

ISSN 2782-3806
ISSN 2782-3814 (Online)
УДК 616-01

БИОМАРКЕРЫ, ИХ ТИПЫ И ОСНОВЫ ПРИМЕНЕНИЯ В ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЕ

Конради А. О.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Научный центр мирового уровня «Центр персонализированной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Конради Александра Олеговна,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
E-mail: konradi_ao@almazovcentre.ru

Статья поступила в редакцию 06.04.2022
и принята к печати 20.04.2022.

РЕЗЮМЕ

В обзоре приведены данные о роли биомаркеров в персонализированной медицине. Приведена классификация биомаркеров, описан процесс их валидации и сложности при внедрении в клиническую практику. Кроме того, освещена роль биобанков в появлении новых биомаркеров.

Ключевые слова: биомаркер, персонализированная медицина, прогноз, стратификация риска.

Для цитирования: Конради А.О. Биомаркеры, их типы и основы применения в персонализированной медицине. Российский журнал персонализированной медицины. 2022;2(3):6-16. DOI: 10.18705/2782-3806-2022-2-3-6-16

BIOMARKERS, TYPES AND ROLE IN PERSONALIZED MEDICINE

Konradi A. O.

Almazov National Medical Research Centre, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:

Konradi Aleksandra O.,
Almazov National Medical Research
Centre,
Akkuratova str., 2, Saint Petersburg,
Russia, 197341.
E-mail: konradi_ao@almazovcentre.ru

Received 06 April 2022;

accepted 20 April 2022.

ABSTRACT

The review summarizes current knowledge about biomarkers in personalized medicine. Classification of biomarkers, the process of validation and challenges in implementation are discussed. The role of biobanks for new biomarkers is also included.

Key words: biomarker, outcome, personalized medicine, risk stratification.

For citation: Konradi AO. Biomarkers, types and role in personalized medicine. Russian Journal for Personalized Medicine. 2022;2(3):6-16. (In Russ.) DOI: 10.18705/2782-3806-2022-2-3-6-16

Список сокращений: ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, ЛПНП — липопротеины низкой плотности, НЦМУ — научный центр мирового уровня, ПЦР — полимеразная цепная реакция, РНК — рибонуклеиновая кислота, ЭКГ — электрокардиография, BRCA1 (Breast cancer type 1 susceptibility protein) — протеин предрасположенности к раку молочной железы 1 типа, DPD — дигидропиримидиндегидрогеназа, HER2 (human epidermal growth factor receptor 2) — рецептор эпидермального фактора роста, тип 2, KRAS (Kirsten rat sarcoma virus) — вирус саркомы Кирстена у крыс.

1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ И КЛАССИФИКАЦИЯ

Современная диагностика и предикция исходов во многом базируется на науке о биомаркерах. Биомаркеры выступают ключевым звеном концепции персонализированной медицины, в связи с чем уделяется большое внимание их валидации в клинической практике. В широком смысле биомаркер — это любая биологическая характеристика организма, которая может быть молекулярной, анатомической, физиологической или биохимической. Очень важно, что уровень или значимость любого биомаркера могут быть объективно измерены и оценены. Биомаркеры выступают в роли индикатора нормального функционирования организма или патологического биологического процесса. В ряде случаев они позволяют оценить фармакологический ответ на терапевтическое вмешательство. Биомаркер показывает определенный физический признак или измеримое биологически обусловленное состояние в организме, которое связано с болезнью или конкретным показателем здоровья.

В 2001 году было дано следующее определение: «Биомаркер — это объективно измеренная или оцененная иным способом характеристика (индикатор) нормальных биологических процессов, патологических процессов или ответа на вмешательство» [1]. Обычно под биомаркерами понимают молекулярные маркеры, в том числе биохимические, иммунологические или генетические, но, строго говоря, под это определение попадают и любые физиологические параметры (например, артериальное давление), а также данные оценки поражений органов-мишеней, что часто используется в кардиологии (суррогатные маркеры органных поражений или так называемые поражения органов-мишеней).

Основные типы биомаркеров с точки зрения их роли в персонализированной медицине [2]:

1. **Диагностический биомаркер** используется для ранней и точной диагностики заболеваний или

выявления факторов риска (классический пример — обнаружение РНК HCV или вируса SARS-COV-2).

2. **Биомаркер восприимчивости/риска** отражает потенциальный риск развития заболевания (например, обнаружение BRCA1 и риск рака молочной железы или уровень липопротеинов низкой плотности и риск инфаркта миокарда).

3. **Прогностический биомаркер** предсказывает течение заболевания (благоприятное против агрессивного), например, HER-2 для рака молочной железы. Такой биомаркер также может быть одновременно и предиктивным.

