

La risposta dei marcatori tumorali (indicatori di neoplasia)

Esposito E.^a, Dorizzi R.M.^b

^aLaboratorio di Patologia Clinica, A.R.N.A.S. Ospedale Civico e Benfratelli di Palermo

^bLaboratorio Analisi Chimico Cliniche ed Ematologia, Azienda Ospedaliera di Verona

in nome del Gruppo di Studio SIMeL - Medicina di Laboratorio Basata sull'Evidenza (Evidence Based Laboratory Medicine)

Premesse

Nonostante la diffusione che la Evidence Based Laboratory Medicine ha avuto nell'ultimo decennio, le evidenze relative agli studi di valutazione clinica dei marcatori tumorali, sinora condotti, sono molto limitate e le linee guida per l'utilizzo degli indicatori di neoplasia (termine che insieme a biomarcatori oncologici preferiamo a "marcatori tumorali") sono state formulate, fino ad oggi, in maniera prevalentemente aneddotica e sono risultate di tipo restrittivo, caratterizzate da raccomandazioni di forza insufficiente (di tipo B o C), che suggerivano *cosa non fare piuttosto che cosa fare*^{1,2}. Il basso livello di evidenza di gran parte degli studi utilizzati per la preparazione delle linee guida (principalmente di tipo retrospettivo) e dei risultati pubblicati sui biomarcatori, da un lato, e l'inadeguatezza degli intervalli di riferimento utilizzati in genere dai laboratori e dai clinici, dall'altro, hanno rimodellato in modo sempre più sostanziale il ruolo degli indicatori di neoplasia, nel processo diagnostico ed in quello del follow-up dei pazienti.

Ad un uso non sempre razionale degli indicatori di neoplasia tradizionali, che è stata segnalato ripetutamente³, si aggiunge spesso una limitata accuratezza clinico-diagnostica, dovuta a modeste sensibilità e specificità ed a valori predittivi positivi e negativi molto bassi, nei confronti di patologie in cui un errore diagnostico può avere gravi conseguenze non solo cliniche ma anche psicologiche. L'impiego in questo contesto di intervalli di riferimento calcolati nel modo tradizionale su popolazioni sane, come unico parametro di valutazione dei risultati degli indicatori di neoplasia, ne ha limitato fortemente l'utilità, favorendo l'impiego da parte dei clinici di altri strumenti diagnostici.

Il frequente riscontro di concentrazione elevata degli indicatori di neoplasia anche in numerose condizioni cliniche non associate a cancro, ha suggerito da molto tempo di introdurre in questo ambito il concetto di *livello decisionale*. Si parla di livello decisionale in quanto il superamento di tale livello induce l'avvio di ulteriori procedure diagnostiche di approfondimento, migliorando sia la sensibilità diagnostica del marcatore che il suo impatto costo/beneficio. Secondo la classica definizione di Bernard Statland⁴ si trat-

ta di limiti che possono essere determinati in modo diverso (empiricamente sulla base del consenso clinico ovvero, meglio, con procedure statistiche di elaborazione dei dati, basate sulle curve ROC, che consentono di ottimizzare sensibilità e specificità); *clinical decision point*, scelti opportunamente, consentono di assegnare un soggetto ad una particolare classe clinica (alto rischio, basso rischio, rischio moderato ovvero responder, non responder).

Indice di Individualità e variabilità biologica

I limiti legati alla valutazione di un risultato sulla base di valori di riferimento calcolati sulla popolazione sana vengono ulteriormente confermati, per quanto riguarda gli indicatori di neoplasia tumorali, dal parametro *Indice di Individualità* (II) introdotto da Harris nel 1974. L'II, comunemente ottenuto dal rapporto fra la variabilità biologica intra-individuale (Vbi, la misura della oscillazione casuale di un valore attorno al suo punto omeostatico) e la variabilità biologica inter-individuale (Vbg, la variazione dei vari punti omeostatici negli individui di una popolazione) di un analita, ci permette di ottenere informazioni immediate circa l'utilità dei valori di riferimento calcolati sulla popolazione per la valutazione dei risultati di un esame.

