002; 106:1263–8.
7. Mayeux R. Biomarkers: potential uses and limitations. *NeuroRx* 2004;1:182–8
8. Lijmer J.G., Mol BW, Heisterkamp S, et al. Empirical evidence of design-related bias in studies of diagnostic tests. *JAMA* 1999; 282:1061–6
9. Y, Perel A, Coriat P, Godet G, Bertrand M, Riou B: Early and delayed myocardial infarction after abdominal aortic surgery. *Anesthesiology* 2005; 102:885–91
10. Hausfater P, Juillien G, Madonna-Py B, Haroche J, Bernard M, Riou B: Serum procalcitonin measurement as diagnostic and prognostic marker in febrile adult patients presenting to the emergency department. *Crit Care* 2007; 11:R60
11. Holbrook A, Schulman S, Witt DM, et al. Evidence-based management of anticoagulant therapy: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest.* 2012 Feb;141(2) Suppl: e152S–e184S.
12. Hoffmann, D., Brunnermann, K.D., Prokopczyk, B., et al. Tobacco-specific *N*-nitrosamines and Areca-derived *N*-nitrosamines: Chemistry, biochemistry, carcinogenicity, and relevance to humans. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 41(1), 1–52.
13. Miller BE, Tal-Singer R, Rennard SI, et al. Plasma Fibrinogen Qualification as a Drug Development Tool in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Perspective of the Chronic Obstructive Pulmonary Disease Biomarker Qualification Consortium. *Am J Respir Crit Care Med.* 2016 Mar 15;193(6):607–13.
14. Gonzalez D, Martinez P, Wade R, et al. Mutational status of the TP53 gene as a predictor of response and survival in patients with chronic lymphocytic leukemia: results from the LRF CLL4 trial. *J Clin Oncol.* 2011 Jun 1;29(16):2223–9
15. Karapetis CS, Khambata-Ford S, Jonker DJ, et al. K-ras mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2008 Oct 23; 359(17):1757–65.
16. Ledermann J, Harter P, Gourley C, et al. Olaparib maintenance therapy in platinum-sensitive relapsed ovarian cancer. *N Engl J Med.* 2012 Apr 12;366(15):1382–92.
17. Fleming TR, DeMets DL. Surrogate end points in clinical trials: are we being misled? *Ann Intern Med.* 1996 Oct 1; 125(7):605–13
18. Iseki K, Ikemiya Y, Iseki C, Takishita S. Proteinuria and the risk of developing end-stage renal disease. *Kidney Int.* 2003 Apr;63(4):1468–74. doi: 10.1046/j.1523-1755.2003.00868.
19. Robab Ahmadian , Gokhan Ocakoglu. Study designs in biomarker research. *The European Research Journal, Eur Res J* 2017;3(2):106–110.
20. Sargent DJ, Conley BA, Allegra C, Collette L. Clinical trial designs for predictive marker validation in cancer treatment trials. *J Clin Oncol.* 2005 Mar 20; 23(9):2020–7.
21. Anil Potti, M.D., Sayan Mukherjee, Ph.D., Rebecca Petersen, M.D., et al. A Genomic Strategy to Refine Prognosis in Early-Stage Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2006; 355:570–580 DOI: 10.1056/NEJMoa060467
22. Chow S.C., Liu J.P. Design and Analysis of Clinical Trials. 2nd ed. Wiley & Sons; New York, NY, USA: 2004. Designs for Clinical Trials. *Designs for Clinical Trials*; pp. 194–214.
23. Romond EH, Perez EA, Bryant J, et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med.* 2005 Oct 20;353(16):1673–84. doi: 10.1056/NEJMoa052122. PMID: 16236738.
24. Mandrekar S.J., Sargent D.J. Clinical trial designs for predictive biomarker validation: Theoretical considerations and practical challenges. *J. Clin. Oncol.* 2009;27:4027–4034.
25. Freidlin B., McShane L.M., Korn E.L. Randomized clinical trials with biomarkers: Design issues. *J. Natl. Cancer Inst.*
26. Cobo M., Isla D., Massuti B., et al. Customizing cisplatin based on quantitative excision repair cross-complementing 1 mRNA expression: A Phase III trial in non-small-cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.* 2007;25:2747–2754.
27. Wason, J., Marshall, A., Dunn, J. et al. Adaptive designs for clinical trials assessing biomarker-guided treatment strategies. *Br J Cancer* 110, 1950–1957 (2014).
28. Goshō M, Nagashima K, Sato Y. Study designs and statistical analyses for biomarker research. *Sensors (Basel)* 2012;12:8966–86.
29. Jiang W., Freidlin B., Simon R. Biomarker adaptive threshold design: A procedure for evaluating treatment with



- possible biomarker-defined subset effect. *J. Natl. Cancer Inst.* 2007;99:1036–1043.
30. Wang S.J., O'Neill R.T., Hung H.M.J. Approaches to evaluation of treatment effect in randomized clinical trials with genomic subset. *Pharm. Stat.* 2007;6:227–244.
 31. Zhou X, Liu S, Kim ES, Herbst RS, Lee JJ. Bayesian adaptive design for targeted therapy development in lung cancer—a step toward personalized medicine. *Clin Trials.* 2008; 5(3):181–93.
 32. Barker AD, Sigman CC, Kelloff GJ, Hylton NM, Berry DA, Esserman LJ. I-SPY 2: an adaptive breast cancer trial design in the setting of neoadjuvant chemotherapy. *Clin Pharmacol Ther.* 2009 Jul;86(1):97–100. doi: 10.1038/clpt.2009.68. Epub 2009 May 13. PMID: 19440188.
 33. Pepe MS. Evaluating technologies for classification and prediction in medicine. *Stat Med* 2005;24:3687e96.
 34. Simon R, Maitournam A. Evaluating the efficiency of targeted designs for randomized clinical trials. *Clin Cancer Res.* 2004 Oct 15; 10(20):6759–63.
 35. Chen JJ, Roberson PK, Schell MJ. The false discovery rate: a key concept in large-scale genetic studies. *Cancer Control.* 2010 Jan; 17(1):58–62.