



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ ΜΕ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ
ΣΤΗ ΒΙΟΙΑΤΡΙΚΗ

Η διαγνωστική ακρίβεια του NAG στην πρόβλεψη της διαβητικής νεφροπάθειας σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και τύπου 2. Μια συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση.

Αρλίντα Ντρίζα

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
Υπεύθυνος

Παντελής Μπάγκος
Καθηγητής – Κοσμήτορας

Λαμία, 2020



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ ΜΕ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗ
ΒΙΟΙΑΤΡΙΚΗ**

Η διαγνωστική ακρίβεια του NAG στην πρόβλεψη της διαβητικής νεφροπάθειας σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και τύπου 2. Μια συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση.

Αρλίντα Ντρίζα

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Επιβλέπων

**Παντελής Μπάγκος
Καθηγητής – Κοσμήτορας**

Λαμία, 2020

Με ατομική μου ευθύνη και γνωρίζοντας τις κυρώσεις ⁽¹⁾, που προβλέπονται από της διατάξεις της παρ. 6 του άρθρου 22 του Ν. 1599/1986, δηλώνω ότι:

1. Δεν παραθέτω κομμάτια βιβλίων ή άρθρων ή εργασιών άλλων αυτολεξεί **χωρίς να τα περικλείω σε εισαγωγικά** και χωρίς να αναφέρω το συγγραφέα, τη χρονολογία, τη σελίδα. Η αυτολεξεί παράθεση χωρίς εισαγωγικά χωρίς αναφορά στην πηγή, είναι λογοκλοπή. Πέραν της αυτολεξεί παράθεσης, λογοκλοπή θεωρείται και η παράφραση εδαφίων από έργα άλλων, συμπεριλαμβανομένων και έργων συμφοιτητών μου, καθώς και η παράθεση στοιχείων που άλλοι συνέλεξαν ή επεξεργάστηκαν, χωρίς αναφορά στην πηγή. Αναφέρω πάντοτε με πληρότητα την πηγή κάτω από τον πίνακα ή σχέδιο, όπως στα παραθέματα.
2. Δέχομαι ότι η αυτολεξεί **παράθεση χωρίς εισαγωγικά**, ακόμα κι αν συνοδεύεται από αναφορά στην πηγή σε κάποιο άλλο σημείο του κειμένου ή στο τέλος του, είναι αντιγραφή. Η αναφορά στην πηγή στο τέλος π.χ. μιας παραγράφου ή μιας σελίδας, δεν δικαιολογεί συρραφή εδαφίων έργου άλλου συγγραφέα, έστω και παραφρασμένων, και παρούσiasή τους ως δική μου εργασία.
3. Δέχομαι ότι υπάρχει επίσης περιορισμός στο μέγεθος και στη συχνότητα των παραθεμάτων που μπορώ να εντάξω στην εργασία μου εντός εισαγωγικών. Κάθε μεγάλο παράθεμα (π.χ. σε πίνακα ή πλαίσιο, κλπ), προϋποθέτει ειδικές ρυθμίσεις, και όταν δημοσιεύεται προϋποθέτει την άδεια του συγγραφέα ή του εκδότη. Το ίδιο και οι πίνακες και τα σχέδια
4. Δέχομαι όλες τις συνέπειες σε περίπτωση λογοκλοπής ή αντιγραφής.

Ημερομηνία:/...../20.....

Ο – Η Δηλ.

(Υπογραφή)

(1) «Όποιος εν γνώσει του δηλώνει ψευδή γεγονότα ή αρνείται ή αποκρύπτει τα αληθινά με έγγραφη υπεύθυνη δήλωση του άρθρου 8 παρ. 4 Ν. 1599/1986 τιμωρείται με φυλάκιση τουλάχιστον τριών μηνών. Εάν ο υπαίτιος αυτών των πράξεων σκόπευε να προσπορίσει στον εαυτόν του ή σε άλλον περιουσιακό όφελος βλάπτοντας τρίτον ή σκόπευε να βλάψει άλλον, τιμωρείται με κάθειρξη μέχρι 10 ετών.

Η διαγνωστική ακρίβεια του NAG στην πρόβλεψη της διαβητικής νεφροπάθειας σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και τύπου 2. Μια συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση.

Αρλίνα Ντρίζα

Τριμελής Επιτροπή:

Παντελής Μπάγκος, Καθηγητής – Κοσμήτορας

Γεωργία Μπράλιου, Επίκουρος Καθηγήτρια

Αρτεμης Χατζηγεωργίου, Καθηγήτρια

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον Καθηγητή κ. Παντελή Μπάγκο για την καθοδήγηση που μου παρείχε και την εμπιστοσύνη που μου έδειξε για την εκπόνηση της παρούσας πτυχιακής εργασίας. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τη Διδάκτορα Γεωργία Καπούλα για τον πολύτιμο χρόνο που διέθεσε και τις σημαντικές υποδείξεις που με κατεύθυναν στην εκπλήρωση του σκοπού της παρούσας εργασίας. Τέλος, θέλω να εκφράσω ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένεια μου, για την στήριξη που μου έδειξε κατά τη διάρκεια των σπουδών μου.

Περίληψη

Ο σακχαρώδης διαβήτης είναι μια μεταβολική ασθένεια, που χαρακτηρίζεται από ακατάλληλα αυξημένα επίπεδα γλυκόζης (υπεργλυκαιμία) στο αίμα που οφείλεται στη μη έκκριση ινσουλίνης (τύπος 1), ή στη μη λειτουργική αξιοποίηση της (τύπος 2) ή και στα δύο. Η νόσος της διαβητικής νεφροπάθειας χαρακτηρίζεται από χρόνια βλάβη στις ειδικές μονάδες των νεφρών και αποτελεί κρίσιμη επιπλοκή του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και τύπου 2. Η δραστηριότητα των νεφρικών σωληνοειδών λυσοσωμικών ενζύμων όπως η N-ακετυλο-β-D-γλυκοζαμινιδάση (NAG) έχει αποδειχθεί ότι αυξάνεται σε ασθενείς που αναπτύσσουν διαβητική νεφροπάθεια. Στην παρούσα εργασία διεξήχθη μια συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση, με σκοπό τον προσδιορισμό της διαγνωστικής ακρίβειας του NAG στην πρόβλεψη της διαβητικής νεφροπάθειας σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και τύπου 2. Στην συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση συμπεριλήφθηκαν 10 μελέτες στις οποίες συμμετείχαν 1506 ασθενείς με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 και 442 υγιείς. Οι μέθοδοι και τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν περιελάμβαναν τη συλλογή, καταγραφή και επεξεργασία δεδομένων από πολλαπλές μελέτες, για την αξιολόγηση της συνολικής επίδρασης των διαφορετικών ευρημάτων σε κάθε μελέτη. Η μετα-ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πακέτο STATA 13. Για κάθε μελέτη, διαμορφώθηκε ένας πίνακας 2x2 χρησιμοποιώντας ως δεδομένα: τη μέση τιμή και την τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης του N-ακετυλο-β-D-γλυκοζαμινιδάση σε δείγματα ούρων και ορού, υποθέτοντας την κανονική τους κατανομή. Η ευαισθησία, η ειδικότητα και άλλες εκτιμήσεις ακρίβειας υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας το μοντέλο τυχαίων επιδράσεων. Η μέθοδος ιεραρχικής περίληψης ROC (hsROC) χρησιμοποιήθηκε για τη συγκέντρωση δεδομένων και την αξιολόγηση της περιοχής κάτω από την καμπύλη (AUC). Η μεροληψία δημοσίευσης εκτιμήθηκε χρησιμοποιώντας το διάγραμμα διοχέτευσης του Deek εκτιμώντας το βαθμό ασυμμετρίας. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το NAG είναι ένας πρώιμος και πολύ αποτελεσματικός βιοδείκτης για την πρόβλεψη της διαβητικής νεφροπάθειας σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 1 και τύπου 2. Γεγονός που υποστηρίζει το συμπέρασμα ότι η σωληναριακή δυσλειτουργία είναι ένα κρίσιμο χαρακτηριστικό της πρώιμης πορείας της διαβητικής νεφροπάθειας.

Abstract

Diabetes is a metabolic disorder disease characterized by the presence of increased blood sugar (hyperglycemia), due to a lack of insulin (type I), an inability to adequately respond to insulin (type II), or both. Diabetic nephropathy (DN), also known as diabetic kidney disease, is the chronic loss of kidney function and a critical complication of type 1 and type 2 diabetes mellitus. Renal tubular lysosomal enzyme activities like N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) have been shown to increase in patients developing DN. This study provides a systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy studies, performed with the aim to evaluate the diagnostic accuracy of N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG), as a preventional biomarker in the early stages of DN in type 1 and type 2 diabetic patients. This systematic review and meta-analysis enrolled 10 studies, with 1506 patients with type 1 and type 2 diabetes and 442 healthy individuals in total. The methods and materials used included the collection, recording, and processing of data from multiple studies, in order to assess the overall effect and solve the uncertainty of the different finding between studies. Meta – analysis was performed with the statistical package STATA 13. For each study, a 2x2 contingency table was made using mean and standard deviation of N-acetyl- β -D-glucosaminidase concentration in urine and serum samples assuming they have normal distribution. Sensitivity, specificity and other estimates of accuracy were calculated using bivariate random effects model. The hierarchical summary ROC (hsROC) method was used to pool data and to evaluate the area under the curve (AUC). Publication bias was estimated using Deek's funnel plot for asymmetry test. Results showed NAG to have potential as an early and effective biomarker for predicting diabetic nephropathy in type 1 and type 2 diabetic patients. This supports the finding that tubular dysfunction is a critical component of the early course of DN.

Πίνακας περιεχομένων

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή	11
1.1. Σακχαρώδης Διαβήτης.....	11
1.2. Νεφρός.....	12
1.3. Νεφροπάθεια.....	14
1.3.1. Διαβητική Νεφροπάθεια	14
1.4. Βιοδείκτες	17
1.4.1. Ο βιοδείκτης NAG.....	20
1.4.1.1. Παθογένεια διαβητικής νεφροπάθειας.....	20
1.5. Επιδημιολογία.....	23
1.5. Κλινική επιδημιολογία	25
1.5.1.1. Ορολογία – Ακρίβεια διαγνωστικών δοκιμασιών	25
1.6. Σκοπός της παρούσας εργασίας.....	31
Κεφάλαιο 2: Υλικά και Μέθοδοι.....	32
2.1. Μεθοδολογία συστηματικής ανασκόπησης.....	32
2.1.1. Διατύπωση ερευνητικού ερωτήματος... ..	33
2.1.2. Προσδιορισμός και αναζήτηση σχετικών μελετών.....	34
2.1.2.1. Κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού μελετών	34
2.1.3. Αξιολόγηση ποιότητας μελετών	34
2.1.4. Εξαγωγή δεδομένων και σύνθεση αποτελεσμάτων	36
2.1.5. Ερμηνεία των αποτελεσμάτων.....	36
2.2. Ποιοτική αξιολόγηση μελετών διαγνωστικής ακρίβειας.....	37
2.3. Μεθοδολογία μετα-ανάλυσης.....	38
2.3.1. Ορισμός της μετα-ανάλυσης	38
2.3.2. Πλεονεκτήματα της μετα-ανάλυσης	39
2.3.3. Βήματα διεξαγωγής της μετα-ανάλυσης.....	40
2.3.3.1. Προσδιορισμός αναζήτησης μελετών.....	41
2.3.3.2. Έλεγχος ετερογένειας μεταξύ μελετών	41
2.3.3.3. Προσδιορισμός μοντέλου επίδρασης (effect model).....	44
2.3.3.4. Αξιολόγηση ετερογένειας	46
2.3.3.5. Έλεγχος για σφάλμα δημοσίευσης (publication bias)	47
2.3.3.6. Παρουσίαση αποτελεσμάτων βάσει του διαγράμματος PRISMA	51
2.3.4. Η εφαρμογή της μετα-ανάλυσης σε μελέτες διαγνωστικής ακρίβειας.....	52
2.3.5. Μελέτες με συνεχή δεδομένα – Μετασχηματισμοί δημοσιευμένων δεδομένα.....	55

Κεφάλαιο 3: Αποτελέσματα	58
3.1. Προσδιορισμός ερευνητικού ερωτήματος – αξιολόγηση και καταγραφή δεδομένων.....	58
3.2. Ποιοτική αξιολόγηση μελετών - QUADAS	66
3.3. Αποτελέσματα μετα-ανάλυσης.....	67
Κεφάλαιο 4: Συζήτηση	93
Βιβλιογραφία	97

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

1.1. Σακχαρώδης Διαβήτης

Ο σακχαρώδης διαβήτης (diabetes mellitus, DM) ή κοινώς διαβήτης είναι ένα σύνολο μεταβολικών διαταραχών το οποίο χαρακτηρίζεται από το υψηλό επίπεδο σακχάρου στο αίμα για μια παρατεταμένη χρονική περίοδο, που προκύπτει από τη δυσλειτουργική έκκριση ινσουλίνης ή τη δράση αυτής [1]. Η ινσουλίνη είναι μια ορμόνη που παράγεται από ειδικές ομάδες κυττάρων στο πάγκρεας που ονομάζονται Β-κύτταρα. Ο ρόλος της είναι πρωταγωνιστικός στο μεταβολισμό των υδατανθράκων του οργανισμού και η δράση της περιλαμβάνει όλους τους ιστούς. Η ινσουλίνη εξυπηρετεί στην πρόσληψη γλυκόζης από τα κύτταρα και στη διατήρηση των ενεργειακών αποθεμάτων του οργανισμού. Οι κύριοι τύποι του σακχαρώδη διαβήτη είναι ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1 (diabetes mellitus type 1), ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 (diabetes mellitus type 2) και ο διαβήτης κύησης [2].

- **Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1 (ΣΔΤ1)** είναι εξαρτώμενος από την ινσουλίνη (insulin-dependent) και χαρακτηρίζεται από τη δυσλειτουργία των β-κυττάρων του παγκρέατος με αποτέλεσμα να μην παράγεται ποσότητα ινσουλίνης. Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1 αποτελεί το συχνότερο τύπο διαβήτη που προσβάλλει τα παιδιά, όμως εμφανίζεται και σε ενήλικες. Τα συμπτώματα συνήθως εμφανίζονται ξαφνικά και περιλαμβάνουν υπερβολική έκκριση ούρων (πολυουρία), δίψα, σημαντική απώλεια βάρους, αλλαγές στην ικανότητα της όρασης και έντονο αίσθημα κόπωσης. Η αντιμετώπισή του χρήζει ενέσιμης χορήγησης ινσουλίνης, σε καθημερινή συχνότητα, με σκοπό τη ρύθμιση της γλυκόζης στο αίμα.

