

SOCIETÀ MEDICA DI SANTA MARIA NUOVA



L'Ospedale dei Fiorentini



Giornate Mediche di Santa Maria Nuova 2015

VII EDIZIONE

**L'ECCELLENZA DELLE CURE
IN OSPEDALE:**

*Santa Maria Nuova
si confronta con la sua storia
e con l'innovazione*



MARCATORI
*diagnosi
e profili di rischio*

carlo scapellato

Firenze, 2 ottobre 2015



... un nuovo approccio ai biomarcatori



1. Premessa / Definizioni

- la diagnosi di laboratorio
- i biomarcatori

2. Personalizzazione in medicina di laboratorio

- le differenze
 - ambientali
 - di genere
 - di "individuo"

3. Nuove prospettive diagnostiche

- i nuovi biomarcatori
- le "omics"
- appropriatezza diagnostico/terapeutica di "un nuovo sistema"

... un nuovo approccio ai biomarcatori



1. Premessa / Definizioni

- la diagnosi di laboratorio
- i biomarcatori

2. Personalizzazione in medicina di laboratorio

- le differenze
 - ambientali
 - di genere
 - di "individuo"

3. Nuove prospettive diagnostiche

- i nuovi biomarcatori
- le "omics"
- appropriatezza diagnostico/terapeutica di "un nuovo sistema"

1. premessa e definizioni

... il contributo della Medicina di Laboratorio nella diagnosi clinica

PROBABILITA' DI UN SOGGETTO SANO DI AVERE TUTTI I RISULTATI DEI TEST ENTRO I VALORI DI RIFERIMENTO

NUMERO DI TEST RICHIESTI	PROBABILITA' %
1	95
6	74
12	54
20	36
100	0,6

J.O. Westgard, T. Dancy - Clinica Chimica Acta 2004

1. premessa e definizioni



... la sindrome di Ulisse

... la richiesta di tests diagnostici senza uno specifico sospetto clinico è *“causa di incremento dei costi e fonte di apprensione per il paziente”*

Rang M. The Ulysses syndrome. Can Med Assoc J 1972; 106: 122- 123

1. premessa e definizioni

i biomarcatori

IL MARCATORE BIOCHIMICO IDEALE

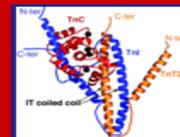
- ⊕ elevata sensibilità
- ⊕ elevata specificità
- ⊕ elevata precisione
- ⊕ elevata accuratezza
- ⊕ elevata predittività (positività/negatività)



1

... di fase “acuta”

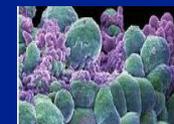
- ◆ rapida cinetica di dismissione
- ◆ finestra diagnostica correlata con la acuzie
- ◆ dosaggio veloce (minimo TTAT)



2

... di fase “cronica”

- ◆ sensibilità della variazione nel tempo (rilevabilità/variazione)
- ◆ correlazione gravità/evoluzione
- ◆ valutazione del rischio presente ed evolutivo



1. premessa e definizioni

i biomarcatori



- ➔ presente in elevate concentrazioni nel muscolo cardiaco
- ➔ contenuto unicamente nella cellula miocardica
- ➔ assente dal circolo in condizioni di “normalità” (alta sensibilità)
- ➔ rilasciato dal muscolo cardiaco danneggiato rapidamente, in maniera completa e in quantità proporzionale al danno miocardico (alta sensibilità in fase precoce)
- ➔ rilevabile nel sangue per molte ore in una finestra diagnostica utile a porre diagnosi anche tardivamente (alta sensibilità in fase “tardiva”)
- ➔ costo contenuto

1. premessa e definizioni

i biomarcatori

SCA - marcatori cardiaci

Nelle patologie cardiache il fattore fondamentale

1. IL TEMPO

- ▶ diagnosi
- ▶ terapia

troponina hs

da TAT a TTAT



1. premessa e definizioni

European Heart Journal Advance Access published August 29, 2015



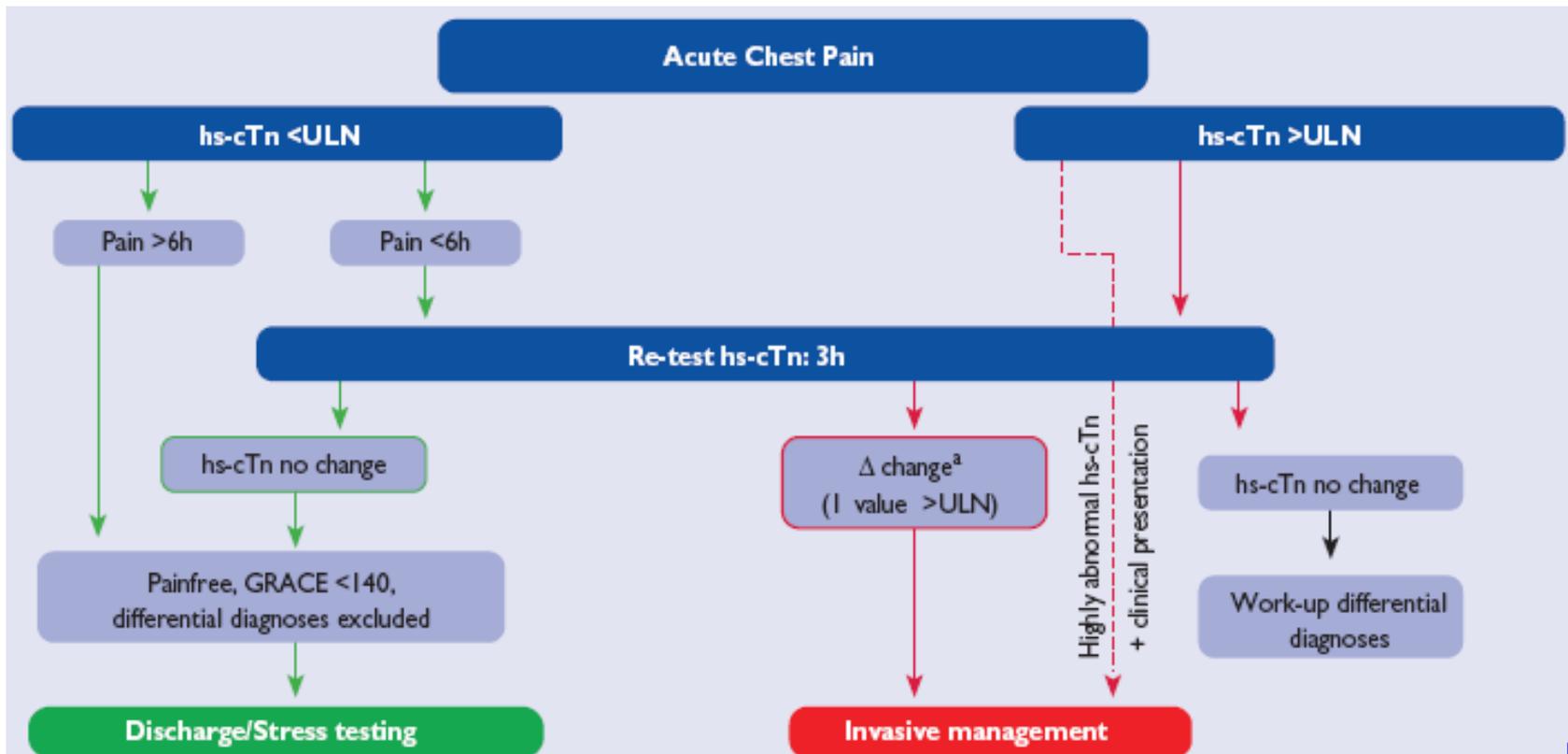
European Heart Journal
doi:10.1093/eurheartj/ehv320

