



Școala din vacanță

20-22 Februarie 2023

BIOMARKERII

speranță și provocare

de la cercetare la practica clinică

CSII Dr. Elena CODRICI

Laborator Biochimie-Proteomică

Vom discuta despre

- Proteomică
- Platforme proteomice
- Aplicabilitatea proteomicii în medicină
- Cum poate proteomica să răspundă nevoilor medicinei de precizie
- Aplicații clinice - testul CancerSEEK and destroy

biomarker = *biological marker*

Stadiul bolii

- predicție/predispoziție
- detectie
- diagnostic
- prognostic
- monitorizare

Molecule analizate

- ADN/gene
- ARN
- **proteine**
- metaboliti

Metode

- histologici – IHC (celule, hormoni etc)
- imagistici (PET, CT)
- teste de laborator (ELISA, tehnologii omice)
- citologici

DOGMA CENTRALĂ A BIOLOGIE MOLECULARE

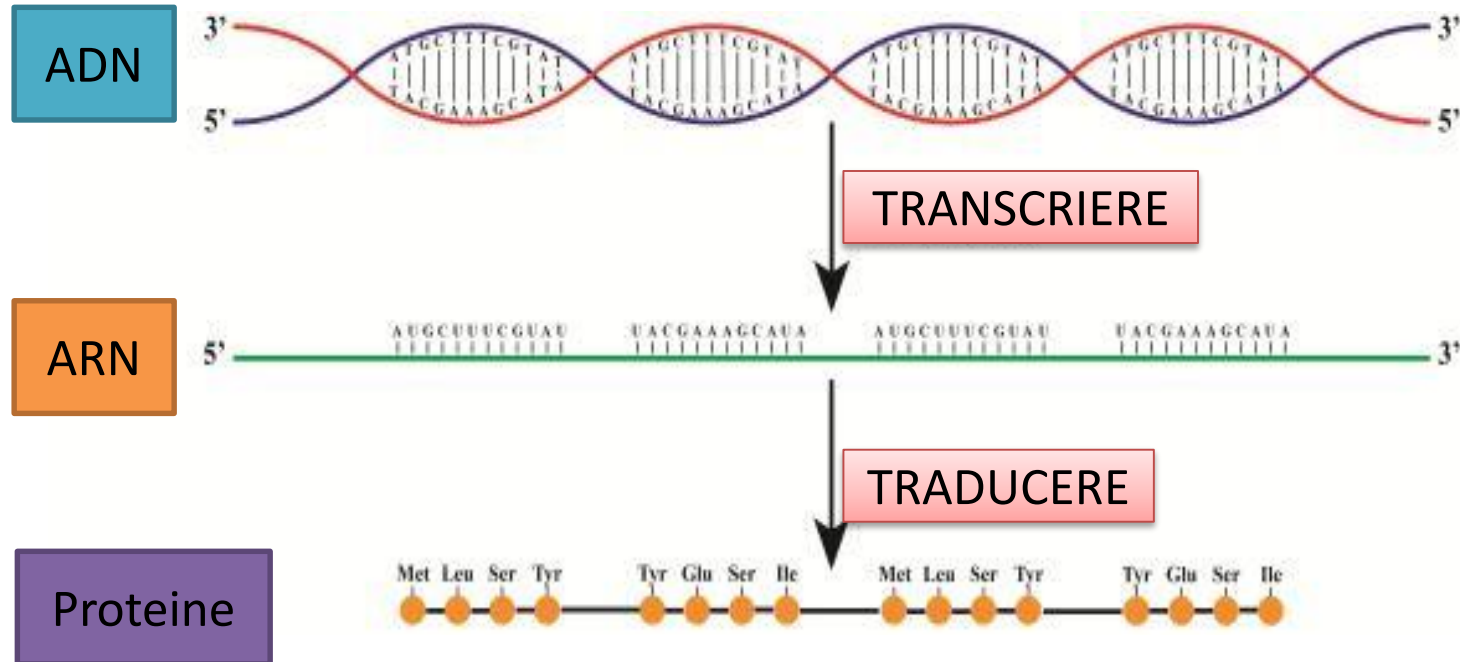
Fluxul informațional

Nivel
conceptual

Genă

Mesaj

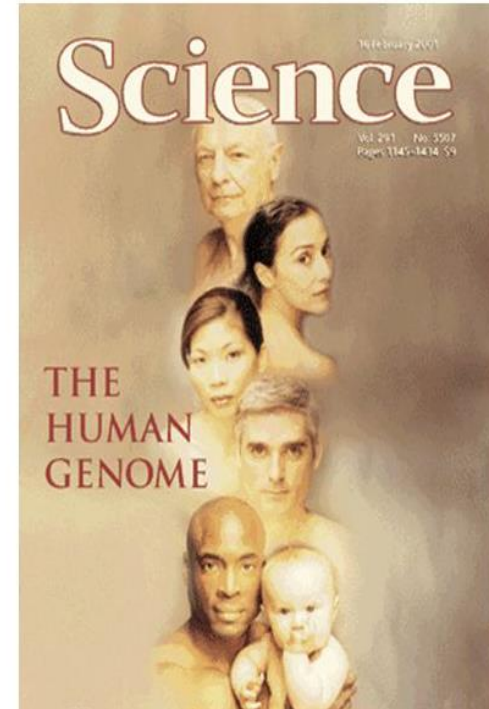
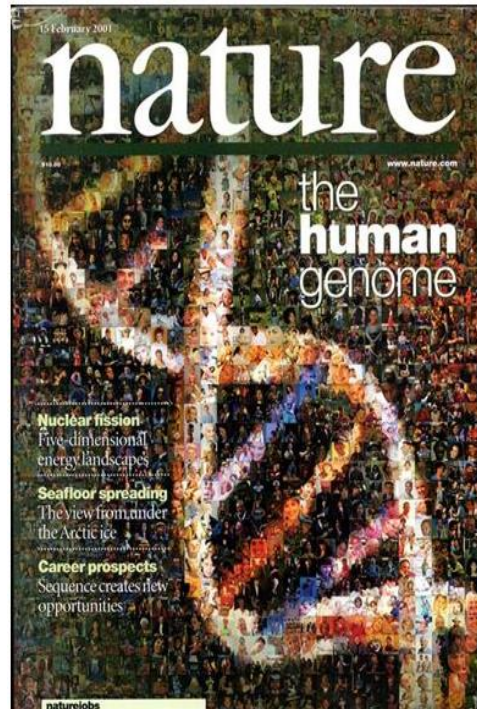
Funcție



<https://science-explained.com/theory/dna-rna-and-protein/>

Proiectul Genomul Uman

- 1990 – 2003 (13 ani)
- primul draft publicat în februarie 2001
- secvențiate regiunile eucromatice ale genomului (92,1% din genomul); regiunile heterocromatice (centromeri și telomeri) nu au fost secvențiate.
- 2009, lansată o versiune mai precisă a genomului uman, dar cu 300 de gaps
- 2015 - 160 gaps
- 2021 - 5 gaps in DNA ribozomal



OMICS Mania

'Postgenomics' – The Age of Omes

GENOMICA

Studiul ADN-ului total dintr-o celulă/organism

TRANSCRIPTOMICA

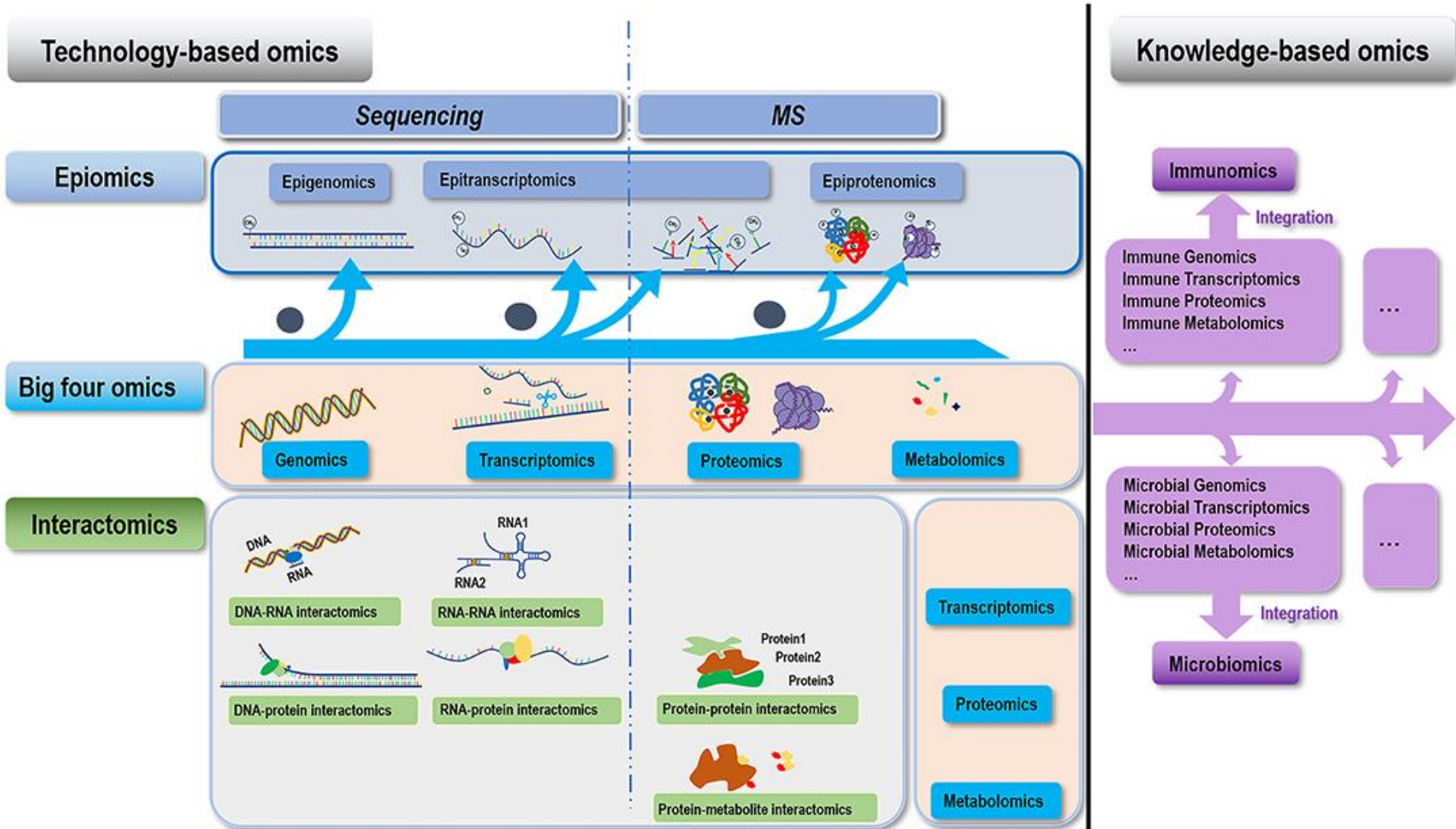
Studiul tuturor moleculelor de ARN dintr-o celulă

PROTEOMICA

Studiul proteinelor exprimate într-o celulă/țesut

METABOLOMICA

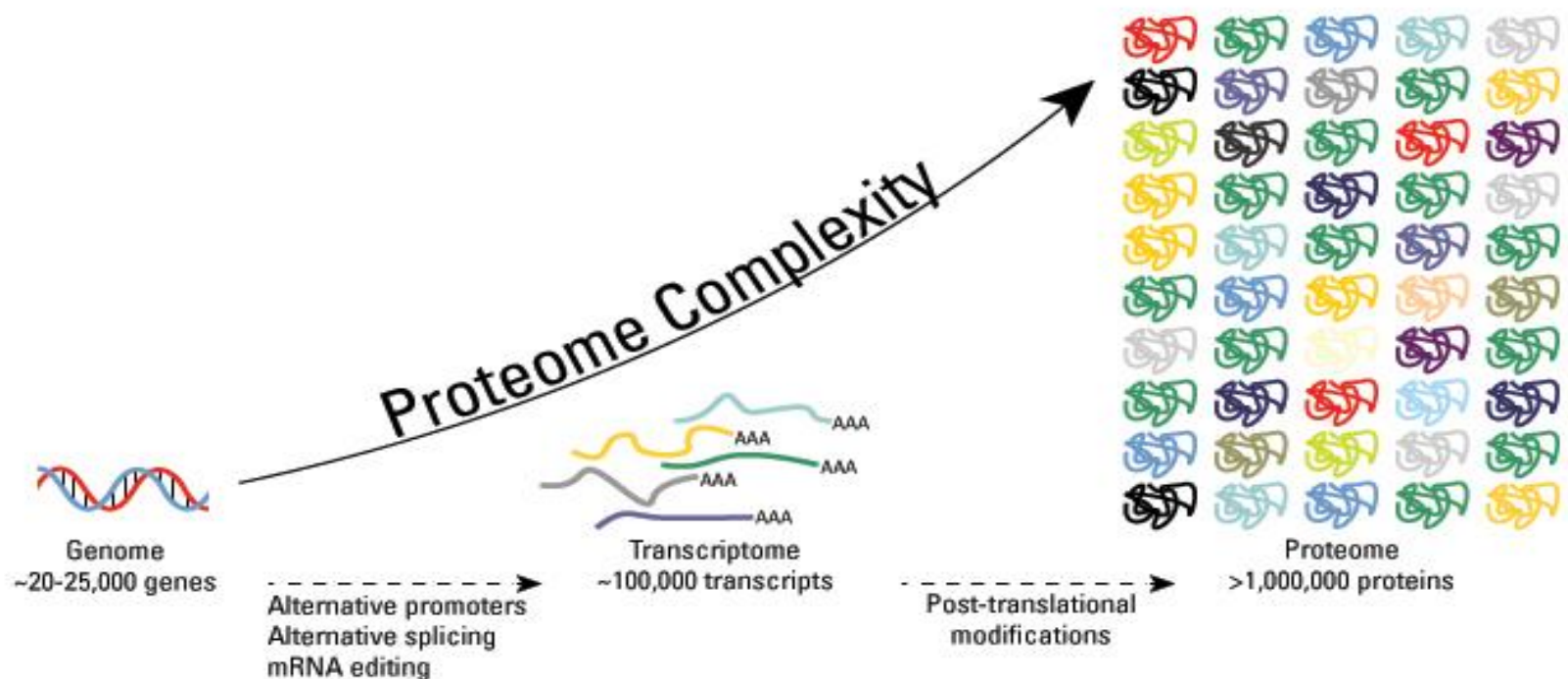
Studiul metaboliților (produse finale ale proceselor celulare) din celulă/ țesut



<https://doi.org/10.3389/fmed.2022.911861>

PROTEOMICA

- Termenul **PROTEOM** introdus de **Marc Wilkins *et al* 1996** - ***“the total **PROTE**in complement of a gen**OME**”***.
- ***proteomul reprezintă conținutul total de proteine al unui organism sau al unei celule la un moment dat, în anumite condiții de mediu, Friederich Lottspeich***

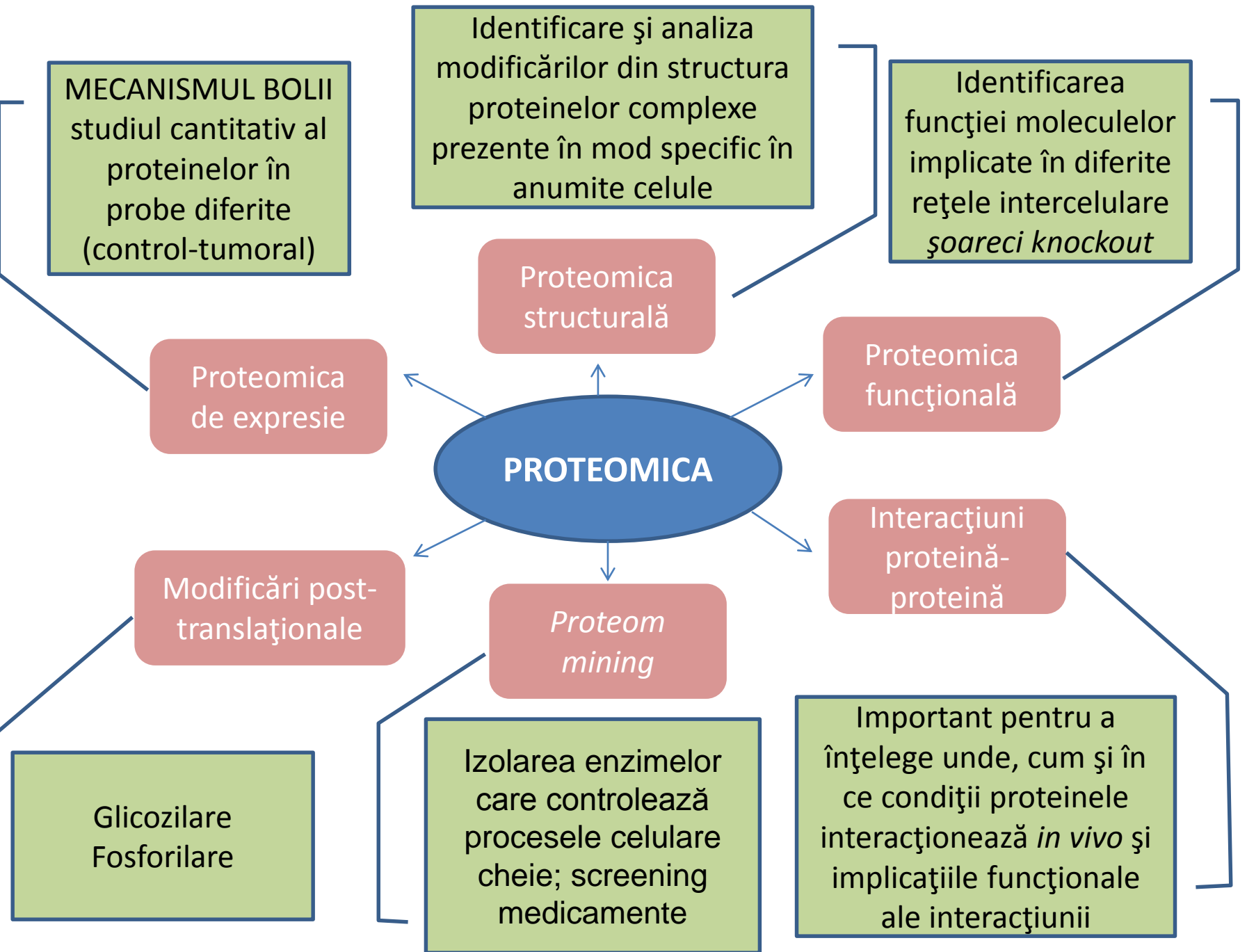


Complexitatea proteomului în comparație cu genomul ...

