



GRASP

APPROFONDIMENTO

**Biomarcatori,
indicatori intermedi
ed endpoint surrogati
in epidemiologia
e in clinica**

Paolo Bruzzi, Genova

Definizioni

▶ **BIO** = che presuppone la misurazione di un processo/caratteristica biologico

- Campione ematico/urinario (valori di parametri, presenza di sostanze, cellule, DNA; mutazioni germinali, ecc.)
- Campione tissutale (alterazioni molecolari)
- Bioimaging? (es. PET)
- Altro? (es. MRI, x-ray, ECG, ecc.)
- Questionario?

Definizioni

- ▶ **BIO** = che presuppone la misurazione di un processo/caratteristica biologico
- ▶ **MARCATORE** = finalizzato a fornire informazioni su
 - Esposizione
 - Rischio
 - Suscettibilità a un trattamento/esposizione
 - Effetti di un trattamento/esposizione



(Bio)marcatori = Indicatori



(Bio)marcatori = Indicatori

EPIDEMIOLOGIA

Marker di esposizione

Fattore di rischio

Effect modifier

Intermediate marker



(Bio)marcatori = Indicatori

EPIDEMIOLOGIA

Marker di esposizione

Fattore di rischio

Effect modifier

Intermediate marker

CLINICA

Indicatore di compliance

Fattore prognostico

Fattore predittivo

Endpoint surrogato



1. Indicatore di esposizione

▶ EPIDEMIOLOGIA

- Livelli della sostanza o suoi metaboliti in campioni biologici (es. arsenico nei capelli)
- Alterazioni biologiche specifiche conseguenti all'esposizione (es. test del micronucleo)

▶ CLINICA

- Livelli della sostanza o suoi metaboliti in campioni biologici (es. concentrazioni ematiche del farmaco)
- Emoglobina glicata?
- STORIA CLINICA!



Specifiche di un indicatore di esposizione

SENSIBILITÀ

- veri positivi/totale esposti

SPECIFICITÀ

- veri negativi/totale non esposti



Specifiche di un indicatore di esposizione

SENSIBILITÀ

- veri positivi/totale esposti

SPECIFICITÀ

- veri negativi/totale non esposti

Esempio: **ALCOLISMO**

- Questionario (specifico ma non sensibile)
- Presenza di cirrosi epatica



2. (Bio)marcatore di rischio

▶ EPIDEMIOLOGIA = FATTORE DI RISCHIO

- Biomarcatore di esposizione a una sostanza (agente) tossica
- Biomarcatore di danno (es. transaminasi)
- Condizioni predisponenti (es. ipertensione, iperlipemia)
- Mutazione ereditaria

▶ CLINICA = FATTORE PROGNOSTICO

- Storia clinica/Anamnesi
- Stadio di malattia
- Caratteristiche biologiche della malattia
- Fattori circolanti (cDNA, CTC)
- Condizione premorbose
 - Lesione precancerosa
 - Quadro mammografico
 - Curva da carico glicemico
- Emoglobina glicata?

Specifiche di un marcatore di rischio

RISCHIO RELATIVO

- rapporto tra la probabilità di sviluppare l'evento...

RISK DIFFERENCE

- differenza tra la probabilità di sviluppare l'evento...

HAZARD RATIO (IRR)

- rapporto tra l'incidenza dell'evento...

nei soggetti con e senza il fattore prognostico



3. (Bio)marcatore di suscettibilità

▶ **EPIDEMIOLOGIA**
= EFFECT MODIFIER

- Mutazione ereditaria
- Altre esposizioni

▶ **CLINICA**
= FATTORE PREDITTIVO

- Mutazione ereditaria
- Caratteristiche molecolari o biologiche della malattia
- Altre terapie
- Storia clinica/Anamnesi



Specifiche di un marcatore di suscettibilità

VARIAZIONE

- nel rischio relativo...
- nella risk difference...
- nell'hazard ratio (IRR) ...

nei soggetti con e senza il fattore predittivo



Specifiche di un marcatore di suscettibilità

VARIAZIONE

- nel rischio relativo...
- nella risk difference...
- nell'hazard ratio (IRR) ...

nei soggetti con e senza il fattore predittivo

ANALISI DEI SOTTOGRUPPI!



4. (Bio)marcatore di effetto = endpoint, outcome variable

▶ EPIDEMIOLOGIA = ESITO

- Incidenza
- Mortalità
- Marcatore surrogato

▶ CLINICA = OUTCOME, ENDPOINT

- Naturale: OS o QoL
- Indicatore (endpoint) surrogato
 - Biologico: PSA
 - Molecolare: DNA circolante
 - Metabolico: PET
 - Strumentale: MRI
 - Clinico: risposta, progressione, recidiva, PS
 - Tempo a...

(Bio)marcatori

EPIDEMIOLOGIA

Marker di esposizione

Fattore di rischio

Effect modifier

Intermediate marker

CLINICA

Indicatore di compliance

Fattore prognostico

Fattore predittivo

Endpoint surrogato



(Bio)marcatori

EPIDEMIOLOGIA

Marker di esposizione

Fattore di rischio

Effect modifier

Intermediate marker

CLINICA

Indicatore di compliance

Fattore prognostico

Fattore predittivo

Endpoint surrogato



Nota bene: Strumenti statistici

FATTORE PROGNOSTICO

- Analisi multivariata, hazard ratio "aggiustato"

FATTORE PREDITTIVO

- Analisi per sottogruppi, Forest plot, test di interazione

ENDPOINT SURROGATO

- Landmark analysis, time-dependent covariates, validazione meta-analitica



(Bio)marcatori

EPIDEMIOLOGIA

Marker di esposizione

Fattore di rischio

Effect modifier

Intermediate marker

CLINICA

Indicatore di compliance

Fattore prognostico

Fattore predittivo

Endpoint surrogato



Endpoint

Variabile qualitativa/quantitativa utilizzata per rilevare gli effetti di un intervento in ogni paziente (sinonimo: outcome variable)



Endpoint

Variabile qualitativa/quantitativa utilizzata per rilevare gli effetti di un intervento in ogni paziente (sinonimo: outcome variable)

Endpoint \neq scopo, obiettivo dello studio

~~“Lo studio non ha raggiunto il suo endpoint”~~



Scopo = fase della sperimentazione clinica

Fase	Scopo
I	FARMACOLOGIA ➤ Quanto ne do e come?
II	ATTIVITÀ ➤ Fa quello che deve? (effetti sulla malattia)
III	EFFICACIA ➤ È utile? (effetti sul paziente)



Beneficio clinico!

- ▶ Effetti (probabilistici) del trattamento per ottenere i quali il paziente accetta di riceverlo
- ▶ Quasi sempre, il paziente vuole vivere
 - Più a lungo → Guarigione, sopravvivenza
 - Meglio → Qualità della vita

Eccezioni: terapie per la sterilità, medicina sportiva, medicina estetica, ecc.