4. **Предиктивный (предсказывающий) биомаркер** определяет ответ на терапию и/или токсичность лекарственных препаратов (например, EGFRNSCLC/гефитиниб, DPD-рак желудочно-кишечного тракта/фторпиримидины).

С точки зрения взаимодействия организма с окружающей средой, в том числе с лекарствами, существуют и другие типы биомаркеров, такие как фармакодинамические, которые измеряют влияние препарата на организм. Таким маркером могут выступать самые простые параметры, например, уровень АД при назначении антигипертензивной терапии, уровень холестерина ЛПНП при назначении статинов, уровень экспрессии ряда онкомаркеров при проведении химиотерапии. В таком случае эти биомаркеры становятся суррогатными конечными точками в лечении, для чего необходимо доказать, что их изменение под воздействием лечения действительно сказывается на прогнозе.

В рамках персонализированной (прецизионной) медицины биомаркеры используются также для **стратификации пациентов** — идентификации группы пациентов с общими «биологическими» характеристиками с помощью молекулярного, биохимического и визуализирующего диагностического тестирования для выбора оптимальной тактики ведения и достижения наилучшего из всех возможных исходов.

Два типа биомаркеров особенно важны для персонализированной медицины: прогностические и предиктивные. **Предиктивные биомаркеры** — это исходные измерения, которые дают информацию о том, какие пациенты могут или, наоборот, маловероятно получают пользу от конкретного лечения. **Прогностические биомаркеры** дают информацию о долгосрочном исходе у пациентов без терапии или тех, кто получает стандартное лечение. Прогностические биомаркеры отражают исходный риск и могут не обязательно указывать на чувствительность к конкретному лечению, но они тоже помогают в выборе лечения. Так, пациенты, у которых определен плохой прогноз, требуют бо-

лее агрессивного лечения, в то время как для тех, у кого прогноз благоприятный, могут подойти менее агрессивные схемы или даже не потребуются дополнительного лечения.

2. МЕТОДОЛОГИЯ РАЗРАБОТКИ И ВАЛИДАЦИИ НОВЫХ БИОМАРКЕРОВ

Ежегодно исследователями и фармацевтическими компаниями идентифицируются и изучаются тысячи новых биомаркеров, однако лишь малая доля из них в последующем становятся клинически значимыми и применимыми на практике. В 2007 году Morrow и de Lemos выделили три критерия для оценки перспективности клинического использования новых биомаркеров [3]:

- 1) простота измерения,
- 2) добавление реальной клинической информации,
- 3) влияние на принятие решений.

Первый критерий обычно прост в оценке. Действительно, одним из преимуществ растворимых биомаркеров является то, что для большинства из них, которые интересуют медицинских работников, существуют стандартизированные, воспроизводимые лабораторные анализы. В отличие от этого, оценка соответствия второму критерию — получение важной дополнительной клинической информации в результате измерения уровня биомаркера — может быть сложной. Например, в кардиологии биомаркер полезен только тогда, когда он вносит свой весомый вклад к той модели или шкале риска, которая уже сформирована на основании традиционных факторов риска. Например, чтобы генетический прогностический маркер риска сердечно-сосудистого события имело смысл внедрять в практику, его информативность должна превышать имеющиеся шкалы, такие как SCORE.

Независимо от того, используется ли биомаркер для скрининга, диагностики заболевания или оценки прогноза, он должен каким-либо образом влиять на клиническое решение. Особое внимание при измерении и оценке биомаркеров для скрининга следует уделять потенциальной важности иных, отличных от исследуемого органа или заболевания, источников его вариативности. Такая вариация может быть особенно актуальна для биомаркеров, происходящих из различных тканей, например, тех, чей уровень повышается при инфекционных состояниях, при ожирении, при любом хроническом воспалении. Классическим примером может быть уровень С-реактивного белка, важность которого для прогноза доказана при многих состояниях, тогда как причины повышения уровня этого белка

чрезвычайно многообразны. И, соответственно, при очень существенном повышении уровня, перечень дифференциальных диагнозов (инфекция, онкология, ревматология) будет отличаться от такового при незначительном повышении (атеросклероз, низкая активность ревматологических заболеваний, другие источники хронического воспаления). Пол, возраст, характер питания, масса тела влияют на уровень многих биомаркеров, снижая их точность в диагностике конкретных состояний.