- **Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 (ΣΔΤ2)** είναι μη εξαρτώμενος από την ινσουλίνη (non-insulin dependent), χαρακτηρίζεται από τη μη επαρκή παραγωγή ποσότητας ινσουλίνης από το πάγκρεας ή από τη μη αξιοποίησή της από τον οργανισμό. Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 περιλαμβάνει την πλειοψηφία των ατόμων με διαβήτη, με σημαντικό προδιαθεσικό παράγοντα το υπερβολικό σωματικό βάρος και τη σωματική αδράνεια. Η παχυσαρκία μειώνει την ευαισθησία των κυττάρων στην ινσουλίνη, με συνέπεια, όταν δεν υπάρχει αρκετή ινσουλίνη ή η ινσουλίνη δεν χρησιμοποιείται αποτελεσματικά από το σώμα, η γλυκόζη δεν μπορεί να εισέλθει στα κύτταρα του οργανισμού. Τα συμπτώματα είναι ήπια και μπορεί να

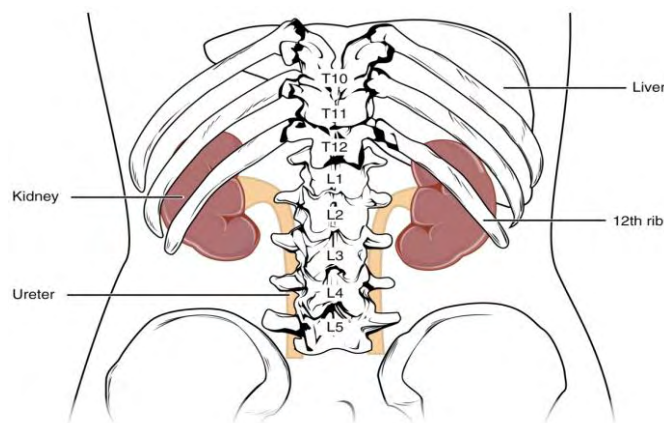
είναι παρόμοια με αυτά του ΣΔΤ1, αλλά συχνά είναι λιγότερο έντονα. Ως αποτέλεσμα, η νόσος μπορεί να διαγνωσθεί αρκετά χρόνια μετά την εμφάνισή της, όταν έχουν ήδη εμφανισθεί επιπλοκές. Η αντιμετώπιση του ΣΔΤ2 πραγματοποιείται αποκτώντας και καθιερώνοντας νέες υγιεινές διατροφικές συνήθειες καθώς και με την καθημερινή σωματική άσκηση. Σε ορισμένες περιπτώσεις, όπου κριθεί απαραίτητο, χρησιμοποιούνται αντιδιαβητικά φάρμακα και χορηγείται ενέσιμη ινσουλίνη.

- **Διαβήτης κύησης** εμφανίζεται για πρώτη φορά κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, και χαρακτηρίζεται από υψηλά επίπεδα γλυκόζης στο αίμα (υπεργλυκαιμία). Τα συμπτώματα είναι παρόμοια με εκείνα του ΣΔΤ2, διαγιγνώσκεται με μια προγεννητική εξέταση και υποχωρεί μετά τον τοκετό.

Σε βάθος χρόνου, οι επιπλοκές του σακχαρώδη διαβήτη μπορούν να βλάψουν και άλλα συστήματα του οργανισμού όπως το καρδιαγγειακό, οφθαλμολογικό, νευρολογικό καθώς και το ουροποιητικό σύστημα, όπου επηρεάζεται η λειτουργία των νεφρών, η συγκεκριμένη επιπλοκή θα αναλυθεί στην παρούσα εργασία.

1.2. Νεφρός

Το ουροποιητικό σύστημα του ανθρώπινου οργανισμού αποτελείται από δύο νεφρούς, δύο ουρητήρες, την ουροδόχο κύστη και την ουρήθρα. Οι δύο νεφροί βρίσκονται οπισθοπεριτοναϊκά στην οσφυϊκή περιοχή, εκατέρωθεν της σπονδυλικής στήλης στο ύψος του 12^{ου} θωρακικού - μέχρι του 3^{ου} οσφυϊκού σπονδύλου όπως παρουσιάζονται στην παρακάτω εικόνα 1.1. [3].



Εικόνα 1.1. Οι νεφροί περικλείονται και προστατεύονται από τα ζεύγη πλευρών [3]

Κάθε νεφρός απαρτίζεται από ένα εκατομμύριο ειδικές λειτουργικές μονάδες που ονομάζονται **νεφρώνες** και βρίσκονται σε πυκνές ποσότητες εντός του νεφρικού παρεγχύματος. Ο νεφρώνας είναι η μικρότερη ανατομική και λειτουργική μονάδα του νεφρού. Αποτελείται από μικροσκοπικά αιμοφόρα αγγεία τα οποία ονομάζονται **σπειράματα**, ή **σωμάτιο του Bowman** και το ουροφόρο σωληνάριο. Η κύρια λειτουργία των νεφρών είναι ο έλεγχος του όγκου και της σύστασης των διαλυμάτων του οργανισμού μέσω της διαδικασίας του φιλτραρίσματος. Συγκεκριμένα, η λειτουργία επιτελείται από τα σπειράματα των οποίων ο ρόλος έγκειται στην αποβολή των τοξινών, των αλάτων και του νερού από το αίμα, επιτυγχάνοντας την εξασφάλιση της ισορροπίας των υγρών και ορμονών στον οργανισμό. Τα παραπάνω εκκρίνονται από τον οργανισμό με τη μορφή των ούρων.

Σε υγιή άτομα δεν διαπιστώνονται αποκλίσεις στις συστάσεις και στην ποσότητα των διαλυμάτων, καθώς οι διαταραχές που μπορεί να προκαλούνται από την τροφή ή τον κυτταρικό μεταβολισμό, αποκαθίστανται σε σύντομο χρονικό διάστημα λίγων ωρών. Οι κύριοι μηχανισμοί της λειτουργίας των νεφρών χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με την ιδιότητα τους: τη ρυθμιστική, την απεκκριτική και την παραγωγική [3]. Ο ρυθμιστικός μηχανισμός είναι υπεύθυνος για τη διατήρηση της σύστασης του σώματος σε σταθερά και φυσιολογικά επίπεδα. Η ισορροπία επιτελείται σε συνεργασία με τον απεκκριτικό μηχανισμό μέσω της αποβολής των ανεπιθύμητων προϊόντων του μεταβολισμού και με την κατακράτηση του ύδατος ή ηλεκτρολυτών. Ο παραγωγικός μηχανισμός είναι εξίσου ύψιστης αξίας για την ομαλή λειτουργία του οργανισμού καθώς παράγονται ένζυμα και ορμόνες, προϊόντα απαραίτητα για την εκπλήρωση ζωτικών λειτουργιών του οργανισμού.

Σε παθολογικές καταστάσεις με σημαντικές μεταβολές, οι ρυθμιστικοί μηχανισμοί των νεφρών αδυνατούν να επαναφέρουν σε φυσιολογικά επίπεδα το εσωτερικό περιβάλλον του οργανισμού, με αποτέλεσμα οι διαταραχές να είναι μόνιμες επηρεάζοντας σημαντικά τη χρόνια λειτουργία των νεφρών. Χαρακτηριστικό παράδειγμα παθολογικής κατάστασης, είναι η νόσος του σακχαρώδη διαβήτη, η παρατεταμένη έκθεση του οργανισμού σε υψηλά επίπεδα γλυκόζης στο αίμα, προκαλεί στένωση των τριχοειδών μεμβρανών που αποτελούν μέρος του μηχανισμού φιλτραρίσματος, καθώς και βλάβες στα σπειράματα των νεφρών. Η παραπάνω εξέλιξη του διαβήτη οδηγεί στη νόσο της διαβητικής νεφροπάθειας, η οποία θα αναπτυχθεί ακολούθως.

1.3. Νεφροπάθεια

1.3.1. Διαβητική Νεφροπάθεια

Η νεφροπάθεια είναι η νόσος των νεφρών που χαρακτηρίζεται από σημαντική βλάβη στις ειδικές μονάδες αυτών, τους νεφρώνες, στους οποίους τα σπειράματα αδυνατούν να εκπληρώσουν το ρόλο του λειτουργικού φίλτρου και οι απαραίτητες ουσίες που θα έπρεπε να ανακυκλωθούν και να περάσουν στη ροή του αίματος, περνούν πλέον στα ούρα. Μία κατηγορία σημαντικών ουσιών αποτελούν οι πρωτεΐνες, η έκκριση και η αύξηση των επιπέδων της πρωτεΐνης αλβουμίνης (ή αλλιώς λευκωματίνης) στα ούρα, είναι μια από τις σημαντικές και πρωταρχικές ενδείξεις της νεφροπάθειας.

Η βλάβη των νεφρών που οφείλεται σε επιπλοκές του σακχαρώδη διαβήτη λόγω υψηλών επιπέδων γλυκόζης στο αίμα, ονομάζεται διαβητική νεφροπάθεια, και σταδιακά την εξέλιξη της νόσου, αποτελεί η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια. Τα υψηλά επίπεδα γλυκόζης στο αίμα βλάπτουν τις μεμβράνες των αγγείων του δικτύου φιλτραρίσματος και την ικανότητα της σπειραματικής διήθησης (GFR). Η σπειραματική διήθηση είναι η σπουδαιότερη λειτουργία του νεφρού, στα σπειράματα διηθείται ένας μέρος του πλάσματος και το αρχικό διήθημα ονομάζεται πρόουρο. Το πρόουρο υφίσταται συγκεκριμένες μεταβολές κατά μήκος των ουροφόρων σωληναρίων ώστε να δημιουργηθεί το τελικό ούρο. Όταν υφίσταται βλάβη στο σύστημα φιλτραρίσματος, έχει ως αποτέλεσμα την απέκκριση παθολογικών ποσοτήτων λευκωματίνης στα ούρα, επομένως αποτελεί την πρώτη ένδειξη της διαβητικής νεφροπάθειας. Η εμφάνιση της διαβητικής νεφροπάθειας γίνεται κατά τη διάρκεια της πρώτης δεκαετίας από την έναρξη του διαβήτη και είναι υπεύθυνη για τη χρόνια νόσο της νεφρικής ανεπάρκειας για το 30% - 40% του δυτικού πληθυσμού [4]. Η νόσος χαρακτηρίζεται από πέντε στάδια που σχετίζονται με τη σοβαρότητα της εξέλιξης της και απεικονίζονται παρακάτω στην εικόνα 1.2 [5]:

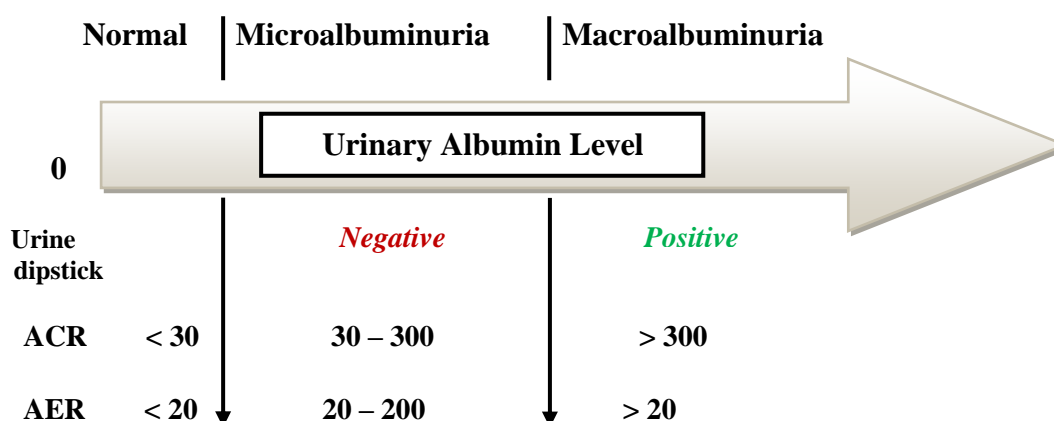
Στάδιο 1	<i>Υπερδότηση (έναρξη):</i> υπερτροφία νεφρικού παρεγχύματος
Στάδιο 2	<i>Σιωπηρή Φάση (5 έτη):</i> μορφολογικές βλάβες
Στάδιο 3	<i>Αρχόμενη διαβητική νεφροπάθεια (5-15 έτη) :</i> μικρολευκωματινουρία
Στάδιο 4	<i>Κλινική διαβητική νεφροπάθεια (15-25 έτη) :</i> μακρολευκωματινουρία
Στάδιο 5	<i>Χρόνια νεφρική νόσος τελικού σταδίου (25-40 έτη):</i> νεφρική ανεπάρκεια

Εικόνα 1.2. Στάδια διαβητικής νεφροπάθειας

Τα συμπτώματα της διαβητικής νεφροπάθειας ιδιαίτερος στα αρχικά στάδια της νόσου, μπορεί να μην γίνουν αντιληπτά καθώς εμφανίζονται κυρίως ύστερα από μεγάλο χρονικό διάστημα και σημαντική βλάβη της λειτουργίας των νεφρών. Υπάρχουν ωστόσο ορισμένα συμπτώματα που παρατηρούνται από τα πρώιμα στάδια της νόσου και μπορούν να διαπιστωθούν εύκολα με την κατάλληλη διαγνωστική εξέταση. Κύρια συμπτώματα της διαβητικής νεφροπάθειας, είναι η αυξημένη ποσότητα πρωτεΐνης αλβουμίνης στα ούρα, η σταδιακή μείωση της λειτουργίας των νεφρών, αίσθημα κόπωσης, η συχνουρία ειδικότερα κατά τη διάρκεια της νύχτας και η υψηλή αρτηριακή πίεση. Ένα υγιές άτομο αποβάλλει σε καθημερινή συχνότητα, μικρή ποσότητα αλβουμίνης η οποία δεν ξεπερνά τα 30 mg. Το στάδιο της αρχόμενης διαβητικής νεφροπάθειας, ονομάζεται **μικροαλβουμιουρία** (ή αλλιώς **μικρολευκωματινουρία**) και η διάγνωση του στηρίζεται στην ανίχνευση ποσότητας αλβουμίνης στα ούρα, η οποία κυμαίνεται στα (30-300 mg) και οφείλεται στην ύπαρξη σπειραματικής υπερδότησης. Η εξέλιξη του πρώτου σταδίου της νόσου χαρακτηρίζεται από αυξημένες απορριπτόμενες ποσότητες πρωτεΐνης (πρωτεϊνουρία) και ονομάζεται **μακροαλβουμιουρία** (ή αλλιώς **μακρολευκωματιουρία**), αποτελεί την κλινική διαβητική νεφροπάθεια και μπορεί να εκδηλωθεί μετά από 15-25 έτη [6].

Η διάγνωση της διαβητικής νεφροπάθειας σε νέους ασθενείς που πάσχουν από σακχαρώδη διαβήτη, αρχικά απαιτεί την καταγραφή του ιστορικού προηγούμενων νεφρικών και καρδιαγγειακών νόσων ή υπέρτασης καθώς και τη μέτρηση της μικροαλβουμιουρίας. Η μικροαλβουμιουρία είναι πρώιμος δείκτης ανίχνευσης της ΔΝ και αποτελεί την καθιερωμένη και μη επεμβατική δοκιμή για την

πρόβλεψη και την παρακολούθηση της νόσου σε ασθενείς με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2. Η εξέταση για την ΔΝ σε ασθενείς με ΣΔΤ2 θα πρέπει να γίνει από τη δεδομένη στιγμή που έχουν διαγνωστεί για το συγκεκριμένο τύπο διαβήτη, καθώς μελέτες υποστηρίζουν πως το 7% των ασθενών εμφανίζουν ήδη μικροαλβουμιουρία. [7]. Για τους ασθενείς με ΣΔΤ1 η συστηματική διαγνωστική εξέταση καθορίζεται μετά το πέρας των 5 ετών από τη διάγνωση. Παρόλα αυτά, σε ασθενείς με χαμηλό μεταβολικό δείκτη η εξέταση μπορεί να πραγματοποιηθεί έπειτα από 1 χρόνο διάγνωσης, εάν δεν υπάρχουν ίχνη μικροαλβουμιουρίας, η εξέταση επαναλαμβάνεται ετησίως [7]. Το πρώτο βήμα στη διαλογή και τη διάγνωση της διαβητικής νεφροπάθειας είναι η μέτρηση της λευκωματίνης/αλβουμίνης στο πρώτο δείγμα ούρων το οποίο συλλέγεται το πρωί. Θα πρέπει να επισημανθεί, πως η εξέταση δεν πραγματοποιείται σε συνθήκες που ο ασθενής έχει αυξημένη έκκριση αλβουμίνης λόγω άλλων παραγόντων, όπως λοίμωξη ουροποιητικού συστήματος, αιματουρία, έντονη υπεργλυκαιμία και καρδιακή ανεπάρκεια. Η συγκεκριμένη μέθοδος διάγνωσης, αποτελεί πρότυπο, είναι ακριβής, σύντομη στην εκτέλεση, και συνιστάται από την Αμερικανική Ένωση Διαβήτη (American Diabetes Association, ADA). Τα αποτελέσματα του δείκτη αλβουμίνης στη συλλογή ούρων έχουν τις εξής μονάδες μετρήσεις (mg / l ή mg / mmol) ή αναφέρονται με το λόγο αλβουμίνης/κρεατινίνης (ACR) (mg / g ή mg / mmol) [8]. Ανάλογα με τη συγκέντρωση της αλβουμίνης, καθορίζεται ο βαθμός της ΔΝ και οι ασθενείς χωρίζονται σε 3 βασικές κατηγορίες όπως παρουσιάζεται στην εικόνα 1.3. [9].