ATTENZIONE: Oculistica? ORL? **Neurologia?**

Effetti di un trattamento sulla quantità di vita = Efficacia *(in oncologia)*

Come rilevarli?

▶ **ENDPOINT NATURALE**

- Guarigione/fallimento (malattia operata, immunoterapia?)
- Durata della sopravvivenza (malattia avanzata)



Pro's/Con's di OS

PRO'S

Oggettiva (no bias)

Facile da rilevare

Riflette interessi del paziente

CON'S

Può richiedere tempi molto lunghi

Poco sensibile a effetti terapeutici

Terapie successive

Cross over?



Effetti di un trattamento sulla quantità di vita = Efficacia

Come rilevarli?

▶ **ENDPOINT NATURALE:**

- Probabilità di guarigione
- Durata della sopravvivenza



**ENDPOINT
SURROGATI?**

OS vs EFS/ORR

Aim of a phase 3 trial: to assess efficacy

Efficacy: to make the patient live **LONGER** and/or **BETTER**

OS vs EFS/ORR

Aim of a phase 3 trial: to assess efficacy

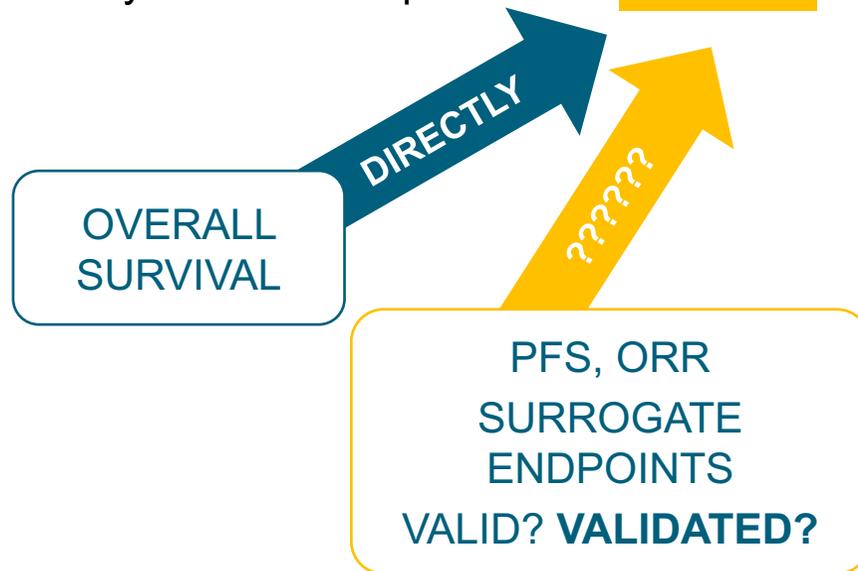
Efficacy: to make the patient live **LONGER** and/or **BETTER**



OS vs EFS/ORR

Aim of a phase 3 trial: to assess efficacy

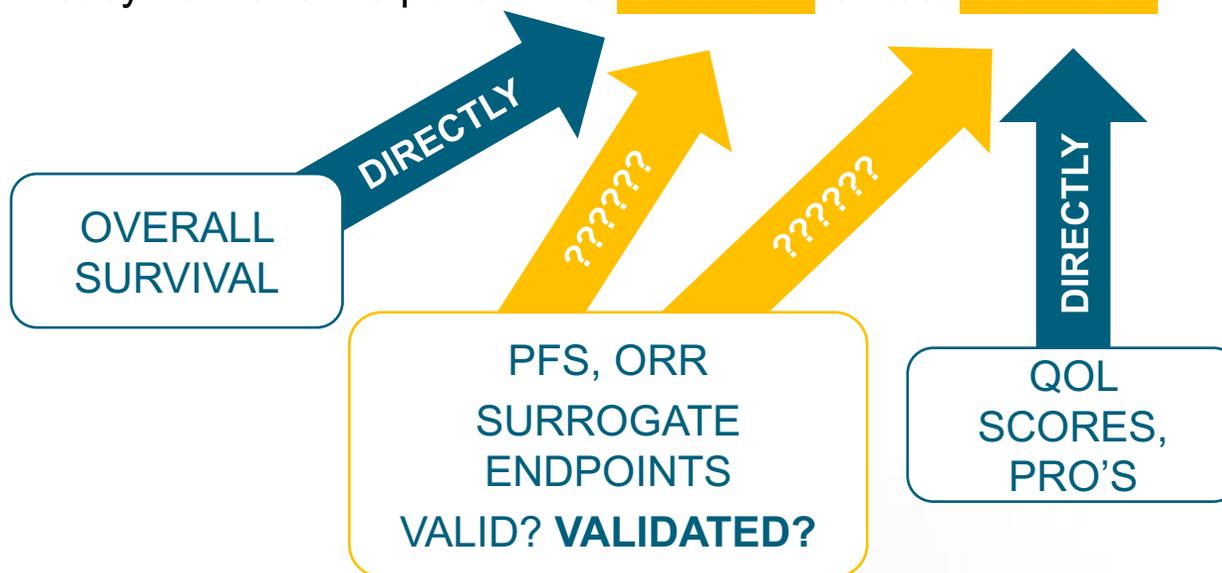
Efficacy: to make the patient live **LONGER** and/or **BETTER**



OS vs EFS/ORR

Aim of a phase 3 trial: to assess efficacy

Efficacy: to make the patient live **LONGER** and/or **BETTER**



Endpoint surrogato - Definizione

- ▶ Una variabile clinica, strumentale o di laboratorio
- ▶ Che può essere usata come endpoint primario in un trial clinico al posto dell'endpoint naturale
- ▶ Perché permette di valutare/stimare l'effetto del trattamento sull'endpoint "vero"



Esempi di potenziali endpoint surrogati

- ▶ **Pressione arteriosa** e mortalità CVD in trial di agenti anti-ipertensivi
- ▶ **CD4/CD8** e sopravvivenza in trial di terapie per l'HIV
- ▶ **Frazione d'eiezione** e OS in trial sullo scompenso cardiaco
- ▶ **Incidenza di adenomi** e incidenza di carcinoma coloretale in trial di chemioprevenzione
- ▶ **Parametri MRI** e disabilità in MS trial
- ▶ **Risposta obiettiva** e OS nei tumori solidi
- ▶ **Relapse (progression)-free survival** e OS in trial di terapia adiuvante (palliativa)

Esempi di potenziali endpoint surrogati

- ▶ **Pressione arteriosa** e mortalità CVD in trial di agenti anti-ipertensivi
 - ▶ **CD4/CD8** e sopravvivenza in trial di terapie per l'HIV
 - ▶ **Frazione d'eiezione** e OS in trial sullo scompenso cardiaco
 - ▶ **Incidenza di adenomi** e incidenza di carcinoma coloretale in trial di chemioprevenzione
 - ▶ **Parametri MRI** e disabilità in MS trial
- ▶ **Risposta obiettiva** e OS nei tumori solidi
 - ▶ **Relapse (progression)-free survival** e OS in trial di terapia adiuvante (palliativa)

Endpoint surrogati

PER UTILIZZARE UN ENDPOINT SURROGATO:

- ▶ devo avere dei buoni motivi!
- ▶ deve essere **validato** (o molto plausibile)



Perché è così vantaggioso utilizzare endpoint surrogati?