Процесс обнаружения и валидации биомаркеров сегодня разработан и стандартизован лучше всего в области онкологических заболеваний [4]. На первом этапе выявляются новые целевые биомаркеры или уточняются старые на доклинической стадии процесса валидации, что приводит к проверке возможности использования определения конкретного биомаркера для дифференциации лиц с заболеванием и без. Затем ретроспективные исследования используются для определения того, отличается ли уровень биомаркера у больных и здоровых, и оценивается степень его вариативности, чтобы установить пороговое значение для положительного результата скрининга. В дальнейшем проспективные скрининговые исследования оценивают значимость и точность биомаркера на больших выборках, и только потом биомаркер валидируется в качестве инструмента контроля заболеваний в ходе рандомизированных контролируемых исследований. Очевидно, что процесс внедрения в практику биомаркера едва ли не более сложен, чем внедрение нового лекарственного средства. Это связано с тем, что практическое внедрение нового биомаркера требует изменения порядка и стандартов оказания помощи и существенного финансирования.

Геномика и другие омиксные технологии в значительной степени способствовали идентификации и практическому внедрению новых биомаркеров. Генотипирование и анализ экспрессии генов действительно являются ключевыми элементами персонализированной медицины. Однако геномные технологии имеют ограничения (функциональная значимость генетических вариантов, ложные негативные гены и т. д.) и не могут охватить все подходы к развитию стратификации пациентов на основе биомаркеров. Мультифакторный подход, объединяющий различные технологии (омиксные; фенотипические исследования; визуализация; функциональные исследования *in vivo* и т. д.), является ключевым подходом к конкретной реализации концепции персонификации медицины.

Биомаркеры могут быть идентифицированы и проверены, с точки зрения перспектив применения, несколькими способами — на стадии докли-

нических исследований, в эпидемиологических исследованиях или в ходе клинических испытаний. В идеале их идентификация должна происходить как можно раньше в процессе открытия мишеней и разработки лекарственных средств. Доклиническая идентификация стратификационных биомаркеров сочетает в себе понимание механизмов заболевания и механизма действия лекарств с характеристиками, уникальными для конкретного индивида.

Не следует ставить знак равенства между биомаркерами и лабораторными анализами. Биомаркеры должны быть надлежащим образом валидированы, прежде чем их можно будет использовать в клинике. Конкретная применимость квалифицированного биомаркера зависит в то же время от разработки надежной методики выполнения лабораторного анализа. Следовательно, цепочка действий в данном случае включает в себя открытие стратификационного биомаркера и последующее создание методологии анализа, что предпочтительно начинать с доклинической фазы исследований и только потом изучать выбранные стратификационные биомаркеры в клинических испытаниях.

В реальной жизни недостаточное знание механизмов действия лекарственных средств и/или отсутствие необходимых данных может препятствовать раннему выявлению и внедрению в практику стратификационных биомаркеров. Очень часто молекулярные предикторы, которые предсказывают токсичность или эффективность лекарств, могут быть идентифицированы после того, как препараты уже получили широкое практическое применение. Например, таргетная терапия, нацеленная на рецептор эпидермального фактора роста, была впервые одобрена до того, как было продемонстрировано, что мутации в KRAS гене явились причинами неудачи применения этих препаратов в лечении метастатического колоректального рака [5]. Этот пример показывает, что грамотный ретроспективный анализ данных проспективных рандомизированных контролируемых исследований может помочь в выборе тактики лечения определенных подгрупп пациентов. При этом стандартом остается проведение проспективных исследований, в которых стратификация групп пациентов по уровню биомаркера проводится перед назначением того или иного вида терапии.

Критерии валидации биомаркера должны зависеть от его предполагаемого использования. Существуют три взаимосвязанных подхода к валидации прогностических и предиктивных биомаркеров: аналитический, метод клинических испытаний и метод оценки клинической полезности [6, 7].

Аналитическая валидация устанавливает надежность и воспроизводимость самого анализа

и точности измерений, оценивает чувствительность и специфичность, по сравнению с золотым стандартом, если таковой имеется [8]. Клиническая валидность относится к установлению способности биомаркера предсказывать прогноз или эффекты лечения у отдельных пациентов. Для прогностического биомаркера корреляция между уровнем биомаркера и клинической конечной точкой (например, временем дожития) может указывать на клиническую валидность. Для надежной клинической валидации прогностического биомаркера по конечным точкам требуется рандомизированное клиническое исследование для объективной оценки эффектов лечения (нового лечения по сравнению с контрольным лечением) и оценки того, изменяются ли эффекты лечения в зависимости от статуса биомаркера, то есть наличие связи эффекта лечения с биомаркером.

Наконец, клиническая полезность требует, чтобы биомаркер был применим в клинической практике, то есть должно быть доказано, что использование биомаркера приводит к улучшению исхода и приносит реальную пользу пациентам [7]. Таким образом, одним из важнейших элементов установления клинической полезности является оценка результатов лечения пациентов, связанного с использованием разработанного прогностического биомаркера, путем сравнения с таковыми, основанными на стандарте оказания медицинской помощи без применения нового биомаркера.