GENOMUL RĂMÂNE ACELAȘI



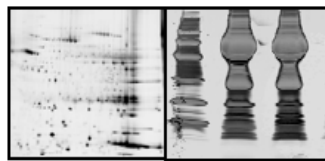
**PROTEOMUL SE
MODIFICĂ**



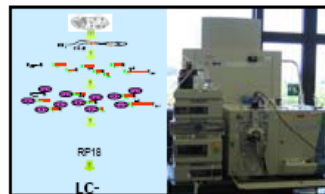
Platforme

Etape și tehnologiile corespunzătoare utilizate în studiul biomarkerilor

PROFIL



Electroforeza în gel – separarea în 1-2 dimensiuni, sensibilitate crescută, probe multiple, fluxuri de lucru standardizate



Separare cu marcarea – nivel: proteine, peptide; separare în cromatografie lichidă multi-dimensională, sensibilitate crescută, probe multiple

IDENTIFICARE

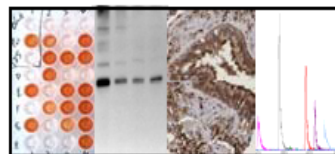


Spectrometrie de masă – identificarea masă, LC-MS, MALDI-ToF/TOF, identificare și cuantificare de peptide, proteine



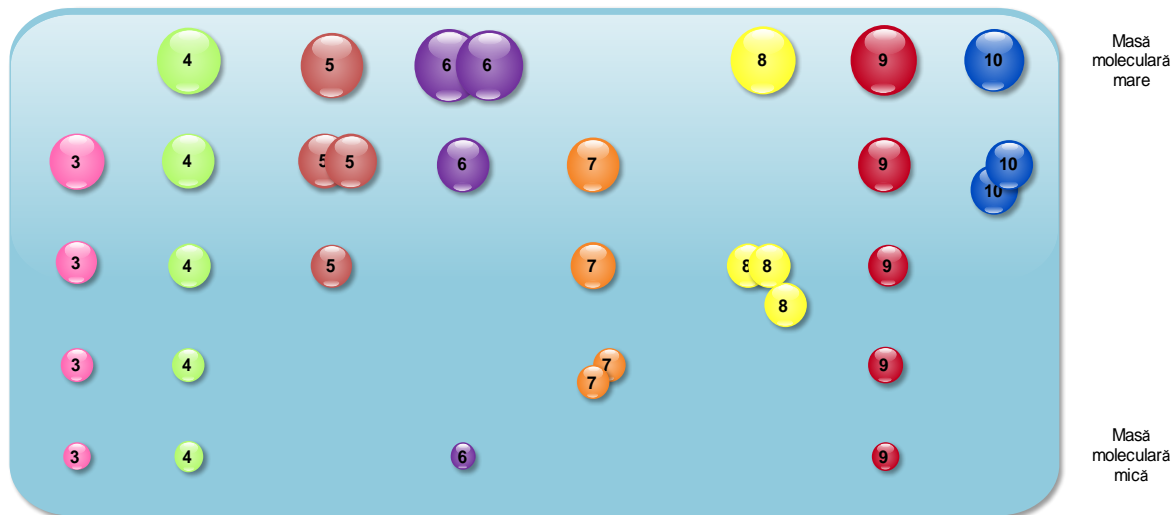
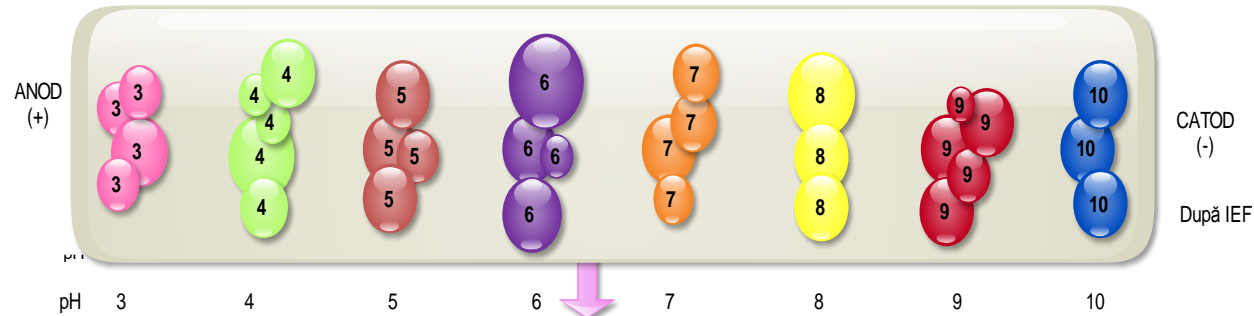
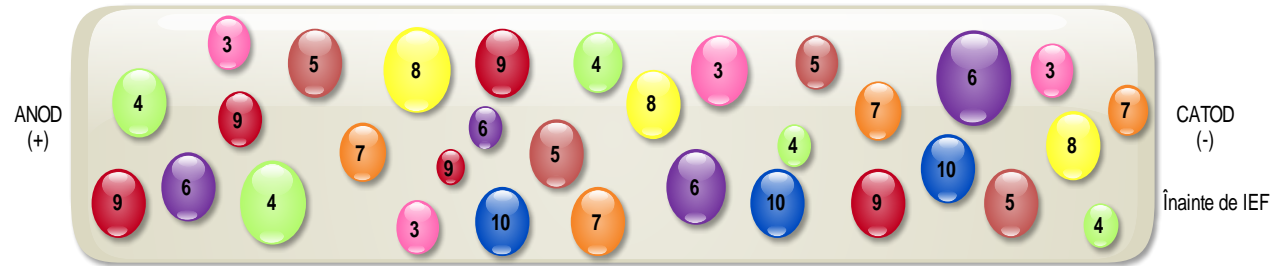
Bioinformatica – identificarea expresiei diferențiate a proteinelor, analiza statistică

VALIDARE



Dezvoltare test – de tip imunoanaliză (ELISA; IHC etc)

2D/2D-DIGE



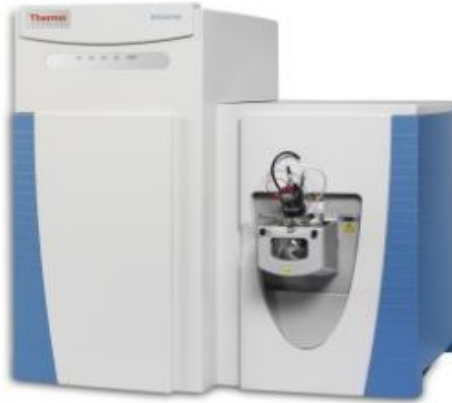
**Focalizare
izoelectrică**

**Separarea
proteinelor în gel
SDS-PAGE**

Sisteme de spectrometrie de masă moderne



Orbitrap



Q-Exact



Triple Quadrupole

Discovery/Global Experiments

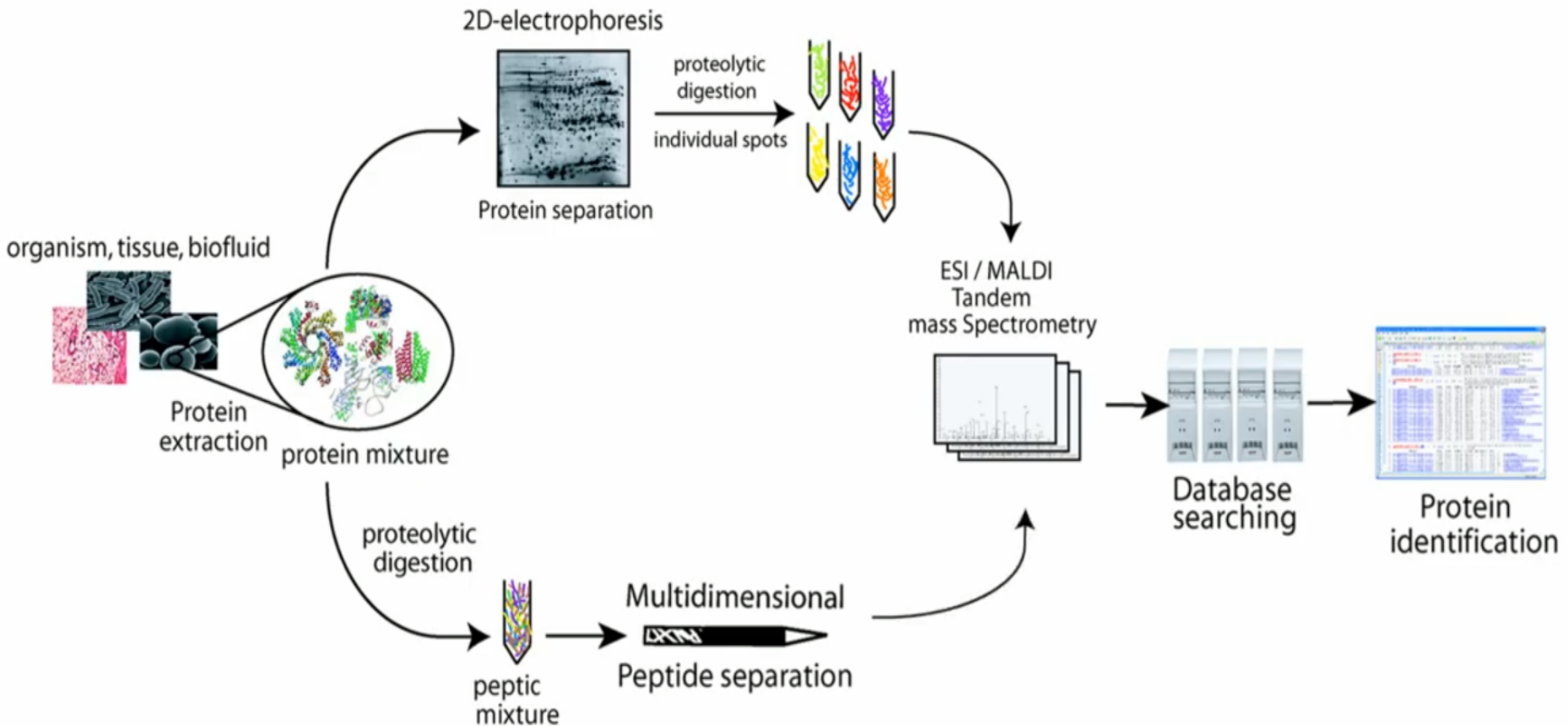
Targeted MS

Sistemele MS utilizate în proteomică au 4 funcții:

- Ionizarea moleculelor
- Separarea ionilor în funcție de sarcină și masă moleculară
- Detectarea ionilor și determinarea raportului masă/sarcină
- Selectarea și fragmentarea ionilor de interes pentru a oferi informații structurale (MS/MS)

Abordări **bottom-up** versus top-down

Bottom-up proteomics



Fournier M L, Gilmore J M, Martin-Brown S A, et al. Multidimensional separations-based shotgun proteomics. Chemical reviews, 2007, 107(8): 3654-3686.

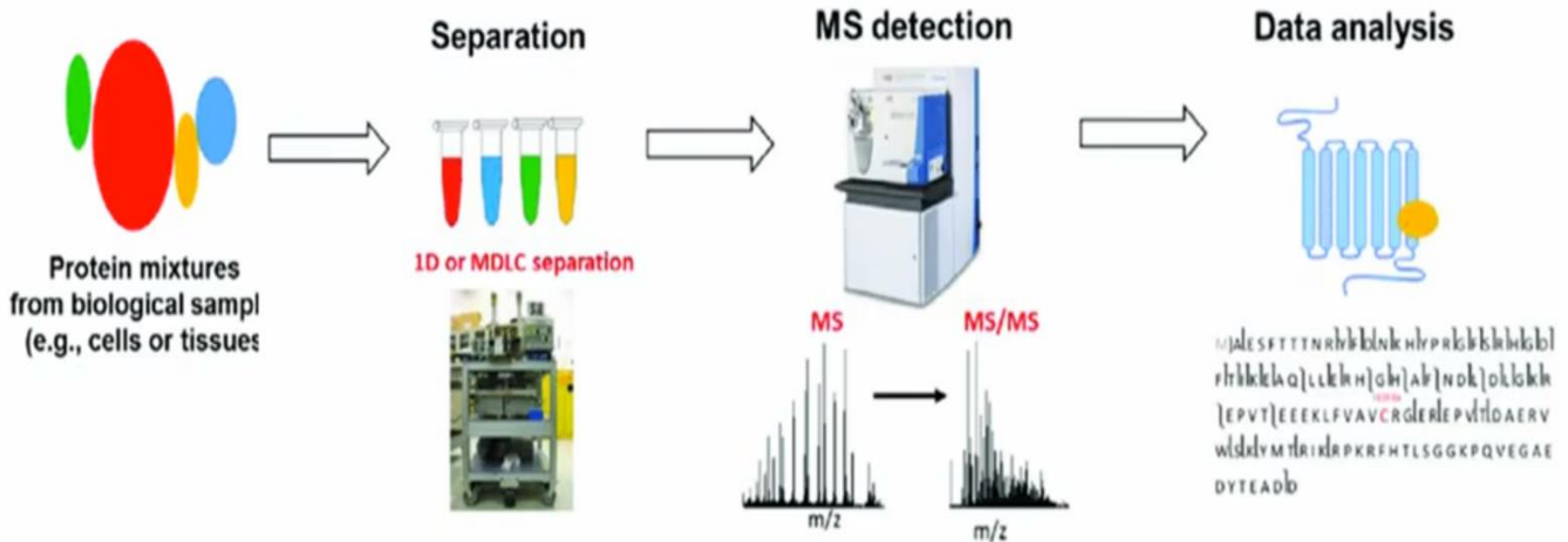
AVANTAJE

- Instrumentele de analiză nu foarte sofisticate – achiziția datelor este ușor automatizată
- Utilizatori cu un grad de specializare nu foarte înalt
- Fragmentarea cu tripsina a peptidelor este bine înțeleasă
- Disponibile software-uri fiabile pentru analiza

DEZAVANTAJE

- un amestec extrem de complex, a fost făcut de 20-100x mai complex
- acoperire limitată a secvenței de proteine prin peptidele identificate
- pierderea PTM
- ambiguitatea originii pentru secvențele de peptide redundante

Top-down proteomics



Lindon J C, Tranter G E, Koppelaar D. Encyclopedia of spectroscopy and spectrometry. Academic Press, 2016.