La concentrazione degli analiti con elevata "individualità" (Vbi << Vbg) può risultare anche molto diversa negli individui della popolazione, pur senza alcun significato diagnostico, perché individui diversi possono presentare concentrazioni diverse ma egualmente "normali". In pratica, il confronto di un risultato con l'intervallo di riferimento della popolazione può essere utile solo se l'II per l'analita in esame è > 1.4 (cioè se Vbi >> Vbg). Tale riferimento può risultare, invece, fuorviante per analiti con II < 0.6 (cioè se Vbi << Vbg), come nel caso della maggior parte degli indicatori di neoplasia, caratterizzati da II particolarmente bassi (Tabella 1)⁵. Fraser sottolinea, inoltre, l'opportunità di utilizzare intervalli di riferimento *individuo-specifici* se ci troviamo in presenza di analiti con II < 0.6: in questo caso, un risultato classificato come "normale" se confrontato con il valore di riferimento della popolazione potrebbe, invece, risultare "patologico" rispetto al valore di riferimento "individuale", permettendo di evidenziare una va-

Tabella I. Variabilità biologica ed Indice di individualità di alcuni indicatori di neoplasia (Vbi=Variabilità biologica intra-individuale; Vbg= Variabilità biologica inter-individuale).

Indicatore di neoplasia	Vbi	Vbg	Indice di individualità
CA 125	13.6	46.5	0.29
CA 15-3	5.7	42.9	0.1
CA 19-9	24.5	93	0.26
CEA	9.3	55.6	0.16
MCA	10.1	39.3	0.25
PSA	14	72.4	0.19
TPA	28.7	40.4	0.71
TPS	36.1	108	0.33

riazione clinicamente significativa che, altrimenti, sfuggirebbe all'osservazione.

Alcuni autori hanno recentemente sostenuto che è più vantaggioso ricorrere all'uso della valutazione in serie dei risultati, piuttosto che utilizzare l'intervallo di riferimento tradizionale, solo quando si valutano analiti con $II < 0.48\%$. Sempre maggiore importanza, sia in termini diagnostici che di outcome, si attribuisce, tuttavia, all'uso di una valutazione dinamica dei livelli di qualsiasi marcatore tumorale che venga identificato come surrogato di crescita neoplastica. Oltre al classico modello per la determinazione del $t_{1/2}$ o DT (tempo di dimezzamento dell'indicatore), che richiede, comunque, l'ottimizzazione del tempo di prelievo e dell'intervallo fra le varie determinazioni, è stato recentemente proposto l'uso del parametro Reference Change Value (RCV, Valore della differenza di riferimento). L'RCV valuta l'incertezza relativa sia alla variabilità analitica che alla variabilità biologica dell'indicatore in esame per quantificare una variazione clinicamente significativa, al 95 o al 99% di probabilità, sia ai fini della identificazione precoce di patologie neoplastiche nell'ambito di una popolazione a rischio, che nella valutazione della progressione di malattia in pazienti oncologici da sottoporre ad un trattamento tossico e costoso, come la chemioterapia.

Indicatori di neoplasia

Per una valutazione appropriata dei risultati di un indicatore di neoplasia, compatibile con un uso *dinamico-funzionale* (piuttosto che statico) del valore ottenuto, può risultare utile, a nostro avviso, indicare nel referto i seguenti parametri: un valore di riferimento *normale* rappresentato dal limite superiore dell'intervallo di riferimento (differenziato, quando opportuno, in relazione a sesso ed età) che identifica il più alto valore predittivo negativo; un *livello decisionale* (il valore del marcatore con il più alto valore predittivo positivo), l'RCV (il parametro di riferimento nel monitoraggio, che può variare in funzione della precisione del metodo di dosaggio utilizzato).

Gli indicatori di neoplasia tradizionali sono stati relegati, fondamentalmente, al ruolo di indicatori di massa ed utilizzati prevalentemente nel follow-up o nel monitoraggio della malattia neoplastica, a breve e lungo termine, con criteri di valutazione del risultato piuttosto empirici (come l'aumento o diminuzione del 25%). La scarsa specificità organo/tessuto della maggior parte di essi ha limitato, inol-

tre, a pochi (Tireoglobulina, PSA, hCG) l'eventuale utilizzo nella ricerca della sede di origine di metastasi di provenienza sconosciuta.