ESC GUIDELINES



2015 ESC guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation

Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (ESC)



GRACE = Global Registry of Acute Coronary Events score; hs-cTn = high sensitivity cardiac troponin; ULN = upper limit of normal, 99th percentile of healthy controls.

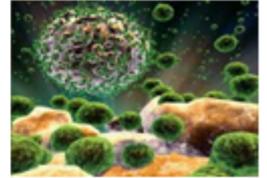
^aΔ change, dependent on assay. Highly abnormal hsTn defines values beyond 5-fold the upper limit of normal.



1. premessa e definizioni

i biomarcatori

marcatori oncologici



- ➔ organospecificità
- ➔ correlazione diretta tipo di neoplasia / marcatore
- ➔ correlazione diretta con l'evoluzione clinica della malattia
- ➔ correlazione con lo staging
- ➔ correlazione con il grading
- ➔ facile rilevabilità in matrici facilmente utilizzabili
- ➔ costo contenuto

... un nuovo approccio ai biomarcatori



1. Premessa / Definizioni

- la diagnosi di laboratorio
- i biomarcatori



2. Personalizzazione in medicina di laboratorio

- le differenze
 - ambientali
 - di genere
 - di "individuo"

3. Nuove prospettive diagnostiche

- i nuovi biomarcatori
- le "omics"
- appropriatezza diagnostico/terapeutica di "un nuovo sistema"

2. personalizzazione in medicina di laboratorio

*Dio è morto,
Marx è morto, e
io mi sento poco bene*



2. personalizzazione in medicina di laboratorio

... differenze genetiche, caratteristiche fisiche, emozionali e di vissuto familiare, ma anche fattori ambientali fanno di ogni paziente un individuo unico, da curare con un approccio nuovo, quello della medicina di genere e personalizzata.

INDIVIDUALIZZAZIONE DELL' OUTCOME

“i pazienti rispondono diversamente ai farmaci e alle terapie. Soprattutto per le donne, si potrebbero elaborare terapie molto più mirate ed efficaci”

COSTO TOSSICO

“... una maggiore opportunità di limitare al minimo il ‘costo tossico’ della terapia, senza determinare la riduzione dell’efficacia”

MIGLIORAMENTO DELLA QUALITA' E DELLE RISORSE

“... inoltre, rappresenta il percorso del futuro grazie al quale si possono specificare caratteristiche individuali del paziente con conseguente miglioramento della qualità della vita ed ottimizzazione nella gestione delle risorse sanitarie”

2. personalizzazione in medicina di laboratorio



la variabilità biologica

- **Variabilità intra-individuale:** intorno al punto omeostatico
- **Variabilità inter-individuale:** il punto omeostatico non è uguale per tutti gli individui di un gruppo omogeneo

TIPOLOGIA DI VARIABILITA' BIOLOGICA

VARIAZIONI FISILOGICHE

A LUNGO TERMINE:

età, sesso, ambiente e clima, stato nutrizionale, stile di vita

A BREVE TERMINE:

cibo, fumo, alcol, caffè, veglia, sonno, esercizio, altitudine, idratazione

A BREVE TERMINE:

Variazioni circadiane: ultradiane, infradiane

NON TEMPO DIPENDENTI:

fisio/patologiche: febbre, shock, trauma, stress, dolore, ansia, ...

VARIAZIONI GENETICHE

età, sesso, razza

corredo genetico: genotipo

espressione genetica: fenotipo

2. personalizzazione in medicina di laboratorio

la variabilità biologica

		CVi	CVg	I (%)	B (%)	ET (%)
P, S-	Aptoglobina	20,4	36,4	10,2	10,4	27,3
S-	Aspartato amminotransferasi (AST)	11,9	17,9	6,0	5,4	15,2
U-	Azoto, escrezione	13,9	24,2	7,0	7,0	18,4
S-	Basofili, conta	28,0	54,8	14,0	15,4	38,5
S-	Beta2-Microglobulina	5,9	15,5	3,0	4,1	9,0
S-	Beta-Carotene	36,0	39,7	18,0	13,4	43,1
S-	Beta-Criptoxantina	36,7	ND	18,4	ND	ND
S-	Beta-Globuline	10,1	9,1	5,1	3,4	11,7
S-	Bicarbonato	4,8	4,7	2,4	1,7	5,6
S-	Bilirubina coniugata	36,8	43,2	18,4	14,2	44,5
S-	Bilirubina totale	25,6	30,5	12,8	10,0	31,1
S-	C Peptide	9,3	13,3	4,7	4,1	11,7
S-	C3 complemento	5,2	15,6	2,6	4,1	8,4
S-	C4 complemento	8,9	33,4	4,5	8,6	16,0
S-	CA 125 antigene	29,2	48,2	14,6	14,1	38,2
S-	CA 15.3 antigene	6,2	62,9	3,1	15,8	20,9
S-	CA 19.9 antigene	16,2	102,0	8,0	25,8	39,0

CVi, variabilità biologica intraindividuale; CVg, variabilità biologica interindividuale; I (%), traguardo di imprecisione ($0,5 CVi$); B (%), traguardo di inesattezza [$0,25 (CVi^2 + CVg^2)^{1/2}$]; ET (%), errore totale accettabile ($B + 1,65I$); ND, non disponibile.