Высокая **чувствительность и специфичность** являются важными характеристиками идеального биомаркера. Во-первых, перед клиническим использованием, если биомаркер предназначен для скрининга или прогностических целей, требуется доказать его специфичность (которая выражается как отношение правдоподобия) [9], желательно, чтобы коэффициент правдоподобия для скринингового теста превышал 10. Если биомаркер оценивается с точки зрения диагностических целей, то важнее становится высокая чувствительность. Во-вторых, важно знать референтные пределы [10] условной «нормы». Например, диагностические наборы для выявления тропонина крови, выпускаемые несколькими производителями, различны и имеют разные референтные пределы для выявления клинически важных событий, таких как острый инфаркт миокарда [10]. В-третьих, прежде чем биомаркер может быть использован клинически, необходимо понимать границы между нормальным уровнем, повышенным и действительно диагностическим уровнем или пороговым уровнем, требующим лечения. Для большинства маркеров превышение нормы еще не является отправной точкой для каких-либо

действий. Наконец, имеет значение калибровка биомаркера для конкретной выборки, где он будет использован (популяция пациентов, их возраст, пол, иногда даже время года и условия проживания).

Биомаркеры нередко представляют собой биохимические изменения на уровне тканей или органов, а не целого организма. Поэтому они связаны с биологическим или патологическим процессом, происходящим не системно, а локально. Однако клиническая интерпретация результатов измерения уровня таких биомаркеров может быть непростой. Например, повышение тропонина до определенной степени может присутствовать при застойной сердечной недостаточности, тромбоэмболии легочной артерии и классически при острой ишемии/инфаркте миокарда [11]. Соответственно, оценка биомаркера требует совмещения его уровня с клинической картиной и другими признаками. Более того, биомаркеры, предназначенные для использования в клинической практике, могут быть полезны, если изменения их уровней адекватно отражают улучшение самого процесса заболевания при лечении (прогностические биомаркеры), отражая тем самым улучшение исхода заболевания. Например, концентрация натрийуретического пептида в крови повышается с ухудшением состояния сердечной недостаточности и снижается при стабилизации состояния [12]. Кроме того, клинически полезный биомаркер должен быть способен предоставлять значимую информацию о прогнозе и/или направлять принятие врачебных решений, а не просто дублировать информацию, которая уже доступна клинически (например, на основании ЭКГ).

3. ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ БИОМАРКЕРОВ. РОЛЬ БИОБАНКОВ

Терапевтические области, где стратификация на подгруппы по биомаркерам с целью персонализированной медицины, как ожидается, войдет в практику в первую очередь, — это онкология, вторичные осложнения диабета, сердечно-сосудистые заболевания и нейродегенеративные заболевания. Не менее актуальными областями являются инфекции, аутоиммунные и аутовоспалительные заболевания, патология плода и беременности.

Развитие персонализированной медицины во многом зависит от идентификации и квалификации соответствующих биомаркеров в этих областях. К сожалению, лишь немногие исследования биомаркеров оказались достаточно мощными для выявления различий между генетическими вариантами и/или функцией продуктов их экспрессии. Кроме того, эти исследования часто имеют недостатки, ко-

торые по-прежнему создают сомнения в необходимости клинического использования генетических маркеров. Для обобщения имеющихся результатов и накопления необходимых знаний крайне важно выработать механизмы взаимодействия различных исследовательских коллективов, создать консорциумы, в том числе по персонализированной медицине, Интернет-ресурсы. Последние достижения в области омикс-технологий предоставили мощные инструменты для поиска новых биомаркеров, которые, в том числе, могут позволить предсказать реакцию на тот или иной лекарственный препарат. Но путь от идентификации нового биомаркера или их набора до разработки действительного и эффективного на практике биомаркера долг и труден.

Важными этапами для надежности биомолекулярного анализа являются сбор, хранение и транспортировка клинических образцов. Существует необходимость в стандартизации преаналитических процессов и наличии доступа к биологическим ресурсам (биобанкам), где образцы тщательно обрабатываются, хранятся и документируются. Кроме того, для профилирования образца необходима информация о пациентах и доступ к медицинским записям доноров биообразцов. Для поддержки доступности этих наборов данных требуется соответствующее программное обеспечение. Помимо ограничений в доступности информации, проблема заключается еще и в том, что биобанки предоставляют образцы для исследовательских проектов, которые изначально не были определены при заборе материала. Поэтому сегодня к биобанкам предъявляются столь высокие требования по надлежащей практике и стандартизации подготовки проб. Это дает возможность иметь универсальные коллекции, которые могут быть использованы для любого типа проектов. Именно такие универсальные биобанки с соблюдением всех этических и технологических норм и имеющие фенотипические данные по донорам образцов востребованы сегодня в мире, данная тенденция должна активно поддерживаться и в РФ. Биобанк НЦМУ «Центр персонализированной медицины», функционирующий на базе НМИЦ им. В. А. Алмазова Минздрава России, соответствует сегодня всем мировым стандартам и создан именно с такой целью — служить источником качественных данных для разработки и валидации новых биомаркеров.