Le problematiche connesse al corretto utilizzo degli indicatori di neoplasia (selezione del marcatore appropriato ed individuazione delle corrette modalità relative ai tempi e alle procedure di campionamento), segnalate da numerosi autori e dalle stesse aziende produttrici, sono state oggetto, anche recentemente, di raccomandazioni di numerose associazioni scientifiche.¹ Nel capitolo introduttivo alle linee guida 2005 della NACB, dedicate all'uso degli indicatori di neoplasia in 17 diverse condizioni neoplastiche, viene riconosciuta al marcatore tumorale la potenzialità di essere utilizzato come strumento di valutazione della malattia neoplastica, in presenza di criteri piuttosto "impegnativi":

- 1) i risultati ottenuti sono appropriati e pertinenti alle varie situazioni (valutazione del rischio, screening, diagnosi, prognosi, monitoraggio);
- 2) i risultati del marcatore separano i pazienti in due o più popolazioni, il cui outcome differisce tanto da rendere possibile un trattamento differenziato;
- 3) è possibile effettuare una stima di outcome separati, in funzione di risultati positivi o negativi del marcatore.

Vengono presi in considerazione i livelli di evidenza cui fare riferimento, per valutare l'utilità clinica di un indicatore, attribuendo il massimo grado di evidenza (Livello I) a studi controllati prospettici di elevata forza, progettati per la valutazione specifica del marcatore, oppure a metanalisi, ed un basso livello di evidenza agli studi retrospettivi (Livello IV) e ai piccoli studi pilota (Livello V).

Negli ultimi anni, il processo di evoluzione metodologico-strumentale che ha subito la ricerca degli indicatori di neoplasia sierici di nuova generazione ha portato alla identificazione di nuove proteine associate ai processi di regolazione genica del cancro (prodotti di oncogeni e geni oncosoppressori), cui si è riconosciuta particolare importanza come fattori di predittività nell'ambito di nuove strategie terapeutiche.

Le nuove strategie di utilizzo Evidence-Based di indicatori di neoplasia vecchi e nuovi, saranno dunque basate sui risultati di studi prospettici, come i trial randomizzati, atti a documentarne la relazione diretta con l'outcome, analogamente a quanto già sperimentato nella validazione di nuovi farmaci.

Gli indicatori di neoplasia potrebbero essere utilizzati nel contesto di trial clinici ben disegnati di due differenti classi:

- 1) un disegno relativo *all'interazione del marcatore con il trattamento*, dove il marcatore viene studiato in base alla sua capacità di rendere efficace un particolare trattamento (trial clinico con stratificazione del marcatore);
- 2) un disegno sulla *strategia marcatore-basata*, dove, nota la concentrazione di un indicatore, il paziente è assegnato ad un gruppo in maniera randomizzata.

Il valore predittivo del marcatore sarà valutato confrontando l'outcome di tutti i pazienti in cui è stato valutato l'indicatore, rispetto a quelli in cui non è stato valutato.

Un indicatore di neoplasia potrebbe, inoltre, essere utilizzato come criterio decisionale unico, in sostituzione di altri criteri clinico-strumentali, verificando la possibilità di adottare un qualsiasi bioindicatore come surrogato del cosiddetto *end-point* vero. Nei Criteri di Valutazione della Risposta nei Tumori Solidi (studio RECIST) vengono adottati degli standard metodologici di diagnostica per immagini per misurare l'efficacia della terapia; nelle pazienti con cancro all'ovaio, tuttavia, tale risposta non sempre può essere misurata con i criteri standard, per cui il Ginecologic Cancer Inter Group (GCIG) ha proposto una valutazione della concentrazione del CA 125 (riduzione del 50%, confermata e stabile per almeno 28 giorni), sulla base dei risultati provenienti da studi prospettici in cui il dosaggio del CA 125 era 2.6 volte più accurato dei criteri clinici RECIST nel predire la sopravvivenza delle pazienti; recentemente lo stesso gruppo ha, inoltre, avanzato la proposta di una valutazione dinamica del CA 125⁸. In condizioni ideali di studio, il biomarcatore potrà fornire indicazioni direttamente correlate ad un outcome positivo, piuttosto che ad un insuccesso terapeutico e potranno essere individuati chiaramente *livelli decisionali* per avviare, confermare o sospendere una terapia, che devono essere preferiti ad intervalli di riferimento e valori di cut-off, elaborati in maniera retrospettiva.