- ▶ Si abbrevia il tempo alle analisi ad interim e finale
- ▶ Effetto più forte



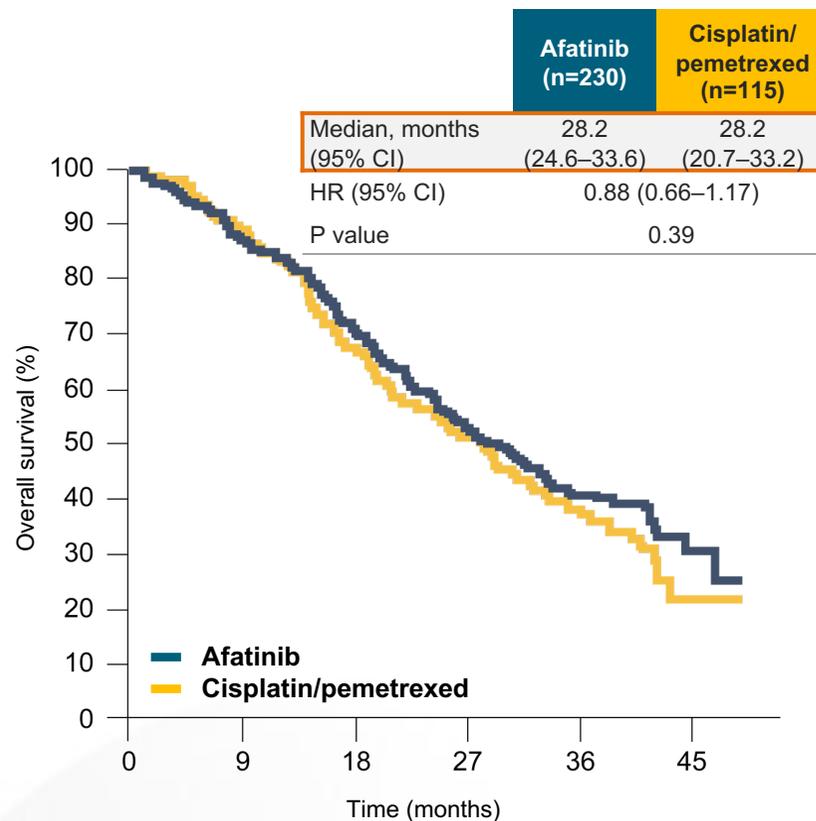
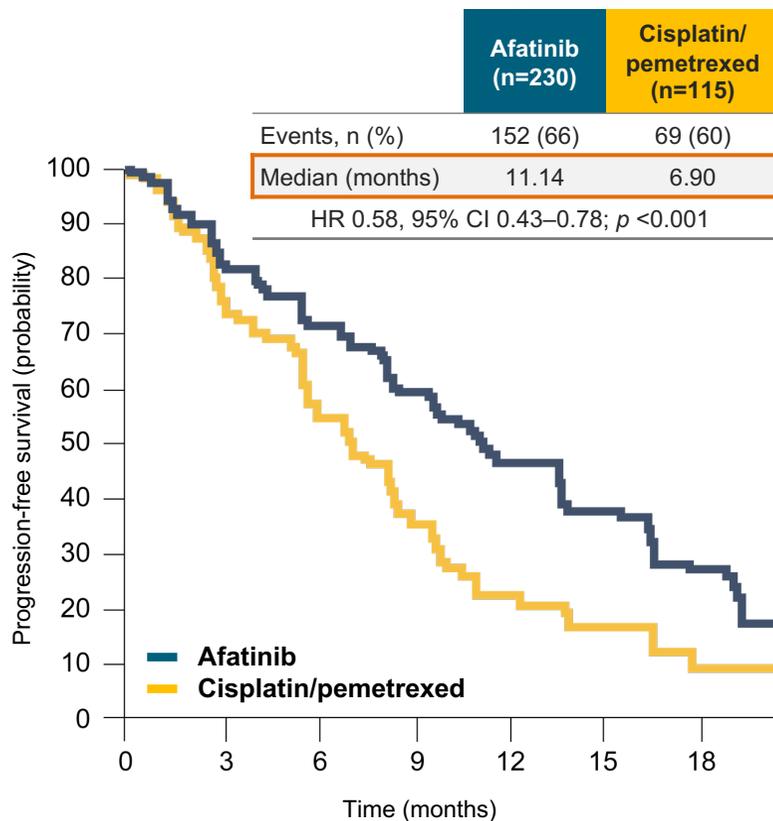
Perché è così vantaggioso utilizzare endpoint surrogati?

- ▶ **Si abbrevia il tempo alle analisi ad interim e finale**
- ▶ Quanto si guadagna?