Εικόνα 1.3. Κατηγορίες αλβουμιουρίας με βάση τη διαδικασία δείγματος ούρων

Η προγνωστική ακρίβεια της μεθόδου μπορεί να ενισχυθεί με την επιπρόσθετη χρήση κι άλλων παραμέτρων, όπως η καταγραφή οικογενειακού ιστορικού, παρακολούθηση της πίεσης του αίματος, ακριβείς μετρήσεις του ρυθμού σπειραματικής διήθησης (GFR) και αξιολογήσεις διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας. Παρόλο που η αναφερόμενη διαδικασία αποτελεί πρότυπο έγκαιρης διάγνωσης της ΔΝ (**gold standard method**), μελέτες υποστηρίζουν πως δεν είναι επαρκής μέθοδος λόγω συγκεκριμένων περιορισμών.

Υψηλό ποσοστό διαβητικών ασθενών με μικροαλβουμινουρία, που αγγίζει το 80% του συνόλου, μεταβαίνει στο επόμενο στάδιο εξέλιξης της νόσου και εμφανίζει μακροαλβουμινουρία με έντονα μειωμένη νεφρική λειτουργία. Ωστόσο, σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες, σε ποσοστό 30% των διαβητικών ασθενών στους οποίους είχε ανιχνευθεί μικροαλβουμινουρία, παρατηρήθηκε μετατόπιση της πορείας της νόσου σε νέα κλινική εικόνα, η οποία χαρακτηρίζεται από φυσιολογικά επίπεδα αλβουμίνης στα ούρα και ομαλή λειτουργία των νεφρών [10]. Επίσης, νέες έρευνες των τελευταίων ετών, υποστηρίζουν πως σημαντικό ποσοστό ασθενών εμφανίζει μειωμένη σπειραματική διήθηση αλλά δεν μεταβαίνει απαραίτητα από τη φυσιολογική (normoalbuminuria) στην παθολογική κατάσταση (macroalbuminuria) [11] [12]. Οι παραπάνω πιθανές εκβάσεις της νόσου, οδήγησαν πολλούς ερευνητές να αμφισβητήσουν ως αποκλειστική μέθοδο διάγνωσης τη μέτρηση μικροαλβουμινουρίας και να προτείνουν νέα προσέγγιση στη διάγνωση της ΔΝ [13]. Ειδικότερα, η νέα προσέγγιση και πρόκληση της ερευνητικής κοινότητας προτείνει τη μελέτη νέων βιοδεικτών οι οποίοι θα συμβάλλουν στην πρόληψη και πιθανή πρόληψη της νεφρικής νόσου τελικού σταδίου σε ασθενείς με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2. Η παρούσα εργασία μελετά τη διαγνωστική ακρίβεια επιλεγμένου βιοδείκτη για την εκπλήρωση του αναφερόμενου σκοπού πρόβλεψης, μέσω της συστηματικής ανασκόπησης και μετα – ανάλυσης.

1.4. Βιοδείκτες

Ο όρος «βιοδείκτης» (biomarker) ή «βιολογικός δείκτης», καθορίστηκε το 1998 ως «το χαρακτηριστικό το οποίο μετράται και αξιολογείται ως δείκτης φυσιολογικών βιολογικών διεργασιών, παθογόνων διεργασιών ή φαρμακολογικών ανταποκρίσεων

σε μια θεραπευτική παρέμβαση» (National Institutes of Health Biomarkers Definitions Working Group) [14] [15]. Οι βιοδείκτες αποτελούν ουσίες που παράγονται από φυσιολογικά ή καρκινικά κύτταρα και εντοπίζονται σε βιολογικά υγρά (αίμα, ούρα, πτύελα) και σε ιστούς, αποδεικνύοντας μια φυσιολογική ή παθολογική κλινική εικόνα. Η αξία του βιοδείκτη είναι σημαντική από τα πρώιμα στάδια αξιολόγησης της αποτελεσματικότητας μελετών και δοκιμασιών, οι οποίες αφορούν δείγματα ιστών (in vitro), ζωικά μοντέλα (in vivo), καθώς και διαδικασίες ανίχνευσης ασθενειών και παρακολούθησης αυτών [16]. Ο ρόλος τους στην ανάπτυξη νέων φαρμάκων χαρακτηρίζεται κρίσιμος και κατά συνέπεια η χρήση τους ενσωματώνεται ακόμη και σε πρώιμα στάδια δοκιμασιών ανάπτυξης φαρμάκων. Οι δοκιμές βιολογικών δεικτών διαφέρουν από τους βιοδείκτες, καθώς αποτελούν ένα ξεχωριστό σύνολο υλικών, δοκιμασιών και πολλαπλών μεθόδων μέτρησης βιοδεικτών [15]. Μια πλήρης και επικυρωμένη δοκιμή βιοδεικτών δεν είναι πάντα εφικτή στα πρώιμα στάδια δοκιμασιών (Φάση 0, I), αναγνωρίζοντας τους ποικίλους παράγοντες που καθιστούν μια δοκιμή κατάλληλη για χρήση σε κλινική δοκιμασία. Η προετοιμασία μιας δοκιμής για κλινική χρήση απαιτεί μια ολοκληρωμένη και αυστηρά εκτελεσμένη διαδικασία και μελέτη η οποία θα περιγράφει λεπτομερώς τη χρήση ενός βιοδείκτη σε αυτή. Οι εφαρμογές τους εξυπηρετούν πολλαπλούς σκοπούς, όπως για παράδειγμα οι βιοδείκτες οι οποίοι χρησιμοποιούνται σε κλινικές πρακτικές για τον ορισμό μιας ασθένειας και τη θεραπεία αυτής, την επιλογή της δοσολογίας φαρμάκου και τον καθορισμό της κατάλληλης πρόγνωσης. Υπάρχουν οι βιοδείκτες που χρησιμοποιούνται σε πρώιμα ή μεταγενέστερα στάδια της κλινικής δοκιμασίας και αποτελούν τον εμπλουτισμό ενός πειράματος ή αντιπροσωπεύουν βιοδείκτες επικυρωμένους από τον Αμερικανικό Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA), οι οποίοι συμβάλλουν στην στήριξη κλινικών αποφάσεων [17]. Το πλήθος των βιοδεικτών είναι σημαντικός και χρήζει επαρκή διερεύνηση για τον καθορισμό της λειτουργικότητας των χαρακτηριστικών τους σε διαγνωστικές και προληπτικές προγνώσεις. Οι βιολογικοί δείκτες ταξινομούνται σε κατηγορίες πληρώντας συγκεκριμένα κριτήρια που αποδεικνύουν τον ορισμό τους και σύμφωνα με τα πεδία εφαρμογής χαρακτηρίζονται ως ακολούθως [18]:

- **Βιοδείκτες προδιάθεσης (predisposition biomarkers)**

Η γενετική προδιάθεση ορίζεται ως η αυξημένη πιθανότητα ένα άτομο να εμφανίσει μια συγκεκριμένη πάθηση με βάση το γενετικό υλικό που φέρει, δηλαδή της ύπαρξης του βιοδείκτη που είναι υπεύθυνος για την διαταραχή. Ο συγκεκριμένος τύπος

βιοδείκτη αποτελεί θεμελιώδες στοιχείο στη διεξαγωγή επιδημιολογικών μελετών που αφορούν την επικινδυνότητα της κάθε νόσου.

- **Διαγνωστικοί βιοδείκτες (diagnostic biomarkers)**

Οι διαγνωστικοί βιοδείκτες ανιχνεύουν έγκαιρα ή επιβεβαιώνουν εάν το άτομο παρουσιάζει κάποια διαταραχή. Η χρησιμότητα τους επεκτείνεται και στην ικανότητα προσδιορισμού της κατηγορίας της ασθένειας. Για παράδειγμα η ανίχνευση του καρκίνου βασίζεται επί το πλείστον στην κατηγορία της μοριακής και απεικονιστικής ανάλυσης και λιγότερο στη μελέτη του οργάνου που έχει προσβληθεί.

- **Προγνωστικοί βιοδείκτες (prognostic biomarkers)**

Οι προγνωστικοί βιοδείκτες προσδιορίζουν την πιθανότητα εμφάνισης και την εξέλιξη της νόσου σε ένα άτομο. Σε κλινικές δοκιμασίες, οι προγνωστικοί βιοδείκτες χρησιμοποιούνται συστηματικά στη δημιουργία συγκεκριμένων κριτηρίων για το βαθμό επικινδυνότητας που παρουσιάζει μια νόσος, ή τη θεραπεία αυτής.

- **Προβλεπτικοί βιοδείκτες (predictive biomarkers)**

Η μέτρηση των προβλεπτικών βιοδεικτών πραγματοποιείται πριν από τη θεραπεία της κάθε νόσου και εξυπηρετούν στην πρόβλεψη της ανταπόκρισης ενός ατόμου ή πληθυσμού στη θεραπεία ή στην έκθεση σε περιβαλλοντολογικό παράγοντα. Αποτελούν σημαντικά στοιχεία στο σχεδιασμό και διεξαγωγή κλινικών δοκιμασιών. Ένα παράδειγμα προβλεπτικού βιοδείκτη στον καρκίνο του μαστού είναι η πρωτεΐνη HER2/neu.

- **Φαρμακοδυναμικοί βιοδείκτες (pharmacodynamic biomarkers)**

Οι φαρμακοδυναμικοί βιοδείκτες αποτελούν τον τύπο βιοδείκτη ο οποίος μεταβάλλεται στην έκθεση φαρμακευτικού προϊόντος. Για τη χορήγηση συγκεκριμένων φαρμάκων, είναι απαραίτητη η μέτρηση της μεταβολής των φαρμακοδυναμικών βιοδεικτών, ώστε να προσδιοριστεί με ακρίβεια η δοσολογία της φαρμακευτικής αγωγής..

- **Βιοδείκτες παρακολούθησης (monitoring biomarkers)**

Οι βιοδείκτες παρακολούθησης αποτελούν σημαντική εφαρμογή της κλινικής περίθαλψης, εξασφαλίζοντας την ασφάλεια του ασθενή με τον περιορισμό των ιατρικών σφαλμάτων. Είναι μετρήσιμοι και χρησιμοποιούνται για τη βέλτιστη παρακολούθηση της νόσου του ασθενή, καθώς και της εξέλιξης κάθε φαρμακευτικής αγωγής που χορηγείται. Για παράδειγμα η ασφαλής χορήγηση φάρμακων με πιθανή ηπατική τοξικότητα, επιτυγχάνεται με τη μέτρηση βιοδεικτών της ηπατικής λειτουργίας.

- **Βιοδείκτες ασφαλείας (safety biomarkers)**

Οι βιοδείκτες ασφαλείας χρησιμοποιούνται για τον εντοπισμό τοξικότητας ή αρνητικής ανταπόκρισης του οργανισμού ύστερα από ιατρική επέμβαση. Η μέτρηση τους πραγματοποιείται πριν και κατόπιν της επέμβασης, εξασφαλίζοντας τη διατήρηση της δοθείσας θεραπείας. Επίσης οι βιοδείκτες ασφαλείας είναι χρήσιμοι στην παρακολούθηση ενός πληθυσμού κατά την έκθεση του σε επικίνδυνο εξωτερικό παράγοντα.

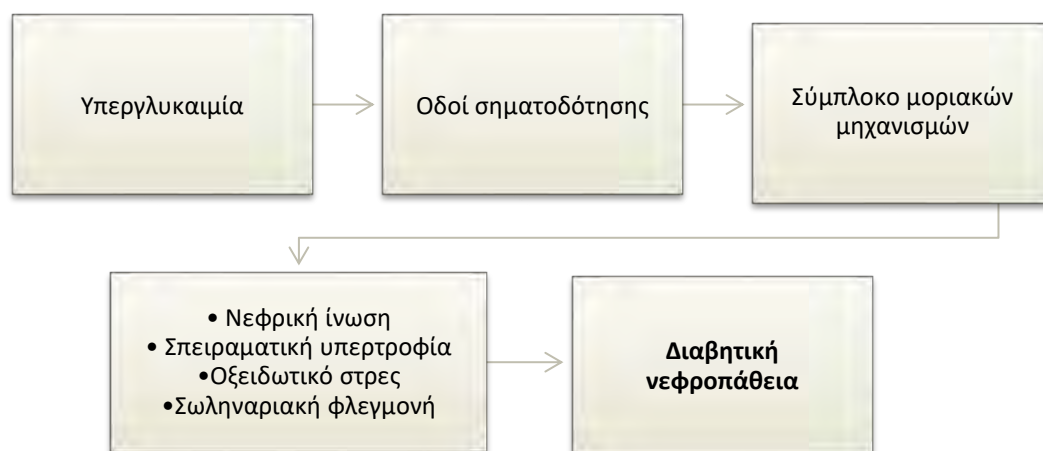
Ως βιοδείκτες μπορεί να θεωρηθούν μοριακά κύτταρα, γονίδια, ένζυμα, ορμόνες και χαρακτηριστικές αλλαγές σε βιολογικές δομές. Η ιδανικότητα αυτών αξιολογείται βάσει ορισμένων κριτηρίων. Βασική ιδιότητα αποτελεί η απλότητα και η ασφάλεια στη μέθοδο μέτρησης του βιοδείκτη, παραδείγματος χάρη προτιμάται η αμιοληψία από την επεμβατική βιοψία. Επιπρόσθετα κριτήρια είναι η ικανότητα του βιοδείκτη στη διαφοροποίηση και αναπαραγωγή μεταξύ ποικίλων κλινικών εργαστηρίων, το χαμηλό κόστος μελέτης αυτού, όπως και η άμεση έκδοση αποτελέσματος ώστε να ξεκινήσουν ταχύτερα η διάγνωση και η θεραπεία της εκάστοτε ασθένειας. Τέλος, κριτήριο υψηλής σημαντικότητας, αποτελεί η μέθοδος μέτρησης της ευαισθησίας και ειδικότητας, μεγέθη ανίχνευσης που μπορούν να κρίνουν εάν ο βιοδείκτης χαρακτηρίζεται αξιόπιστος και συμβατός ακόμη και μεταξύ διαφορετικών φυλών και εθνικοτήτων.

1.4.1. Ο βιοδείκτης NAG

1.4.1.1. Παθογένεια διαβητικής νεφροπάθειας

Πρόσφατες μελέτες αποδεικνύουν πως η νόσος του σακχαρώδη διαβήτη πυροδοτεί διαφορετικές σειρές επιπλοκών, οι οποίες επηρεάζουν την πορεία και την εξέλιξη της διαβητικής νεφροπάθειας. Η παθογένεια της νόσου είναι πολυπαραγοντική και έχει άμεση σύνδεση με τη σπειραματική και την ενδοσωληνιακή βλάβη του νεφρού. Η υπεργλυκαιμία λόγω του σακχαρώδη διαβήτη, προκαλεί λειτουργική διαταραχή και αναδιαμόρφωση του νεφρού, η οποία συνδέεται με τις αλλαγές που προκύπτουν σε κύτταρα και οδούς σηματοδότησης [19]. Οι συγκεκριμένοι οδοί αλληλεπιδρούν με ένα σύμπλεγμα μοριακών μηχανισμών που η επιρροή τους έχει ως αποτέλεσμα, νεφρική ίνωση, σπειραματική υπερτροφία, οξειδωτικό στρες, και σωληνιακή φλεγμονή. Πολλοί βιοδείκτες που μελετώνται συνδέονται με τις οδούς σηματοδότησης που

ενεργοποιούνται και μπορούν να συμβάλλουν πιθανώς στην πρόωμη πρόγνωση της διαβητικής νεφροπάθειας.