Le linee guida della National Academy of Clinical Biochemistry (NACB)

Nell'ambito dell'utilizzo clinico degli indicatori di neoplasia tumorali nelle specifiche neoplasie, le recenti linee guida della NACB contengono raccomandazioni di questo tipo:

- 1) per **screening/individuazione precoce** sono raccomandati (con alcune limitazioni):
 - a) PSA libero e totale (in associazione con la DRE) per i tumori della prostata, nonostante le problematiche dello screening della prostata ripetutamente discusse come l'incertezza relativa agli eventuali benefici di outcome dopo trattamento di un cancro alla prostata ben localizzato e la morbilità associati al trattamento stesso⁹;
 - b) AFP per l'epatoma (solo in soggetti ad alto rischio);
 - c) CA 125 per la identificazione precoce di cancro all'ovaio (nelle pazienti con sindrome ereditaria ed in combinazione con Ecografia Transvaginale); questo esame va evitato nello screening delle donne in pre-menopausa perché può elevarsi spesso per cause benigne; studi in donne in post-menopausa con massa pelvica palpabile asintomatica hanno documentato che l'uso del CA 125, con un cut-off di 65 mU/L, raggiunge una predittività

per cancro del risultato positivo del 98%;

- d) Ricerca di sangue occulto nelle feci per il cancro colon-retto (in pazienti di età > 50 anni); i test genetici sono raccomandati in soggetti ad alto rischio.

2) Per **diagnosi/case-finding** sono raccomandati:

- a) AFP, hCG ed LDH nel cancro del testicolo;
- b) AFP nell'epatocarcinoma;
- c) CA19-9 nel cancro del pancreas (solo in associazione a TAC o ecografia ed in appropriato contesto clinico);
- d) CA 125 nel cancro ovario (solo in post-menopausa);
- e) SCC nel cancro della cervice a cellule squamose.

3) Per **valutazione prognosi/stadiazione** sono raccomandati:

- a) AFP, hCG ed LDH nel cancro del testicolo;
- b) AFP nell'epatocarcinoma;
- c) CEA per il cancro del colon-retto (già raccomandato dall'ASCO);
- d) CA 125 nel cancro dell'ovaio;
- e) CA 19-9 nel cancro del pancreas;
- f) SCC nel cancro della cervice a cellule squamose;
- g) Recettori estrogenici e progestinici ed HER-2 nel cancro della mammella;
- h) PSA totale e complessato per il cancro della prostata, ma solo in associazione a DRE e biopsia.

4) Per **valutazione di recidiva** sono raccomandati:

- a) AFP, hCG ed LDH nel cancro del testicolo;
 - b) AFP nell'epatocarcinoma;
 - c) CEA per il cancro del colon-retto;
 - d) CA 125 nel cancro dell'ovaio;
 - e) SCC nel cancro della cervice a cellule squamose;
 - f) PSA totale e complessato per il cancro della prostata.
- Non è raccomandato nessun marcatore per cancro della mammella e del pancreas.*

5) Per **monitoraggio di terapia** sono raccomandati:

- a) AFP, hCG ed LDH nel cancro del testicolo;
- a) AFP nell'epatocarcinoma;
- b) CEA per il cancro del colon-retto;
- c) CA 125 nel cancro dell'ovaio;
- d) SCC nel cancro della cervice a cellule squamose;
- e) PSA totale e complessato per il cancro della prostata;
- f) Ca 15-3 e CEA per il cancro della mammella in fase avanzata;
- g) CA 19-9 nel cancro del pancreas (solo durante terapie palliative ed in associazione a procedure di imaging o dopo potenziali terapie chirurgiche).