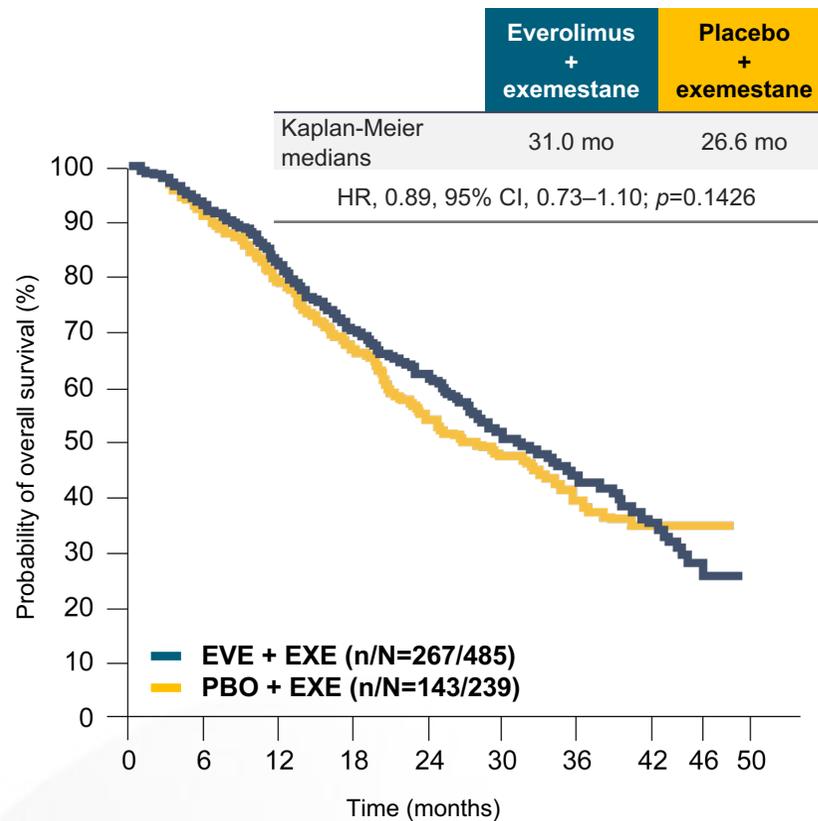
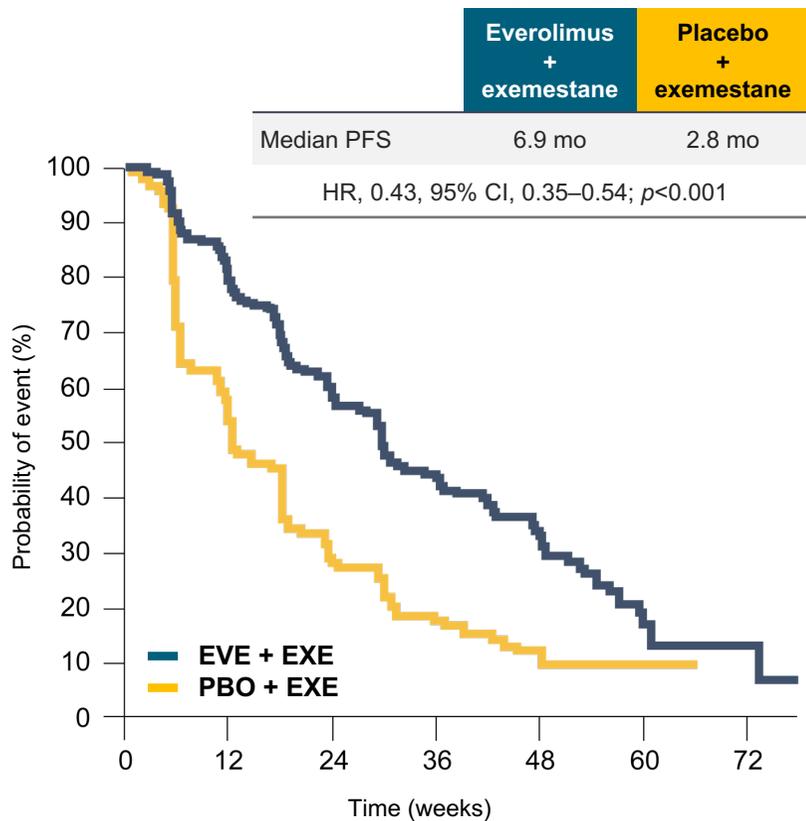
DIPENDE DALLA PATOLOGIA!



NSCLC prima linea >1 anno



BC ER+ >2 anni



Quanto si guadagna?

MALATTIA AVANZATA

▶ **Risposta: 3-4 mesi**

▶ **PFS**

- prima linea: 6–24 mesi
- seconda o + linee: 3–9 mesi

▶ **OS**

- prima linea: 1.5–4 anni
- Seconda o + linee: <1–3 anni

Grossolana approssimazione..

OS \approx PFS*3 (PPS = PFS*2)

MALATTIA OPERATA

▶ **5 years RFS: 10–90%**

▶ **OS (quasi) stesso numero di eventi dopo altri 3–5 anni**

In altri campi?

- ▶ Lesioni MRI in MS ➤ **DISABILITÀ**
- ▶ MRI amiloide ➤ **DEMENZA**
- ▶ Pressione arteriosa ➤ **MORBIDITÀ CVD?**
- ▶ Incidenza adenomi ➤ **MORTALITÀ CRC**
- ▶ Stop fumo di sigaretta ➤ **TUMORE DEL POLMONE?**
- ▶ Modifica dieta ➤ **CANCRO GASTRICO, CRC?**

Perché è così vantaggioso utilizzare endpoint surrogati?

- ▶ Per abbreviare il tempo alle analisi ad interim e finale (più eventi)
- ▶ **Effetto più forte**



Motivi per cui effetto su endpoint surrogato \neq effetto su OS?