4. СБОР, УПРАВЛЕНИЕ И АНАЛИЗ ДАННЫХ В ОБЛАСТИ БИОМАРКЕРОВ

Персонифицированная медицина в значительной степени опирается на анализ многомерных

данных, в то время как объем медицинских данных, доступных в электронном виде во всем мире, резко возрастает. Однако эти данные генерируются в сложных формах и не всегда удобных для количественной обработки, а также записываются и хранятся различными способами. Несовместимость между исследовательскими базами данных, электронными медицинскими записями историй болезни и лабораторной информацией рождает проблемы систем управления медицинской информацией. Сегодня задача состоит в том, чтобы максимально упорядочить электронные данные и сделать их пригодными для исследований. В этом аспекте большую помощь оказывают открытые информационные ресурсы, где размещаются данные для выявления стратификационных биомаркеров и субанализа клинических исследований. Другая проблема заключается в том, что омиксные технологии генерируют сложные данные, равно как и фенотипирование, и технологии визуализации создают большое количество данных различного формата. Это приводит к неприменимости традиционных статистических методик и ведет к необходимости внедрения новых статистических методов для решения задач многосигнального и многокомпонентного анализа.

В настоящее время, как и для любого инновационного медицинского продукта или изделия, разработка биоанализов идет по пути, начинающемуся с фундаментальных исследований и переходящему к доклиническим и клиническим стадиям. Открытие новых биомаркеров чаще основывается на знаниях, полученных в результате фундаментальных исследований, проводимых в научных центрах и университетах. При этом фармацевтическая промышленность и производители диагностических тестов и оборудования являются важнейшими потребителями обнаруженных биомаркеров, что диктует необходимость более тесной интеграции между государственным и частным секторами в здравоохранении, между академической наукой и бизнесом.

Сегодня в мире в основном используются методы идентификации сигнатур экспрессии генов и применяются микрочипы ДНК в качестве высокопроизводительных анализов. Другие виды геномного анализа, такие как генотипирование одонуклеотидных полиморфизмов, проверка числа копий и дополнительные данные протеомного или метаболомного профилирования, также могут быть использованы для разработки геномных сигнатур, но применяются реже в связи с меньшей информативностью и низкой производительностью, а также сложностью интерпретации.

В исследовательских целях и для реализации крупных проектов, как правило, используются высокопроизводительные технологии, такие как чипы. При этом для клинических целей более логично использовать технологии с высокой точностью и удобством, а также с более низкой стоимостью. Классическим пример такого подхода является количественная полимеразная цепная реакция (ПЦР). Большинство количественных ПЦР-анализов являются высокоспецифичными, чувствительными и надежными по сравнению с высокопроизводительными микрочипами, но могут измерять только небольшое количество генов одновременно в одном образце, в отличие от микрочипов. Это требует ограничения количества генов-кандидатов при переходе с платформы микрочипов на клиническую платформу. Все эти факторы и ведут к ограничению использования расчета полигенных рисков в клинической практике.

Стандартная стратегия разработки методики оценки геномных сигнатур заключается в том, чтобы тестировать их на устоявшихся клинических платформах, таких как ПЦР. Для того чтобы учесть возможное ограничение числа генов, которые могут быть исследованы при помощи ПЦР, наиболее часто используемым подходом является селекция небольшого числа релевантных генов из пула большого числа кандидатов генов, полученных в исследовании с применением микрочипов, а затем преобразование в клиническую платформу, чтобы построить предикторную генетическую шкалу на основе выбранных генов, используя данные, измеренные уже в реальных клинических условиях. Эта технология реализована сегодня в платформе Онкотип Dx, предназначенной для классификации риска рецидива рака молочной железы [13], и, например, Алломап для наблюдения за риском отторжения трансплантата после трансплантации сердца [14].

Наиболее популярным статистическим подходом к скринингу генов риска является применение нескольких методик тестирования, которые последовательно рассчитывают риски для каждого гена для проверки нулевой гипотезы об отсутствии связи с клиническим показателем. Существуют специальные статистические методики, позволяющие устранить эффекты множественных сравнений, ранжировать и отобрать гены на основе величины ассоциации или размеров эффекта. В дальнейшем происходит выбор заданного числа генов высшего ранга с наибольшими размерами эффекта, которые и включаются в клиническую платформу [15–16].

Прогресс в области биотехнологий позволил разработать новые высокопроизводительные платформы, в том числе и для клинического применения.