Indicatori di neoplasia: proposte operative ed esempi

L'attuale scenario internazionale riferibile alla diagnostica oncologica di laboratorio può essere citato come esempio delle problematiche che oggi affliggono tutti i sistemi sanitari (variabilità quali/quantitativa dell'approccio diagnostico; *underuse, overuse or misuse* delle procedure diagnostico/terapeutiche). In un contesto di risorse economiche sempre più limitate, si è assistito, dagli anni settanta ad oggi, ad una evoluzione dell'assistenza sanitaria verso la ricerca di una "produttività" più consapevole, attraverso un processo che, assimilati i concetti di "efficienza", "qualità" ed effi-

Tabella II. Requisiti e raccomandazioni per il corretto impiego degli indicatori di neoplasia (da Rif.1 modificato).

<i>REQUISITI</i>	<i>RACCOMANDAZIONI</i>	<i>COMMENTI</i>
a) Requisiti di buona pratica di laboratorio		
Informazione clinica dai dati della richiesta	Una breve informazione clinica relativa alla patologia neoplastica (in atto/presunta) ed alle condizioni del prelievo rispetto alla terapia (pre/post) dovrebbe accompagnare il campione.	Tali informazioni sono essenziali ai fini della corretta interpretazione del referto e possono risultare utili nell'identificazione di eventuali errori grossolani (es. scambio provetta).
Intervalli di riferimento appropriati	Gli intervalli di riferimento devono essere costruiti con una appropriata popolazione sana.	Gli intervalli di riferimento sono un dato rilevante per i pazienti in pre-trattamento; per ciascun paziente, comunque, il valore basale rappresenta il più importante valore di riferimento. Per l'interpretazione dei risultati, un aumento di tale valore, riscontrato anche nell'ambito di un intervallo di riferimento normale, può essere significativo.
Conoscenza del parametro <i>variazione significativa</i>	Il laboratorio dovrebbe definire la percentuale di aumento o decremento dei valori che costituisce una variazione significativa, sulla base di variabilità analitica e biologica (RCV) e fornire informazioni a tal riguardo.	Un aumento o decremento di un risultato di +/- 25% frequentemente viene considerato come clinicamente significativo; occorre tuttavia precisare tale criterio, in riferimento all'utilizzo della variabilità biologica del test.
Protocollo relativo alla variazione di metodo	Il laboratorio dovrebbe definire un protocollo per i casi in cui cambia il metodo nel dosaggio dei marcatori tumorali.	E' necessario rianalizzare con il nuovo metodo il campione in questione ovvero richiederne uno nuovo per ristabilire il valore basale del dosaggio e/o confermare l'andamento.
Conoscenza dell'emivita dei marcatori tumorali	Il laboratorio dovrebbe essere in grado di calcolare il valore di emivita di quei marcatori per i quali tale dato è clinicamente rilevante (AFP, hCG)	L'emivita è definita come il tempo necessario al dimezzamento della concentrazione sierica di un marcatore tumorale, dopo completa resezione del tessuto tumorale di provenienza.
Audit di laboratorio sull'utilità dei marcatori tumorali	Il laboratorio dovrebbe essere coinvolto in audit-clinici relativi all'utilità dei risultati forniti	Questa raccomandazione rimane una priorità e comincia ad essere presa in considerazione da numerose organizzazioni di professionisti.
b) Requisiti del referto		
Risultati cumulativi	Il laboratorio dovrebbe fornire i risultati dei marcatori tumorali in forma cumulativa; a tal proposito, una rappresentazione grafica potrebbe risultare utile.	Un referto risulta utile se facilita l'interpretazione dei risultati e favorisce la comunicazione tra il laboratorio e i clinici; il referto risulta utile se comprende una sintetica informazione clinica come, ad esempio, la data dell'intervento.
Metodo di dosaggio	Il laboratorio dovrebbe indicare nel referto il metodo utilizzato e segnalare ogni cambiamento metodologica che potrebbe influenzare l'interpretazione dei risultati	
Raccomandazioni relative alla appropriatezza nella frequenza dei dosaggi	Il laboratorio dovrebbe fornire informazioni sulla frequenza del monitoraggio e sulla necessità di campioni di conferma	Un aumento della concentrazione di un marcatore dovrebbe essere sempre confermato con una seconda determinazione
Comunicazione tra il laboratorio e i clinici	Il laboratorio dovrebbe sempre accettare e favorire i commenti dei clinici	Una buona comunicazione facilita l'uso appropriato di tutti gli esami diagnostici