2. personalizzazione in medicina di laboratorio

valori di riferimento

età	neonati, bambini, ragazzi, adulti, anziani , ecc.
sesto	maschio, femmina
abitudini	alimentazione, esercizio fisico, fumo, ecc.
ritmi circadiani	infradiani, ultradiani
altro	geografia, stagionalità, ecc

? **esempio**

età:

- giorni del neonato
- settimane del neonato
- mesi del neonato
- pediatrica
- adulta?
- geriatrica

femmina:

- pre pubere
- fertile
- in gravidanza
- in allattamento
- in menopausa
- ecc

caratteristiche:

- fisiche
- massa muscolare
- alimentazione: vegani, ..
- lavoro
- esposizione ambientale
- ecc

e poi ... tutto valutato per

e t n i a

f e n o t i p o

g e n o t i p o

2. personalizzazione in medicina di laboratorio

A prescindere dalla diversa esposizione a fattori di rischio ambientali, **esistono diverse incidenze/prevalenze di malattie tra individui e tra i due sessi, per la predisposizione costituzionale a sviluppare meccanismi patogenetici genere-specifici.**

- Patologie a maggiore frequenza legate al gruppo sanguigno (es. ulcera duodenale)
- Malattie autoimmunitarie sono più frequenti nel sesso femminile (es. sindrome di Sjogren, LES)
- Lo stato ormonale influenza la cancerogenesi
- La terapia antidiabetica deve tenere conto del particolare profilo di insulinoresistenza (legata al sesso ed al fenotipo)
- Diversa posologia terapeutica nella terapia ormonale sostitutiva tiroidea.

2. personalizzazione in medicina di laboratorio

due pazienti



Uguali:

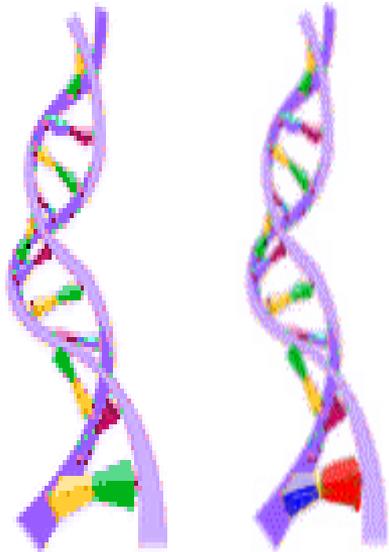
- sintomi
- semeiotica obiettiva
- esami di laboratorio

Stessa patologia?

Stessa diagnosi?

Stessa terapia e ... stessa risposta terapeutica?