Εικόνα 1.4. Σχηματική απεικόνιση της παθογένειας της ΔΝ

Ορισμένοι ερευνητές ταξινομούν τους βιοδείκτες ανάλογα με την προέλευση τους και τις παθολογικές διεργασίες που επηρεάζουν του νεφρώνα. Οι βιοδείκτες που σχετίζονται με τη νεφρική ίνωση, το οξειδωτικό στρες και τη σωληναριακή φλεγμονή, αποτελούν τους βιοδείκτες νεφρικής δυσλειτουργίας, βιοδείκτες φλεγμονής και βιοδείκτες οξειδωτικού στρες αντίστοιχα. Άλλοι μελετητές προτείνουν την ομαδοποίηση των βιοδεικτών σε τρεις βασικές κατηγορίες: σπειραματικοί βιοδείκτες, σωληνοειδείς βιοδείκτες και άλλες πρωτεΐνες [19].

Στην ομάδα των νέων βιοδεικτών που μελετώνται για την πρόβλεψη της διαβητικής νεφροπάθειας συγκαταλέγεται ο βιοδείκτης N-ακετυλο-β-γλυκοζαμινάση NAG (N-Acetyl-β-glucosaminidase), ο οποίος είναι βιοδείκτης συσχετιζόμενος με τη σωληναριακή βλάβη. Το NAG είναι υδρολυτικό λυσοσωμικό ένζυμο σωληναρίων και αποτελεί ένα από τα πιο μελετημένα και με ιδανικά χαρακτηριστικά ένζυμα ούρων [20]. Είναι μια πρωτεΐνη υψηλού μοριακού βάρους (~140 kDa) και βρίσκεται σε πολλούς ιστούς του σώματος. Διασπά τους χημικούς δεσμούς γλυκοζιτών και αμινο-σακχάρων που δημιουργούν δομικά συστατικά σε διάφορους ιστούς. Το NAG υπάρχει σε υψηλή συγκέντρωση στα λυσοσώματα των εγγύς νεφρικών σωληνοειδών κυττάρων [21]. Υπάρχουν δύο ισοένζυμα που βρίσκονται στα νεφρά του ανθρώπινου οργανισμού, το ισοένζυμο-A και το ισοένζυμο-B. Το πρώτο είναι μέρος του ενδολυσοσωμικού διαμερίσματος και εκκρίνεται στα ούρα

λόγω εξωκυττάρωσης. Το δεύτερο σχετίζεται με τη λυσοσωμική μεμβράνη και εκκρίνεται στα ούρα στην περίπτωση της βλάβης των σωληναρίων. Τα δύο αναφερόμενα ένζυμα διαφέρουν ως προς την ευαισθησία τους στη θερμότητα και τη σταθερότητα της δομής τους σε όξινα ούρα [22]. Λόγω της διατήρησης και της ανθεκτικότητάς του στα ούρα, της υψηλής μοριακής μάζας που αποκλείει από το σπείραμα τη διήθηση και την παρουσία του σε υψηλή δραστηριότητα στα σωληνοειδή λυσοσώματα, η αύξηση της ποσότητας της NAG στα ούρα έχει ληφθεί ως δείκτης για τη νεφρική σωληναριακή βλάβη στον οργανισμό. Η αυξημένη έκκριση του NAG στα ούρα, πιθανώς να οφείλεται στη δυσλειτουργία των εγγύς σωληνοειδών επιθηλιακών κυττάρων που προκαλούνται από αυξημένη κυκλοφορία πρωτεϊνών στο σωληνοειδή αυλό.

Η ανίχνευση των ενζύμων που απελευθερώνονται από τα σωληνοειδή κύτταρα είναι χρήσιμη σε μια ποικιλία κλινικών και πειραματικών δοκιμασιών καθώς παρέχονται σημαντικές πληροφορίες σχετικά με την τμηματική θέση της εκάστοτε βλάβης, τη δομική προέλευση της πρωτεΐνης (κυτταροπλασματική, λυσοσωμική ή μεμβρανώδης) και επιπρόσθετες πληροφορίες για τη φύση και την έκταση της κυτταρικής βλάβης. Η εξέταση μέσω ανάλυσης της ενζυμουρίας, μπορεί να ανιχνεύσει σωληναριακή βλάβη 12 ώρες έως και 4 ημέρες νωρίτερα από τις τυπικές αναλύσεις των παραμέτρων της νεφρικής λειτουργίας. Μελέτες με ασθενείς που πληρούσαν συγκεκριμένα κριτήρια για μη διαμορφωμένη νεφρική ανεπάρκεια η μέτρηση του NAG στα ούρα είχε υψηλή προγνωστική αξία για τον εντοπισμό των ασθενών με μη φυσιολογική λειτουργία των νεφρών και για την αποκατάστασή της μέσω θεραπείας [24] [25]. Για την κλινική χρήση της ανίχνευσης του ενζύμου, υπάρχει ένας περιορισμός για την ηλικία των ασθενών. Στην παιδική ηλικία, η διάγνωση μέσω μετρήσεων του NAG δεν συνίσταται λόγω της μεταβολής αυτού του ενζύμου το οποίο αλλάζει με το επίπεδο ωρίμανσης των εγγύς σωληνοειδών κυττάρων του οργανισμού. Επομένως κριτήριο για την αξιολόγηση των φυσιολογικών επιπέδων ούρων του ενζύμου NAG είναι η ηλικία. Παρόλα αυτά, αξιολογες μελέτες έδειξαν πως το NAG αποτελεί μια σημαντική πρωτεΐνη, ενισχύοντας την κλινική χρήση του ως ένδειξη σωληναριακής βλάβης. Το NAG είναι αυξημένο σε ποσότητα στα σωληνάκια των νεφρών με ισχαιμική βλάβη και υποστηρίζεται ότι είναι ένας ανερχόμενος δείκτης για την έγκυρη και έγκαιρη διάγνωση της οξείας νεφρικής βλάβης [26]. Επίσης, πρόσφατες κλινικές και πειραματικές μελέτες έδειξαν πως η ποσότητα του NAG στα ούρα των ασθενών που ανήκαν σε διαβητικές ομάδες ΣΔΤ1

και ΣΔΤ2 ήταν υψηλότερη συγκριτικά με την ομάδα των υγιών ατόμων, ανεξαρτήτως ύπαρξης ή μη αλβουμινουρίας. Η αύξηση αυτή, πιθανώς να αντιπροσωπεύει νεφρική βλάβη και το NAG να αποτελεί πρώιμο δείκτη διάγνωσης της διαβητικής νεφροπάθειας [27] [28].

Στην παρούσα εργασία έχουν ληφθεί υπόψη όλα τα δεδομένα και ευρήματα μελετών με σκοπό να εξεταστεί η διαγνωστική ακρίβεια του NAG ως πρώιμος και χρήσιμος βιοδείκτης της διαβητικής νεφροπάθειας. Οι μελέτες περιλαμβάνουν ενήλικες ασθενείς με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 σε διαφορετικά στάδια νεφροπάθειας και ενήλικες υγιείς ως control group.

1.5. Επιδημιολογία

Η επιδημιολογία είναι η μελέτη της κατανομής και της εξέλιξης διαφόρων νοσημάτων στον ανθρώπινο πληθυσμό (περιγραφική επιδημιολογία) και των παραγόντων που τις διαμορφώνουν ή μπορούν να τις επηρεάσουν (αναλυτική επιδημιολογία) [29]. Η επιδημιολογία αποτελεί επιστημονική μελέτη καθοδηγούμενη από δεδομένα που προκύπτουν από συστηματική και αμερόληπτη συλλογή, τα οποία υπόκεινται σε ανάλυση και ερμηνεία βασισμένες σε βασικές επιδημιολογικές μεθόδους. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται αφορούν την προσεκτική παρατήρηση και έγκυρη σύγκριση μεταξύ ομάδων, ώστε να αξιολογηθούν οι παράγοντες που επηρεάζουν τη συχνότητα εμφάνισης της υγείας και των ασθενειών σε έναν πληθυσμό σε μια συγκεκριμένη περιοχή και χρονική περίοδο, με εφαρμογή της στατιστικής στην ιατρική. Η συχνότητα εμφάνισης, αναφέρεται στη σχέση που συνδέει το πλήθος των περιστατικών, όπως ο αριθμός υποθέσεων για ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη με το συνολικό μέγεθος του πληθυσμού. Το προκύπτον ποσοστό επιτρέπει την σύγκριση εμφάνισης της εκάστοτε νόσου σε διαφορετικούς πληθυσμούς. Η επιδημιολογία χρησιμοποιείται επίσης για την εύρεση καθοριστικών παραγόντων οι οποίοι υπό ορισμένες συνθήκες αποτελούν αίτια επιρροής στην εμφάνιση της νόσου σε έναν πληθυσμό. Συγκεκριμένα, αξιολογούνται οι ομάδες πληθυσμών που εμφάνισαν διαφορετικά ποσοστά νόσου, εάν διαφέρουν ως προς δημογραφικά, γενετικά και περιβαλλοντικά χαρακτηριστικά με στόχο την πρόληψη δημόσιων μέτρων υγείας [30]. Αναλυτικότερα οι επιδημιολογικές μελέτες δομούνται από δύο βασικές κατηγορίες, την περιγραφική και την αναλυτική,

οι τύποι των οποίων παρουσιάζονται παρακάτω (εικόνα 1.5):

- **Προοπτικές μελέτες ή μελέτες κοόρτης (Cohort studies)**

Μια ομάδα πληθυσμού η οποία έχει υποστεί έκθεση σε μια χημική ουσία και μια ομάδα χωρίς έκθεση σε αυτή, παρακολουθείται με σκοπό τη μελέτη και τη σύγκριση εμφάνισης της νόσου στην πάροδο του χρόνου.

- **Μελέτες ασθενών μαρτύρων (Case – control studies)**

Μια ομάδα πληθυσμού, με άτομα τα οποία πάσχουν από μια νόσο, συγκρίνονται με μια ομάδα υγιή πληθυσμού ώστε να διαπιστωθεί η σύνδεση, εάν υπάρχει, της νόσου με προηγούμενη έκθεση σε έναν καθοριστικό παράγοντα.

- **Συγχρονικές μελέτες (Cross-sectional studies)**

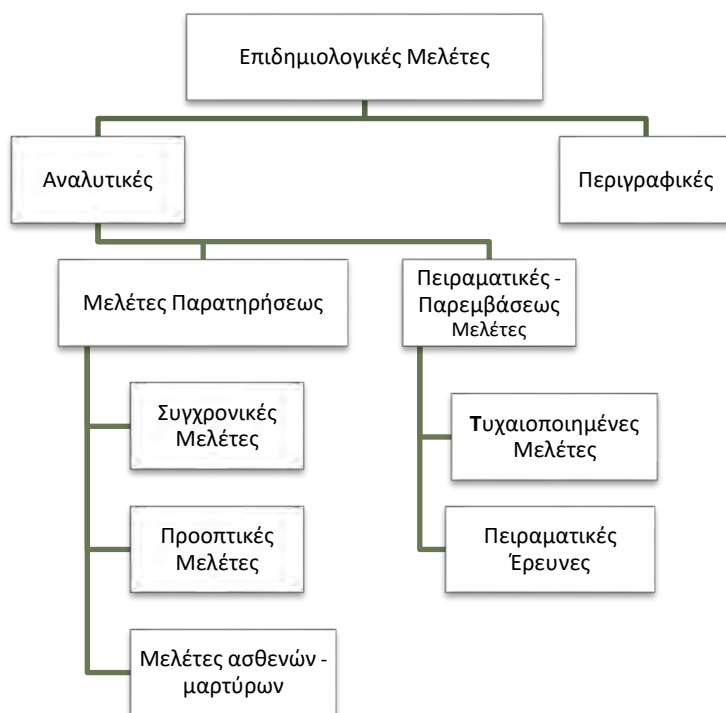
Μια συγχρονική μελέτη αποτελεί μια περιγραφική μελέτη και χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της επίδρασης μια νόσου σε έναν, ή περισσότερους εκτεθειμένους πληθυσμούς σε αυτή.

- **Τυχαιοποιημένες μελέτες (RCT studies)**

Μια τυχαιοποιημένη μελέτη αποτελεί έναν τύπο επιστημονικού πειράματος που στοχεύει στη μείωση των σφαλμάτων κατά τη δοκιμή της αποτελεσματικότητας νέων θεραπειών για μια νόσο. Στη μελέτη λαμβάνουν μέρος ομάδες ατόμων με τυχαία κατανομή και υπόκεινται σε μια διαδικασία σύγκρισης της μετρήσιμης απόκρισης τους σε έναν κλινικό παράγοντα. Η μία ομάδα αποτελεί την πειραματική ομάδα η οποία αξιολογείται και έχει υποστεί μια κλινική παρέμβαση, ενώ η άλλη ομάδα αποτελεί την ομάδα ελέγχου και έχει υποστεί σε μια εναλλακτική κατάσταση όπως στη χορήγηση ενός εικονικού φαρμάκου.

- **Πειραματικές – Παρεμβάσεως μελέτες (Experimental studies)**

Μια πειραματική μελέτη χρησιμοποιεί ένα πειραματικό μοντέλο με στόχο την επιβεβαίωση των παρατηρήσεων άλλων μελετών για την αιτιώδη συνάφεια διαφόρων παραγόντων που καθορίζουν την συχνότητα και την κατανομή μιας νόσου σε έναν πληθυσμό.



Εικόνα 1.5. Κατάταξη επιδημιολογικών μελετών

1.5. Κλινική επιδημιολογία

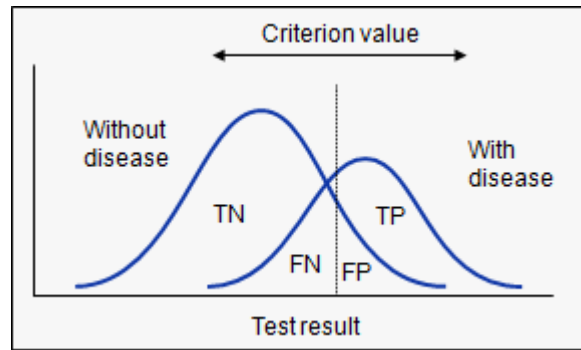
1.5.1.1. Ορολογία – Ακρίβεια διαγνωστικών δοκιμασιών

Η κλινική επιδημιολογία εισήχθη σαν όρος από τον John R. Paul στην Αμερικανική Εταιρεία Κλινικής Έρευνας το 1938. Αποτελεί επιμέρους τομέα της επιδημιολογίας που επικεντρώνεται σε θέματα που σχετίζονται με την κλινική ιατρική βασισμένη σε ενδείξεις (evidence based medicine) [31] [32]. Η κλινική επιδημιολογία μελετά μοτίβα της σχέσης αιτιών της νόσου με τις επιπτώσεις στην υγεία καθορισμένου πληθυσμού και ερευνά τις επιλογές πρόγνωσης και θεραπείας. Συγκεκριμένα, οι τομείς έρευνας της κλινικής επιδημιολογίας περιλαμβάνουν τη διάγνωση και την πρόγνωση της νόσου, καθώς και τη θεραπεία αυτής μέσω συστηματικής έρευνας και ανάπτυξης κατευθυντήριων γραμμών, στηριζόμενων σε τεκμηριωμένα δεδομένα που έχουν αντληθεί από καθορισμένο αριθμό ασθενών. Οι πληροφορίες και τα αποτελέσματα τα οποία προκύπτουν από τις κλινικές μελέτες και τις παρεμβατικές δοκιμές (intervention trials), συμπεριλαμβανομένου του ποσοστού συχνότητας εμφάνισης της νόσου και της θνησιμότητας, χρησιμοποιούνται για την κατανόηση των χαρακτηριστικών της κάθε ασθένειας και αξιολόγηση αυτής με σκοπό τη βελτίωση της δημόσιας υγείας.