cazia, è approdato alla “appropriatezza delle prestazioni (*operare in economia, fare le cose bene, fare le cose giuste, fare bene le cose giuste*). Nell’ambito del Governo Clinico, teso all’appropriatezza degli interventi sanitari, la valutazione dell’elevato impatto economico dell’uso non Evidence-Based della diagnostica oncologica di “1° livello”, che induce spesso indagini di approfondimento costose ed inutili, fa emergere la necessità di nuove modalità di richiesta, esecuzione e refertazione degli indicatori biochimici di neoplasia. A tal proposito il GIVRAIN (Gruppo Interdisciplinare Veneto per la Richiesta Appropriata degli Indicatori Biochimici di Neoplasia) ha proposto di limitare l’analisi degli indicatori di neoplasia ai casi in cui fosse indicata la diagnosi (e non il sospetto) di cancro e di indicare nel referto la metodica o l’analizzatore con cui è stata eseguita la determinazione¹⁰. La non comparabilità dei risultati ottenuti con metodi e strumenti diversi è, infatti, uno dei principali limiti attuali nella determinazione degli indicatori di neoplasia; è stata ripetutamente segnalata^{11,12} ed è documentata dagli alti coefficienti di variazione inter-metodi (> 20%), evidenziati dai programmi di Valutazione Esterna della Qualità. La causa di tale fenomeno si può ricondurre ad una calibrazione inadeguata (molti indicatori mancano di standard di riferimento internazionale), a diverse specificità degli anticorpi utilizzati, a diversità nella architettura e “robustezza” di metodi. Il coefficiente di variazione compreso tra il 16 ed il 49% nella concentrazione di CEA, ottenuto in 80 campioni analizzati con 21 diversi metodi commerciali, è significativo¹³.

Il cambiamento gestionale nel laboratorio di diagnostica oncologica, relativo alle varie fasi di produzione del risultato analitico, potrà essere implementato mediante un’attività di tipo consulenziale fornita da specialisti, individuati all’interno del laboratorio. A tale proposito appaiono molto pragmatiche ed utili le raccomandazioni della NACB del 2005, relative ai requisiti di qualità per minimizzare gli errori non solo analitici, ma anche pre- e post-analitici (Tabella II).

L’esigenza di appropriatezza nelle varie fasi del processo di elaborazione dei referti relativi agli indicatori di neoplasia trova nella EBLM un prezioso supporto nell’ambito della patologia oncologica, per un uso più razionale delle risorse economiche disponibili.

La necessità di migliorare l’utilizzo degli indicatori di neoplasia comincia ad essere avvertita fortemente anche dai medici di famiglia, che sentono molto la pressione esercitata dagli specialisti e dai pazienti stessi, come emerge dai giornali della loro specifica disciplina in cui vengono fornite informazioni chiare e corrette sull’utilizzo degli indicatori di neoplasia e si tiene conto non solo degli intervalli di riferimento, ma anche dei livelli decisionali e della sensibilità diagnostica dei vari indicatori di neoplasia¹⁴.

Il fine ultimo della EBLM nella fase pre-analitica si può riassumere con le seguenti indicazioni¹⁵: *Stop starting, Start stopping, Start starting or stop stopping*, che sottolineano la responsabilità della Medicina di Laboratorio nel promuovere, alla luce di evidenze scientifiche e prove di efficacia, l’abbandono di procedure/esami diagnostici obsoleti, costosi e ridondanti a favore dell’introduzione di nuovi esami di laboratorio, di cui siano documentati efficacia diagnostica ed un rapporto costo-beneficio vantaggioso.

E’ stato affermato che possono praticare la medicina basata sulle evidenze:

- a) *the doer* (colui che pratica una Medicina Evidence-Based, che ha il tempo ma anche l’abilità per individuare problematiche appropriate, che effettua ricerche appropriate in maniera efficiente e valuta in maniera critica e sintetica le informazioni);
- b) *the user* (colui che utilizza la EBM, che sa riconoscere i propri bisogni formativi e ricerca le informazioni da fonti secondarie);
- c) *the unconscious user* (colui che utilizza in maniera inconsapevole i principi ed i concetti della EBM, esercitando la medicina in un contesto di strategie riferite a specifiche situazioni cliniche).