o è possibile



● **Differente**

- sospetto diagnostico “personalizzato”
- risposta terapeutica

● **Differente approccio clinico**

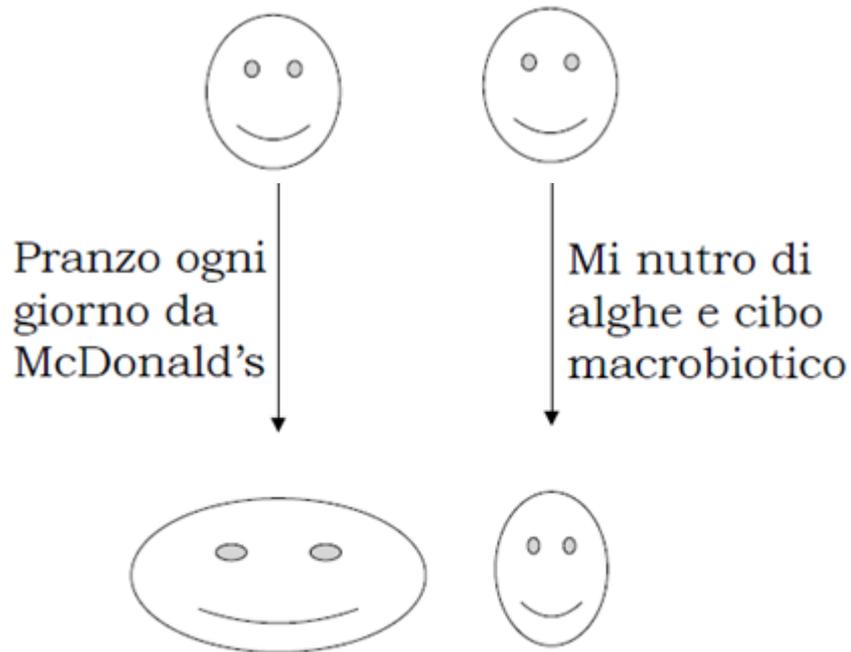
possibili

DIFFERENZE GENETICHE

2. personalizzazione in medicina di laboratorio

il genoma e l'informazione

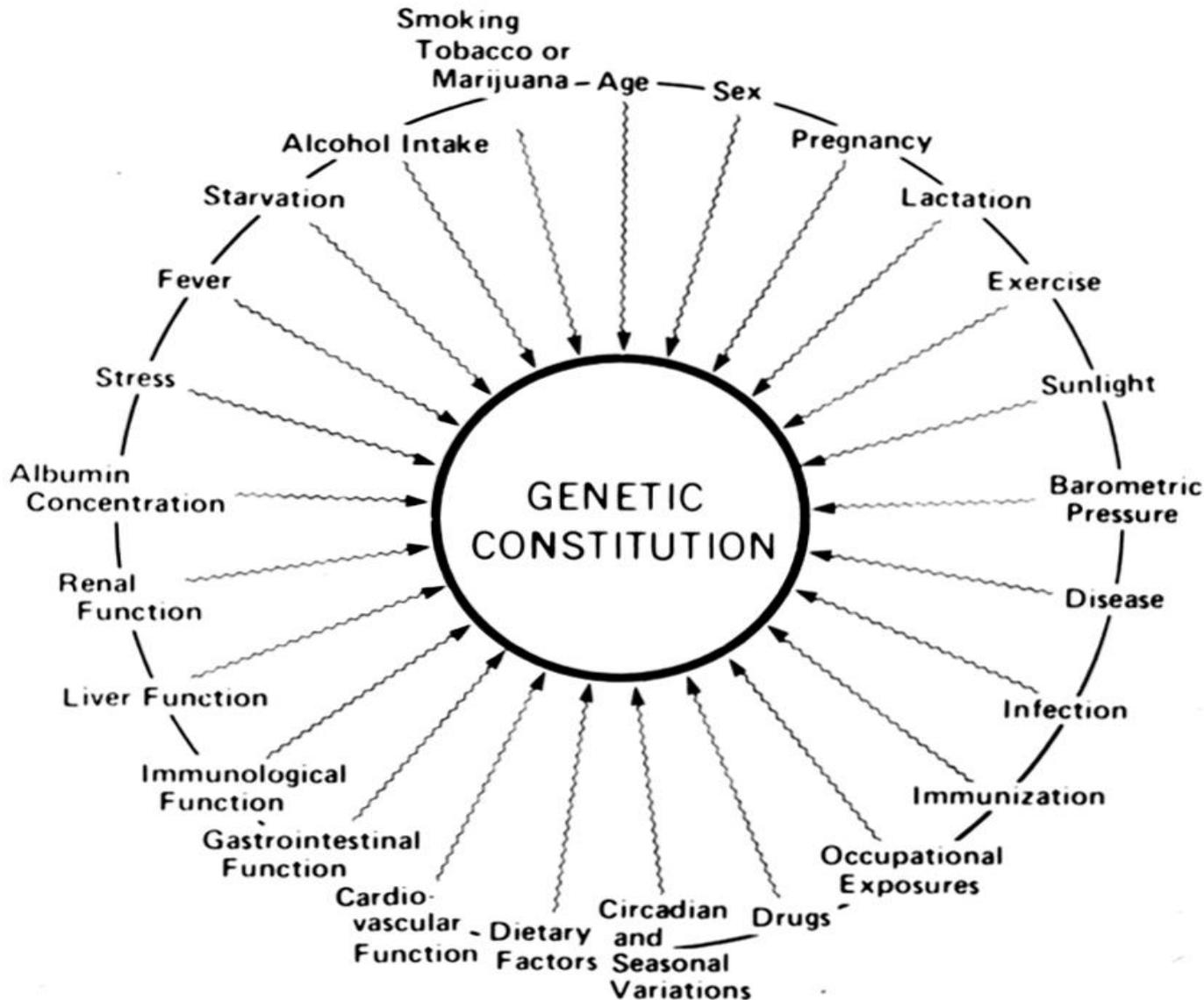
- **Tutte le cellule di un organismo hanno (quasi) lo stesso genoma**
 - ⊕ *perché i diversi tessuti sono così diversi?*
- **Due cloni hanno lo stesso genoma , ma possono mostrare fenotipi diversi**
 - ⊕ *adattamento alle diverse condizioni ambientali?*
- **Il genoma di organismo rimane (quasi) costante nel tempo**
 - ⊕ *perché allora l'organismo cambia nel tempo?*



**STESSO GENOTIPO,
FENOTIPI DIVERSI**

*... lo stesso genotipo esprime
diversi fenotipi a causa dei
diversi stimoli ambientali*

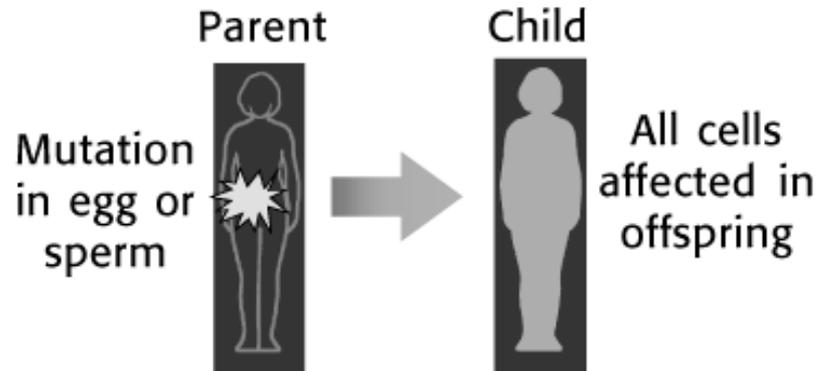
2. personalizzazione in medicina di laboratorio



Dr. Howard L. McLeod, Eshelman Distinguished Professor and Director Institute for Pharmacogenomics and Individualized Therapy (IPIT) - University of North Carolina – Chapel Hill, NC – April 2011

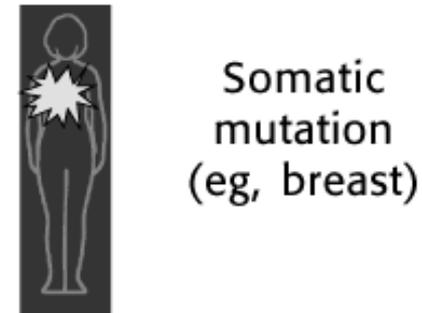
Cancer Arises from Gene Mutations

Germline mutations



- Present in egg or sperm
- Are heritable
- Cause cancer family syndromes

Somatic mutations



- Occur in nongermline tissues
- Are nonheritable
- Acquired alterations common for all cancers

... un nuovo approccio ai biomarcatori



1. Premessa / Definizioni

- la diagnosi di laboratorio
- i biomarcatori

2. Personalizzazione in medicina di laboratorio

- le differenze
 - ambientali
 - di genere
 - di "individuo"



3. Nuove prospettive diagnostiche

- i nuovi biomarcatori
- le "omics"
- appropriatezza diagnostico/terapeutica di "un nuovo sistema"

What needs to be done to determine hope vs hype?

-  **Find the 'right' biomarkers**
-  **Validate in robust datasets**
-  **Apply them!**