В качестве ранней попытки в этом направлении, при разработке сигнатуры MammaPrint для классификации риска рецидива рака молочной железы, был разработан специальный микрочип, позволяющий клинически применять систему прогнозирования, основанную на экспрессии 70 генов и 4 вычислительных методах на экспериментальной платформе микрочипов [17]. Позднее для идентификации опухолевой ткани [18] была разработана новая платформа микрочипов для измерения экспрессии почти 5000 генов. Эта платформа может работать с фиксированными формалином парафиновыми срезами биоптатов длительного хранения. Эти технологии устраняют имеющиеся ограничения в числе анализируемых генов и открывают новые возможности построения «отпечатков» (или сигнатур) конкретных патологий. Сложность оценки точности предсказания особенно важна, когда количество переменных-кандидатов (генов), включаемых в модель, значительно превышает количество образцов, доступных для анализа. Очень часто гены находятся в близких локусах, и для построения модели используются лишь гены, которые не обязательно имеют физиологический смысл. Если просто воспроизвести списки генов, которые найдены путем биологических механизмов и корреляционных исследований, то геномная сигнатура, как правило, получается ошибочной. Для прогностической точности необходима полностью конкретизированная геномная сигнатура, которая включает не только список генов компонентов, но также и математический алгоритм, а также оценку весов относительной важности генов и пороговых значений при проведении классификации [19]. Затем проводится внутренняя (на исследуемой выборке) и внешняя (на иной отличной выборке) проверка работы модели. Все описанное выше иллюстрирует развитие биоинформатики в области геномных данных и превращения их в полезные клинические маркеры, что находится сегодня в стадии активного изучения. Но даже применение самых современных алгоритмов не исключает последующей клинической валидации в исследованиях.

5. КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЗНАЧИМОСТИ БИОМАРКЕРА

Существует как минимум два типа клинических исследований, оценивающих роль биомаркеров и отличающихся по поставленной в них цели. Первый тип исследований нацелен на установление клинической полезности предлагаемого биомаркера (или геномной сигнатуры) путем сравнения со стандартом лечения без использования биомар-

кера. Другой тип исследований оценивает клиническую эффективность нового разрабатываемого лечения с применением прогностических биомаркеров или оценивает новое лечение в комплексе с прогностическим биомаркером.

Для каждого типа исследований принято использовать свой корректный дизайн. В первом случае производится рандомизация пациентов на два рукава — стратегию лечения на основе биомаркера и стратегию стандартного лечения. Таким образом, основная цель состоит в том, чтобы сравнить две стратегии с использованием биомаркера и без него при оценке эффективности лечения. Ярким примером может служить рандомизированное исследование рецидивирующего рака яичников, в котором сравнивалась стратегия лечения на основе анализа химиочувствительности опухоли (прогностического биомаркера) со стратегией использования выбора химиотерапии врачом на основе стандартной практики [20]. Другим примером является рандомизированное исследование немелкоклеточного рака легкого, в котором сравнивалась стратегия использования стандартного лечения (цисплатин + доцетаксел) с лечением, исключительно основанным на биомаркере, в котором пациентов с диагнозом резистентности к стандартному лечению, основанному на уровне биомаркера, лечили экспериментальным новым методом (гемцитабин + доцетаксел) [21]. При таком дизайне уровень биомаркера(ов) можно оценивать только у пациентов, рандомизированных в основную группу.

Возможны и более сложные модификации дизайна исследований, когда пациенты в контрольной группе подвергаются второй рандомизации для получения одного из тех же двух методов лечения, которые используются в рукаве, получающем лечение на основе биомаркеров, то есть контрольного и экспериментального лечения [22]. Такой сложный дизайн позволяет осуществить более точно клиническую валидацию биомаркера в качестве прогностического путем сравнения эффектов лечения между подмножествами пациентов, лечение которых было основано на биомаркерах.

Исследования, базирующиеся на описанной выше стратегии, в основном включают пациентов, получающих одинаковое лечение, как на основе биомаркеров, так и на основе стандартных рекомендаций, в результате чего требуется рандомизация очень большого числа пациентов, чтобы выявить, как правило, незначительную разницу по конечной точке между двумя рукавами. Этого можно избежать, если измерить уровень биомаркера у всех пациентов перед рандомизацией. Еще более усовершенствованным дизайном является метод обогащения,