Η κλινική επιδημιολογία επικεντρώνεται κυρίως: **α)** στην ιατρική βασισμένη σε ενδείξεις φυσιολογικής και μη κατάστασης, **β)** στη συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση της ακρίβειας διαγνωστικών δοκιμασιών και **γ)** στην πρόληψη και την αποτελεσματικότητα της προτεινόμενης θεραπείας. Η παρούσα εργασία επικεντρώνεται στην ακρίβεια των διαγνωστικών δοκιμασιών.

Μια διαγνωστική δοκιμασία αποτελεί μια διαδικασία που εκτελείται για τον προσδιορισμό της ασθένειας ή την επιβεβαίωση αυτής, όπως και τη διάγνωση και θεραπεία σύμφωνα με τα συμπτώματα και τις ενδείξεις που υπάρχουν από τις εξετάσεις που σχετίζονται με την κλινική χημεία και τη μοριακή διάγνωση. Από στατιστική άποψη υπάρχουν δύο σημεία που εφιστούν προσοχή: η κλινική διαδικασία λήψης αποφάσεων βασίζεται στην έννοια της πιθανότητας και ως κλίμακα πιθανότητας ορίζεται η κλίμακα με ένα άκρο το 0 (απόκλιση της ασθένειας) και άλλο άκρο το 1 (επιβεβαίωση της ασθένειας). Επομένως, στόχος της διαγνωστικής δοκιμασίας είναι η προσέγγιση της εκτιμώμενης πιθανότητας εμφάνισης προς το κάθε άκρο της κλίμακας.

Στην ιδανική περίπτωση, όταν εξετάζονται δυο πληθυσμοί, με υγιείς και ασθενείς αντίστοιχα, το αποτέλεσμα των διαγνωστικών δοκιμασιών θα ήταν πάντα έγκυρο, δηλαδή το θετικό αποτέλεσμα της δοκιμής θα αντιπροσώπευε αδιαμφισβήτητα την παρουσία της νόσου και αντίστοιχα, το αρνητικό αποτέλεσμα την απουσία της νόσου. Στην πραγματικότητα, αυτή η διάκριση δεν είναι πάντα σαφής. Η μέτρηση των μεταβλητών υγείας εκφράζεται ως κατανομή του συνόλου των παρατηρήσεων για υγιείς και ασθενείς, όπου ο διαχωρισμός τους δεν είναι τέλειος και συνήθως παρουσιάζει επικάλυψη (εικόνα 1.2). Οι κατανομές των αποτελεσμάτων δίδονται από δύο γκαουσιανές καμπύλες (Gauss), στη δεξιά πλευρά απεικονίζονται οι θετικές τιμές και στην αριστερή πλευρά οι αρνητικές τιμές. Το επίπεδο αποκοπής υποδεικνύεται με τη διακεκομμένη γραμμή όπου ταξινομεί τις περιπτώσεις που προκύπτουν. Η ταξινόμηση των πληθυσμών επιτυγχάνεται με τη χρήση μιας συγκεκριμένης για κάθε δοκιμή τιμή, την **τιμή αποκοπής** ή **τιμή κατωφλιού (cut-off point)**. Μια τιμή που είναι μεγαλύτερη από την τιμή κατωφλιού, θεωρείται θετική (ασθενείς), ενώ μια τιμή που είναι μικρότερη, θεωρείται αρνητική (υγιείς). Επισημαίνεται, πως υπάρχει πάντα ένα ποσοστό υγιή πληθυσμού στη μη φυσιολογική πλευρά του σημείου τομής και ένα ποσοστό ασθενών στη φυσιολογική πλευρά, επομένως το σφάλμα ταξινόμησης που παρουσιάζεται, μπορεί να εκφραστεί ποσοτικά μέσω της ευαισθησίας και της ειδικότητας.



Εικόνα 1.6. Κατανομή συνεχούς μεταβλητής. Η αριστερή καμπύλη αντιπροσωπεύει τον υγιή πληθυσμό και η δεξιά καμπύλη τον πάσχοντα πληθυσμό [33].

Η **ακρίβεια (accuracy)** μιας διαγνωστικής δοκιμασίας αποτελείται από δύο μετρήσεις, την ευαισθησία και την ειδικότητα. **Ευαισθησία (sensitivity)** είναι το ποσοστό των **αληθώς μη φυσιολογικών αποτελεσμάτων (true positive rate TPR)** που ταξινομούνται ως ασθενείς και αντιπροσωπεύουν το θετικό αποτέλεσμα της δοκιμασίας. **Ειδικότητα (specificity)** είναι το ποσοστό των **αληθώς φυσιολογικών αποτελεσμάτων (true negative rate TNR)** που ταξινομούνται ως υγιείς και αντιπροσωπεύουν το αρνητικό αποτέλεσμα της δοκιμασίας [34]. Οι δοκιμασίες με υψηλά ποσοστά ευαισθησίας (> 95%), εξυπηρετούν κλινικά στην απόκλιση ύπαρξης της ασθένειας, συγκεκριμένα φέρουν χαμηλό ποσοστό ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων. Ένα αρνητικό αποτέλεσμα για μια δοκιμασία με υψηλή ευαισθησία, αποκλείει την πιθανότητα το άτομο που μελετάται να πάσχει από τη νόσο ενδιαφέροντος. Οι δοκιμασίες με υψηλά ποσοστά ειδικότητας (>95%), εξυπηρετούν κλινικά στην επιβεβαίωση της παρουσίας της ασθένειας, συγκεκριμένα φέρουν χαμηλό ποσοστό ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων. Τα παραπάνω ποσοστά, χρησιμοποιούνται σε μελέτες ασθενών-μαρτύρων και ονομάζονται λειτουργικά χαρακτηριστικά (operating characteristics) ή πιθανοφάνειας (likelihood) της διαγνωστικής δοκιμασίας [35] [36]. Επομένως, η επιλογή της τιμής κατωφλιού (cut-off point) είναι σημαντική, καθώς καθορίζει την ακρίβεια της διαγνωστικής δοκιμασίας στην ταξινόμηση του πληθυσμού σε υγιείς και ασθενείς για την νόσο ενδιαφέροντος.

Η μέθοδος που χρησιμοποιείται για την επίτευξη της οριστικής διάγνωσης μιας νόσου ονομάζεται **ακριβής μέθοδος ή μέθοδος αναφοράς (gold standard method)**. Με τη χρήση της παραπάνω μεθόδου, μια δοκιμασία παρουσιάζει θετικό

αποτέλεσμα επί παρουσίας της νόσου ενδιαφέροντος και αρνητικό επί απουσίας αυτής. Η μέθοδος μπορεί να είναι βιοψία σε εσωτερικό όργανο, χειρουργική επέμβαση ή επεμβατική απεικονιστική τεχνική. Συνεπώς είναι προτιμότερες μέθοδοι που είναι πιο απλές σε διαδικασία, με χαμηλό κόστος, ανώδυνες για τον ασθενή και μη επεμβατικές. Η ακρίβεια και η αποτελεσματικότητα των απλούστερων διαγνωστικών δοκιμασιών που θα χρησιμοποιηθούν είναι ύψιστης σημασίας για την εκτίμηση των αποτελεσμάτων. Η ταξινόμηση των πληθυσμών για τη νόσο που μελετάται, απεικονίζεται από έναν πίνακα μεγέθους 2x2 (confusion matrix), όπως παρουσιάζεται παρακάτω (εικόνα 1.7.). Κάθε σειρά του πίνακα αντιπροσωπεύει τις περιπτώσεις που ανήκουν στην προβλεπόμενη κατηγορία και κάθε στήλη αντιπροσωπεύει τις περιπτώσεις που ανήκουν στην πραγματική κατηγορία.

<u>ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ</u>	<u>ΝΟΣΟΣ</u>	
	ΠΑΡΟΥΣΙΑ (+)	ΑΠΟΥΣΙΑ (-)
ΘΕΤΙΚΟ (+) POSITIVE	ΑΛΗΘΩΣ ΘΕΤΙΚΟ TRUE POSITIVE	ΨΕΥΔΩΣ ΘΕΤΙΚΟ FALSE POSITIVE
ΑΡΝΗΤΙΚΟ (-) NEGATIVE	ΨΕΥΔΩΣ ΑΡΝΗΤΙΚΟ FALSE NEGATIVE	ΨΕΥΔΩΣ ΑΡΝΗΤΙΚΟ FALSE NEGATIVE

Εικόνα 1.7. Πίνακας 2x2 που παρουσιάζει τη σχέση των αποτελεσμάτων μια διαγνωστικής δοκιμασίας και την παρουσία ή μη της νόσου ενδιαφέροντος.

Αναλυτικότερα, το ποσοστό του πληθυσμού που νοσεί και έχει θετικό αποτέλεσμα στη διαγνωστική δοκιμασία ορίζει το ποσοστό των **αληθώς θετικών αποτελεσμάτων (true positive – TP)**. Το ποσοστό του πληθυσμού που νοσεί αλλά έχει αρνητικό αποτέλεσμα στη διαγνωστική δοκιμασία, ορίζει το ποσοστό των **ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων (false negative – FN)**. Αντίστοιχα, το ποσοστό του υγιή πληθυσμού που έχει αρνητικό αποτέλεσμα στη διαγνωστική δοκιμασία ορίζει το ποσοστό των **αληθώς αρνητικών αποτελεσμάτων (true negative – TN)**, ενώ το ποσοστό με το θετικό αποτέλεσμα στη διαγνωστική δοκιμασία, ορίζει το ποσοστό των **ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων (false positive – FP)**. Στις μελέτες ασθενών – μαρτύρων, υπάρχουν δύο είδη πιθανοφάνειας που χρησιμοποιούνται και το καθένα στο θετικό και αρνητικό αποτέλεσμα των διαγνωστικών δοκιμασιών.

Είναι γνωστοί με τον όρο **θετικό πηλίκο πιθανοφάνειας (positive likelihood ratio, LR+)** και **αρνητικό πηλίκο πιθανοφάνειας (negative likelihood, LR-)**. Αντίστοιχα ο ένας όρος εκφράζει τη συχνότητα εμφάνισης του θετικού αποτελέσματος (ruling - in) στους ασθενείς συγκριτικά με τους υγιείς, ενώ ο δεύτερος όρος εκφράζει τη συχνότητα εμφάνισης του αρνητικού αποτελέσματος (ruling-out) στους υγιείς συγκριτικά με τους ασθενείς του εξεταζόμενου πληθυσμού. Ο υπολογισμός τους βασίζεται στις τιμές της ευαισθησίας και ειδικότητας και παρουσιάζεται ακολούθως [37]:

- Θετικό πηλίκο πιθανοφάνειας : $LR + = \frac{sensitivity}{1-specificity}$
- Αρνητικό πηλίκο πιθανοφάνειας : $LR - = \frac{1-sensitivity}{specificity}$

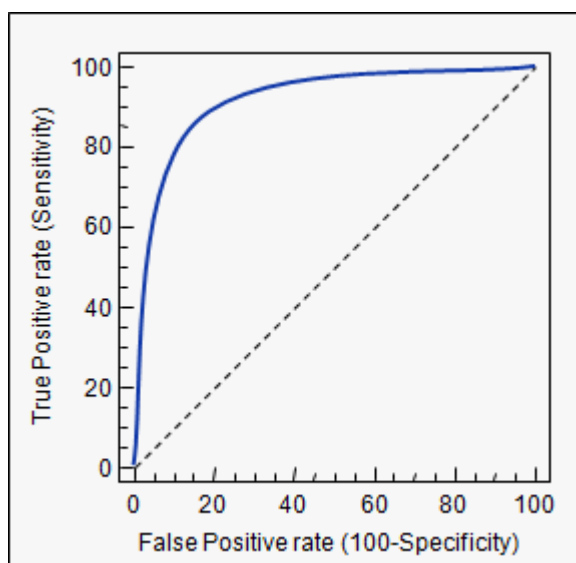
Ένα θετικό πηλίκο πιθανοφάνειας με τιμή μικρότερη του 1 (< 1), υποδεικνύει ότι το αποτέλεσμα της διαγνωστικής δοκιμασίας είναι ασήμαντο, μεγαλύτερη του 10 (>10) υποδεικνύει ότι είναι ένα καλό αποτέλεσμα και με τιμή μεγαλύτερη του 50 (>50), η διαγνωστική δοκιμασία θεωρείται εξαιρετικά αξιόπιστη. Ένα αρνητικό πηλίκο πιθανοφάνειας με τιμή μεγαλύτερη του 0.5 (>0.5), υποδεικνύει ότι το αποτέλεσμα της διαγνωστικής δοκιμασίας είναι ασήμαντο, μικρότερη του 0.1 (<0.1) υποδεικνύει ότι είναι ένα καλό αποτέλεσμα και με τιμή μικρότερη του 0.02 (<0.02) η διαγνωστική δοκιμασία θεωρείται εξαιρετικά αξιόπιστη [38]. Δεδομένου ότι η ευαισθησία και η ειδικότητα χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό του πηλίκου πιθανοφάνειας προκύπτει το συμπέρασμα πως το LR+ και LR – δεν εξαρτώνται από τον επιπολασμό (prevalence, πλήθος πασχόντων προς το συνολικό πληθυσμό) της νόσου στις εξεταζόμενες ομάδες πληθυσμού. Επομένως, τα πηλικά πιθανοφάνειας που προκύπτουν από μια διαγνωστική δοκιμασία μπορούν να εφαρμοστούν επιτυχώς και σε άλλες μελέτες με διαφορετικό κλινικό περιβάλλον, με την προϋπόθεση ότι ο ορισμός της νόσου παραμένει ο ίδιος. Ως **θετική διαγνωστική αξία (positive predictive value – PPV)** μιας διαγνωστικής δοκιμασίας θεωρείται η πιθανότητα εμφάνισης της νόσου σε ένα άτομο με θετικό αποτέλεσμα διαγνωστικού ελέγχου και ορίζεται από το ποσοστό $\frac{TP}{TP+FP}$. Ως **αρνητική διαγνωστική αξία (negative predictive value – NPV)** μιας διαγνωστικής δοκιμασίας θεωρείται η πιθανότητα απουσίας της νόσου σε ένα άτομο με αρνητικό αποτέλεσμα διαγνωστικού ελέγχου και ορίζεται από το ποσοστό $\frac{TN}{TN+FN}$. Οι παραπάνω τιμές προκύπτουν κατόπιν ολοκλήρωσης της λήψης των δοκιμασιών ονομάζονται **μετά την εξέταση**

πιθανότητα (Post-Test Probability) [38].