AVANTAJE

- posibilă acoperirea secvenței de proteine 100% => identificarea izoformelor proteice, a evenimentelor de procesare proteolitică și a PTM
- foarte utilă în cazul analizei de proteine unice sau amestecuri simple de proteine

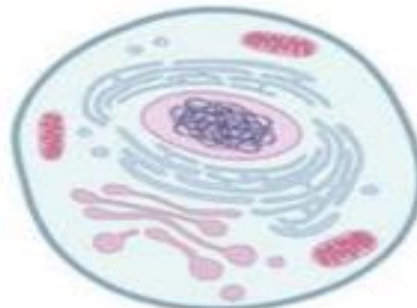
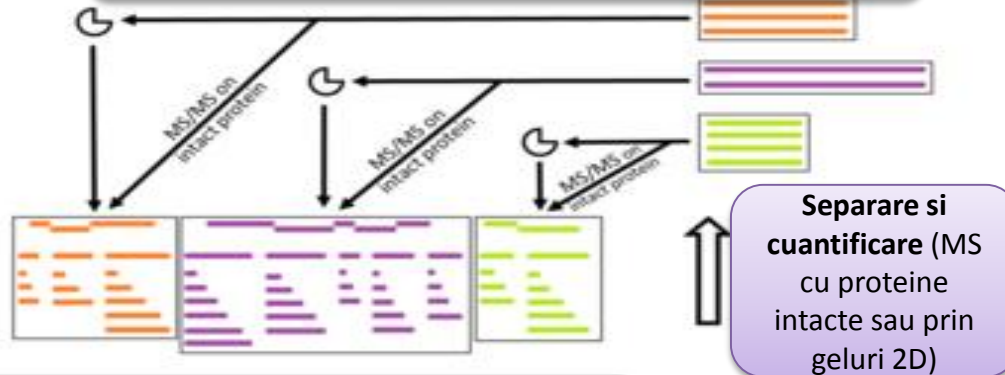
DEZAVANTAJE

- Sensibilitate și *throughput* limitate
- Necesită folosirea unor probe pure
- Proteinele insolubile nu pot fi analizate
- Echipamente foarte scumpe și utilizatorii cu grad înalt de expertiză

TOP-DOWN PROTEOMICS

Identificare MS/MS

Proteinele purificate sunt fie digerate enzimatic (geluri 2D) pt fragmentarea MS/MS sau proteinele intacte sunt fragmentate doar prin MS/MS pt a obtine secventa data pt identificare.

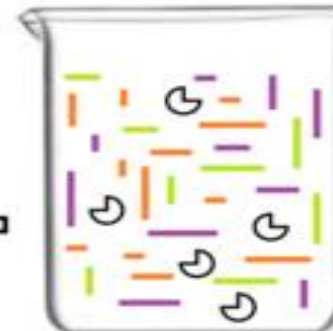


Proba biologică

Extractie proteica



Digestie enzimatica



BOTTOM-UP PROTEOMICS

Identificare MS/MS

Amestecul peptidic suferă fragmentarea MS/MS pt a obtine secventa data. Proteinele sunt identificate si cuantificate cu peptidele care au secventa unica.



Proteomica în clinică

National Institute of Health - 1989

biomarkerul/markerul biologic = „o caracteristică măsurată obiectiv, având semnificația de indicator al proceselor biologice normale, al proceselor patologice, sau care evaluează răspunsul la o intervenție terapeutică”.

Aplicabilitatea proteomicii în medicină

- Scopul final al cercetării în domeniului proteomicii este identificarea și validarea de biomarkeri **pentru screening, detecție timpurie, diagnosticul, prognosticul** diferitelor patologii, cât și pentru **evaluarea răspunsului la tratament.**

Colectarea probelor

- Protocoale standardizate de recoltare a probelor (sânge, urină, țesut, etc)
- Protocoale standardizate de stocare (proteomică, metabolomică, lipidomică)

Prepararea probelor

- Standarde de cuantificare (AQUA, Hi3, iTRAQ, ICAT)
- Extracție/digestie (solvenți organici, proteaze, săruri)

Îmbogățire analiți

- Separare cromatografică (HPLC, UPLC)
- Purificarea prin afinitate (Ac, etc)

Analiza MS/MS

- ESI MS-MS (Orbitrap, QqQ)
- MALDI-ToF MS/MS (VITEK, AXIMA)

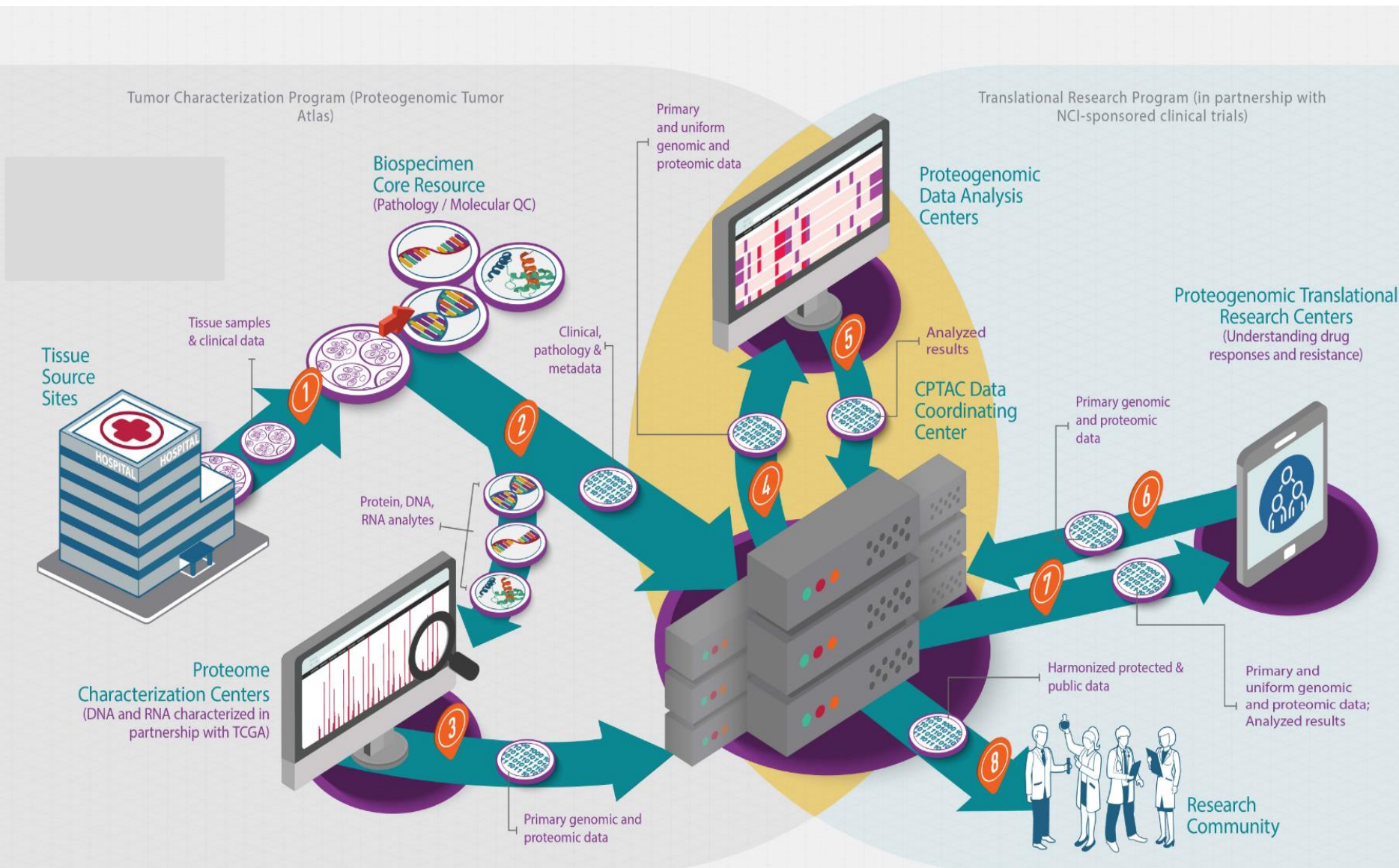
Procesarea datelor

- Cuantificare absolută sau relativă (SWATH, SRM, etc)
- Meta-analiză (PASSEL, Panorama, CPTAC, etc)

Fluxul de lucru în proteomica clinică



NATIONAL CANCER INSTITUTE Office of Cancer Clinical Proteomics Research

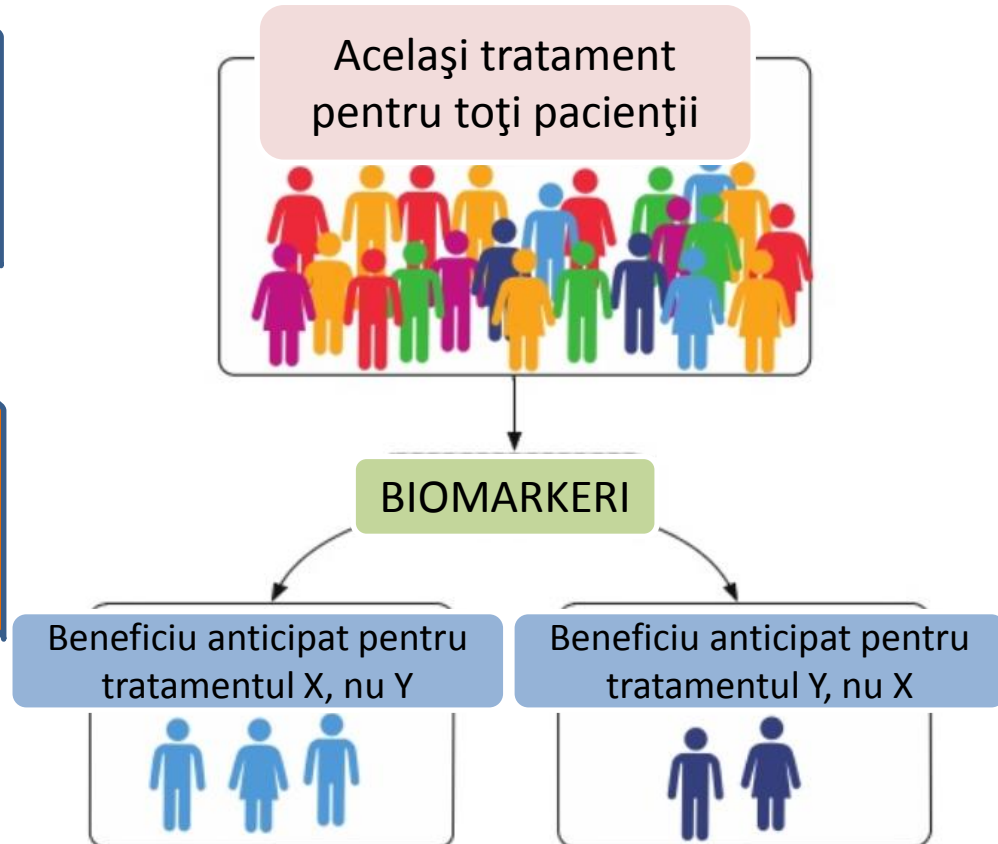


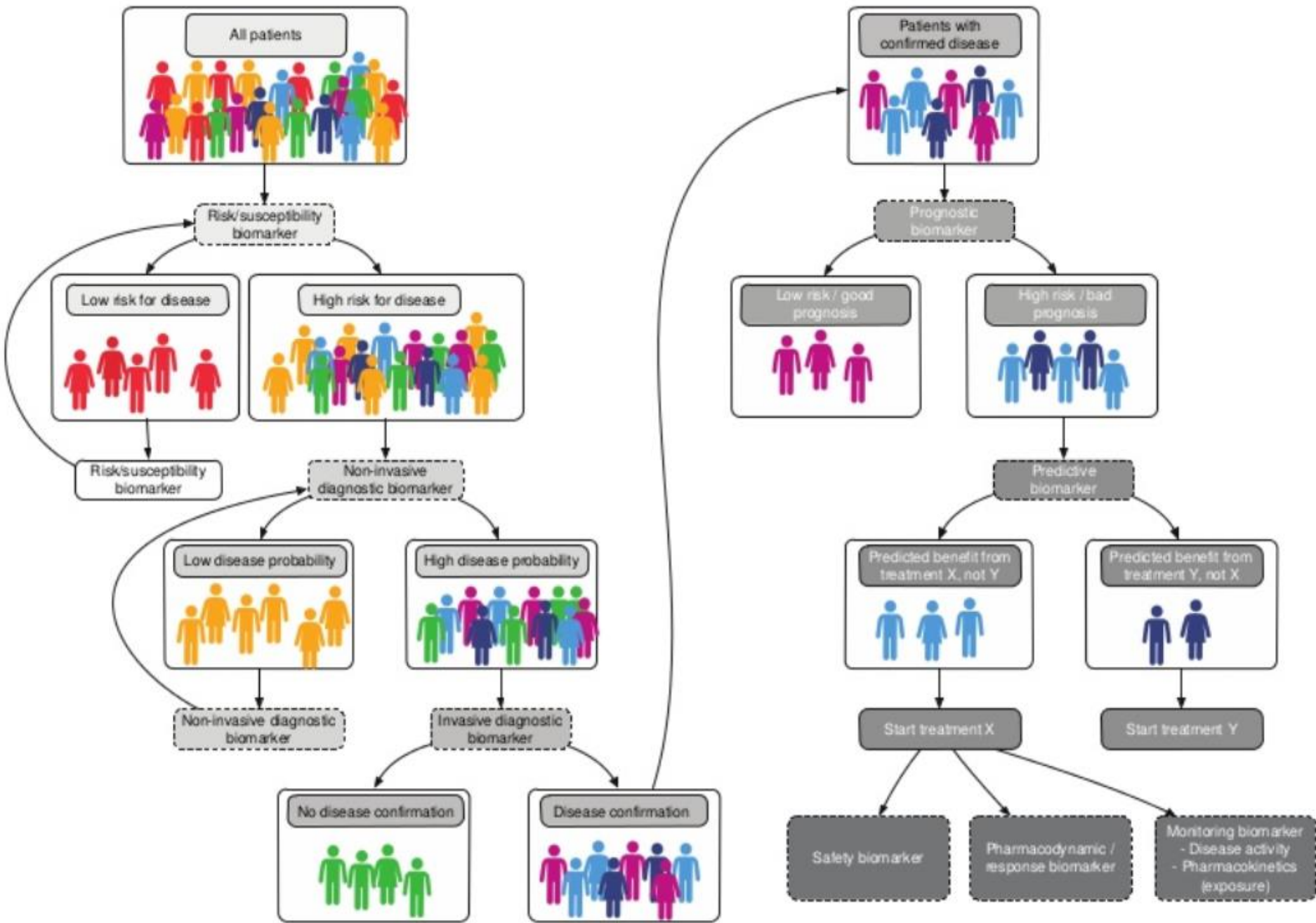
Cum poate proteomica să răspundă nevoilor medicinei de precizie

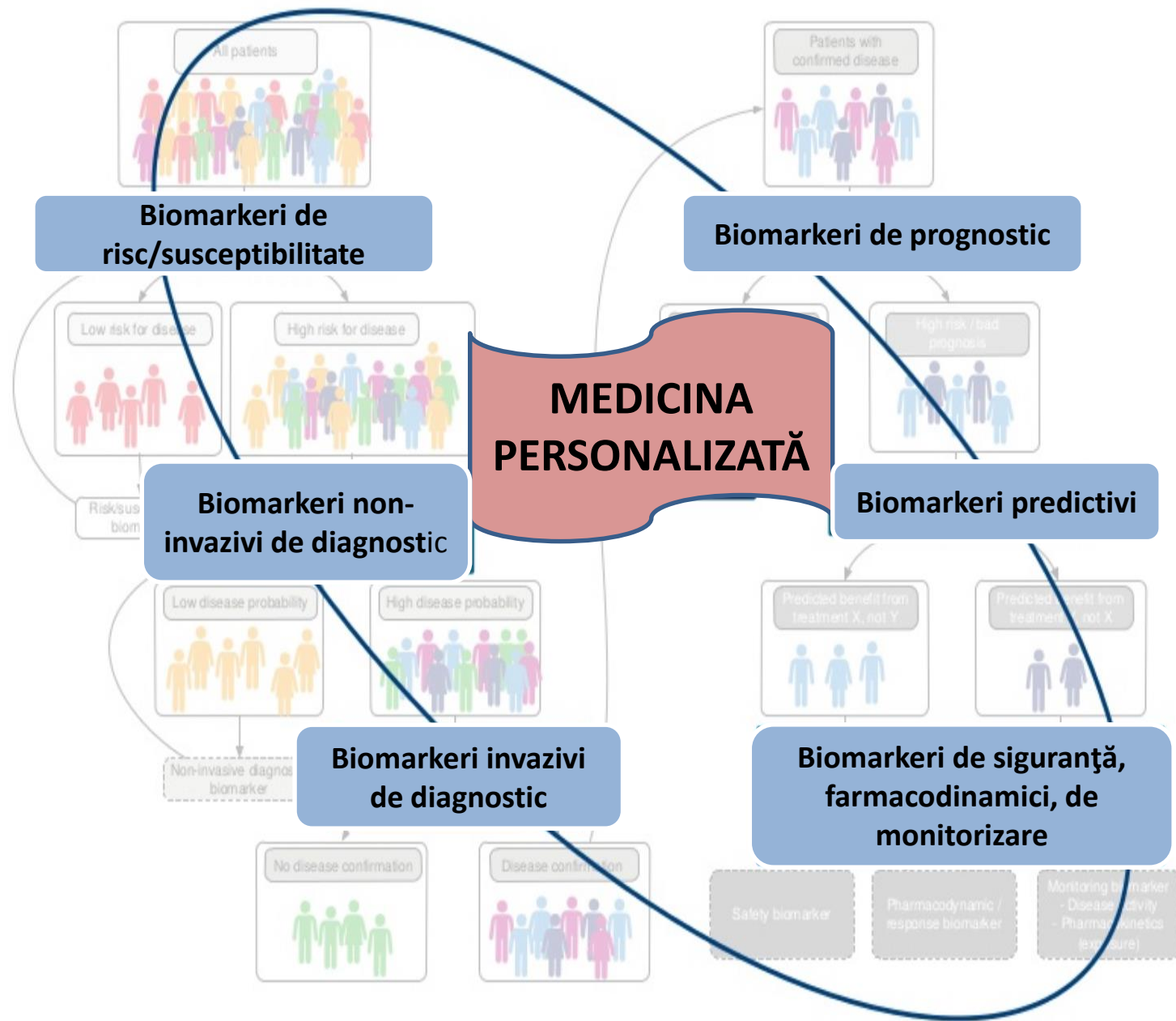
- Diagnosticul și tratamentul medical → pacientul ca individ unic
- Medicina personalizată – se bazează pe date și biomarkeri