который базируется на прогностическом биомаркере и сравнивает новое лечение и контрольное лечение только у биомаркер-позитивных пациентов, которые, как ожидается, будут реагировать на новое лечение на основе выявляемого биомаркера. Таким образом, дизайн обогащения оценивает эффективность лечения только в совокупности пациентов, имеющих биомаркер, а не во всей популяции пациентов. При таком дизайне пациенты должны первоначально пройти скрининг для оценки статуса биомаркера. Эффективность обогащения относительно стандартного подхода рандомизации всех пациентов без использования биомаркеров зависит от распространенности биомаркер-позитивных пациентов и от эффективности нового лечения у биомаркер-негативных пациентов [23]. В частности, когда менее половины пациентов являются биомаркер-позитивными, а новое лечение относительно малоэффективно у биомаркер-негативных пациентов, дизайн обогащения может потребовать гораздо меньшего числа рандомизированных пациентов. Такой дизайн был использован при разработке трастузумаба; когда больные раком молочной железы подвергались рандомизации только в том случае, если имели положительный HER2 при иммуногистохимическом тесте [23]. Такой дизайн оправдан в том случае, когда есть убедительные доказательства того, что пациенты с отрицательными биомаркерами не получают пользы от нового лечения и что их включение в исследование будет неэтичным. Кроме того, перед началом исследования биомаркер, используемый для обогащения, должен быть аналитически валидирован с установленной точностью анализа, воспроизводимостью и надежностью.

Когда нет убедительных биологических данных или данных более ранних исследований для биомаркера относительно его способности предсказывать эффекты лечения, то рекомендуется рандомизировать всех пациентов, но сразу предполагать выполнение субанализа по подгруппам [6]. Рандомизация может быть либо нестратифицированной, либо стратифицированной на основе уровня прогностического биомаркера. Стратификация может обеспечить то, что у всех случайно распределенных пациентов будет соблюден определенный статус биомаркера. Такие исследования могут продемонстрировать эффективность лечения либо для всей популяции, либо для подгруппы пациентов, имеющих конкретный биомаркер. В таких исследованиях может оцениваться один биомаркер или их совокупность. На первом этапе сравнивают лечение с контролем у пациентов с положительным биомаркером. На втором этапе сравнивают лечение по сравнению с контролем у пациентов с отсут-

ствием биомаркера. Этот последовательный подход позволяет избежать ошибок «первого порядка» в интерпретации данных. Для использования многомерных геномных данных применяются и более сложные дизайны исследований, которые предполагают перекрестное лечение и предварительное создание обучающей выборки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Последние достижения в области биотехнологий и геномики стимулировали дальнейшие исследования биостатистических и биоинформационных методологий для разработки и валидации новых геномных биомаркеров или диагностических тестов, которые полезны для выбора правильного лечения для конкретных пациентов. Гетерогенность заболевания на основе геномных биомаркеров требует разработки новых принципов проектирования и анализа клинических исследований для оценки валидности и клинической полезности новых методов лечения и сопутствующих биомаркеров в направлении надежного персонализированного и прогностического анализа. Этот подход во многом определяет революции в мире клинических исследований, когда становится все меньше простых дизайнов с оценкой эффективности лечения по принципу «да или нет», а развивается наука о стратифицированных исследованиях, которые отвечают не на вопрос, помогает ли данное лечение или нет, а дают ответы на более сложные вопросы — кому и в каких условиях данное лечение поможет, а какой группе не поможет или будет даже вредным. В этом и проявляется реализация концепции персонализированной медицины.

Важно отметить, что разработка и валидация биомаркеров так же сложна и трудоемка, как разработка новых лекарств, и критически важна для развития персонализированной медицины. Процесс разработки включает фундаментальные исследования, доклиническую и клиническую стадии с организацией большого числа клинических исследований. Анализ валидности и точности биомаркеров требует особого дизайна исследований и специальных статистических подходов. Для того чтобы избежать смещения и некорректных выводов, дизайн исследований и конечные точки должны тщательно продумываться. К сожалению, нередко та польза, которую дает новый биомаркер, несопоставимо мала с затратами на его разработку и внедрение, что проявляется не очень высоким числом биомаркеров, доходящих до рутинной клинической практики, аналогично новым лекарствам. Тем не менее, именно наука о биомаркерах является основопола-