Το **γράφημα λειτουργικών χαρακτηριστικών δείκτη ή καμπύλη ROC** αποτελεί μια τεχνική οπτικοποίησης ταξινομητών βασισμένη στην απόδοση τους, η οποία εκφράζει τη διαγνωστική ικανότητα μιας δοκιμασίας. [39]. Η καμπύλη ROC χρησιμοποιείται συνήθως σε συστήματα λήψης ιατρικών αποφάσεων και τα τελευταία χρόνια η εφαρμογή της είναι αποτελεσματική τόσο στον τομέα της μηχανικής μάθησης, όσο και στον τομέα εξόρυξης δεδομένων. Η καμπύλη είναι γράφημα δύο διατάσεων και δημιουργείται από τη γραφική παράσταση του ποσοστού των αληθώς θετικών αποτελεσμάτων (TPR) που αποτελεί την ευαισθησία, έναντι του ποσοστού των ψευδών θετικών αποτελεσμάτων (FPR), οποίος υπολογίζεται ως $1 - \text{ειδικότητα}$, για διάφορες τιμές του διαχωριστικού κατωφλιού. Ο άξονας y της γραφικής παράστασης αντιπροσωπεύει το TPR και ο άξονας x αντιπροσωπεύει το FPR. Η γραφική παράσταση της καμπύλης ROC συγκεκριμένα απεικονίζει:

- α)** τη σχέση της ευαισθησίας και της ειδικότητας σε μια διαγνωστική δοκιμασία.
- β)** την ακρίβεια απόδοσης της διαγνωστικής δοκιμασίας, ως μοντέλο ταξινόμησης

Κάθε σημείο της καμπύλης αποτελεί ένα ζεύγος ευαισθησίας/ειδικότητας το οποίο αντιστοιχεί σε ένα συγκεκριμένο κατώφλι (cutoff). Σε μια διαγνωστική δοκιμασία με ακριβή διάκριση χωρίς επικαλύψεις στις κατανομές, η γραφική παράσταση της καμπύλης ROC βρίσκεται όσο πιο κοντά στα άνω αριστερά όρια (ευαισθησία = 1, ειδικότητα = 1). Αντίθετα, η γραφική παράσταση όσο πιο κοντά βρίσκεται στη διαγώνιο τόσο λιγότερο ακριβής θεωρείται ως μοντέλο ταξινόμησης. Το εμβαδό της περιοχής κάτω από τη καμπύλη ονομάζεται **AUC (Area Under the Curve)** και παρέχει ένα συνολικό μέτρο διαχωρισμού των δυο ομάδων που συμμετέχουν σε μια διαγνωστική δοκιμασία, σε όλα τα πιθανά κατώτατα όρια ταξινόμησης (thresholds/cutoff). Η ερμηνεία της AUC αντιπροσωπεύει την απόδοση της διαγνωστικής δοκιμασίας στην ταξινόμηση των θετικών αποτελεσμάτων σε σχέση με τα αρνητικά αποτελέσματα. Η τιμή της AUC κυμαίνεται στο εύρος 0 – 1. Σε ένα αξιόπιστο μοντέλο διαχωρισμού η τιμή της AUC είναι όσο πιο κοντά στο 1, αντίθετα όταν η τιμή της πλησιάζει την τιμή 0.5 οι κατανομές αλληλεπικαλύπτονται, δηλαδή το μοντέλο δεν έχει ικανότητα διάκρισης των θετικών από τα αρνητικά αποτελέσματα (υγιείς/ασθενείς) και ο διαχωρισμός είναι σχεδόν τυχαίος. Επί προσθέτως όταν προκύπτει λανθασμένη ταξινόμηση σε όλα ανεξαιρέτως τα δείγματα, τότε η τιμή της AUC αντιστοιχεί στην τιμή ίση με το μηδέν.



Εικόνα 1.8. Καμπύλη AUC – ROC [39]

1.6. Σκοπός της παρούσας εργασίας

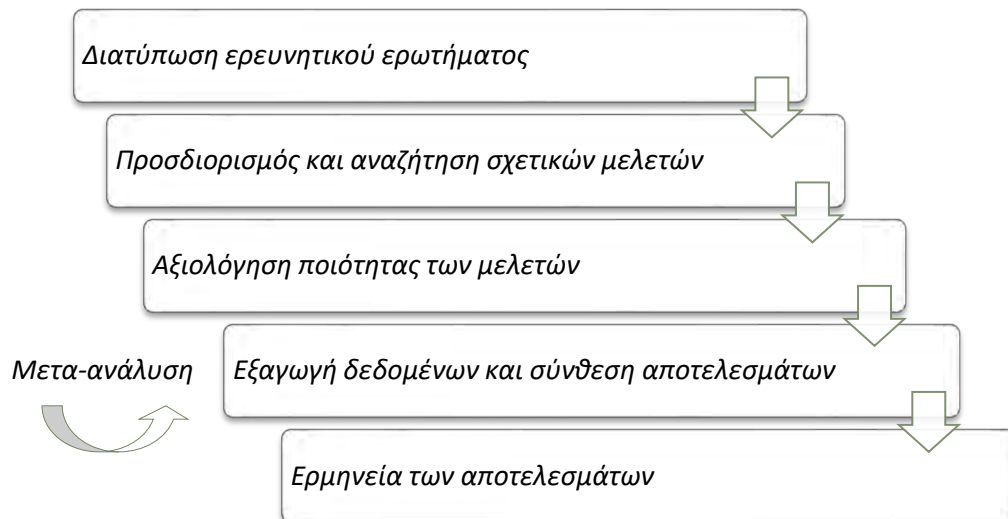
Η παρούσα εργασία αποτελεί τη συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση δεδομένων διαγνωστικής ακρίβειας. Σκοπός της εργασίας είναι η παραγωγή αξιόπιστων αποτελεσμάτων για τη διαγνωστική ακρίβεια του NAG ως πρώιμου βιοδείκτη για την έγκαιρη πρόβλεψη της διαβητικής νεφροπάθειας σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και τύπου 2. Στην παρούσα συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση συμπεριλαμβάνονται 10 μελέτες αποτελούμενες από 1097 ασθενείς και 432 υγιείς συνολικά. Οι μελέτες αξιολογήθηκαν υπό ορισμένα κριτήρια αποδοχής και απόρριψης για την καταλληλότητά τους και συγκεκριμένα δεδομένα επιλέχθηκαν για την διεξαγωγή της μετα-ανάλυσης. Κύριος στόχος είναι ο καθορισμός της δράσης της συγκέντρωσης του NAG (N-Acetyl-β-glucosaminidase) στα ούρα και στον ορό των ασθενών με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 για την εξέλιξη της νόσου της διαβητικής νεφροπάθειας.

Κεφάλαιο 2: Υλικά και Μέθοδοι

2.1. Μεθοδολογία συστηματικής ανασκόπησης

Μια συστηματική ανασκόπηση είναι ένας τύπος βιβλιογραφικής ανασκόπησης ενός σαφώς διατυπωμένου ερευνητικού ερωτήματος χρησιμοποιεί συστηματικές μεθόδους για τον προσδιορισμό και την κριτική αξιολόγηση ερευνητικών μελετών. Από τις επιλεγμένες έρευνες πραγματοποιείται η συλλογή δευτερευόντων δεδομένων με σκοπό την ανάλυση και σύνθεσή τους ποιοτικά και ποσοτικά [40]. Τα ερωτήματα που διατυπώνει μια συστηματική ανασκόπηση μπορεί να επικεντρώνονται σε στενό ή ευρύ πεδίο μελέτης και προσδιορίζουν με ακρίβεια το είδος των μελετών ενδιαφέροντος. Χαρακτηρίζονται από μια μεθοδική διαδικασία ολοκληρωμένης αναζήτησης για τον εντοπισμό σχετικών δημοσιευμένων και μη μελετών για το θέμα του ερωτήματος. Συχνά μια συστηματική ανασκόπηση περιλαμβάνει και τη διαδικασία της μετα-ανάλυσης η οποία αποτελεί τη χρήση στατιστικών τεχνικών για τη σύνθεση και ανάλυση των δεδομένων από τις μελέτες σε μια ποσοτική εκτίμηση [41]. Συνεπώς, η μετα-ανάλυση είναι μια διαφορετική διαδικασία, όμως αλληλένδετη με τη συστηματική ανασκόπηση καθώς εφαρμόζεται συνδυαστικά με εκείνη.

Οι συστηματικές κριτικές διαφέρουν από τις παραδοσιακές κριτικές και τους σχολιασμούς με ποικίλους τρόπους. Οι παραδοσιακές αφηγητικές κριτικές τείνουν να είναι κυρίως περιγραφικές, δεν περιλαμβάνουν συστηματική αναζήτηση της βιβλιογραφίας και συχνά εστιάζουν σε ένα υποσύνολο ερευνητικών μελετών με περιορισμένα κριτήρια πρόσβασης και επιλογής, βάση της διαθεσιμότητας ή της επιλογής συγγραφέα. Επομένως είναι πιθανό να περιλαμβάνουν το σφάλμα μεροληψίας της επιλογής. Για την ορθή υλοποίηση μιας συστηματικής ανασκόπησης ακολουθούνται τα εξής βήματα όπως απεικονίζονται συνοπτικά στην εικόνα 2.1. [42].



Εικόνα 2.1. Βήματα της συστηματικής ανασκόπησης παρουσιασμένα σε διάγραμμα ροής

2.1.1. Διατύπωση ερευνητικού ερωτήματος

Το πρώτο και καθοριστικό βήμα στην υλοποίηση της συστηματικής ανασκόπησης, είναι η σαφής διατύπωση ενός περιεκτικού ερευνητικού ερωτήματος το οποίο χρειάζεται να απαντηθεί. Το ερώτημα θα πρέπει να είναι περιγραφικό, επιστημονικά τεκμηριωμένο και κλινικά σημαντικό. Η διατύπωσή του συνήθως ακολουθεί συγκεκριμένους κανόνες (**PICO**) που αποτελούν τους 4 βασικούς πυρήνες του ερωτήματος [43]: ο καθορισμός του πληθυσμού (**P**opulation), η παρέμβαση (**I**ntervention) στους ασθενείς, η οποία μπορεί να αντιστοιχεί και στη θεραπεία της νόσου, ο καθορισμός του υγιή πληθυσμού που θα λειτουργεί ως συγκριτικός παράγοντας (**C**omparison) και τέλος η σύνθεση του αποτελέσματος (**O**utcome). Πολλοί ερευνητές υποστηρίζουν ότι το PICO διατηρεί υψηλότερη ευαισθησία και παρέχει ακριβέστερες απαντήσεις/μελέτες στο αρχικό ερώτημα για μια ποιοτική αναζήτηση. Η μορφή του ερωτήματος αποτελείται από λέξεις-κλειδιά που προσδιορίζουν με ακρίβεια το αντικείμενο μελέτης και την έκβασή της. Για κάθε συστατικό του ακρώνυμου PICO θα πρέπει να συμπεριληφθούν όλοι οι δυνατοί όροι που το περιγράφουν ώστε να μπορούν να εντοπιστούν όσο το δυνατόν περισσότερες σχετικές μελέτες.

2.1.2. Προσδιορισμός και αναζήτηση σχετικών μελετών

2.1.2.1. Κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού μελετών

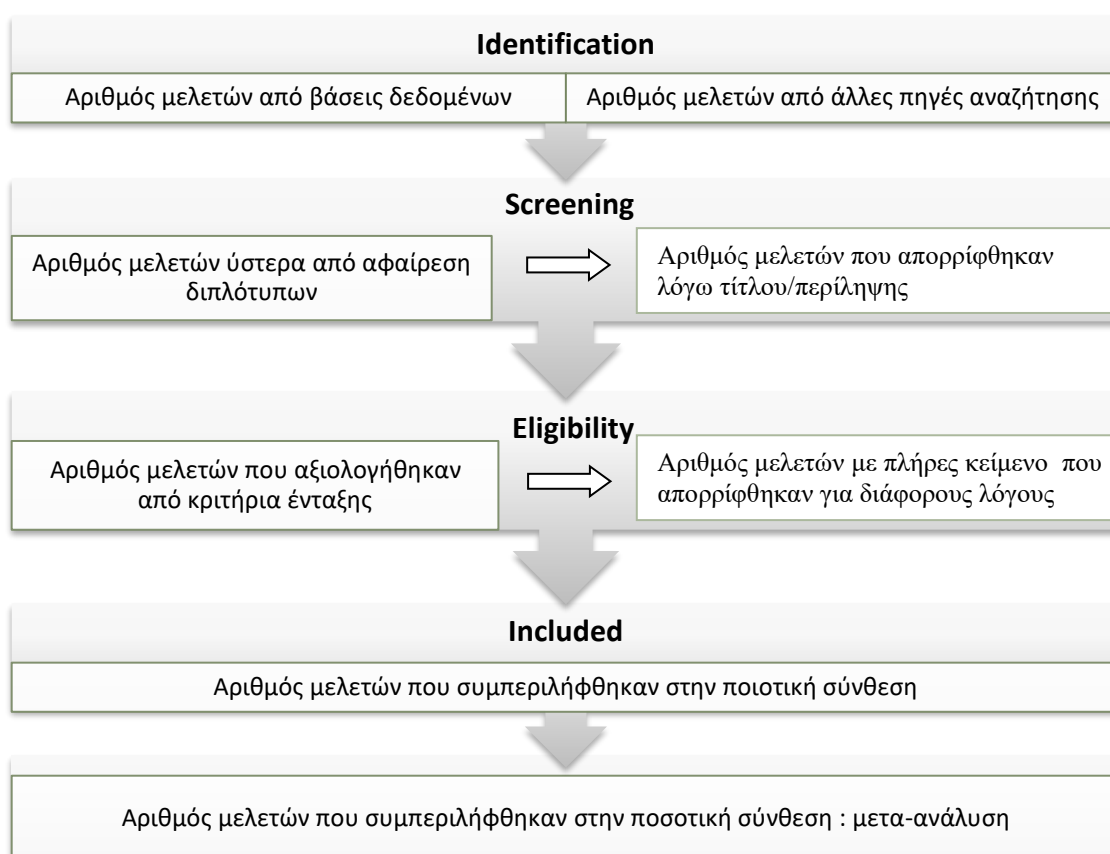
Το επόμενο βασικό βήμα στη συστηματική ανασκόπηση αποτελεί η σωστή αναζήτηση μελετών μέσω πολλαπλών πόρων (ηλεκτρονικές μελέτες ή και εκτυπωμένες), σε διαφορετικές βάσεις δεδομένων αναζήτησης και χωρίς γλωσσικούς περιορισμούς. Η αναζήτηση πραγματοποιείται σε βάσεις δεδομένων όπως: η PUBMED, SCOPUS, MEDLINE, κλπ. Όλα τα κριτήρια καταλληλότητας καθορίζονται με σαφήνεια εξ αρχής από κοινού από τους εκάστοτε ερευνητές. Τα κριτήρια αφορούν το περιεχόμενο και την έκβαση των μελετών, το δείγμα του πληθυσμού (ηλικία, φύλο, ασθενείς, υγιείς), το είδος της κάθε μελέτης (κλινική, πειραματική, προοπτική μελέτη κλπ) και την πληρότητα των πληροφοριών που παρέχουν. Ένα συχνό φαινόμενο το οποίο συναντούν οι ερευνητές σε αυτό το βήμα της υλοποίησης, είναι οι πολλαπλές δημοσιεύσεις της ίδιας μελέτης. Το κριτήριο επιλογής σε αυτήν την περίπτωση είναι η χρονολογία δημοσίευσης της μελέτης, το μέγεθος του δείγματος και οι συνθήκες της έρευνας καθώς και η περιεκτικότητα σε πληροφορίες για την έρευνα ενδιαφέροντος. Μια επιτυχής αναζήτηση εξισορροπεί την ευαισθησία (ποσοστό σχετικών μελετών με το ερώτημα) και την ειδικότητα (ποσοστό μη σχετικών μελετών με το ερώτημα), επομένως η ευαισθησία θα πρέπει να κατέχει υψηλότερο ποσοστό από την ειδικότητα για την εκπλήρωση του στόχου.

2.1.3. Αξιολόγηση ποιότητας μελετών

2.1.3.1. Παρουσίαση μελετών σε διάγραμμα ροής PRISMA

Έπειτα από μια ολοκληρωμένη αναζήτηση προκύπτει ένας όγκος δημοσιεύσεων που αξιολογούνται για την καταλληλότητά τους. Αρχικά αφαιρούνται διπλότυπες μελέτες και υλοποιείται έλεγχος στον τίτλο και την περίληψη όλων των μελετών. Η διαδικασία του ακολουθεί είναι η πλήρης ανασκόπηση της μελέτης, η ολοκληρωμένη ανάγνωση του άρθρου και των βιβλιογραφικών αναφορών η οποία γίνεται από δύο ερευνητές. Η διαδικασία αυτή περιλαμβάνει την καταγραφή και τη συγκέντρωση όλων των λόγων που χρήζουν μια δημοσίευση κατάλληλη ή μη για την

ένταξη της στην μετα-ανάλυση, ή ακόμη και την επικοινωνία με τον συγγραφέα για παροχή διευκρινήσεων και επιπλέον πληροφοριών όπου κρίνεται απαραίτητο. Η ολοκληρωμένη και ακριβής απεικόνιση των παραπάνω βημάτων παρουσιάζεται σε ένα διάγραμμα ροής το οποίο ονομάζεται PRISMA (Preferred Reporting Item for Systematic Reviews and Meta-analyses) [44]. Συγκεκριμένα, το διάγραμμα αποτελεί την παρουσίαση των αποτελεσμάτων της βιβλιογραφικής ανασκόπησης με τον ακριβή αριθμό πλήθους των δημοσιεύσεων που ανακτήθηκαν από την αναζήτηση, το πλήθος των δημοσιεύσεων αποδοχής και απόρριψης καθώς και τους λόγους για την κάθε απόφαση. Η παρουσίαση απεικονίζεται με τη μορφή πίνακα όπως φαίνεται στην εικόνα 2.2.