**MEDICINA
TRADIȚIONALĂ**

**MEDICINA
PERSONALIZATĂ**







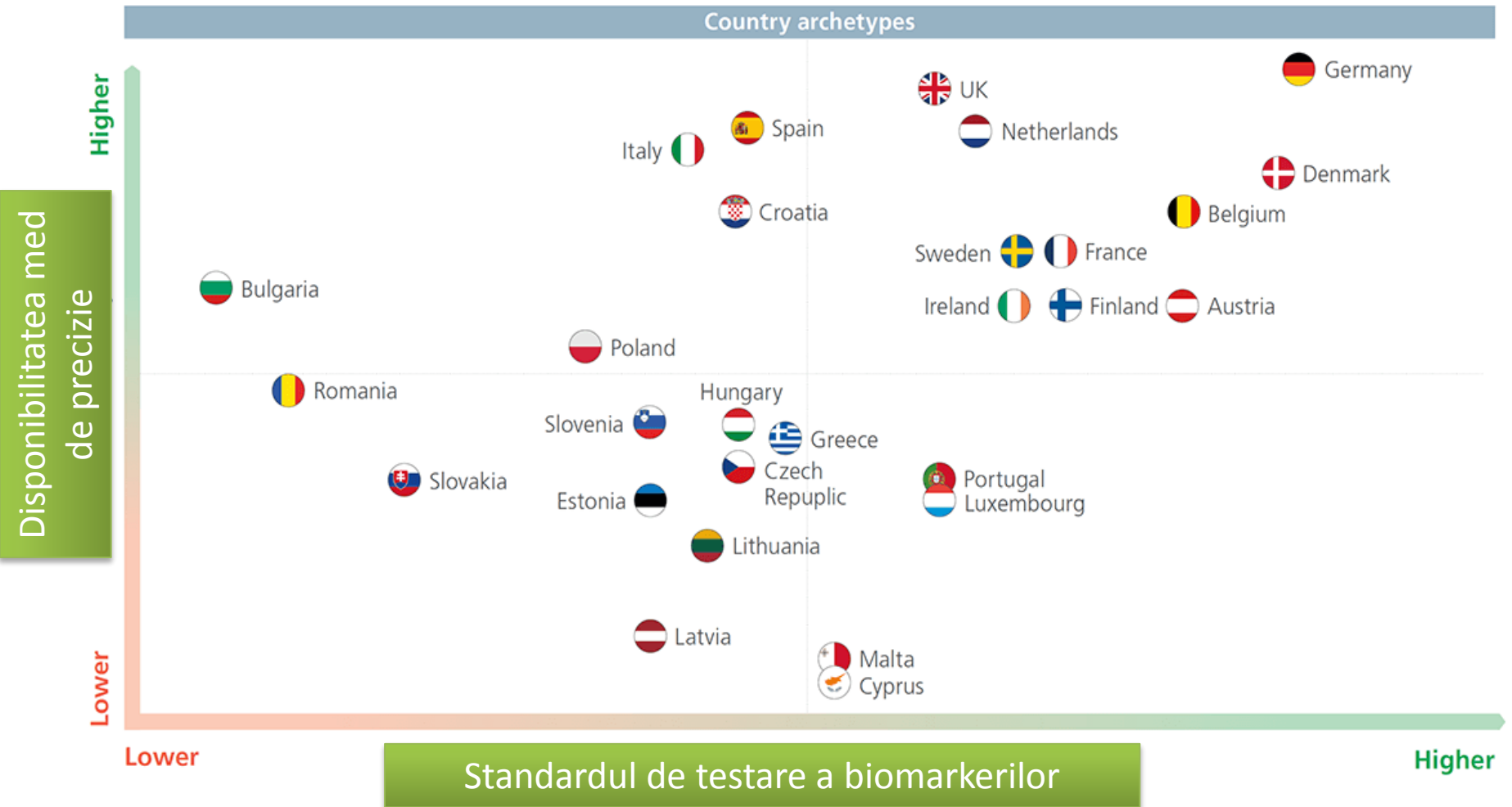
„Unlocking the potential of precision medicine in Europe”

- progresele în înțelegerea cancerului din ultimii 20 de ani au fost fundamentale, evidențiind **o mare variabilitate între pacienți, chiar și în cadrul aceluiași tip de cancer**, și subliniind necesitatea de a adapta îngrijirea cancerului la caracteristicile pacientului. *Nicola Normanno, IQN Path*
- **medicina de precizie** - o abordare medicală care utilizează sistematic datele pacienților pentru a informa deciziile de tratament personalizate, are un potențial transformator – ofertă promisiunea unor rezultate superioare ale tratamentului pentru pacienții oncologici.

<https://raportuldegarda.ro/raportul-unlocking-potential-precision-medicine-europe-acces-redus-testarea-biomarkeri-oncologie/>

- **testele de biomarkeri = instrumente** în **diagnosticul și tratamentul cancerului** – pot fi utilizate pentru a oferi *diagnostic precis* și pentru a *identifica pacienții cu cea mai mare probabilitate de a răspunde la tratament*.
- **testarea moleculară** - rol cheie în:
 - *determinarea și monitorizarea progresiei bolii* și
 - *identificarea pacienților cu risc crescut de a dezvolta o anumită patologie*.
- **accesul redus la testarea biomarkerilor în UE limitează implementarea medicinei de precizie în oncologie.**

România se află în scenariul roșu – cu un acces scăzut la medicina de precizie pentru pacienții săi oncologici



CancerSEEK and destroy

Biomarkerul /test ideal:

- detectare precoce
- abordare neinvaziva.



Our ultimate vision is a non-invasive blood-based test that can be used to screen for multiple common types of cancer



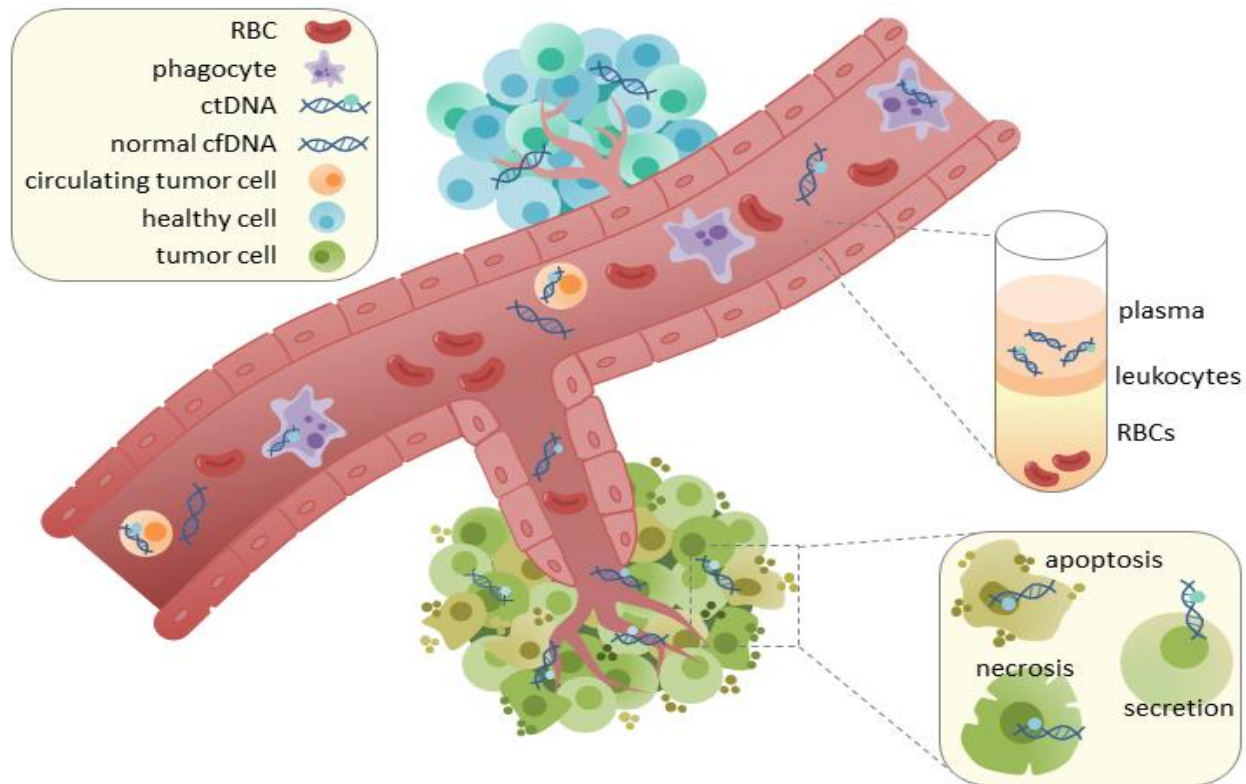
Research Highlight | Published: 06 February 2018

Diagnosis

CancerSEEK and destroy – a blood test for early cancer detection

David Killock

- **Detectarea cancerului în fazele incipiente** conduce la reducerea incidentei prognosticului nefast.
- Testele de diagnostic existente (pentru cancer) sunt **invazive** (biopsie)/costisitoare și se focusează pe **un singur tip de cancer.**



ADN-ul tumoral circulant (**ctDNA**) se găsește în fracțiunile **serice și plasmatică** din sânge.

Mecanismul eliberării ctDNA nu este cunoscut, deși au fost propuse ca ipoteze **apoptoza, necroza** sau **secreția** activă din celulele tumorale.

Odată ce ctDNA este izolat, poate fi secvențiat pentru **analiza genetică (mutații)**.

CancerSEEK

Test combinat (bazat pe **genomică** și **proteomică**)

are capacitatea de a identifica prezenta cancerului *relativ timpuriu* și de a *localiza* organul de origine al acestor cancere.

Designul testului CancerSEEK

Prima componenta a testului – modificările genetice

- Multiplex-PCR – evaluare simultană a mai multor mutații driver (oncogeneza) în 8 tipuri de cancere, pe un număr de **16 gene**.

A doua componenta a testului – biomarkerii proteici

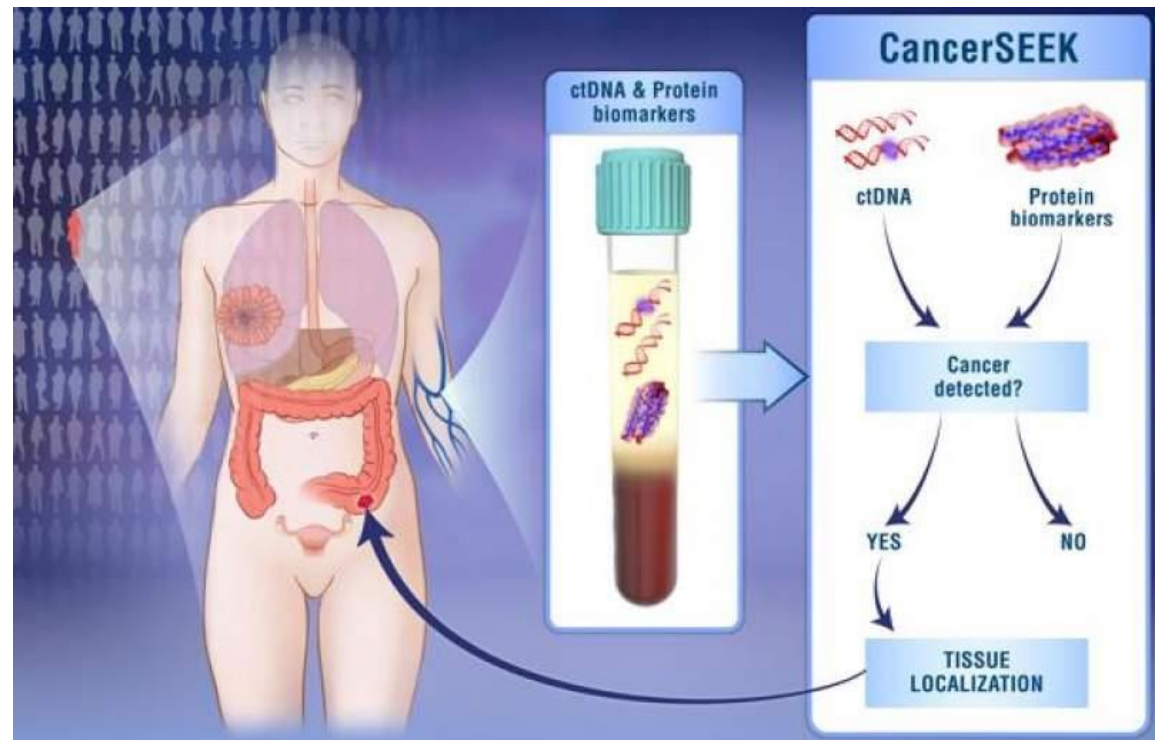
- Immunoassay platform

CancerSEEK and destroy – Ce este?

- o abordare inovativa care **se adreseaza simultan mai multor tipuri de cancer**
- deschide calea catre un **test multi-analit non-invaziv** (biopsie lichida de screening)

- ctDNA (16 gene)
(multiplex PCR)

-biomarkeri proteici
(8) (platforme de
imunotestare)



CancerSEEK Test – Cui se adreseaza?

- **Panel mic de biomarkeri**, robust– pentru minimizarea riscului rezultatelor fals-pozitive
- Se adreseaza urmatoarelor **8 tipuri de cancer**:

Cancer de san
Cancer colorectal
Cancer gastric
Cancer hepatic
Cancer pulmonar
Cancer esofagian
Cancer ovarian
Cancer pancreatic

Aceste patologii reprezinta **60% din totalul cauzelor de mortalitate prin cancer** (SUA, 2017).

Nu exista teste sanguine pentru **depistarea lor precoce** - in utilizarea clinica curenta.

Biomarkerii proteici

Proteine cu rol in detectarea a cel puțin unul din cele opt tipuri de cancer descrise mai sus cu **sensibilitati** > 10% si **specificitati** > 99%.

antigenul carcinoembrionar CEA

antigenul tumoral CA-125

osteopontin OPN

antigenul tumoral CA19-9

mieloperoxidaza MPO

prolactina PRL

inhibitorul tisular al proteinelor 1 (TIMP-1)

factorul de creștere a hepatocitelor HGF



Prezenta unei mutații într-o genă testată *plus* o creștere a nivelului oricăreia dintre aceste proteine clasifică un pacient ca fiind **pozitiv (test CancerSEEK pozitiv)**.

Research Highlight | Published: 06 February 2018

Diagnosis

CancerSEEK and destroy – a blood test for early cancer detection

David Killock

REPORT

Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test

Joshua D. Cohen^{1,2,3,4,5}, Lu Li⁶, Yuxuan Wang^{1,2,3,4}, Christopher Thoburn³, Bahman Afsari⁷, Ludmila Danilova⁷, Christopher ...