DILUIZIONE STATISTICA

EFFETTI BIOLOGICI

ALTRE TERAPIE

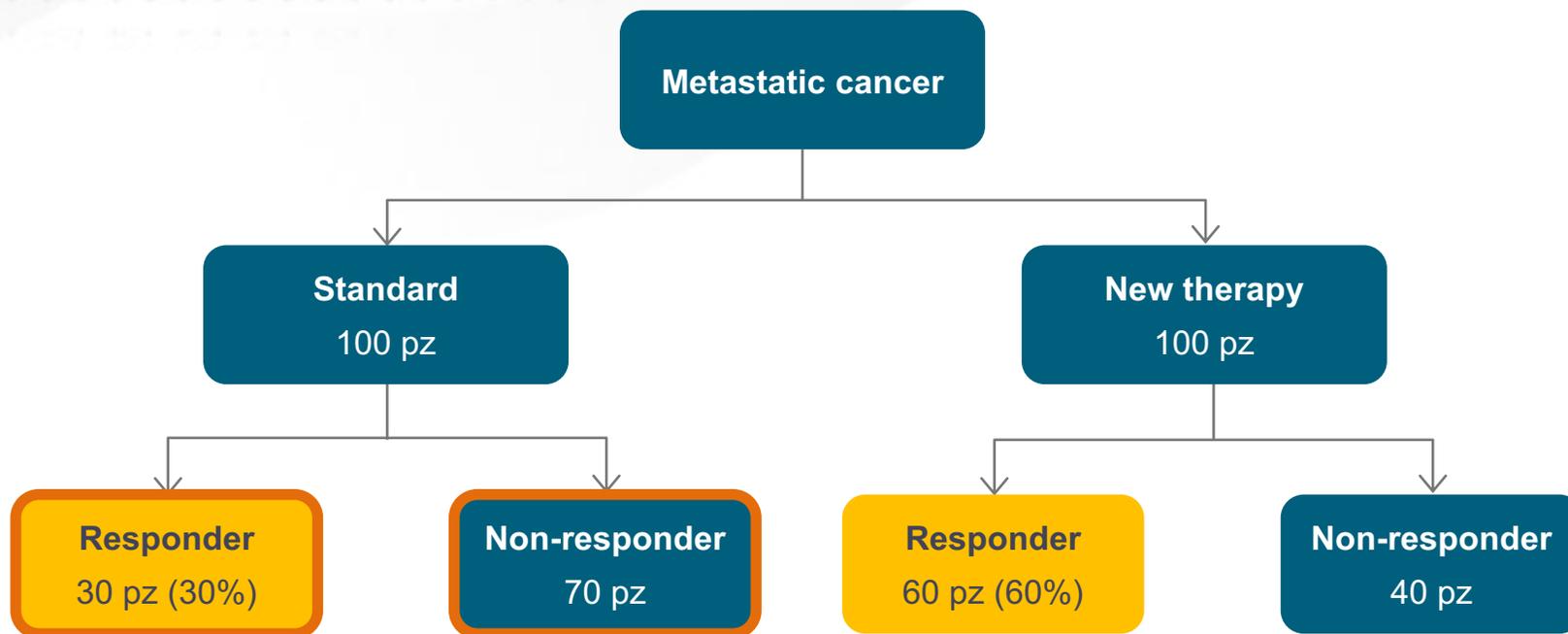
CROSS OVER

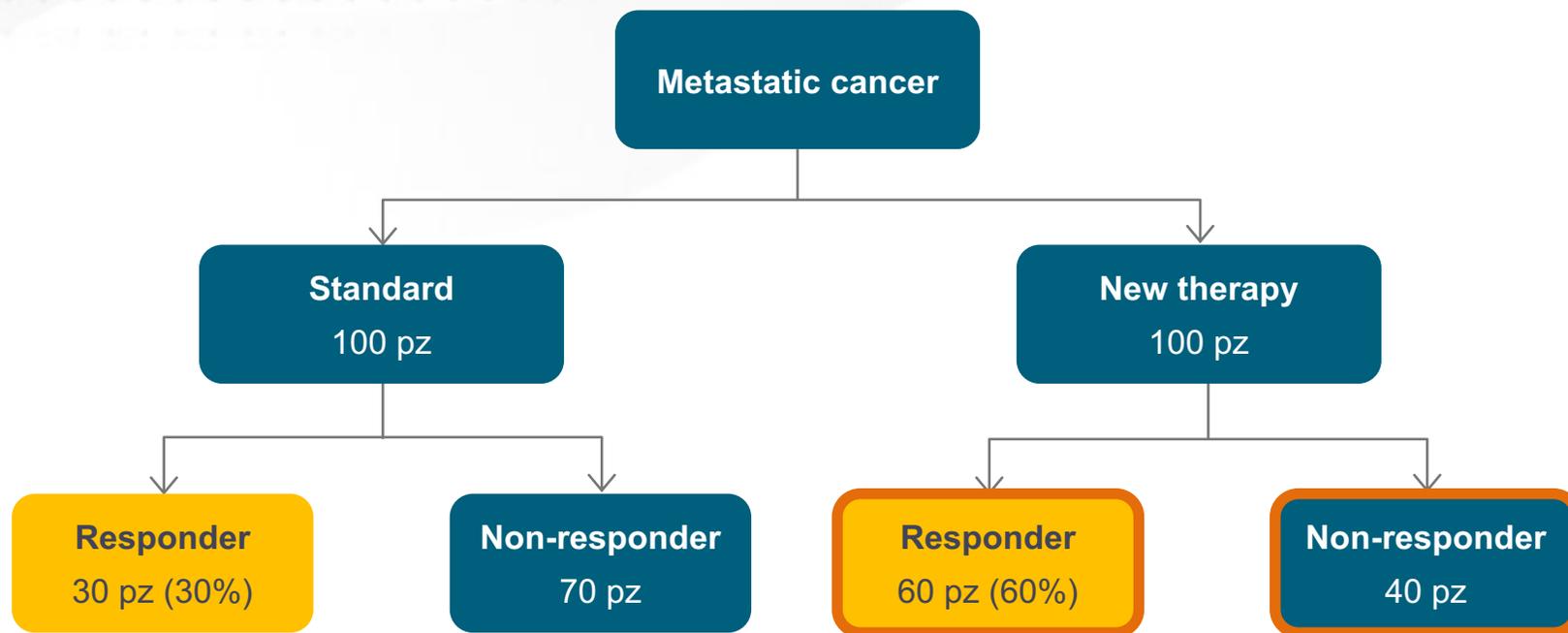


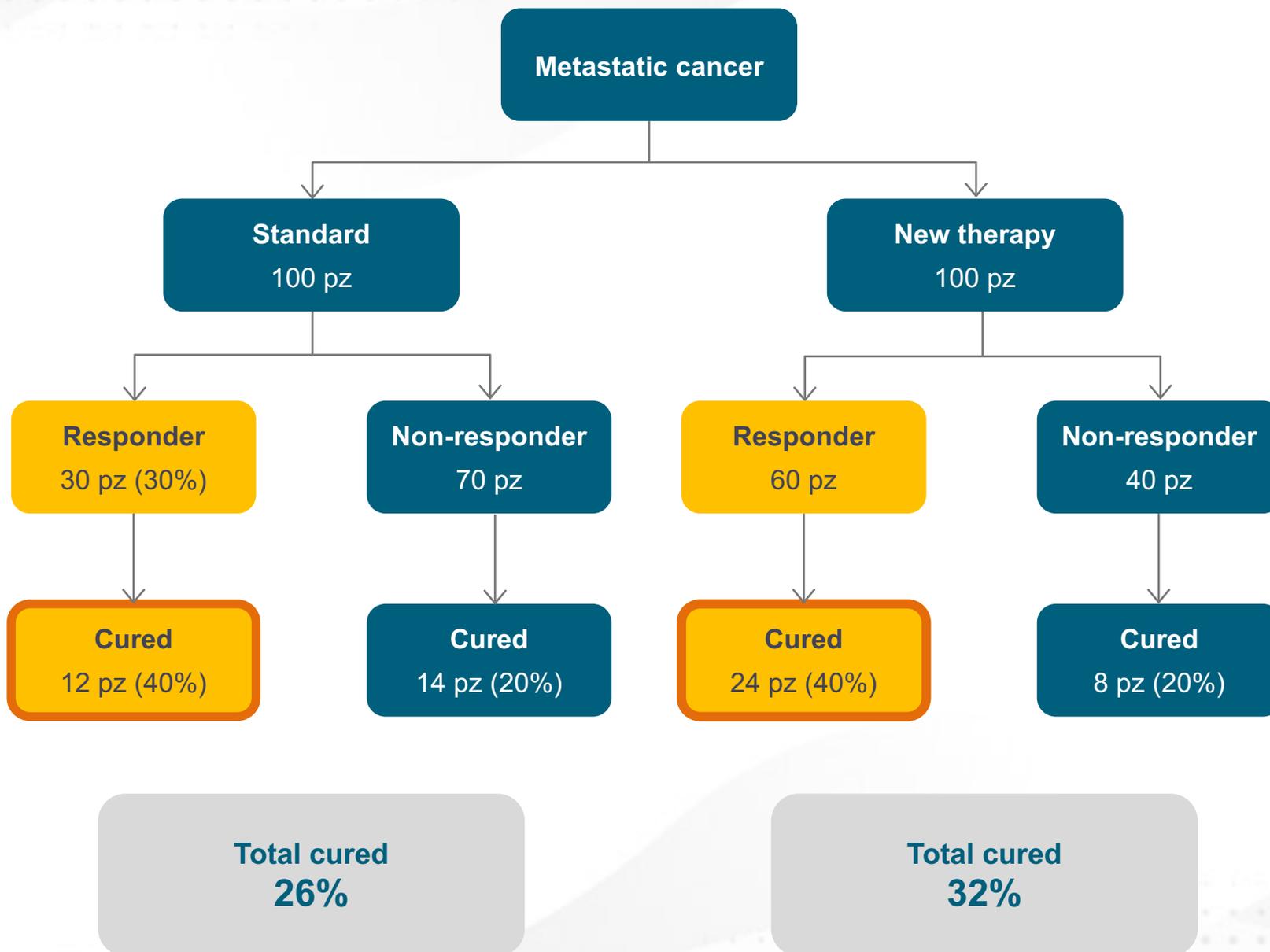
Perché è così vantaggioso utilizzare endpoint surrogati?