Εικόνα 2.2. Διάγραμμα ροής – PRISMA, βήματα συστηματικής ανασκόπησης για τη βιβλιογραφία

Το τελευταίο βήμα στην αξιολόγηση των μελετών, είναι η ποιοτική τους εκτίμηση, η οποία αποτελεί σημαντικό βήμα και υλοποιείται μέσω ειδικών ερευνητικών εργαλείων αξιολόγησης όπως το QUADAS [45] (Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies) το οποίο θα αναλυθεί παρακάτω στην παρούσα εργασία.

2.1.4. Εξαγωγή δεδομένων και σύνθεση αποτελεσμάτων

Για την ομαλή εξαγωγή των δεδομένων από τις μελέτες είναι χρήσιμο να καταγράφονται όλα τα στοιχεία σε μια φόρμα (όπως φύλλα Excel). Η οργάνωση της πληροφορίας ανα κατηγορίες είναι σημαντική για την αποτελεσματική ανάλυση των δεδομένων. Τα χαρακτηριστικά που καταγράφονται αφορούν γενικές πληροφορίες για τις ομάδες μελέτης (πλήθος, ηλικία, φύλο, βάρος, διάρκεια νόσου, καταγωγή), το όνομα του συγγραφέα και τη χώρα δημοσίευσης, καθώς και τιμές κλινικών στοιχείων που μπορεί να θεωρηθούν βοηθητικές στην σύνθεση του τελικού πορίσματος. Επίσης στην καταγραφή περιλαμβάνονται η μέση τιμή και το μέτρο διακύμανσης της μεταβλητής ενδιαφέροντος. Σε αυτό το στάδιο υλοποιείται η στατιστική ανάλυση των δεδομένων που έχουν συγκεντρωθεί για τον υπολογισμό ενός συνολικού αποτελέσματος, μέσω της μετα-ανάλυσης.

2.1.5. Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων αποτελεί το τελικό βήμα για την ολοκλήρωση της συστηματικής ανασκόπησης, με την προϋπόθεση ότι οι περιορισμοί των προηγούμενων βημάτων έχουν τηρηθεί αυστηρά. Η αξιολόγηση και η τελική ερμηνεία των αποτελεσμάτων εξαρτάται άμεσα από την ποιότητα των μελετών που έχουν χρησιμοποιηθεί και την εγκυρότητα των δεδομένων που καταγράφονται σε αυτές. Υπάρχει σημαντικός κίνδυνος μεροληψίας που αφορά τη λανθασμένη υλοποίηση και το σχεδιασμό της μελέτης, τα οποία διαφέρουν αναλόγως με το μέρος διεξαγωγής της έρευνας, τον πληθυσμό που συμμετείχε και τις συνθήκες. Για την αποφυγή των μελετών χαμηλής ποιότητας, οι ερευνητές χρησιμοποιούν το εργαλείο διαγνωστικής ακρίβειας, που αξιολογεί την ποιότητα των μελετών βάσει ορισμένων ερωτήσεων, το QUADAS, το οποίο συμπληρώνει άρτια το τελικό βήμα της ερμηνείας των αποτελεσμάτων. Οι έννοιες που αντιπροσωπεύει και η μεθοδολογία της ποιοτικής αξιολόγησης QUADAS παρουσιάζονται αναλυτικά την επόμενη ενότητα.

2.2. Ποιοτική αξιολόγηση μελετών διαγνωστικής ακρίβειας

Οι μελέτες διαγνωστικής ακρίβειας επιτρέπουν τον υπολογισμό διαφόρων στατιστικών στοιχείων που παρέχουν μια ένδειξη της απόδοσης της κάθε δοκιμασίας, στην επίτευξη του αρχικού στόχου και ερωτήματος το οποίο μελετάται. Οι στατιστικοί υπολογισμοί συμπεριλαμβάνουν τις έννοιες: ευαισθησία - ειδικότητα, θετικές και αρνητικές προγνωστικές τιμές, αναλογίες θετικών και αρνητικών πιθανοτήτων, αναλογίες διαγνωστικών αποδόσεων και χαρακτηριστικές λειτουργικές καμπύλες (ROC) [46]. Η συστηματική ανασκόπηση των μελετών διαγνωστικής ακρίβειας, χαρακτηρίζεται από σημαντικά ετερογενή αποτελέσματα που προκύπτουν από τις διαφορές στο σχεδιασμό και τη διεξαγωγή των συμπεριλαμβανόμενων μελετών. Επομένως, η σχολαστική αξιολόγηση της ποιότητάς τους κρίνεται απαραίτητη. Το διαγνωστικό εργαλείο που χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση είναι το QUADAS (Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies) [46].

Item	Yes	No	Unclear
1. Was the spectrum of patients representative of the patients who will receive the test in practice?	()	()	()
2. Were selection criteria clearly described?	()	()	()
3. Is the reference standard likely to correctly classify the target condition?	()	()	()
4. Is the time period between reference standard and index test short enough to be reasonably sure that the target condition did not change between the two tests?	()	()	()
5. Did the whole sample or a random selection of the sample, receive verification using a reference standard of diagnosis?	()	()	()
6. Did patients receive the same reference standard regardless of the index test result?	()	()	()
7. Was the reference standard independent of the index test (i.e. the index test did not form part of the reference standard)?	()	()	()
8. Was the execution of the index test described in sufficient detail to permit replication of the test?	()	()	()
9. Was the execution of the reference standard described in sufficient detail to permit its replication?	()	()	()
10. Were the index test results interpreted without knowledge of the results of the reference standard?	()	()	()
11. Were the reference standard results interpreted without knowledge of the results of the index test?	()	()	()
12. Were the same clinical data available when test results were interpreted as would be available when the test is used in practice?	()	()	()
13. Were uninterpretable/ intermediate test results reported?	()	()	()
14. Were withdrawals from the study explained?	()	()	()

Εικόνα 2.2. Η λίστα με το σύνολο των ερωτήσεων στο εργαλείο αξιολόγησης QUADAS [46]

Η διαδικασία αποτελείται από: πρωταρχικές εννοιολογικές αποφάσεις (ασθένεια, δοκιμασία), δημιουργία αντικειμένων (πληθυσμός) αξιολόγηση της εγκυρότητας του προσώπου (μέθοδος αναφοράς) και η ροή – συγχρονισμός των μελετών. Η αξιολόγηση περιλαμβάνει την έννοια της μεροληψίας κινδύνου, και

το προβληματισμό για τις συνθήκες διεξαγωγής της κάθε δοκιμασίας. Το QUADAS περιέχει 14 ερωτήσεις που αξιολογούν τα παραπάνω, οι τρεις διαθέσιμες επιλογές ως απάντηση είναι «ναι», «όχι» ή «ασαφής» και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται με τη μορφή διαγραμμάτων.

2.3. Μεθοδολογία μετα-ανάλυσης

2.3.1. Ορισμός της μετα-ανάλυσης

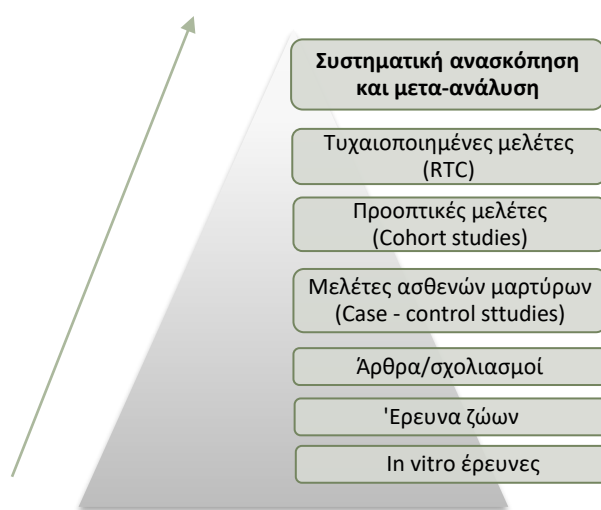
Η μετα-ανάλυση είναι μια επιδημιολογική στατιστική ανάλυση που συνδυάζει τα αποτελέσματα πολλαπλών επιστημονικών μελετών. Διεξάγεται όταν υπάρχουν πολλές επιστημονικές μελέτες που εξετάζουν το ίδιο ερώτημα, κάθε μεμονωμένη μελέτη περιλαμβάνει δεδομένα και μετρήσεις που αναμένεται να έχουν κάποιο βαθμό σφάλματος. Ο κύριος στόχος είναι η χρήση στατιστικών προσεγγίσεων για την άντληση μιας συγκεντρωτικής εκτίμησης από τις επιμέρους μελέτες που επιλέχθηκαν στη συστηματική ανασκόπηση [47]. Το αποτέλεσμα, είναι η πλησιέστερη εκτίμηση στην άγνωστη κοινή αληθή τιμή, επιτυγχάνοντας μεγαλύτερη ακρίβεια και εγκυρότητα από την κάθε μελέτη ξεχωριστά. Συγκεκριμένα μπορεί να περιλαμβάνει μια πιο ακριβή εκτίμηση της επίδρασης της θεραπείας ή του παράγοντα κινδύνου της ασθένειας που μελετάται.

Στη μέθοδο της μετα-ανάλυσης το αποτέλεσμα είναι ένας σταθμισμένος μέσος όρος από τα αποτελέσματα των μεμονωμένων μελετών, όμως ο τρόπος με τον οποίο κατανέμονται τα βάρη στις μελέτες διαφέρει. Οι μελέτες με το μεγαλύτερο πληθυσμό ασθενών έχουν μεγαλύτερη βαρύτητα από εκείνες με μικρότερο πληθυσμό. Επιπρόσθετα, μια μετα-ανάλυση εκτός από τον υπολογισμό ενός συγκεντρωτικού αποτελέσματος, παρέχει την δυνατότητα σύγκρισης αποτελεσμάτων από διαφορετικές μελέτες για τις ομοιότητες και τις διαφορές τους ή για την αναγνώριση των σχέσεων της σύνδεσής τους που μπορεί να εμφανιστούν στο πλαίσιο πολλαπλών ερευνών [48].

2.3.2. Πλεονεκτήματα της μετα-ανάλυσης

Οι συστηματικές ανασκοπήσεις και οι μετα-αναλύσεις αποτελούν μεθόδους, αναγνωρισμένες για την σημαντική παροχή διαγνωστικής και θεραπευτικής τους αξίας και εφαρμόζονται σε ποικίλους ιατρικούς και ερευνητικούς τομείς. Ο στόχος τους είναι η βελτιωμένη εξαγωγή αποτελεσμάτων, χαρακτηριζόμενη από υψηλή ακρίβεια και ποιότητα στα δεδομένα που παράγονται μέσα από το μεγάλο όγκο πληροφορίας που επεξεργάζονται.

Η μετα-ανάλυση είναι μια έγκυρη, αντικειμενική και επιστημονική μέθοδος ανάλυσης και συνδυασμού διαφορετικών αποτελεσμάτων από πλήθος μελετών. Συνήθως, προκειμένου να επιτευχθούν πιο αξιόπιστα αποτελέσματα, μια μετα-ανάλυση διεξάγεται κυρίως σε τυχαιοποιημένες μελέτες (RTC), οι οποίες όπως έχει αναφερθεί και σε προηγούμενη ενότητα, αποτελούν έναν τύπο επιστημονικού πειράματος με σκοπό τη μείωση των σφαλμάτων κατά τη δοκιμή της αποτελεσματικότητας νέων θεραπειών για μια νόσο, επίσης το αναφερόμενο είδος αποτελεί είδος μελέτης με υψηλό επίπεδο αποδεικτικών στοιχείων (εικόνα 2.3.).



Εικόνα 2.3. Το επίπεδο της ποιότητας των αποδεικτικών στοιχείων σύμφωνα με το είδος της μελέτη

Όταν υλοποιείται μια μετα-ανάλυση, εάν η ποιότητα των μελετών δεν αξιολογείται ορθά και η μεθοδολογία δεν εφαρμόζεται αυστηρά, τα δεδομένα που προκύπτουν μπορούν να είναι αποτέλεσμα μεροληψίας και να είναι λανθασμένα. Ωστόσο, όταν μια συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση εφαρμόζονται

σωστά, μπορούν να αποφέρουν εξίσου ισχυρά αποτελέσματα με εκείνα που επιτυγχάνονται χρησιμοποιώντας τυχαιοποιημένες μελέτες μεγάλης κλίμακας, οι οποίες είναι δύσκολο να εκτελεστούν ως ατομικές έρευνες. Η προσέγγιση της μετα-ανάλυσης είναι η παραγωγή ενός σταθμισμένου μέσου όρου για όλες τις συμπεριλαμβανόμενες μελέτες της συστηματικής ανασκόπησης και αποτελεί μέθοδο με σημαντικά πλεονεκτήματα τα οποία παρουσιάζονται παρακάτω [49]:

- Το αποτέλεσμα που προκύπτει μετά την εφαρμογή της μετα-ανάλυσης μπορεί να γενικευτεί σε έναν μεγαλύτερο πληθυσμό από τον μελετώμενο.
- Η ακρίβεια της τιμής του αποτελέσματος ενισχύεται από το πλήθος των δεδομένων που χρησιμοποιούνται, και κατά αυτόν τον τρόπο μπορεί να προσδιοριστεί πιο εύκολα το μέγεθος επίδρασης μεταξύ των μεταβλητών.
- Οι διαφοροποιήσεις στα αποτελέσματα μεταξύ των μελετών μπορούν να ποσοτικοποιηθούν και να ερμηνευτούν. Οι διαφοροποιήσεις πιθανόν να προκύπτουν από σφάλματα δειγμάτων ή σφάλματα διεξαγωγής της δοκιμασίας και πρωτοκόλλων.
- Ο έλεγχος μιας αρχικής υπόθεσης υλοποιείται με συνοπτικές εκτιμήσεις.
- Υπάρχει δυνατότητα διερεύνησης του σφάλματος δημοσίευσης (publication bias) που προκύπτει από μεροληψία στην επιλογή μελετών.

2.3.3. Βήματα διεξαγωγής της μετα-ανάλυσης

Στην παρούσα εργασία για την υλοποίηση της μετα-ανάλυσης χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο STATA. Αποτελεί ένα λογισμικό εργαλείο που επιτρέπει στο χρήστη την ανάλυση, τη διαχείριση και την οπτικοποίηση των δεδομένων σε γραφικές απεικονίσεις. Το σύνολο των δεδομένων αποτελείται από μια συλλογή πληροφοριών που ονομάζονται *μεταβλητές* και η κάθε μεταβλητή μπορεί να έχει πολλαπλές τιμές. Τα βήματα που ακολουθούνται στην διαδικασία της μετα-ανάλυσης παρουσιάζονται συνοπτικά στην εικόνα 2.4. [50].