+ See all authors and affiliations

Science 23 Feb 2018:
Vol. 359, Issue 6378, pp. 926-930
DOI: 10.1126/science.aar3247



Science

Vol 359, Issue 6378
23 February 2018

[Table of Contents](#)
[Print Table of Contents](#)
[Advertising \(PDF\)](#)
[Classified \(PDF\)](#)
[Masthead \(PDF\)](#)

**Joshua Cohen, MD, Prof. - Ludwig Center for Cancer Genetics and Therapeutics,
Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, USA**

CancerSEEK and destroy performanta testului

- **Specificitatea** CancerSEEK >99% (este importanta pentru a elimina riscul rezultatelor fals-pozitive)
- **Sensibilitatea** CancerSEEK: 69-98%
- Abilitatea de a detecta cu acuratete **localizarea tumorii** este un mare pas inainte.
- **Test multi-analit non-invaziv.**

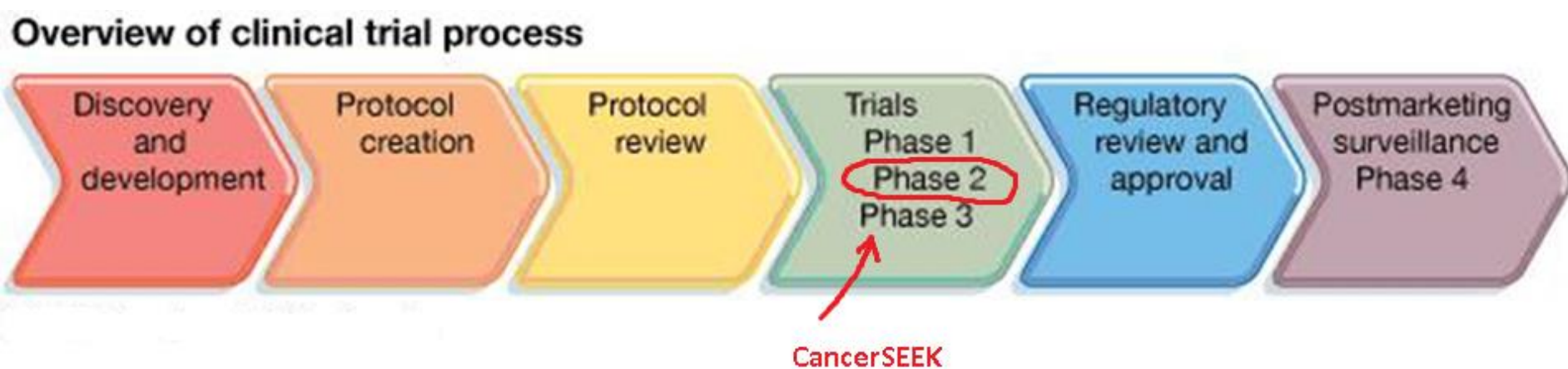
CancerSEEK Test

Limitările testului

- Test realizat pe un lot de 1.005 pacienti **diagnosticati cu neoplasme stadiile I-III** (varsta medie 64 ani) - **simptomatici** si 812 indivizi sanatosi (fara istoric cunoscut de cancer, displazie de grad inalt, boala autoimuna sau boala renala cronica) (varsta medie 55 ani).
- Populatia asimptomatica/ bolnavi in stadii incipiente ale bolilor - **sensibilitatea** detectarii va fi probabil **mai mica**.
- Specificitatea testului ar putea fi mai mica în “**populatii reale**” care includ indivizi cu **comorbiditati**, cum ar fi boala inflamatorie, care ar putea creste riscul de **fals pozitiv**.

CancerSEEK Test

Perspectiva de **depistare precoce a cancerului** folosind un test accesibil, non-invaziv este atractivă.



Cu toate acestea, în continuare sunt necesare studii pentru stabilirea **potențialului de diagnostic** al unui astfel de test de screening în **populația generală**.

Human Proteome Project

Scop

“Prin caracterizarea a 20.300 de gene din genomul cunoscut, *Proiectul Proteomul Uman* va genera harta arhitecturii moleculare - proteinele corpului uman și va deveni o resursă valoroasă în elucidarea funcției biologice și moleculare, precum și pentru un diagnostic precoce și tratamentul bolilor.”

Proiectul Proteom Uman – lansat în 2010

compus din 2 sub-proiecte



Chromosome-based Human Proteome Project (C-HPP)

B/D HPP

Biology/Disease Human Proteome Project (B/D-HPP)

C-HPP - organizat în 25 de grupuri, câte unul pentru fiecare uman cromozom.

B / D-HPP - organizat în grupuri în funcție de relevanța biologică / boală.

Actualizare periodică a datelor

- PeptideAtlas (www.peptideatlas.org)
- neXtProt (www.neXtProt.org)

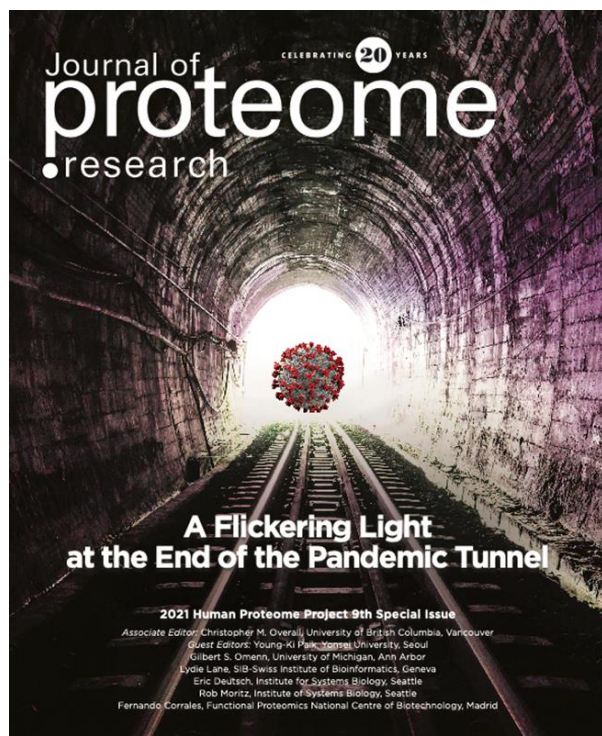
Proteom Uman

PUBLICATIONS

HPP ANNUAL SPECIAL ISSUE

2021

2020



ACS Publications
Most Trusted. Most Cited. Most Read.

www.acs.org



ACS Publications
Most Trusted. Most Cited. Most Read.

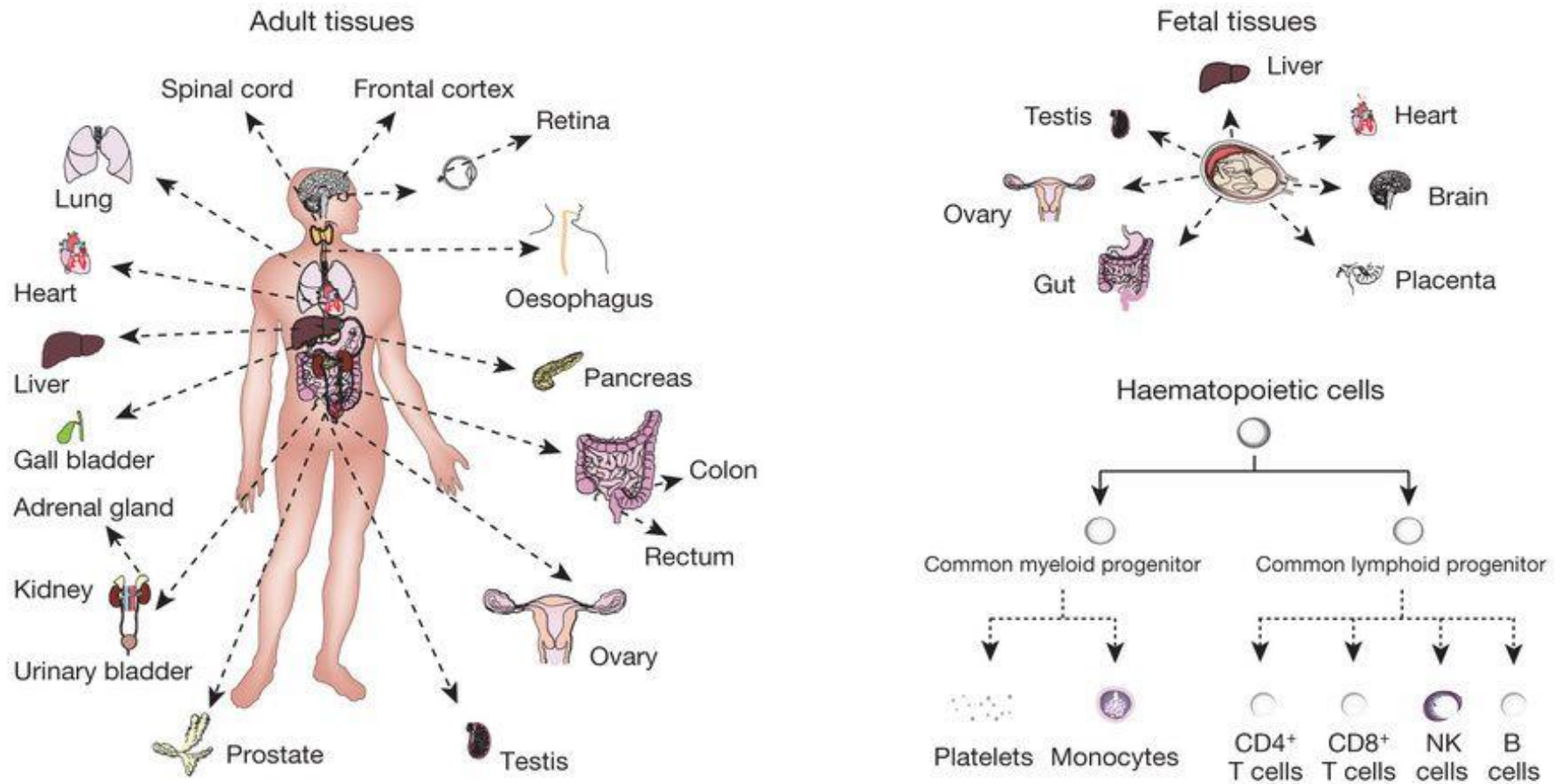
www.acs.org

Proiect 31PFE/2021 - PERFEXSAN

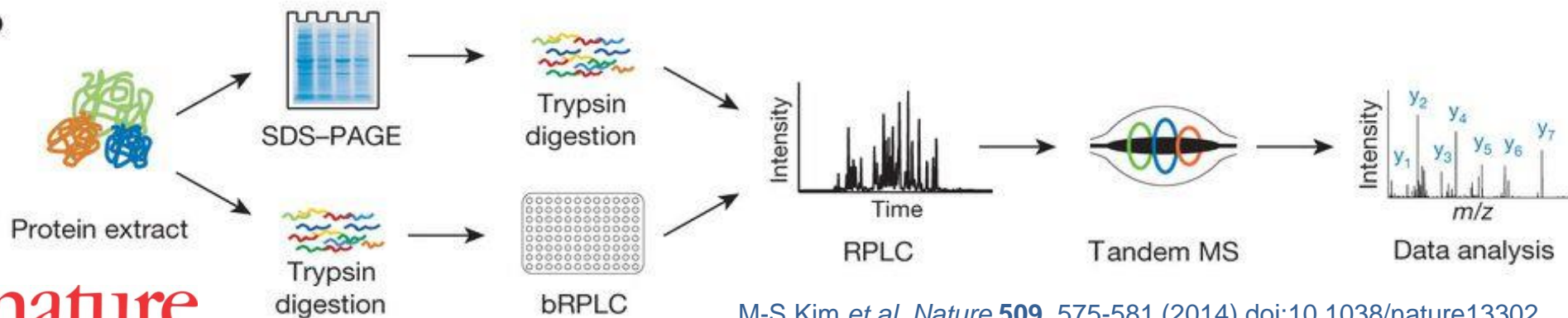
<https://hupo.org/Journals-&Publications/>

Prezentarea generală a fluxului de lucru

a



b



AlphaFold versiunea 2.0 / DeepMind

15 iulie 2021, DeepMind (Google) - funcționează AI - **Nature** și a făcut disponibil modelul său revoluționar **AlphaFold versiunea 2.0**

Predicția structurii 3-D pe care o va adopta o proteină pe baza secvenței sale de aminoacizi, a fost o problemă importantă de cercetare deschisă de mai bine de 50 de ani.

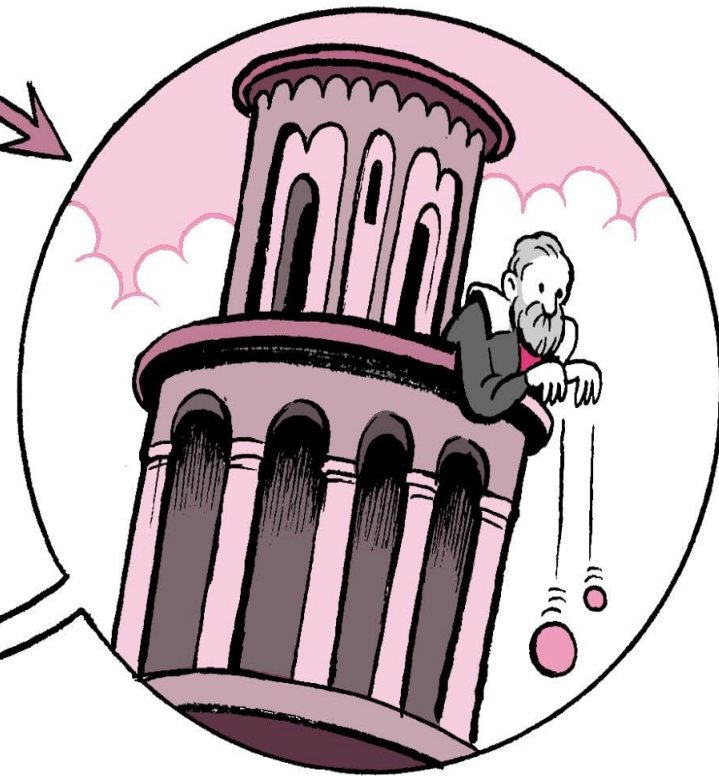
https://www.youtube.com/watch?v=gg7WjuFs8F4&ab_channel=DeepMind

FIRST WE FORMULATE
A **THEORY**

THEN WE PERFORM **EXPERIMENTS**
IN ORDER TO REJECT OR VALIDATE THE THEORY



HOWEVER
IN REALITY
THINGS ARE
RARELY THIS
SIMPLE...





Biomarkers 2023

27 - 28 February 2023 | Manchester, UK

Part of the
Biomarkers Series

Biomarkers US
2023

Biomarker Analysis
Europe 2023

Precision Oncology
Europe 2023

Biomarkers
2023

[Home](#) [Agenda](#) [Speakers](#) [Sponsorship](#) [Attendees](#) [Media Partners](#) [Plan Your Visit](#) [PLUS Pass](#)

[Book Now](#)

Proteome Sciences

Bronze 2022 Sponsor

Școala din vacanță

20-22 Februarie 2023

BIOMARKERI - SPERANȚA ȘI PROVOCARE DE LA CERCETARE LA PRACTICA CLINICĂ



CSIII Dr. POPESCU IONELA DANIELA

LABORATOR BIOCHIMIE-PROTEOMICĂ

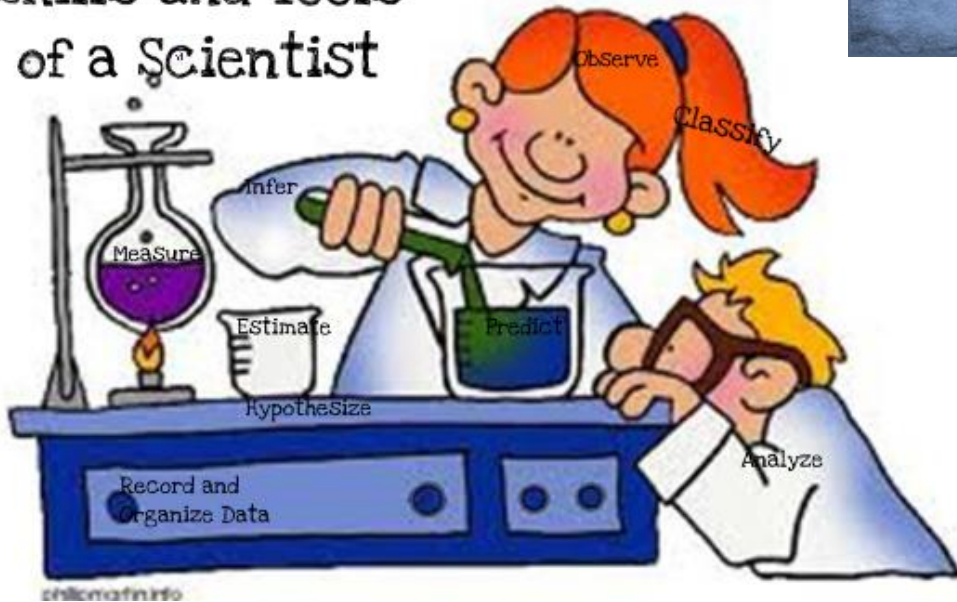
Proiect 31PFE/16.10.2021- PERFEXSAN

Sign up for our Word of the Day

- Biomarker



Skills and Tools of a Scientist



BIOMARKER: LECTIE DIN ISTORIE SAU ISTORIA UNUI BIOMARKER

Formerly published as Medico-Chirurgical Transactions • 1809 – 1907

Proceedings of the Royal Society of Medicine

Now published as Journal of the Royal Society of Medicine • 1978 – current

- În literatură în ultimii 50 ani, a existat o creștere explozivă a utilizării termenului în perioada 1980 - 1990 și continuă să crească astăzi.
- Cercetarea biomarkerilor - o istorie mult mai profundă.
- O lucrare, publicată în 1965, cu mulți ani înainte ca termenul "biomarker" să apară fie în titlul fie, în rezumatul oricărei lucrări din baza de date PubMed.