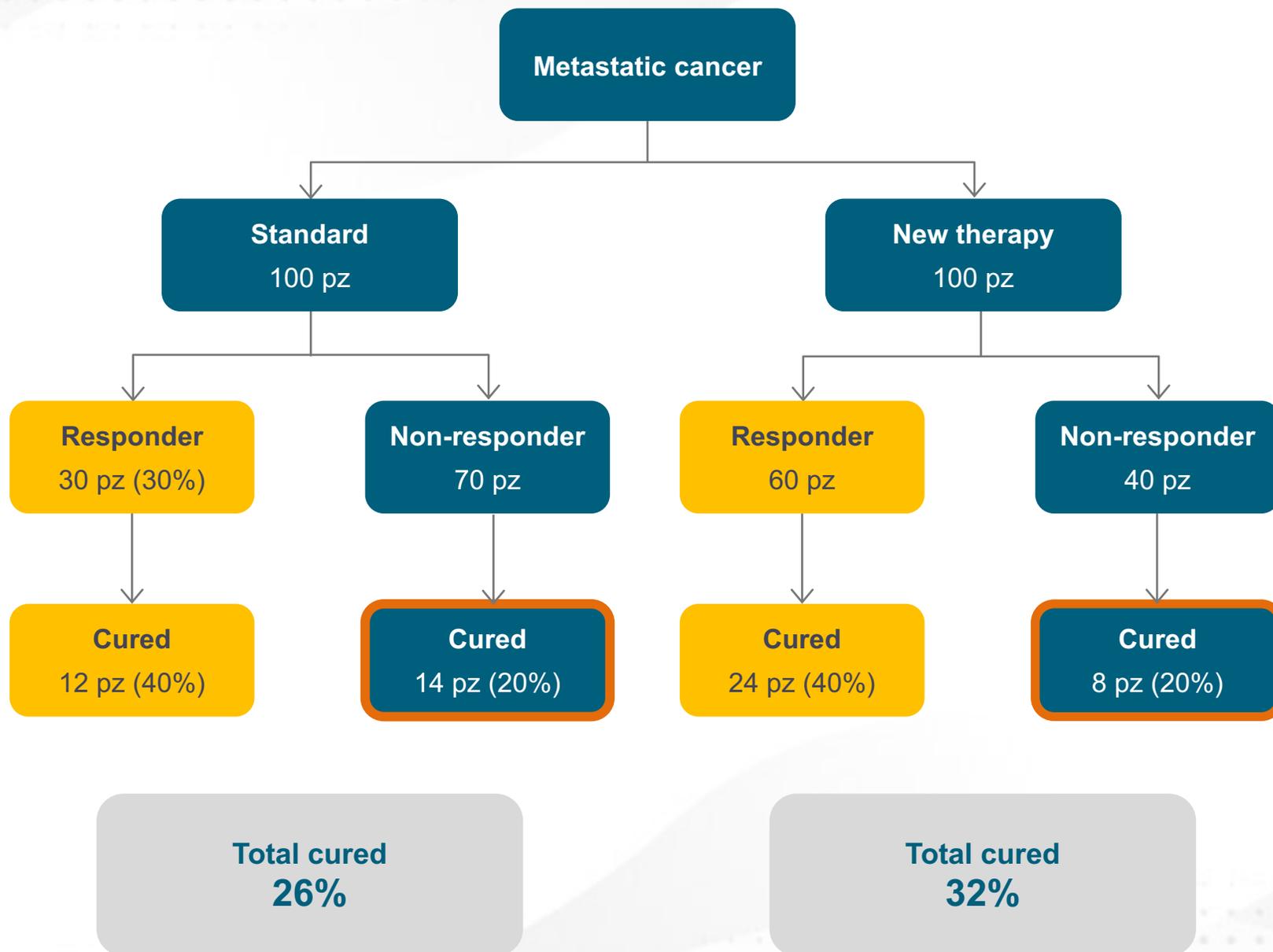
- ▶ Per abbreviare il tempo alle analisi ad interim e finale (più eventi)
- ▶ **EFFETTO PIÙ FORTE!** ➤ **Diluizione statistica**
 - Per motivi aritmetici l'effetto su un endpoint surrogato **VALIDO** è **sempre più marcato**
 - Più potenza e apparente "rilevanza clinica"











Diluizione

- ▶ Numero di pazienti che è necessario inserire in studio per valutare con potenza = 80% se il trattamento sperimentale porta
 - da 30 a 60% la % di risposte: = **98 pazienti**

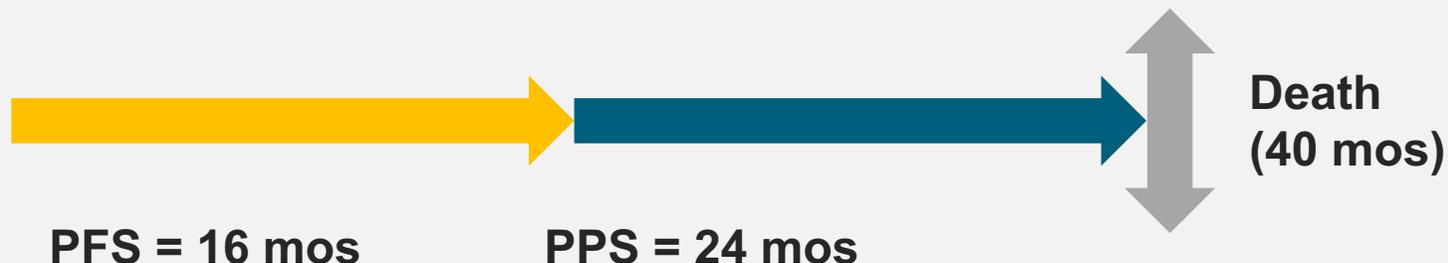
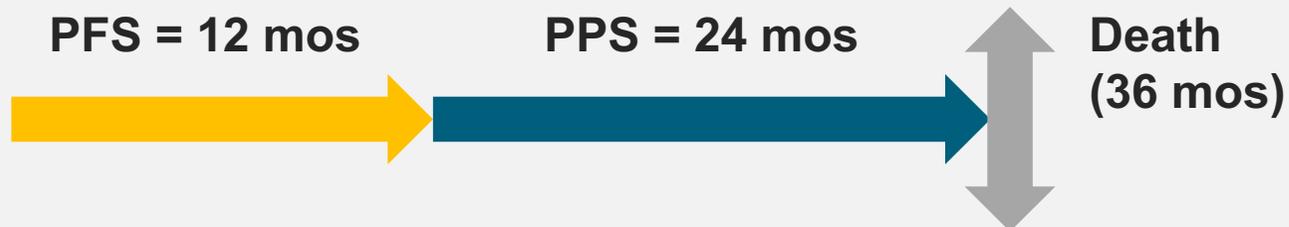
(Il trattamento raddoppia la % di risposte)