3. nuove prospettive diagnostiche

i nuovi biomarcatori

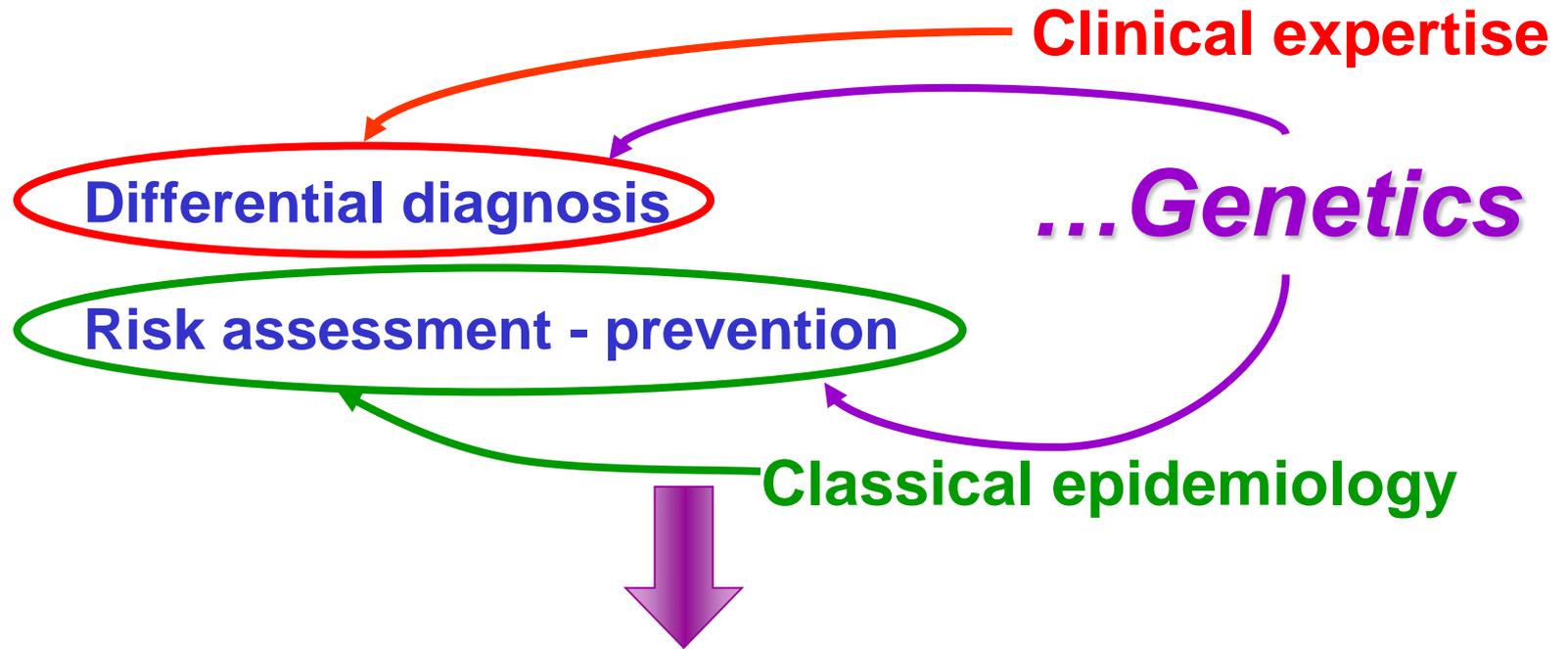
Le biotecnologie hanno aperto enormi possibilità di scoprire marcatori molecolari associati a variazioni nelle funzioni cellulari, a diverse condizioni dei tessuti e di qualsiasi matrice biologica

la moderna definizione di biomarcatore è riferita a molecole utilizzabili in ambito biomedico e utili per:

- ➔ la prevenzione
- ➔ l' "anticipazione" dello sviluppo di una patologia
- ➔ la diagnosi
- ➔ l'eventuale stadiazione
- ➔ la prognosi
- ➔ il monitoraggio terapeutico
- ➔ lo sviluppo farmacologico per caratterizzare i meccanismi d'azione di candidati farmaci
- ➔ la risposta al trattamento farmacologico

Medical Progress: Evolution or Revolution?