Sir Austin Bradford Hill - "Mediul și bolile: asocierea sau cauza?" (Proceedings of the Royal Society of Medicine)



Sir Austin descrie elegant și elocvent 9 factori ce îi consideră că ar trebui luați în considerare atunci când evaluează relația dintre un factor de mediu și o boală.

Putere	Plauzibilitate
Consecvență	Coerență
Specificitate	Experiment
Temporalitate	Analogie
Variabilitate biologică	

Există paralele clare între evaluarea lui Sir Austin Bradford Hill despre cauzalitate și nevoia noastră actuală de a evalua utilitatea



BIOMARKERI

Biomarker (*definiția National Institute of Health*) - 1998

“o caracteristică ce este evaluată și măsurată obiectiv ca indicator al proceselor biologice normale, patologice sau al răspunsurilor farmacologice la intervențiile terapeutice”.



„BIOMARKERS DEFINITIONS WORKING GROUP” - 2001

“biomarkerii sunt de fapt biomolecule care indică desfășurarea unor procese normale și/sau patologice sau ce pot indica un răspuns la terapie”.





Ce este un
Biomarker?

De ce el este atât de
important?



BIOMARKERI - CLASIFICARE

- Biomarkeri de diagnostic (prezența unei boli)
- Biomarkeri de risc (indică riscul de suferi de o boală)
- Biomarkeri de prognostic (predicția evoluției bolii)
- Biomarkeri predictivi (predicție a răspunsului la tratament)
- Biomarkeri farmacodinamici/farmacocinetici (evaluarea tratamentul cel mai eficient și/sau doza de medicamente)
- Biomarkeri pentru evaluarea reapariției bolii
- Biomarkeri de screening (utilizați pentru evaluarea riscului de apariție al bolii la persoanele sănătoase sau identificarea persoanelor cu boală subclinică).



Material biologic

- ✓ **Biopsii**
- ✓ **Explante chirurgicale**
- ✓ **Fluide circulante (ser, LCR)**
- ✓ **Alte fluide biologice (lacrimi, saliva, urina, fecale, etc):**



BIOMARKERI TISULARI

Biopsii chirurgicale:

- Colectarea probelor: intervenții invazive
- Diagnostic timpuriu: **NU**
- **Aplicabil** (de regulă) după stabilirea diagnosticului prin alte metode
- Biomarkeri **predictivi** și de **stratificare**
- **Permit preselecția** unor biomarkeri a căror prezentă poate fi monitorizată în alte fluide biologice
- **Avantaje:** capacitate predictivă și de stratificare înaltă
- **Limitări:** prelucrarea probei dificilă și lipsită de acuratețe, disponibilitatea materialului



BIOMARKERI CIRCULANȚI

Fluide circulante (ser, plasmă, LCR),

Alte fluide biologice (lacrimi, salivă, urină, fecale, etc):

- Colectarea: interventii minim invazive (excepții: LCR, FNA – Ecoendoscopia digestivă cu puncție fin aspirativă)
- Diagnostic timpuriu: **DA**
- **Aplicabilitate:** orice stadiu al bolii
- Biomarkeri de **diagnostic, predictivi, de stratificare și monitorizare**



BIOMARKERI CIRCULANȚI

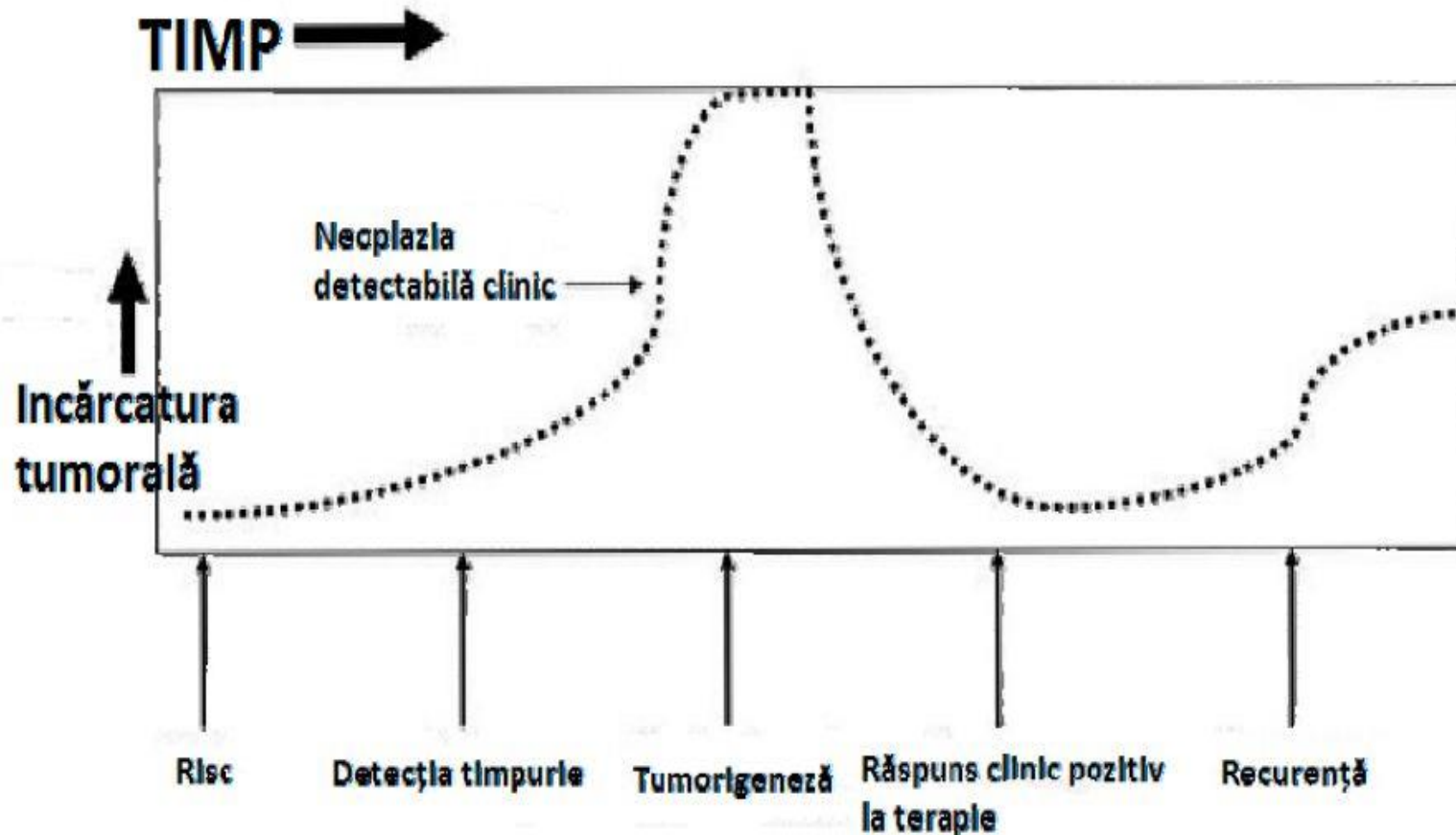
■ Avantaje:

- Colectare cu invazivitate redusă, repetabilă
- Integrează molecule produse în “focarul” patologic dar și molecule “extra-focar” – în general, reprezentând răspunsuri sistemice la procesul patologic
- Permit o monitorizare a evoluției pacientului, estimări ale evoluției patologiei, răspunsului terapeutic, recurenței etc.

■ Limitări:

- Mascarea de către proteinele majore (de tipul albuminei și imunoglobulinelor a analiților de interes)
- Concentrații scăzute, apropiate de limită de detecție pentru anumiți analiți
- Specificitatea scăzută a unor analiți (de ex. Citokine)





Clasificarea biomarkerilor în funcție de stadiul clinic al bolii- reprezentare schematică



BIOMARKER IDEAL - CARACTERISTICI

specificitate crescută

sensibilitate crescută

facilitatea în tehnologia de detecție

ușurința în standardizare

rezultatele furnizate să fie cât mai clare și
comprehensibile pentru clinicieni



Sensibilitate

$$\text{Sensibilitate} = \frac{N_{\text{"adevarat pozitiv"}}}{N_{\text{"adevarat pozitiv"}} + N_{\text{"fals negativ"}}$$

Specificitate

$$\text{Specificitate} = \frac{N_{\text{"adevarat negativ"}}}{N_{\text{"adevarat negativ"}} + N_{\text{"fals pozitiv"}}$$



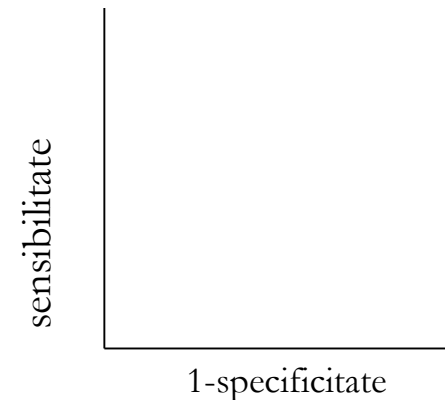
- **Adevărat pozitiv**
 - Pacienți identificați corect ca având boala
- **Fals pozitiv**
 - Pacienți sănătoși considerați bolnavi
- **Adevărat negativ**
 - Pacienți sănătoși corect identificați
- **Fals negativ**
 - Pacienți care au boala fals etichetați drept sănătoși



ROC (RECEIVER OPERATOR CHARACTERISTIC)

- Relația specificitate / sensibilitate poate fi exprimată prin trasarea curbei ROC (Receiver Operator Characteristic),

- în care pe abscisă se pune nivelul fals pozitiv (1-specificitate), iar pe ordonată nivelul adevărat pozitiv (sensibilitatea)

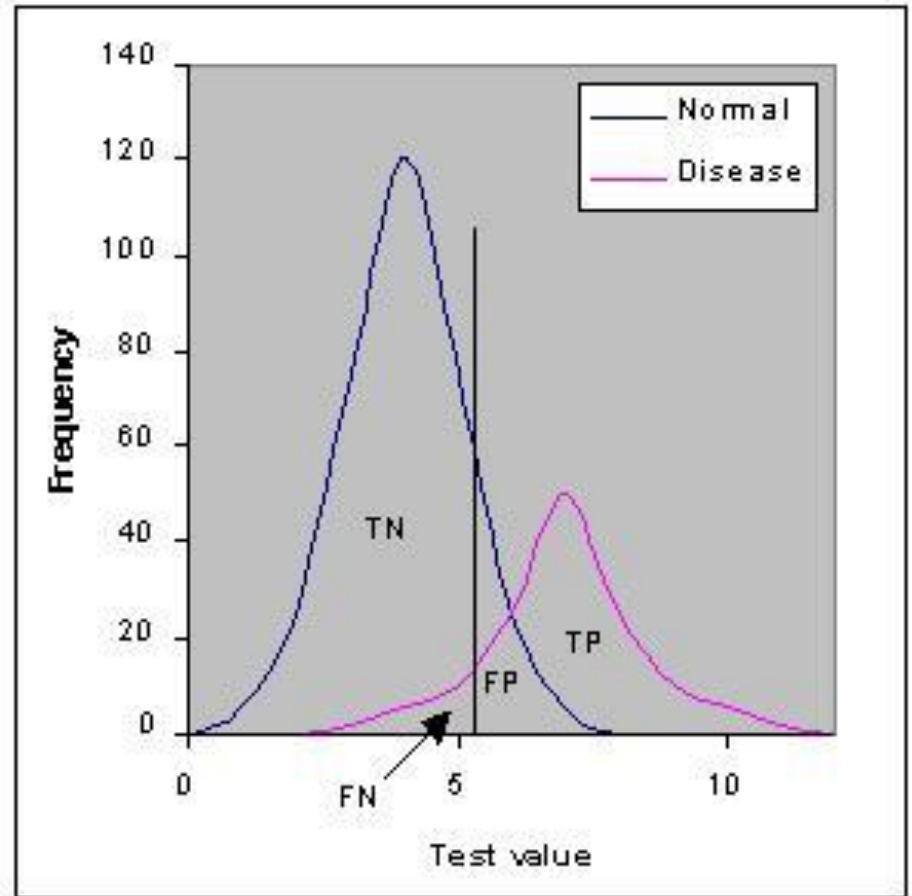


- Prin stabilirea celor două determinate pentru mai multe situații, se poate trasa o curbă



ROC

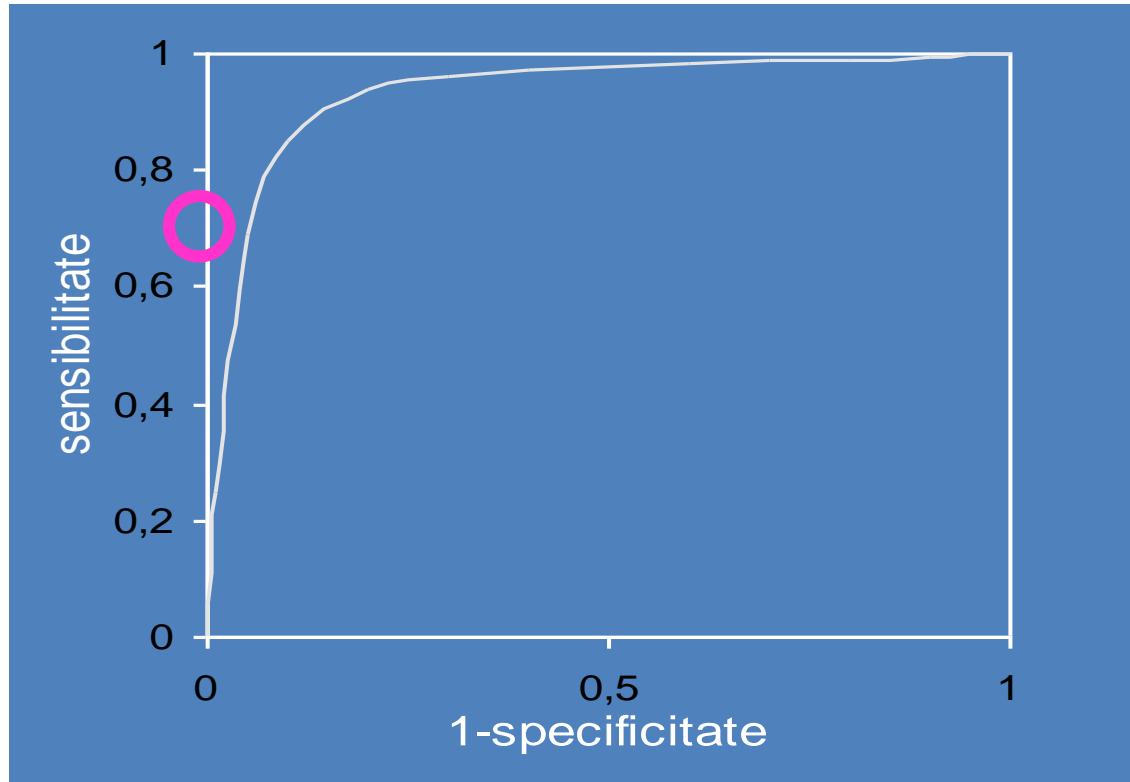
- Ideal pentru un clinician - test care sa aibă atât sensibilitatea cât și specificitatea foarte înalte
- Acest lucru nu este întotdeauna posibil, ceea ce ar impune găsirea unui punct "de compromis", în care **raportul specificitate/sensibilitate să fie optim.**