- da 26 a 32% la % di guarigioni: = **1800 pazienti**

(Il trattamento aumenta del 6% le guarigioni)



From PFS to OS: Dilution!



$$\text{HR PFS} = 12/16 = 0.75$$

$$\text{HR OS} = 36/40 = 0.9$$



Nota bene

- ▶ **PFS: HR = 0.75**
 - Per power 80% necessari 385 eventi
- ▶ **OS: HR = 0.9**
 - Per power 80% necessari >2000 eventi

Con 385 eventi power $\approx 15\%$

(quando 385 eventi PFS, eventi OS $\ll 385$)



Conseguenze

- ▶ Per effetti moderati sulla PFS è molto facile non osservare effetti significativi sulla OS, **anche se questi effetti esistono e sono quelli predetti dall'effetto sulla PFS**

(= PFS SURROGATO VALIDO)

- ▶ Per osservare un effetto sulla OS, necessario effetto molto forte sulla PFS



From PFS to OS: Strong effect needed to see effect on OS



HR PFS = 0.5

OS gain = 12 mos
HR OS = 0.77

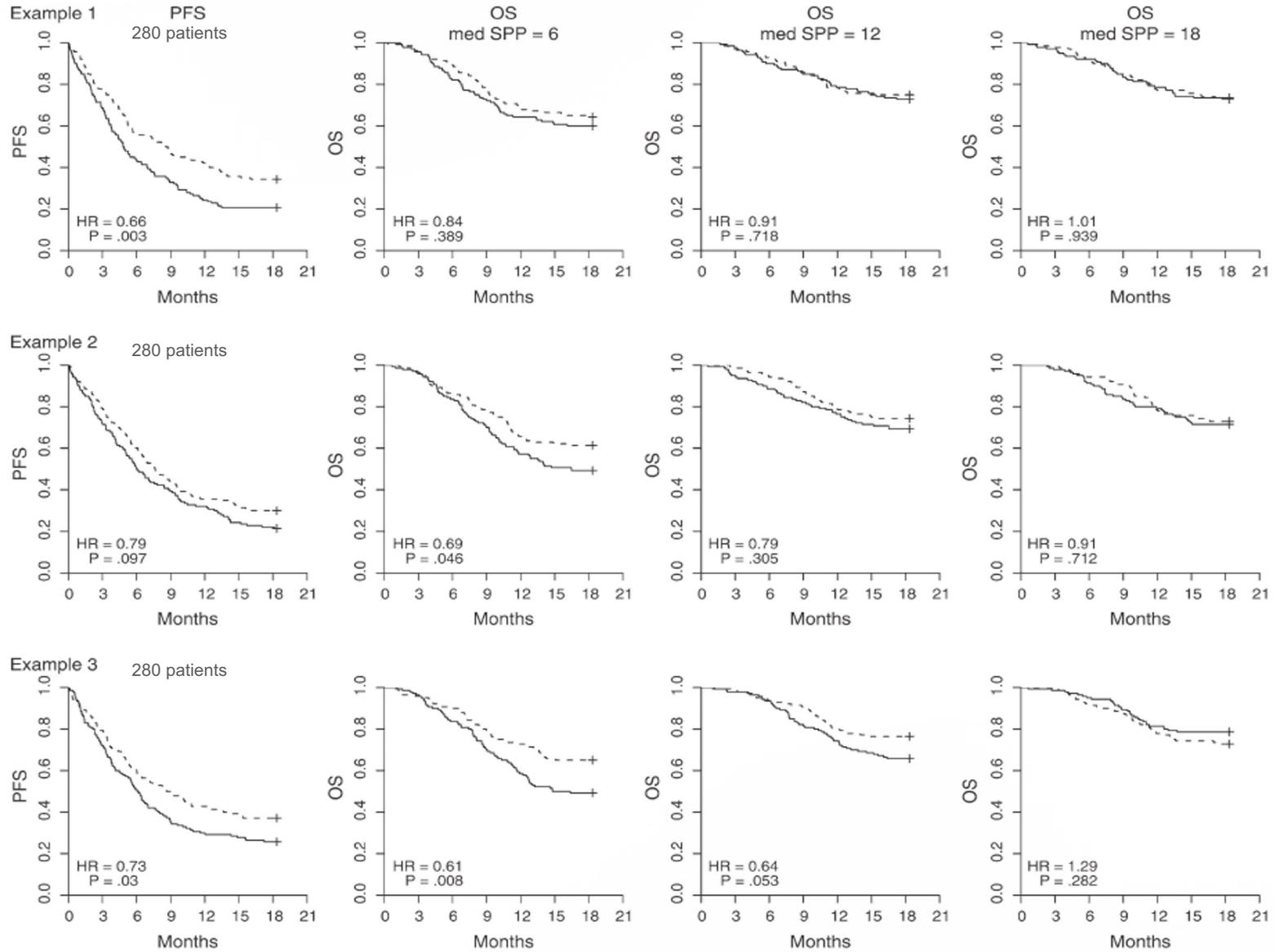


Motivi per cui effetto su PFS > effetto su OS (terapie targeted)

► **DILUIZIONE STATISTICA**

- Poco studiata dal punto di vista statistico
- Sicuramente presente: sopravvivenza post-progressione in media 2-3 volte PFS, ma molto più variabile





Nota bene

- ▶ Letteratura statistica: ➤ **SIGNIFICATIVITÀ STATISTICA**
 - Differenza in endpoint surrogato: **P < 0.05** → Differenza in OS: **P?**

- ▶ Reale interesse ➤ **RILEVANZA CLINICA**
 - Effetto osservato su endpoint surrogato → **Effetto atteso su OS**



Endpoint surrogati

Per utilizzare un endpoint surrogato:

- ▶ 1. devo avere dei buoni motivi!
- ▶ 2. deve essere **validato** (o molto plausibile)

NB: La validazione è specifica per malattia e terapia



Motivi per cui effetto su endpoint surrogato \neq effetto su OS?