Parafrasando William Osler, la Medicina di Laboratorio continua ad essere una combinazione di arte e scienza. Dobbiamo costantemente raffinare l’aspetto “artistico”, ascoltando i nostri “utenti” e cercando di imparare dalle loro osservazioni, mentre dobbiamo costantemente tenere aggiornata la nostra conoscenza scientifica, riconoscendo quanto essa sia limitata ed ampliandola ed aggiornandola ogni qualvolta sia necessario.

Bibliografia

1. http://www.nacb.org/lmpg/tumor/chp2_qreqs.pdf (data di consultazione: 26.08.2005).
2. Sturgeon C. Practice Guidelines for tumor marker use in the clinic. *Clin Chem* 2002; 48:1151-9.
3. Muller MM, Vogl M. Tumor Markers: rationale use-2005. <http://www.ifcc.org/ejifcc/vol16no2/160206200507.htm> (data di consultazione: 26.08.2005).
4. Statland B. Clinical decision levels. Oradell, NJ USA: Medical Economics Books; 1987.
5. Fraser CG. La Variabilità Biologica dai principi alla pratica. Milano: Biomedica; 2004.
6. Iglesias N, Petersen P H, Ricos C. Power function of the reference change value in relation to cut-off points, reference intervals and index of individuality. *Clin Chem Lab Med*. 2005; 43:441-8.
7. Trapè J, Botargues JM, Porta F, Ricos C, Badal JM, Salinas R, et al. Reference Change Value for AFP and its application in early detection of hepatocellular carcinoma in patients with hepatic disease. *Clin Chem* 2003; 49:1209-11.
8. Rustin GJS. Can we now agree to use the same definition to measure response according to CA 125? *J Clin Oncol* 2004; 22:4035-6.
9. Harris R, Lohr KN. Screening for prostate cancer: an update of evidence for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2002; 137:917-29.
10. Dorizzi RM, Giavarina D, Fosser V, Fortunato A, Soffiati G, Rizzotti P. Appunti per Linee guida Evidence-Based per la richiesta, la esecuzione, la refertazione degli indicatori biochimici di cancro (marcatori tumorali, biomarcatori). *Riv Med Lab- JLM* 2004; 5:219-24.
11. Sturgeon CM. Limitations of assay techniques for tumor markers. In Diamandis EP, Fritsche HA, Lilja H, Chan DW, Schwartz MK, eds. *Tumor Markers: Physiology, Pathobiology, Technology, and Clinical Applications*. Washington; AACCC Press:2002.
12. Dorizzi RM, Cocco C, Giavarina D, Caputo M. Dif-

ference plots and mountain plots are useful also in comparing CA 125 immunoassay systems manufactured by the same company. Clin Chem Lab Med. 1998;36:497.

13. Rymer JC, Sabatier R, Daver A, Bourleaud J, Assicot M, Bremond J, et al. A new approach for clinical biological assay comparison and standardization: applica-

tion of principal component analysis to a multicenter study of twenty-one carcinoembryonic antigen immunoassay kits. Clin Chem 1999; 45:869-81.

14. Perkins GL, Slater ED, Sanders GK, Prichard JG. Serum Tumor Markers. Am Fam Physician 2003; 68:1075-82.
15. Horvath AR. Quali evidenze abbiamo degli esami di laboratorio? Riv Med Lab-JLM 2004; 5:274-82.

Nota in bozza

Nel mese di agosto sono state pubblicate delle linee guida di tale interesse da meritare una nota in bozza. Si tratta delle Reporting recommendations for tumour MARKer prognostic studies (REMARK) che partono dall'assunto, così vicino al nostro contributo, che "nonostante anni di ricerca e centinaia di articoli dedicati ai marcatori tumorali in oncologia, il numero di marcatori che sono risultati utili in clinica è penosamente modesto"¹. Gli autori, che comprendono esperti di statistica, clinica e laboratorio di rilevanza internazionale, segnalano che, spesso, le grandi aspettative suscitate dai primi studi non sono confermate dagli studi successivi.