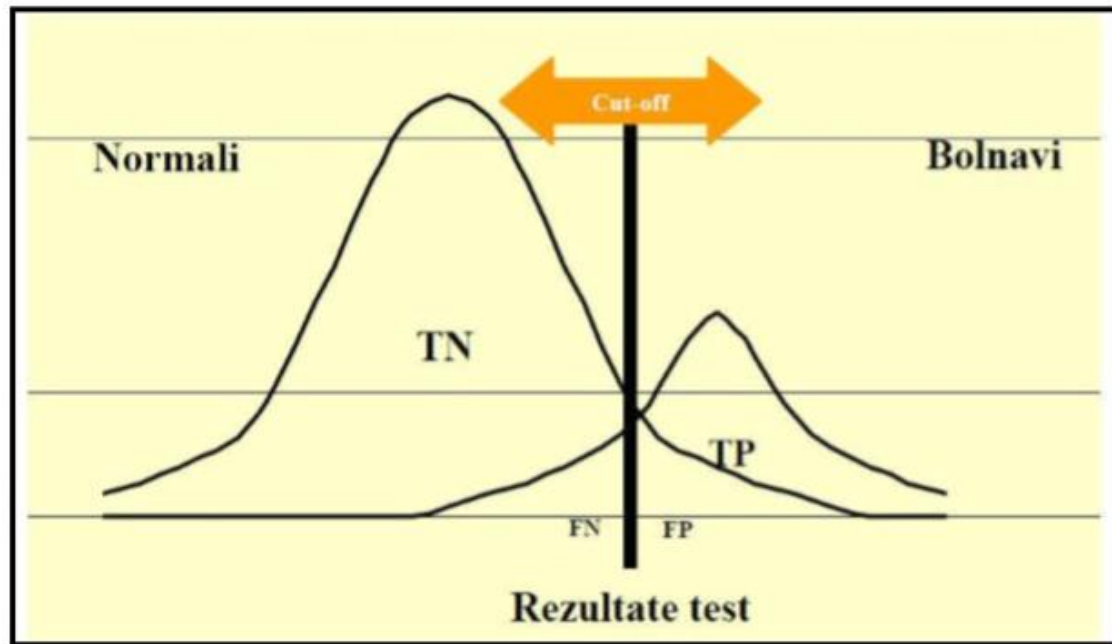


- ROC analysis este parte din teoria detecției semnalelor ("Signal Detection Theory") dezvoltată în al doilea Razboi Mondial pentru analiza semnalelor radar
- Operatorul radar trebuia sa decidă dacă ceea ce e pe ecran e un dușman, un prieten sau doar zgomot de fond
 - capacitatea sa a fost denumită Receiver Operating Characteristics
- Abia în anii 70 teoria detecției semnalului a fost considerată utilă pentru interpretarea testelor medicale



CURBA ROC





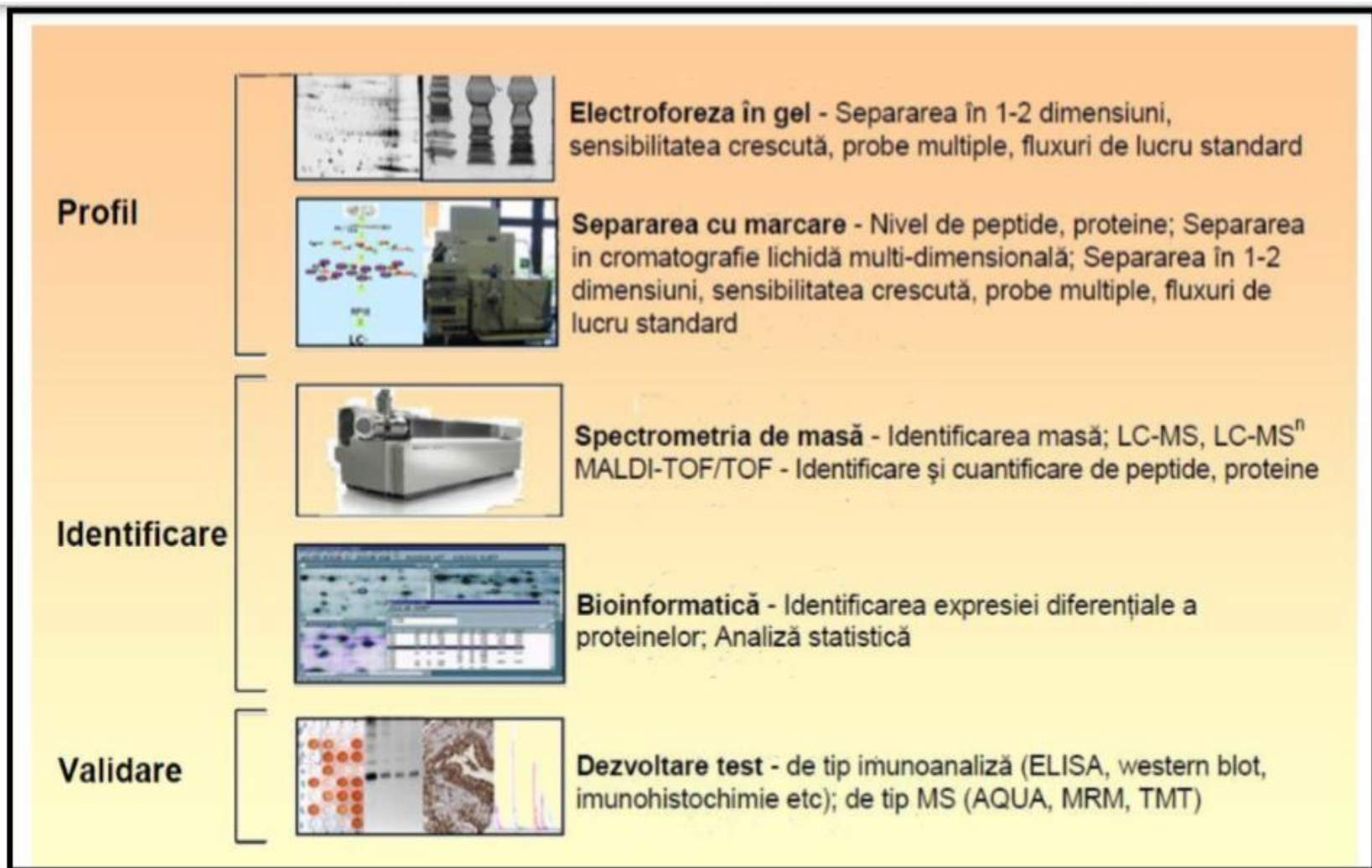
Distribuția rezultatelor testării unui biomarker în populația diagnosticată cu o anumită boală comparativ cu populația clinic sănătoasă



UTILIZAREA BIOMARKERILOR

- Identificarea **biomarkerilor** poate îmbunătăți *screeningul* și *diagnosticul*, poate caracteriza cu acuratețe potentialul malign și poate determina prognosticul.
- **Biomarkerii** se obțin utilizând metode noninvazive, rapide ușor de obținut, utilizat și interpretat.
- Un alt aspect important este **cost/eficiența** și posibilitatea unei sensibilități și specificități cu impact asupra diagnosticului și monitorizării tratamentului.



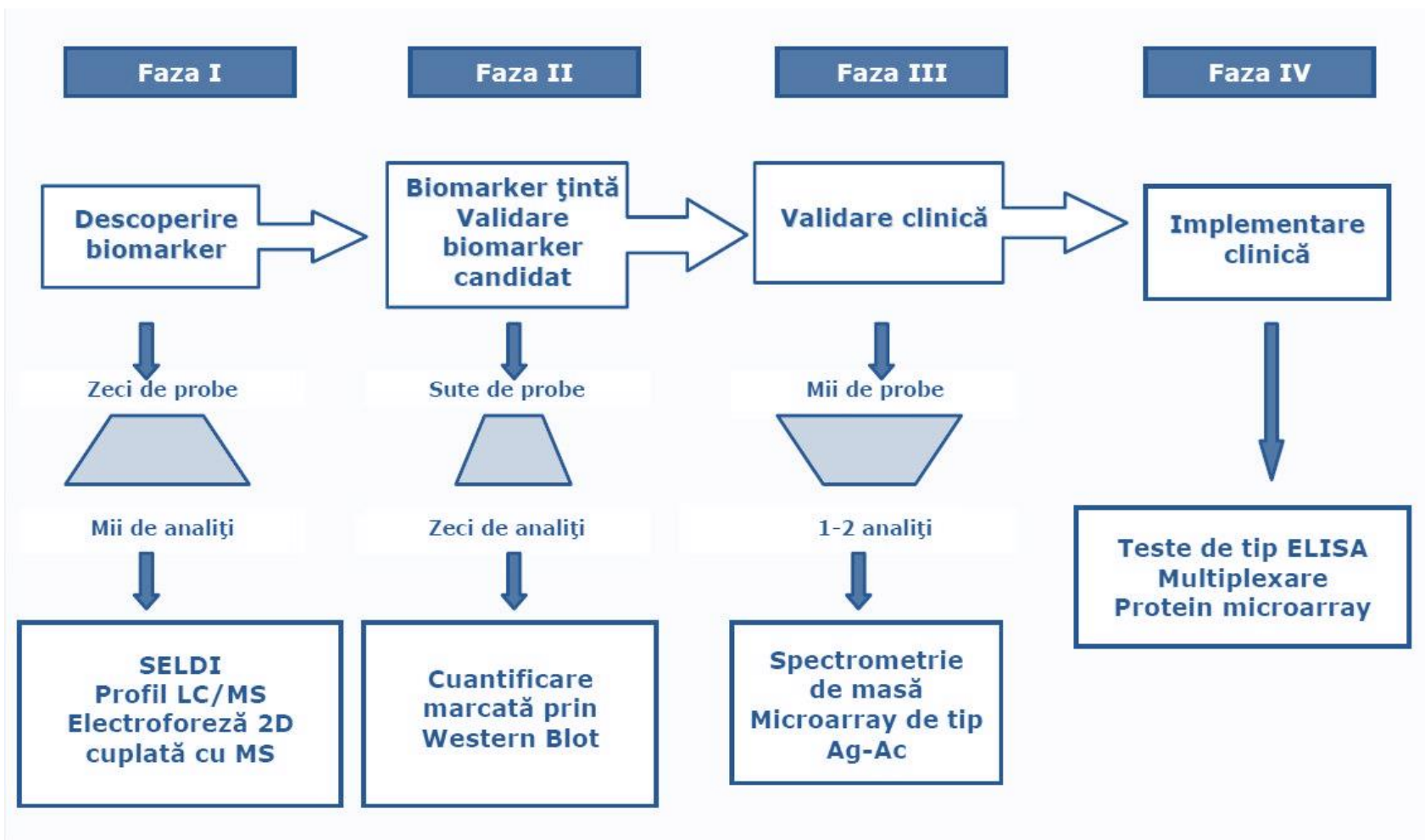


Profil, validare de biomarkeri și tehnologiile corespunzătoare utilizate în studiul biomarkerilor



LUNGUL DRUM AL BIOMARKERULUI...

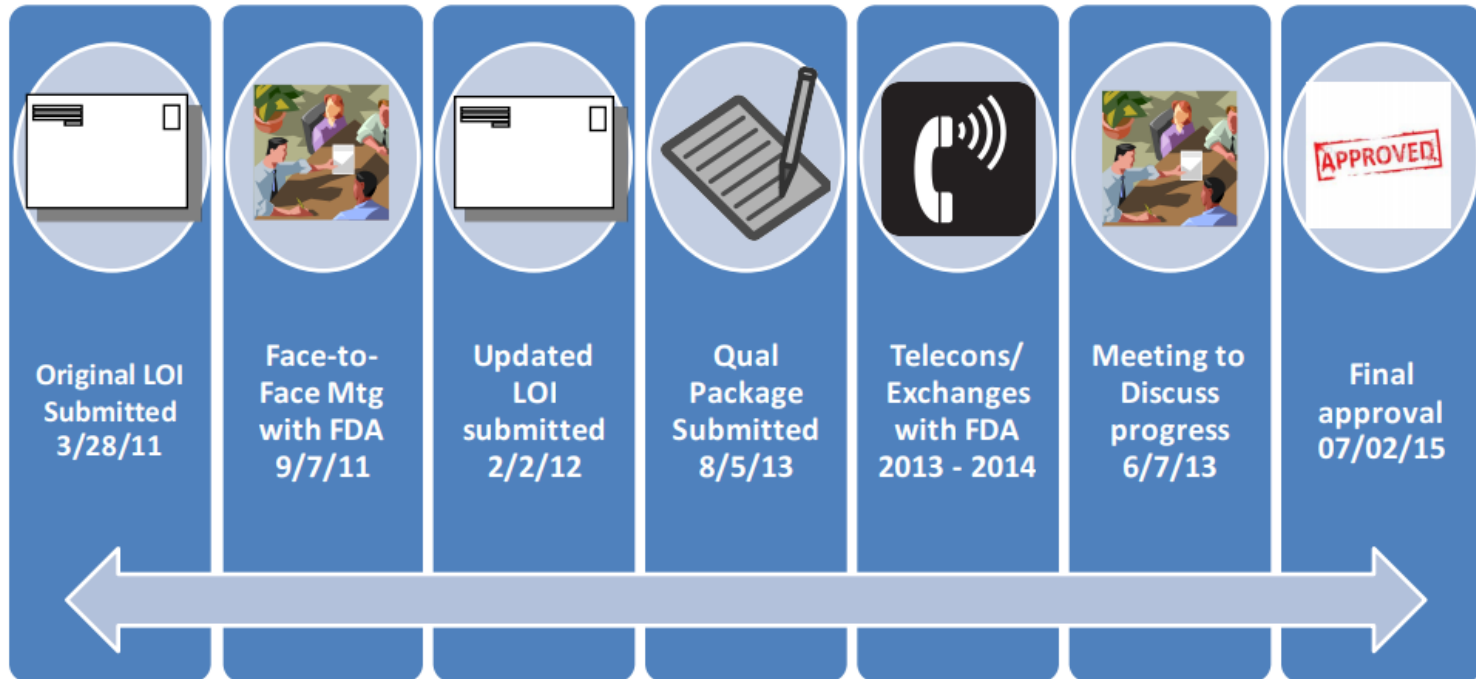




Flux de descoperire și validare biomarkeri



FIBRINOGEN TIMELINE



4+ Years



BIOMARKERII:

DE LA IDENTIFICARE LA APLICAȚII CLINICE

- Biomarkerii joacă un rol major în toate aspectele legate de medicina personalizată, nu numai în depistarea precoce a bolii, dar și în evaluarea răspunsului la terapie.
- Cele mai multe studii oferă dovezi puternice că serul conține biomarkeri utili în depistarea precoce și susține ideea că o combinație de biomarkeri multipli se pot dovedi mai eficace decât biomarkeri individuali pentru diagnosticul diferitelor tipuri de cancer.



SCOPUL UTILIZĂRII MARKERILOR TUMORALI

- scop de **screening**: din păcate foarte puțini markeri sunt suficient de sensibili sau specifici astfel ca ei să poată fi utilizați în scop de screening (ex. Calcitonina, PSA).
- scop de **diagnostic** al tumorilor: la pacienții cu semne sau simptome clinice, determinarea unui marker plasmatic sau urinar poate fi frecvent utilizată pentru a confirma diagnosticul.



- scopul determinării **prognosticului**; în unele cazuri concentrația markerului specific este în strânsă relație cu masa țesutului tumoral.
- scopul **monitorizării răspunsului** la tratament; prezența unui marker tumoral oarecare monitorizat în cinetică, după tratamentul chirurgical, chimioterapie sau radioterapie poate fi utilă pentru a determina răspunsul la tratament.
- scopul **identificării recurenței** tumorii sau a recăderii; uneori însă tumorile pot să nu mai exprime markerul tumoral în ciuda faptului că ele cresc în dimensiune și metastazează.



MARKERI TUMORALI	INDICATII
CA 19-9	**Suspiciune de cancer pancreatic, hepatic, biliar sau gastric; monitorizarea pacientilor cu aceste tipuri de neoplazii. *Diagnosticarea si monitorizarea cancerului colorectal si ovarian
CA 125	**Suspiciune de cancer ovarian; monitorizarea tratamentului si a evolutiei acestui tip de neoplazie. *Suspiciune de cancer pancreatic
CA 72 (TAG-72)	**Marker de prima linie in monitorizarea tratamentului si evolutiei bolii in cancerul gastric. *Marker secundar pentru tumorile ovariene mucinoase.
CA 15-3	**Monitorizarea tratamentului si a evolutiei bolii in cancerul mamar.
CEA	Monitorizarea pacientilor (raspuns la tratament, posibil indicator al recurentei tumorale si al prognosticului) cu diverse neoplazii (cancer colorectal, mamar, pulmonar, gastric, pancreatic, ovarian).
CYFRA 21-1	Suspiciune de cancer pulmonar; diagnosticul diferential al formatiunilor pulmonare de origine necunoscuta; controlul terapeutic si monitorizarea evolutiei bolii in cancerul pulmonar altul decat cel cu celule mici (non-small cell lung cancer-NSCLC); monitorizarea evolutiei bolii la pacientii cu cancer de vezica urinara.
NSE	**Monitorizarea tratamentului si evolutiei bolii in cancerul pulmonar cu celule mici (small cell lung cancer-SCLC) si in neuroblastom. *Monitorizarea tratamentului si evolutiei bolii in cancerul tiroidian medular.