▶ Diluizione statistica



ENDPOINT SURROGATO VALIDO

▶ **Cross over**

▶ Effetti biologici

▶ Altre terapie



Cross over

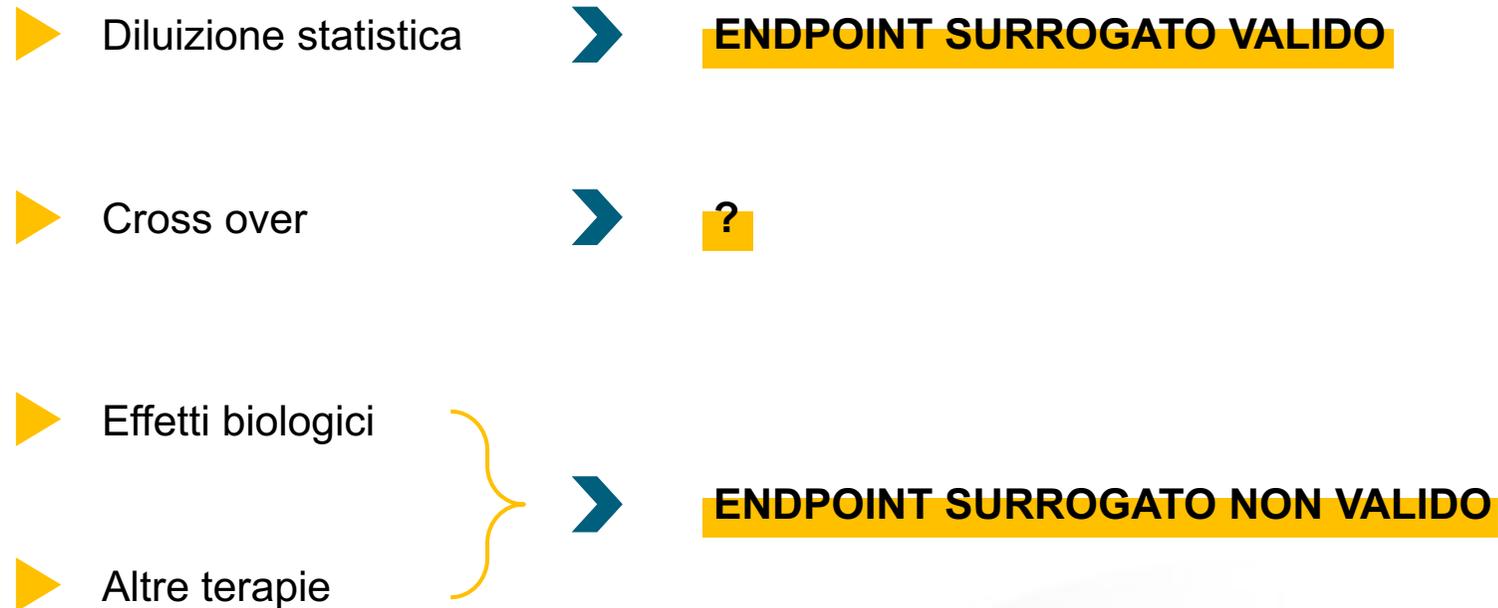
- ▶ Farmaco di efficacia dimostrata in seconda linea:
non etico lo studio SENZA cross over (studio di sequenza)
(es. trial di immunoterapici in prima linea)
- ▶ Nuovo farmaco di efficacia non dimostrata:
 - cross over non necessario
 - se efficacia molto plausibile, RCT etico?
- ▶ Sempre: se cross over <20–30%, effetto modesto sui risultati del trial

Cross over

- ▶ Metodi statistici per “correggere” per il cross over: elevato rischio di bias
→ da proscrivere
- ▶ Se studio di sequenza con cross over programmato o permesso, **ORR e PFS1 di nessun interesse**
- ▶ In questi casi PFS2 (sopravvivenza fino alla 2nd P) interessante, ma problemi di raccolta dati, classificazione e interpretazione



Motivi per cui effetto su endpoint surrogato \neq effetto su OS?



Effetti biologici e altre terapie

- ▶ Effetto su patologie/segni benigni e non su malattia
 - antiaritmici nel MI
 - contraccettivi orali nel BBD
 - PSA nel carcinoma prostatico
- ▶ Selezione di cloni cellulari aggressivi
- ▶ Selezione di cloni cellulari resistenti alle terapie successive
- ▶ **Efficacia della stessa terapia dopo progressione/recidiva (immunoterapia adiuvante?)**
- ▶ Limitate possibilità terapeutiche a progressione per tossicità cumulative

Nota bene

Utilizzando un endpoint surrogato non valido

- ▶ Studi falsamente positivi
- ▶ Studi falsamente negativi
- ▶ **Impossibilità di stimare l'effetto del trattamento sull'endpoint vero**



Validità e validazione di un endpoint surrogato

VALIDITÀ

Proprietà intrinseca dell'endpoint surrogato per cui in base all'effetto sull'endpoint surrogato è possibile predire l'effetto sul vero endpoint

VALIDAZIONE

Dimostrazione della validità



Requisito fondamentale di un endpoint surrogato

La correlazione tra terapia e outcome deve essere "assorbita" dall'endpoint surrogato



Validità

- ▶ Specifica per trattamento e malattia
- ▶ Sensibilità agli effetti del trattamento
- ▶ Possibilità di predire il true endpoint in base all'endpoint surrogato indipendentemente dalla terapia



Validazione di endpoint surrogati

**PRENTICE'S
CRITERIA**

(Individual level surrogacy)

**META-ANALYTIC
APPROACH**

(Trial level surrogacy)



Nota bene

- ▶ Un endpoint surrogato può essere (ed è spesso) utilizzato nel singolo paziente per monitorare gli effetti di (modulare/modificare) una terapia nel singolo paziente



Esempi

- ▶ Diabete → glicemia, HBg
- ▶ Ipercolesterolemia...
- ▶ Ipertensione, anti-ipertensivi, PA
- ▶ HIV, terapie antivirali, CD-vari
- ▶ Artrite reumatoide e dolore?
- ▶ Markers ematologici nelle leucemie/linfomi?
- ▶ **Tumore avanzato (chemioterapia), RO?**
- ▶ **Tumore operabile/operato?**

Nota

- ▶ Un endpoint surrogato può essere utilizzato nel singolo paziente per monitorare gli effetti di (modulare/modificare) una terapia nel singolo paziente
- ▶ I requisiti per l'utilizzo clinico possono essere (e sono) molto meno stringenti di quelli richiesti per l'utilizzo nei trial di fase 3



Validazione degli endpoint surrogati utilizzati nella pratica clinica: priorità di ricerca

PROBLEMI METODOLOGICI

PROBLEMI ORGANIZZATIVI

PROBLEMI ETICI

STRUMENTI PER LA DECISIONE CLINICA



Conclusione

Nessun endpoint intermedio (marker, indicatore epidemiologico, ecc.) dovrebbe essere utilizzato per trarre conclusioni su un parametro differente (es. sopravvivenza = quality of care) senza una **discussione** della sua **validità** nel caso specifico