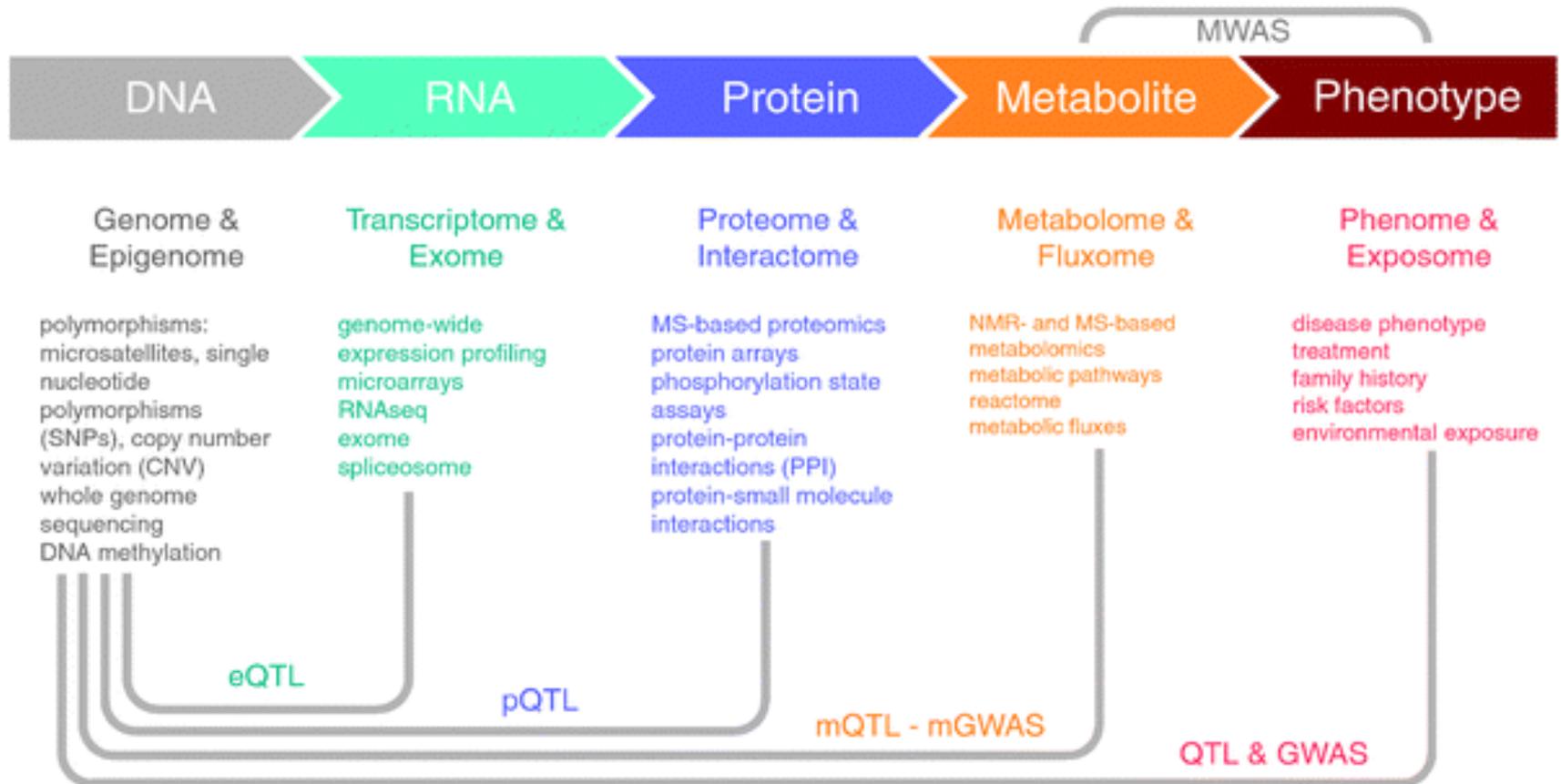
Historic Drivers of Medical Progress



More differentiated, *molecular* understanding of pathology and drug action

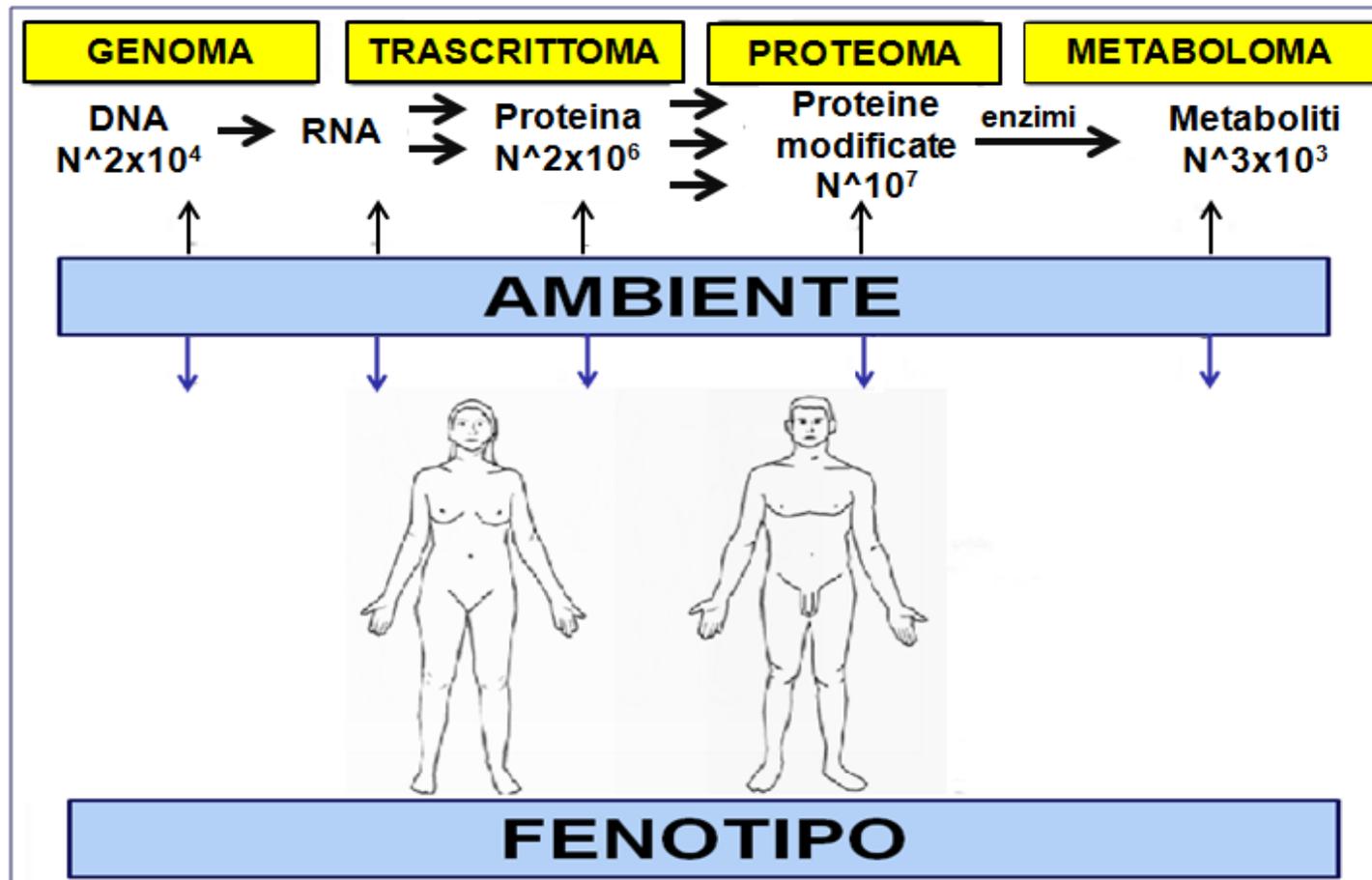
3. nuove prospettive diagnostiche

le scienze “omics”



3. nuove prospettive diagnostiche

le scienze "OMICS" e ...