MARKERI TUMORALI	INDICATII
PSA	**Suspiciune de cancer prostatic; monitorizarea tratamentului si a evolutiei cancerului de prostata.
PAP	**Cancer de prostata, in special in faze avansate cu metastaze.
CA 27-29	**Monitorizarea tratamentului si a evolutiei bolii in cancerul mamar.
CA 50; CA 242	**Monitorizarea tratamentului si a evolutiei cancerului colorectal; suspiciune de cancer pulmonar (adenocarcinom) - CA242
SCC	**Monitorizarea tratamentului si a evolutiei cancerului de col si corp uterin cu celule scuamoase.
Beta 2-microglobulina	**Monitorizarea tratamentului si a evolutiei bolilor limfoproliferative.
AFP	<p>**Suspiciune de cancer hepatocelular; tumori cu celule germinale (testiculare, ovariene, tumori extragonadale); monitorizarea pacientilor cu aceste tipuri de neoplazii.</p> <p>*Monitorizarea pacientilor cu ciroza hepatica pentru depistarea precoce a cancerului hepatic; monitorizarea pacientilor cu risc de tumori cu celule germinale.</p>

Medicina personalizată

Medicina personalizată permite unui medic să acceseze tehnologie puternică, permițându-i să descopere lumea; nu numai realitatea ei, ci și potentialul și posibilitățile ei inepuizabile.

Medicina personalizată a condus revoluția tehnologică din proteomică într-o fază nouă, unde aprecierea valorilor și virtuților omului e maximă.

Medicina personalizată

- recunoașterea demnității unei persoane
- un diagnostic și un tratament special concepute pentru fiecare pacient



Ținând cont nu numai de gene și proteine,
dar și de trecutul social și mediul persoanei în cauză.



MEDICINA ESTE PERSONALIZATĂ!

- Suntem cu toții diferiți.
- Unele dintre diferențele noastre sunt interpretate în modul în care vom reacționa la tratamente, ca indivizi.
- Acesta este motivul pentru care medicina individualizată sau personalizată este importantă pentru tine (și pentru mine).

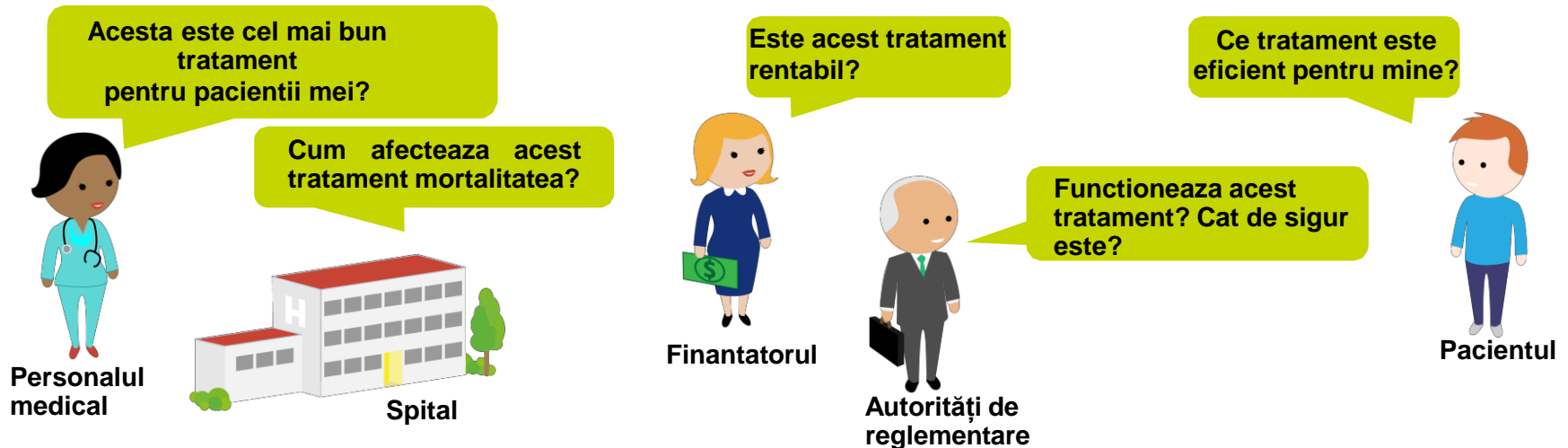


DE EXEMPLU...

- De ce are nevoie cineva de două ori doza standard pentru ca tratamentul să fie eficient?
- De ce merge acest tratament pentru tine, dar pentru mine nu?
- De ce nu am efecte secundare și alții au?
- De ce unii oameni se îmbolnăvesc de cancer și alții nu?

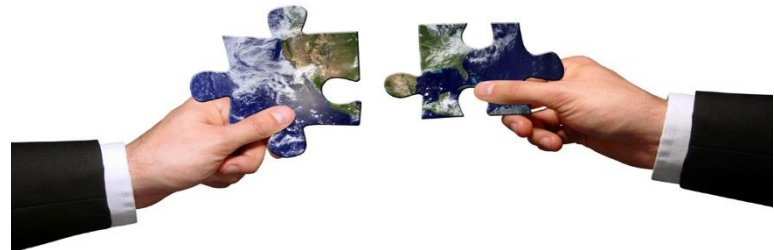


- ✓ Factorii de decizie în domeniul sănătății sunt interesați de rezultatele studiilor clinice și dovezile ce le susțin
- ✓ Înțelegerea părților interesate și a perspectivelor factorilor de decizie reprezintă cheia pentru generarea dovezilor corecte

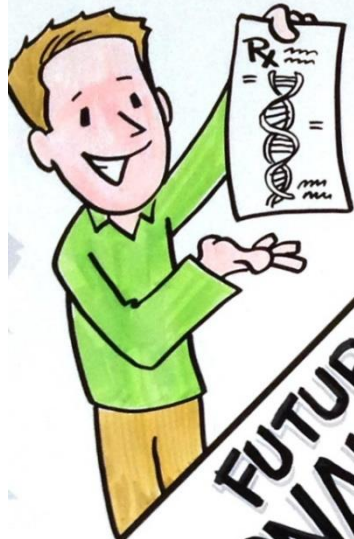


MEDICINA PERSONALIZATĂ

- Doza corectă de ...
- Tratament corect ...
- Indicația corectă pentru...
- Dreptul pacientului la...
- Momentul potrivit...



PERSONALIZED MEDICINE



BETTER EVIDENCE FOR DIAGNOSTICS AND THERAPIES

NEED MORE AGILE REGULATORY SYSTEM

GENETIC COUNSEL
+
DECISION SUPPORT
+
GENETIC LITERACY

TRANSLATE RESEARCH...

EMPOWER PATIENTS!

TAKE CARE OF YOUR OWN HEALTH!



TEST BEFORE YOU TREAT



GET TO THE RIGHT DRUG

THE FIRST TIME!

ALL OF THE DATA FROM THE INTERNET CAN BE STORED IN DNA IN A SMALL TEST TUBE

GIANT LEAPS IN MEDICINE ARE JUST AROUND THE CORNER!

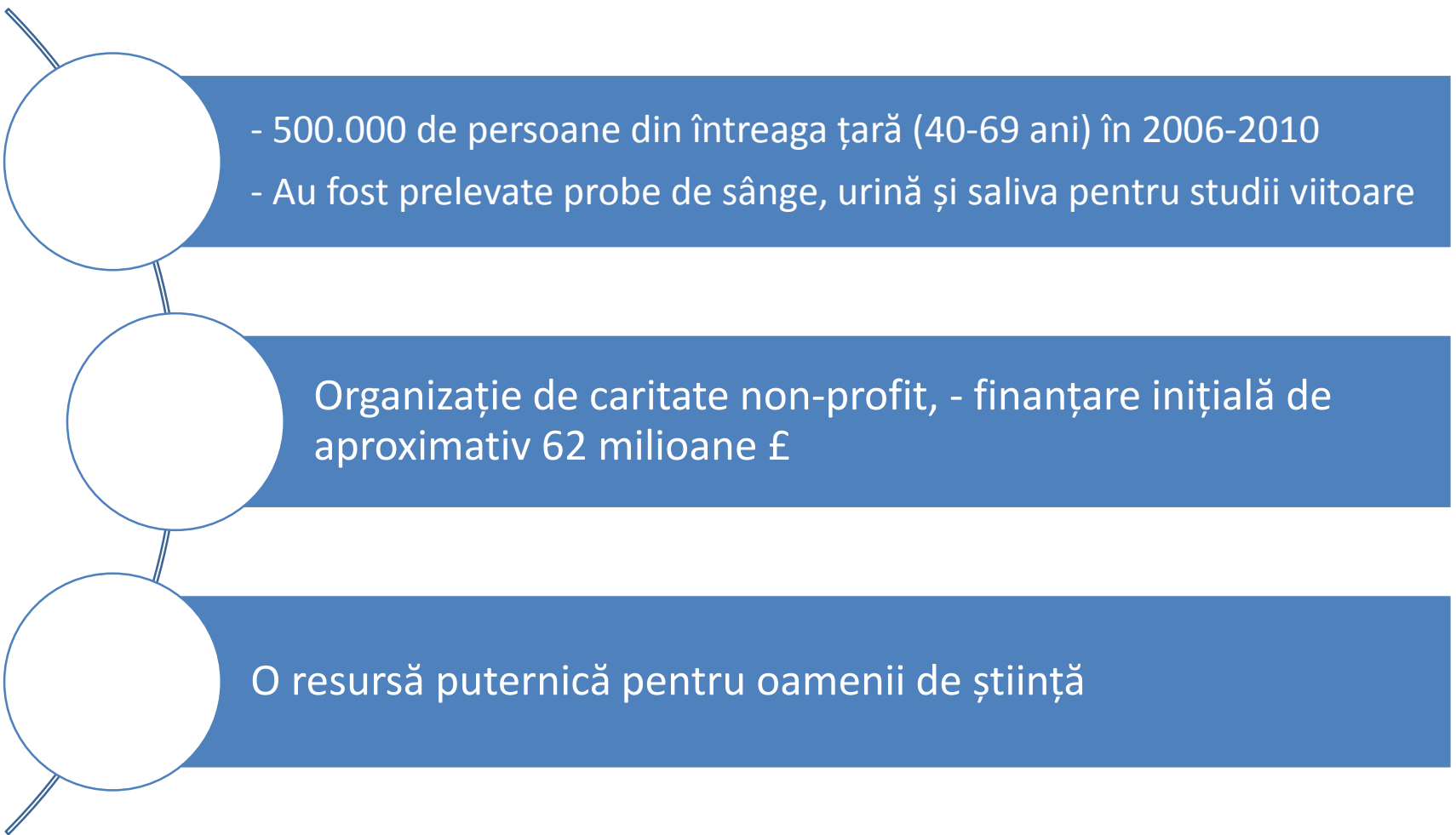
CINE APROBĂ BIOMARKERII?

Markerii trebuie să fie calificați pentru anumite utilizări clinice

- CMS (Centers for Medicare and Medicaid Services)- permite rambursarea biomarkerului – aspect necesar pentru Industrie
- CMS deseori, dar nu întotdeauna, se bazează pe FDA pentru a aproba un test
- FDA (Food and Drug Administration) – asigură validarea că markerii sunt siguri și eficienți
- FDA – autoritate ce poate elimina un test deja utilizat dacă sunt observate repercursiuni negative
- EMA (European Medicines Agency) - agenție europeană pentru evaluarea medicamentelor



UK BIOBANK

- 
- 500.000 de persoane din întreaga țară (40-69 ani) în 2006-2010
 - Au fost prelevate probe de sânge, urină și saliva pentru studii viitoare

Organizație de caritate non-profit, - finanțare inițială de aproximativ 62 milioane £

O resursă puternică pentru oamenii de știință



Panel biomarkeri

Biomarker	Sample Type	Supplier	Instrumentation	Analysis method
Cardiovascular:				
Cholesterol	Serum	Beckman Coulter	AU5800	CHO-POD
Direct Low Density Lipoprotein	Serum	Beckman Coulter	AU5800	Enzymatic selective protection
HDL-Cholesterol	Serum	Beckman Coulter	AU5800	Enzyme immunoinhibition
Triglyceride	Serum	Beckman Coulter	AU5800	GPO-POD
Apolipoprotein A	Serum	Beckman Coulter	AU5800	Immunoturbidimetric
Apolipoprotein B	Serum	Beckman Coulter	AU5800	Immunoturbidimetric
C-reactive Protein	Serum	Beckman Coulter	AU5800	Immunoturbidimetric - high sensitivity
Lipoprotein (a)	Serum	Randox	AU5800	Immunoturbidimetric
Bone and joint:				
Vitamin D	Serum	DiaSorin Ltd.	LIASON XL	CLIA
Rheumatoid factor	Serum	Beckman Coulter	AU5800	Immunoturbidimetric
Alkaline Phosphatase	Serum	Beckman Coulter	AU5800	AMP (IFCC)
Calcium	Serum	Beckman Coulter	AU5800	Arsenazo III
Cancer:				
SHBG	Serum	Beckman Coulter	Unicel Dxl 800	Two step sandwich immunoassay
Testosterone	Serum	Beckman Coulter	Unicel Dxl 800	One step competitive
Oestradiol	Serum	Beckman Coulter	Unicel Dxl 800	Two step competitive
IGF-1	Serum	DiaSorin Ltd.	LIASON XL	CLIA
Diabetes:				
HbA1c	RBC	Bio-Rad	VARIANT II Turbo	HPLC
Glucose	Serum	Beckman Coulter	AU5800	Hexokinase
Renal:				
Cystatin C	Serum	Siemens	ADVIA 1800	Latex enhanced immunoturbidimetric
Creatinine	Serum	Beckman Coulter	AU5800	Enzymatic
Total protein	Serum	Beckman Coulter	AU5800	Biuret
Urea	Serum	Beckman Coulter	AU5800	GLDH, kinetic
Phosphate	Serum	Beckman Coulter	AU5800	Phosphomolybdate complex
Urate	Serum	Beckman Coulter	AU5800	Uricase PAP
Creatinine (enzymatic)	Urine	Beckman Coulter	AU5400	Enzymatic
Sodium	Urine	Beckman Coulter	AU5400	ISE
Microalbumin	Urine	Randox	AU5400	Immunoturbidimetric
Potassium	Urine	Beckman Coulter	AU5400	ISE
Liver:				
Albumin	Serum	Beckman Coulter	AU5800	BCG
Direct Bilirubin	Serum	Beckman Coulter	AU5800	DPD
Total Bilirubin	Serum	Beckman Coulter	AU5800	Photometric colour
Gamma Glutamyltransferase	Serum	Beckman Coulter	AU5800	IFCC
Alanine aminotransferase	Serum	Beckman Coulter	AU5800	IFCC
Aspartate aminotransferase	Serum	Beckman Coulter	AU5800	IFCC



Provisional timeline for future data availability

Biochemistry assay data:

We were due to release the serum and red blood cells assay data for all participants in July 2018 but this has been pushed back. Further Quality Control (QC) checks are being performed and we will update this page when we have a clearer idea of a release date.

[See here for the list of biomarkers that have been measured.](#)

Quarter 1 2019:

- Updated hospital inpatient and death registry data.
- Additional summary data fields for hospital inpatient data, including corresponding first recorded diagnosis/procedure date.
- Algorithmically-derived health outcomes for: Asthma, COPD, Dementia, End stage renal disease, Motor neurone disease, Parkinson's disease.
- Infectious disease pilot study (10,000 participants).

Spring 2019:

- Primary care (GP) data for around half the cohort, containing coded clinical data and prescriptions.
- Enhanced cancer data: cancer stage and grade.
- Exome sequencing data for 50,000 participants.



2019-PREZENT

- ✓ Baza de date este mărită în mod regulat cu date suplimentare și este accesibilă la nivel global pentru cercetători
- ✓ Este o contribuție majoră la progresul medicinei și tratamentului modern
- ✓ Scopul UK Biobank este de a încuraja cât mai mulți cercetători să folosească resursele de cercetare, pentru a efectua studii în domeniul sănătății care sunt de interes public, indiferent dacă provin din organizații academice, comerciale sau caritabile





Aplicații de utilizare din peste 90 de țări, 75% dintre aplicațiile de utilizare a resursei de cercetare provin de la cercetători internaționali.

- date obținute în urma analizelor genetice de la 500 000 de participanți.
- imagistica RMN a inimii și creierului: 100.000 de participanți
- cel mai mare studiu imagistic întreprins vreodată



EVOLUȚIA DEPINDE DE COLABORARE

- ✓ Oameni de știință
- ✓ Clinicieni
- ✓ Profesioniștii din domeniul sănătății publice
- ✓ Informaticieni și Bioinformaticieni
- ✓ Avocați
- ✓ Organizații de finanțare
- ✓ Autorități de reglementare



“To go fast,
go alone.

To go far,
go together.”



„De ce ai început, cum ai procedat, la ce rezultat ai ajuns și care e semnificația lui? După mine, aceasta este ordinea logică a unei cercetări științifice.“

(Austin Bradford Hill)