Gli studi relativi ai marcatori tumorali dovrebbero prevedere, analogamente a quanto già previsto dalle raccomandazioni CONSORT e STARD in altri ambiti, 20 item divisi in 7 sezioni.

Introduzione

1. Dichiarare il marcatore considerato, gli obiettivi dello studio e tutte le ipotesi di interesse.

Materiali e metodi

2. Descrivere le caratteristiche dei pazienti studiati; ad esempio, lo stato di malattia, le patologie collegate, i criteri di inclusione e di esclusione.
3. Descrivere le terapie ricevute e le modalità della loro scelta.

Caratteristiche del campione

4. Descrivere il tipo di materiale biologico utilizzato (compresi i materiali di controllo) ed i metodi di conservazione.

Metodi di analisi

5. Specificare il metodo di analisi usato e fornire (o fare riferimento a) un protocollo dettagliato, compresi gli specifici reagenti o kit impiegati, le procedure di controllo di qualità, la valutazione della riproducibilità, i metodi di quantificazione, di scoring e di refertazione. Specificare se e come i dosaggi sono stati eseguiti in cieco alla fine dello studio.

Disegno dello studio

6. Specificare il metodo di selezione della casistica, compreso se è stato usato il metodo prospettico o retrospettivo e se è stata usata la stratificazione o il confronto (ad esempio per stadio di malattia o per età). Specificare il periodo di tempo in cui sono stati selezionati i casi, per quanto tempo sono stati monitorati e il tempo mediano di follow-up.
7. Definire in modo preciso tutti gli end-point clinici considerati.
8. Elencare tutte le possibili variabili esaminate o considerate inizialmente, per inserirle nei modelli.

9. Dare il razionale per la dimensione dei campioni; se lo studio è stato progettato per rilevare un effetto specificato, indicare la dimensione della potenza e dell'effetto statistico necessari.

Metodi di analisi statistica

10. Specificare tutti i metodi statistici, compresi i dettagli di ogni procedura di selezione delle variabili ed altri aspetti della costruzione del modello, come sono state verificate le assunzioni del modello e come sono stati trattati i dati mancanti.
11. Chiarire come sono stati trattati nelle analisi i valori dei marcatori; se rilevante, descrivere i metodi usati per la determinazione del cut-off.

Risultati

Dati

12. Descrivere il flusso dei pazienti attraverso lo studio, compreso il numero dei pazienti inclusi in ogni stadio dell'analisi (un diagramma può essere utile) ed i motivi per i quali alcuni sono stati perduti.

Analisi e presentazione

14. Mostrare la relazione del marcatore alle variabili prognostiche standard.
15. Presentare le analisi univariate, mostrando la relazione tra il marcatore e l'outcome, con l'effetto stimato (ad esempio l'hazard ratio e la probabilità di sopravvivenza). E' preferibile fornire analisi simili per tutte le altre variabili analizzate. Per valutare l'effetto di un marcatore tumorale sull'outcome, in termini di tempo per l'evento, è raccomandata l'analisi di Kaplan-Meier.
16. Riportare gli effetti stimati (ad esempio l'hazard ratio) con gli intervalli di confidenza del marcatore e, almeno per il modello finale, tutte le altre variabili del modello.
17. Tra i risultati riportati, fornire gli effetti stimati con l'intervallo di confidenza da un'analisi in cui sono compresi il marcatore e le variabili prognostiche standard, indipendentemente dalla loro significatività statistica.
18. Riportare, se eseguite, i risultati di ulteriori indagini, come la verifica delle assunzioni, le analisi della sensibilità e della validità interna.

Discussione

19. Interpretare i risultati nel contesto delle ipotesi prespecificate e degli altri studi rilevanti; inserire una discussione dei limiti dello studio.
20. Discutere le implicazioni delle ricerche future e del valore clinico.

Bibliografia

1. McShane LM, Altman DG, Sauerbrei W, Taube SE, Gion M, Clark GM. REporting recommendations for tumour MARKer prognostic studies (REMARK). Eur J Cancer 2005; 41: 1690-6.