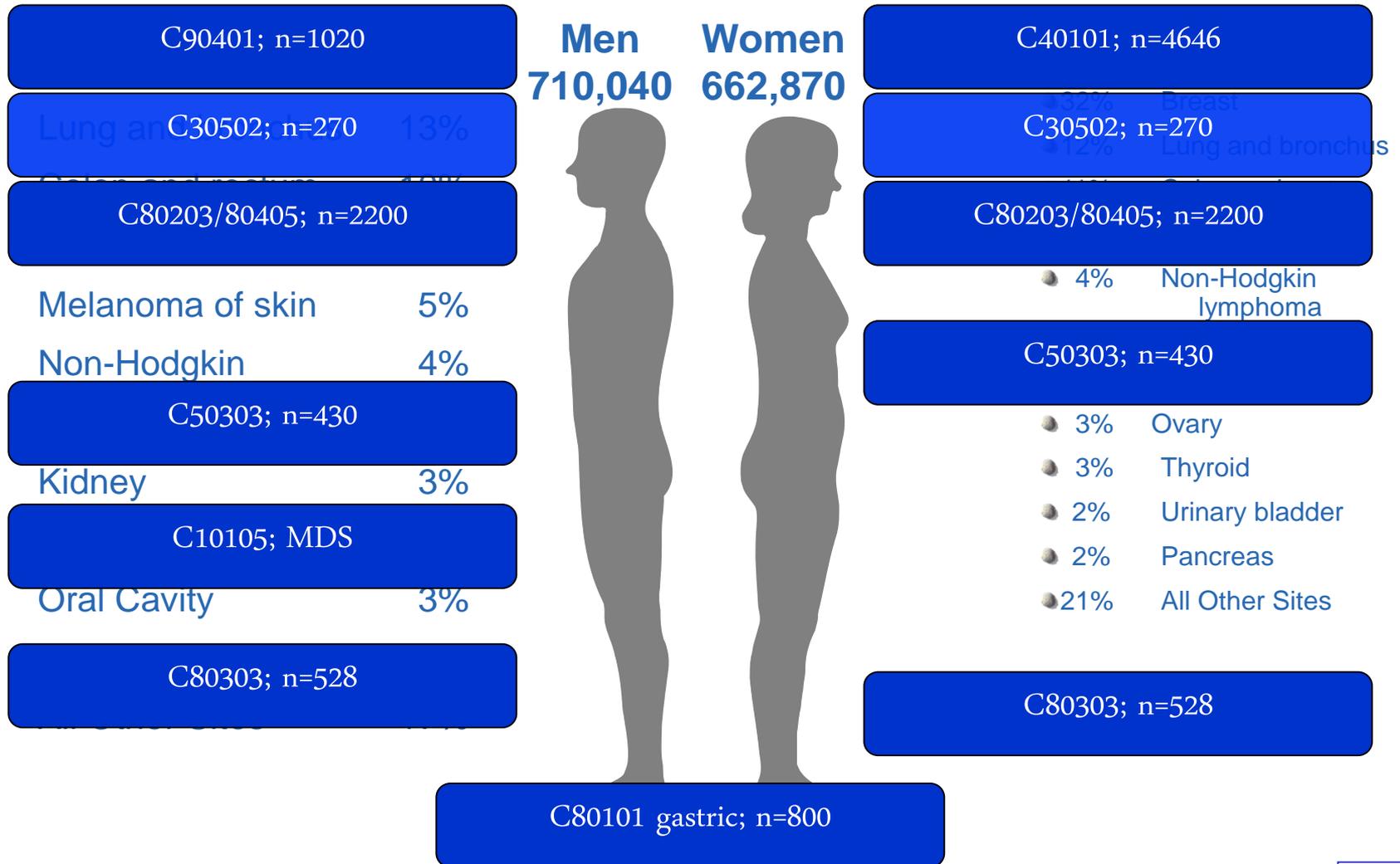
3. nuove prospettive diagnostiche

il cambiamento della stratificazione del rischio

Test	Scopo dell'esame	Campo di applicazione
BRCA1 BRCA2	<ul style="list-style-type: none">- prevenzione- calcolo di rischio	<i>Oncologia: mammella, ovaio - predittività (70%)</i>
allele HLA-B 1502	<ul style="list-style-type: none">- farmacologico	<i>Terapia carbamezapina: complicazioni: di Sindrome Stevens-Johnson e necrolisi epidermica tossica</i>
miR-499-5p	<ul style="list-style-type: none">- diagnosi precoce/stadiazione	<i>SCA > specificità della TnT hs</i>
HER2/neu	<ul style="list-style-type: none">- prevenzione- calcolo di rischio- farmacologico	<i>Oncologia Terapia</i>
CLUSTERINA	<ul style="list-style-type: none">- diagnosi precoce- gravità	<i>Neurologia. Alzheimer ?? Ostetricia: Preclampsia</i>

3. nuove prospettive diagnostiche

2011 Estimated US Cancer Cases*



*Excludes basal and squamous cell skin cancers and in situ carcinomas except urinary bladder.

Source: American Cancer Society, 2005.

3. nuove prospettive diagnostiche

il cambiamento della stratificazione del rischio

EGFR Mutants *Much ado about...?*

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ESTABLISHED IN 1812

MAY 20, 2004

VOL. 350 NO. 21

Activating Mutations in the Epidermal Growth Factor Receptor Underlying Responsiveness of Non-Small-Cell Lung Cancer to Gefitinib

Thomas J. Lynch, M.D., Daphne W. Bell, Ph.D., Raffaella Sordella, Ph.D., Sarada Gurubhagavatula, M.D.,
Ross A. Okimoto, B.S., Brian W. Brannigan, B.A., Patricia L. Harris, M.S., Sara M. Haserlat, B.A.,
Jeffrey G. Supko, Ph.D., Frank G. Haluska, M.D., Ph.D., David N. Louis, M.D., David C. Christiani, M.D.,
Jeff Settleman, Ph.D., and Daniel A. Haber, M.D., Ph.D.

Scienceexpress

Report

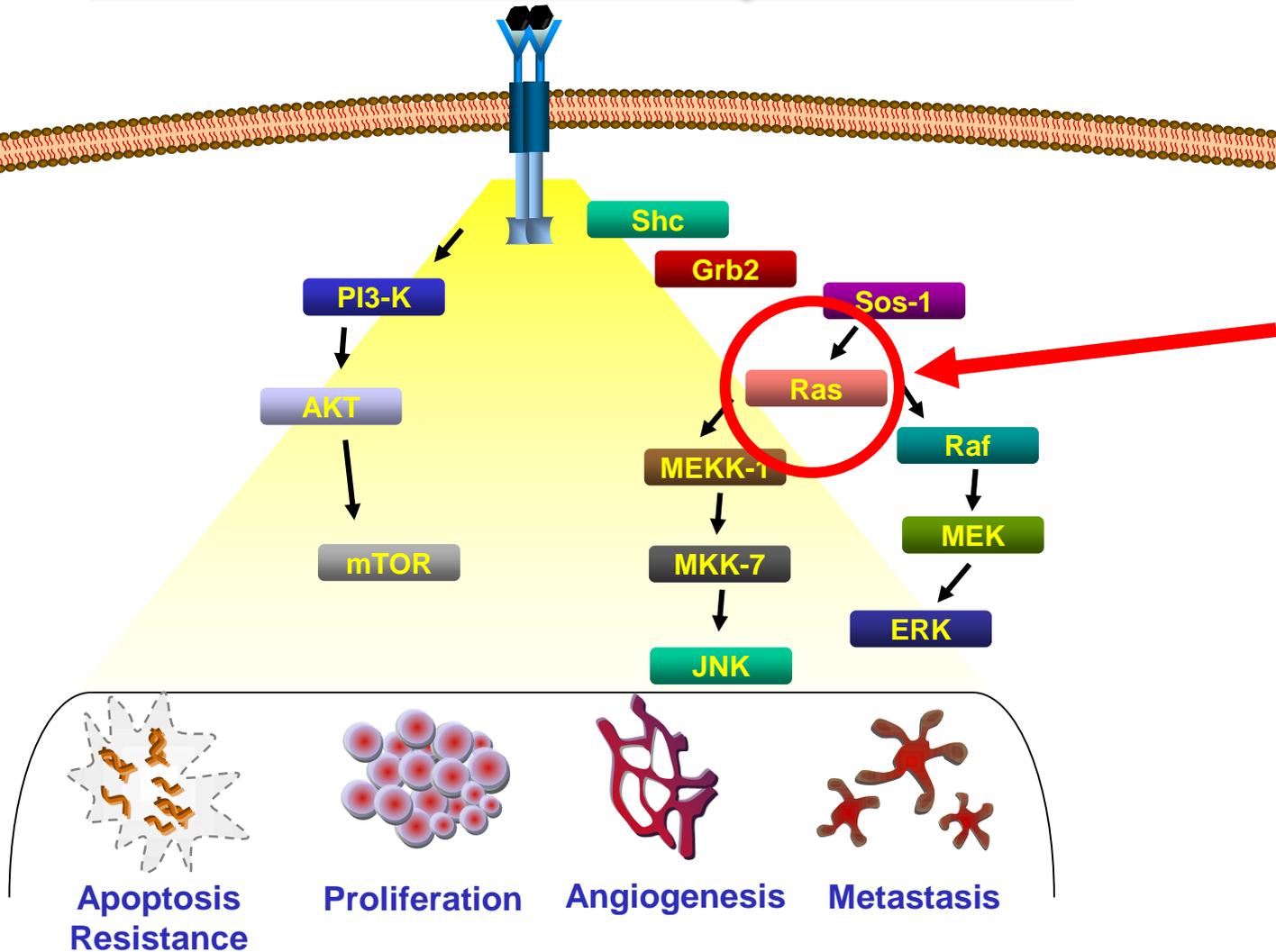
EGFR Mutations in Lung Cancer: Correlation with Clinical Response to Gefitinib Therapy