гающей во внедрении технологий персонализированной медицины и в ближайшее время принесет немало инноваций в здравоохранение.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Biomarkers and Surrogate Endpoints: Preferred Definitions and Conceptual Framework. Clin. Pharmacol. Ther. Mar 2001;69(3): 89–95.
2. Stratification biomarkers in personalized medicine. Summary report. European Commission, DG Research – Brussels, 10–11 June 2010.
3. Morrow DA, de Lemos JA. Benchmarks for the assessment of novel cardiovascular biomarkers. Circulation. 2007; 115:949–952.
4. Pepe MS, Etzioni R, Feng Z, et al. Phases of biomarker development for early detection of cancer. J Natl Cancer Inst 2001; 93: 1054–1061.
5. Coupez D, Hulo P, Touchefeu Y, Denis MG, Bennouna J. KRAS mutations in metastatic colorectal cancer: from a de facto ban on anti-EGFR treatment in the past to a potential biomarker for precision medicine. Expert Opin Biol Ther. 2021;1325–1334. DOI: 10.1080/14712598.2021.1967318. Epub 2021 Aug 18. PMID: 34378483.
6. Simon R. Clinical trial designs for evaluating the medical utility of prognostic and predictive biomarkers in oncology. Personalized Medicine. 2010, vol. 7, no. 1, pp. 33–47.
7. Chau CH, Rixe O, McLeod H, Figg WD. Validation of analytic methods for biomarkers used in drug development. Clinical Cancer Research. 2008, vol. 14, no. 19, pp. 5967–5976.
8. Erickson HS. Measuring molecular biomarkers in epidemiologic studies: laboratory techniques and biospecimen considerations. Statistics in Medicine. 2012, vol. 31, no. 22, pp. 2400–2413.
9. Pencina MJ, D'Agostino Sr RB, D'Agostino Jr RB, Vasan RS. Evaluating the added predictive ability of a new marker: from area under the ROC curve to reclassification and beyond. Stat Med. 2008; 27: 157–172.
10. Pencina MJ, D'Agostino Sr RB, Steyerberg EW. Extensions of net reclassification improvement calculations to measure usefulness of new biomarkers. Stat Med. 2011; 30: 11–21.
11. de Lemos JA, Drazner MH, Omland T, et al. Association of troponin T detected with a highly sensitive assay and cardiac structure and mortality risk in the general population. JAMA. 2010; 304: 2503–12.
12. Di Angelantonio, E, Chowdhury R, Sarwar N, Ray KK, Gobin R, Saleheen D, Thompson A, Gudnason V, Sattar N, Danesh J. B-type natriuretic peptides and cardiovascular risk: Systematic review and meta-analysis of 40 prospective studies. Circulation. 2009; 120, 2177–2187.
13. Paik S, Shak S, Tang G, et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. The New England Journal of Medicine. 2004, vol. 351, no. 27, p. 2817–2826.
14. Pham MX, Teuteberg JJ, Kfoury AG, et al. Geneexpression profiling for rejection surveillance after cardiac transplantation. The New England Journal of Medicine. 2010, vol. 362, no. 20, p. 1890–1900.
15. Pepe MS, Longton G, Anderson GL, Schummer M. Selecting differentially expressed genes from microarray experiments. Biometrics. 2003, vol. 59, no. 1, pp. 133–142.
16. Noma H, Matsui S. Empirical Bayes ranking and selection methods via semiparametric hierarchical mixture models in microarray studies. Statistics in Medicine, 2012.
17. van de Vijver MJ, He YD, van 't Veer LJ, et al. A geneexpression signature as a predictor of survival in breast cancer. The New England Journal of Medicine. 2002, vol. 347, no. 25, pp. 1999–2009.
18. Monzon FA, Lyons-Weiler M, Buturovic LJ, et al. Multicenter validation of a 1,550-gene expression profile for identification of tumor tissue of origin. Journal of Clinical Oncology. 2009, vol. 27, no. 15, pp. 2503–2508.
19. Simon R. The use of genomics in clinical trial design. Clinical Cancer Research. 2008, vol. 14, no. 19, pp. 5984–5993.
20. Cree IA, Kurbacher CM, Lamont A, et al. A prospective randomized controlled trial of tumour chemosensitivity assay directed chemotherapy versus physician's choice in patients with recurrent platinum-resistant ovarian cancer. Anti-Cancer Drugs. 2007, vol. 18, no. 9, pp. 1093–1101.
21. 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. Journal of Clinical Oncology. 2007, vol. 25, no. 19, pp. 2747–2754.
22. Sargent DJ, Conley BA, Allegra C, Collette L. Clinical trial designs for predictive marker validation in cancer treatment trials. Journal of Clinical Oncology. 2005, vol. 23, no. 9, pp. 2020–2027.
23. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against her2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. The New England Journal of Medicine. 2001, vol. 344, no. 11, pp. 783–792.

Информация об авторах:

Конради Александра Олеговна, д.м.н., профессор, академик РАН, заместитель генерального директора ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России по научной работе, заведующий НИО артериальной гипертензии Института сердца и сосудов ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, заведующий кафедрой организации управления и экономики здравоохранения Института медицинского образования Центра Алмазова.

Author information:

Konradi Alexandra O., MD, Dr. Sc., Professor, Academician of the Russian Academy of Science, Deputy General Director for Research, Head of the Research Department of Arterial Hypertension, Head of the Department of Management Organization and Health Economics, Institute of Medical Education, Almazov National Medical Research Centre.