J. Guillermo Paez,^{1,2*} Pasi A. Jänne,^{1,2*} Jeffrey C. Lee,^{1,3*} Sean Tracy,¹ Heidi Greulich,^{1,2} Stacey Gabriel,⁴
Paula Herman,¹ Frederic J. Kaye,⁵ Neal Lindeman,⁶ Titus J. Boggon,^{1,3} Katsuhiko Naoki,¹ Hidefumi Sasaki,⁷
Yoshitaka Fujii,⁷ Michael J. Eck,^{1,3} William R. Sellers,^{1,2,4†} Bruce E. Johnson,^{1,2†} Matthew Meyerson^{1,3,4†}

3. nuove prospettive diagnostiche

Utilizzo del Trastuzumab in Oncologia

EGFR Pathway



3. nuove prospettive diagnostiche

il cambiamento della stratificazione del rischio



IEO

Istituto Europeo di Oncologia

**CURE A DANNO ZERO, PROFILO GENOMICO PER TUTTI,
SCELTE GUIDATE DALLA QUALITÀ DI VITA DELLA PERSONA**

**Il nuovo Direttore Scientifico presenta
le novità cliniche e di ricerca del piano 2015-2020**

Milano, 3 febbraio 2015 – Cure a danno zero, Dna sequenziato per tutti e una cura per ognuno, scelte guidate dalla qualità della vita della persona: Roberto Orecchia, Direttore Scientifico, presenta i punti salienti del piano di sviluppo clinico-scientifico dell'Istituto Europeo di Oncologia per i prossimi cinque anni.

3. nuove prospettive diagnostiche

metodi e tecniche di studio

genomics and trascryptomics from “single gene” to “large scala”

ONE-GENE APPROACH

- Real Time PCR
- PCR semiquantitativa
- Northern blot
- In situ Hybridization

LARGE SCALE APPROACH

- Systematic sequencing of ESTs from cDNA libraries
- SAGE (Serial Analysis of Gene Expression)
- cDNA microarrays

proteomics and metabolomics

- Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)
- Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS)
- Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectrometry
- Fourier-transform infrared (FT-IR) spectrometry
- Metabolite arrays

3. nuove prospettive diagnostiche



nature

International weekly journal of science

29 APRIL 2015 | VOL 520 | 611

Time for one-person trials

Precision medicine requires a different type of clinical trial that focuses on individual, not average, responses to therapy, says Nicholas J. Schork

... una nuova visione di appropriatezza

“A key component will be transforming everyday clinical care into solid N-of-1 trials.”

... is the ongoing shift in the relationship between patients and physicians. A major advantage of the **N-of-1 approach** over classical trials is that patients are no longer guinea pigs, whose involvement in a study may help only future generations.

nature, 29 april 2015 | VOL 520 | 611

Nicholas J. Schork, director of human biology at the J. Craig Venter Institute in La Jolla, California, USA. He is also professor at the University of California, San Diego, and at the Translational Genomics Research Institute (TGen) in Phoenix, Arizona, USA

3. nuove prospettive diagnostiche

nature

International weekly journal of science

29 APRIL 2015 | VOL 520 | 611

Time for one-person trials

Precision medicine requires a different type of clinical trial that focuses on individual, not average, responses to therapy, says Nicholas J. Schork

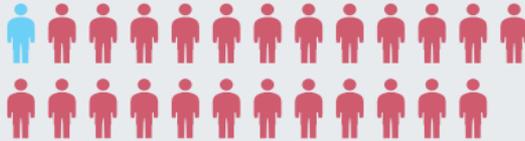
IMPRECISION MEDICINE

For every person they do help (blue), the ten highest-grossing drugs in the United States fail to improve the conditions of between 3 and 24 people (red).

1. ABILIFY (aripiprazole)
Schizophrenia



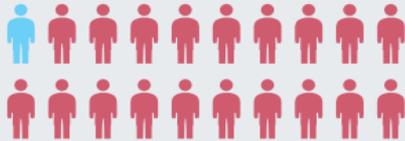
2. NEXIUM (esomeprazole)
Heartburn



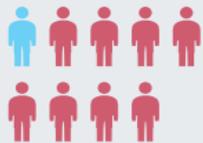
3. HUMIRA (adalimumab)
Arthritis



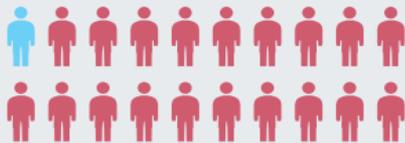
4. CRESTOR (rosuvastatin)
High cholesterol



5. CYMBALTA (duloxetine)
Depression



6. ADVAIR DISKUS (fluticasone propionate)
Asthma



7. ENBREL (etanercept)
Psoriasis



8. REMICADE (infliximab)
Crohn's disease



9. COPAXONE (glatiramer acetate)
Multiple sclerosis



10. NEULASTA (pegfilgrastim)
Neutropenia



Based on published number needed to treat (NNT) figures. For a full list of references, see Supplementary Information at go.nature.com/4dr78f.

example:

- ➔ Gleevec (imatinib) raddoppia il tasso di sopravvivenza di leucemia nei pazienti con un'anomalia cromosomica di "traslocazione Philadelphia"
- ➔ Erbitux (Cetuximab) migliora la sopravvivenza delle persone con tumore del colon-retto le cui cellule tumorali trasportano un gene EGFR mutato ma non un gene5 KRAS mutato

La Medicina e la Medicina di Laboratorio cambiano profondamente facciamoci trovare culturalmente pronti!

medicina olistica



Impressione: sole al tramonto. Claude Monet, 1872