Βήματα μετα-ανάλυσης:

1. Προσδιορισμός αναζήτησης μελετών
 2. Έλεγχος ετερογένειας μεταξύ μελετών (Cochran Q test)
 3. Προσδιορισμός μοντέλου επίδρασης (effect model)
 4. Αξιολόγηση ετερογένειας (subgroup analysis, sensitivity test, meta-regression)
 5. Έλεγχος για σφάλμα δημοσίευσης (publication bias)
 6. Παρουσίαση αποτελεσμάτων βάσει του διαγράμματος PRISMA
-

Εικόνα 2.4. Γενική μέθοδος υλοποίησης μετα-ανάλυσης σε συστηματικές ανασκοπήσεις

2.3.3.1. Προσδιορισμός αναζήτησης μελετών

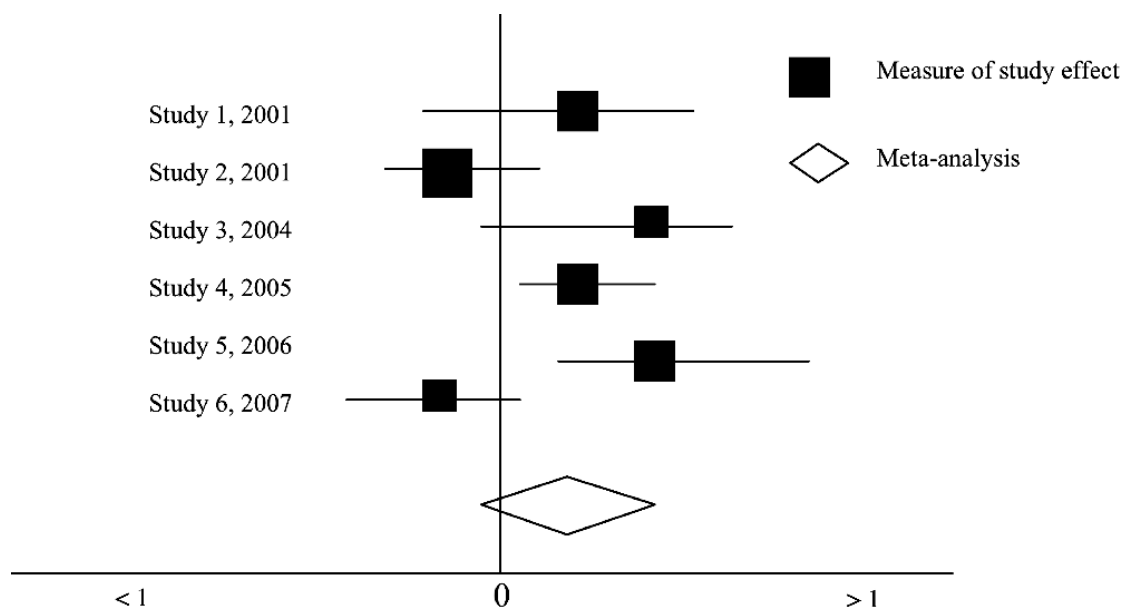
Ο προσδιορισμός της μεθόδου και των βάσεων δεδομένων αναζήτησης είναι σημαντικό βήμα, καθώς το αποτέλεσμα της μετα-ανάλυσης εξαρτάται από τις μελέτες που θα προκύψουν. Εφόσον έχει δημιουργηθεί το ερευνητικό ερώτημα όπως έχει αναλυθεί σε προηγούμενη ενότητα, η στρατηγική αναζήτησης πρέπει να είναι περιεκτική και να υπάρχουν περισσότερες από μία βάσεις δεδομένων αναζήτησης (PubMed, EMBASE κ.α.) στις οποίες θα τηρούνται τα πρωταρχικά κριτήρια επιλογής των ερευνητών.

2.3.3.2. Έλεγχος ετερογένειας μεταξύ μελετών

Ο όρος ετερογένεια στη μετα-ανάλυση αποτελεί το βαθμό ανομοιότητας στα μεμονωμένα αποτελέσματα των πρωτογενών μελετών, εκφράζει δηλαδή τη διακύμανση που προκύπτει από τις διαφορές μεταξύ των μελετών που συμμετέχουν. Οι διαφορές αφορούν τον πληθυσμό και τα βασικά χαρακτηριστικά του (ηλικία, φύλο), τις συνθήκες διεξαγωγής της δοκιμασίας ή και τον τρόπο διάγνωσης

της νόσου. Ο έλεγχος ετερογένειας εξετάζει τη μηδενική υπόθεση, η οποία υποστηρίζει την ομοιότητα των πρωτογενών μελετών, χωρίς διαφορές μεταξύ τους. Υπάρχουν τρεις τρόποι εξετάσεις της ετερογένειας με i) forest plot ή χρησιμοποιώντας τις στατικές συναρτήσεις ii) Cochran's Q και iii) I^2 [50].

❖ **Forest plot:** Είναι μια ουσιαστική μέθοδος για τη σύνοψη πληροφοριών από μεμονωμένες μελέτες, οπτικοποιεί το μέγεθος της ετερογένειας και το μέγεθος επίδρασης σε ένα κοινό γράφημα. Το forest plot αναπτύχθηκε για τη χρήση σε ιατρικές και διαγνωστικές έρευνες ως μέσο αναπαράστασης των αποτελεσμάτων της μετα-ανάλυσης και των τυχαιοποιημένων μελετών. Μια από τις ιδιότητες του forest plot είναι να απεικονίζει την ετερογένεια στα αποτελέσματα των μελετών μιας μετα-ανάλυσης. Οι μελέτες των οποίων τα αποτελέσματα αλληλεπικαλύπτονται στο γράφημα του forest plot παρουσιάζουν ομοιογένεια, ενώ όσα δεν αλληλεπικαλύπτονται αποτελούν την ετερογένεια των δεδομένων [51]. Η μορφή ενός forest plot παρουσιάζεται στην εικόνα 2.5.



Εικόνα 2.5. Forest plot σε μετα-ανάλυση 6 μελετών [52]

Στην αριστερή στήλη του γραφήματος παρατίθενται τα ονόματα των μελετών, συνήθως με χρονολογική σειρά από πάνω προς τα κάτω. Η δεξιά στήλη είναι μια γραφική παράσταση του μεγέθους επίδρασης του αποτελέσματος για καθεμία από τις αναφερόμενες μελέτες, συχνά αντιπροσωπεύεται από ένα σχήμα τετραγώνου. Το μέγεθος κάθε τετραγώνου είναι ανάλογο με το βάρος της μελέτης που αντιπροσωπεύει στη μετα-ανάλυση και η θέση του απεικονίζει το μέγεθος επίδρασής του. Όσο μεγαλύτερο είναι το τετράγωνο τόσο μεγαλύτερη είναι η επίδραση της συγκεκριμένης μελέτης στο τελικό αποτέλεσμα (μεγαλύτερο βάρος). Ο ρόμβος που βρίσκεται στο τέλος του γραφήματος αποτελεί το συγκεντρωτικό αποτέλεσμα όλων των μελετών της μετα-ανάλυσης και τα πλευρικά του σημεία υποδεικνύουν το διάστημα εμπιστοσύνης για την συγκεκριμένη εκτίμηση.

❖ **Cochran's Q:** Το πιο συνηθισμένο τεστ που χρησιμοποιείται είναι ο έλεγχος μέσω Cochran's Q και αναφέρεται σε μια στατιστική μέθοδο γνωστή ως Q σε μια κατανομή χ^2 . Συγκεκριμένα, η συνάρτηση Cochran's Q έχει την ιδιότητα να εξετάζει εάν υπάρχουν διαφορές μεταξύ των μελετών ή εάν απλά η μεταβλητότητα που εμφανίζεται οφείλεται στον παράγοντα της τύχης. Σε μία μετα-ανάλυση στην οποία περιέχονται k μελέτες, οι μεταβλητές της συνάρτησης Q είναι το μέγεθος επίδρασης των μελετών (effect size) και οι διακυμάνσεις (standard errors) αυτών. Για μια μελέτη i, το μέγεθος επίδρασης της είναι το x_i και η αντίστοιχη διακύμανσής της είναι το s_i , για ($i = 1, 2, \dots, k$). Το Q υπολογίζει την ετερογένεια του x_i συνοψίζοντας τη διακύμανσή τους γύρω από ένα σταθμισμένο μέσο όρο \bar{x}_w που αντιστοιχεί στο συνολικό μέγεθος επίδρασης από όλες τις συμπεριλαμβανόμενες μελέτες [53].

- Το Q test υπολογίζεται από τον παρακάτω τύπο:

$$Q = \sum_{i=1}^k W_i (x_i - \bar{x}_w)^2$$

Όπου: $\bar{x}_w = \frac{\sum_{i=1}^k w_i x_i}{\sum_{i=1}^k w_i}$ και $W_i = \frac{1}{s_i}$

Το Q τεστ κατέχει σπουδαίο ρόλο στην εκτίμηση της ετερογένειας των μεγεθών επίδρασης και είναι ο στατιστικός έλεγχος που χρησιμοποιείται πιο συχνά στις μετα-αναλύσεις. Ακολουθεί την τετραγωνική κατανομή χ^2 με k-1 βαθμούς ελευθερίας.

Ωστόσο, το Q τεστ μπορεί να είναι αναξιόπιστο όταν η μετα-ανάλυση περιλαμβάνει ένα μικρό αριθμό μελετών καθώς εμφανίζει μια ετερογένεια $p < 0.10$ (όχι 0.05), επομένως αντιστοιχεί σε μια χαμηλή στατιστική ισχύ και ευαισθησία.

❖ **I²:** Μια άλλη στατιστική μέθοδος που χρησιμοποιείται συχνά είναι η I², η μέθοδος αυτή ποσοτικοποιεί την επίδραση της ετερογένειας περιγράφοντας το ποσοστό της συνολικής διακύμανσης μεταξύ των μελετών που οφείλεται στην ετερογένεια και όχι στον παράγοντα της τύχης. Το κύριο πλεονέκτημα της μεθόδου I², είναι πως μπορεί να υπολογιστεί σε μετα-αναλύσεις διαφορετικών τύπων μελέτης και μετα-αναλύσεις ανεξαρτήτου μεγέθους [54].

- Το I² υπολογίζεται από τον παρακάτω τύπο:

$$I^2 = \left(\frac{Q - df}{Q} \right) \times 100$$

Όπου: Q είναι η ετερογένεια από το Cochran's Q test και df ο βαθμός ελευθερίας.

Οι αρνητικές τιμές του I² τίθενται ίσες με το μηδέν, έτσι ώστε το I² να βρίσκεται μεταξύ των τιμών 0% και 100%. Η τιμή 0% δηλώνει μη παρατηρούμενη ετερογένεια, και οι μεγαλύτερες τιμές δείχνουν αυξανόμενη ετερογένεια. Οι τιμές 25%, 50% και 75% θεωρούνται χαμηλές, μέτριες και υψηλές εκτιμήσεις ετερογένειας αντίστοιχα.

2.3.3.3. Προσδιορισμός μοντέλου επίδρασης (*effect model*)

Στη στατιστική ο όρος μέγεθος επίδρασης αποτελεί ένα ποσοτικό μέτρο μεγέθους του αντικειμένου που μελετάται. Συνήθως, αναφέρεται στην τιμή ενός δείγματος, στην τιμή κάποιας παραμέτρου ενός υποθετικού πληθυσμού ή στη σχέση ανάμεσα στην ανεξάρτητη και την εξαρτημένη μεταβλητή [55]. Μια μετα-ανάλυση έχει τη δυνατότητα να συνδυάζει τα μεγέθη επίδρασης όλων των συμπεριλαμβανομένων μελετών, σταθμίζοντας τα βάρη των δεδομένων ανάλογα με το πλήθος των πληροφοριών σε κάθε μελέτη. Το βάρος κάθε μελέτης μπορεί να προσδιοριστεί από το μέγεθος του δείγματος της μελέτης. Τα δύο στατιστικά μοντέλα που χρησιμοποιούνται σε μια μετα-ανάλυση είναι: το μοντέλο σταθερών επιδράσεων (*fixed effect models*) και το μοντέλο τυχαίων επιδράσεων (*random effect models*). Τα δύο αυτά μοντέλα διαφέρουν ως προς τον τρόπο ερμηνείας των αποτελεσμάτων

κάθε μελέτης και των αποκλίσεων που παρουσιάζουν κατά τη μετα-ανάλυση.

Σε ένα **μοντέλο σταθερών επιδράσεων**, η διακύμανση που προκύπτει ανάμεσα στα αποτελέσματα των πρωτογενών μελετών θεωρείται πως οφείλεται σε τυχαίο παράγοντα που επηρεάζεται από την τυχαία δειγματοληψία. Το συγκεκριμένο μοντέλο χρησιμοποιείται όταν οι μελέτες που συμπεριλαμβάνονται σε μια μετα-ανάλυση, θεωρούνται πως ακολουθούν όμοιο σχεδιασμό και όμοια μεθοδολογία δοκιμασίας, ή όταν η μεταβλητότητα που παρουσιάζεται στα αποτελέσματα είναι ελάχιστη και θεωρείται πως οφείλεται σε τυχαίο σφάλμα.

- Ο τύπος του μοντέλου σταθερών επιδράσεων δίνεται παρακάτω:

$$\hat{\theta} = \frac{\sum_{i=1}^k W_i T_i}{\sum_{i=1}^k W_i}$$

Όπου: $W_i = \frac{1}{s_i^2}$, T_i είναι το μέγεθος επίδρασης όλων μελετών (mean difference), s_i είναι η διακύμανση (standard error) και W_i το βάρος της κάθε μελέτης.

Αντιθέτως, σε ένα μοντέλο **τυχαίων επιδράσεων**, η διακύμανση που παρουσιάζουν τα αποτελέσματα των μελετών, θεωρείται πως οφείλεται σε πραγματικές τους διαφορές, από μελέτες που παρουσιάζουν ετερογένεια. Η μεταβλητότητα που παρατηρείται δεν οφείλεται σε κάποιο τυχαίο παράγοντα, ακόμα κι αν εφαρμοστεί το κριτήριο του τεστ ετερογένειας και δεν παρέχει σημαντικό αποτέλεσμα, οι πρωτογενείς μελέτες θεωρούνται διαφορετικές [50].

- Ο τύπος του μοντέλου τυχαίων επιδράσεων δίνεται παρακάτω:

$$\hat{\theta} = \frac{\sum_{i=1}^k W_{i(\tau)} T_i}{\sum_{i=1}^k W_{i(\tau)}}$$

Όπου: $W_i = \frac{1}{s_i^2 + \tau^2}$ και τ^2 είναι η μεταβλητότητα μεταξύ των μελετών

Η επιλογή του μοντέλου επίδρασης σε μια μετα-ανάλυση εξαρτάται από τον παράγοντα της ετερογένειας. Στην περίπτωση απουσίας της ετερογένειας (ετερογένεια $p \geq 0,10$), επιλέγεται ένα μοντέλο σταθερών επιδράσεων. Ωστόσο, όταν η τιμή Q από το τεστ ετερογένειας είναι σημαντική ($p < 0,10$), που δείχνει την ύπαρξη ετερογένειας στα αποτελέσματα των μελετών, θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί ένα μοντέλο τυχαίου αποτελέσματος για την υλοποίηση της μετα-ανάλυσης, το οποίο προσφέρει ευρύτερα διαστήματα εμπιστοσύνης (CIs). Όταν οι μελέτες παρουσιάζουν ομοιογένεια και τα δύο στατιστικά μοντέλα θεωρείται πως προσφέρουν παρόμοια αποτελέσματα [56].

2.3.3.4. Αξιολόγηση ετερογένειας

Σημαντικό βήμα στην υλοποίηση μιας μετα-ανάλυσης είναι η αξιολόγηση της ετερογένειας στα δεδομένα των πρωτογενών μελετών, καθώς μπορεί να οδηγήσει σε εσφαλμένα σύνολα πληροφοριών και μη έγκυρα πορίσματα. Υπάρχουν ποικίλοι τρόποι που χρησιμοποιούνται για τον συγκεκριμένο σκοπό και θα αναλυθούν παρακάτω.

❖ Ανάλυση υπο-ομάδας (subgroup analysis)

Η μέθοδος ανάλυσης της υπο-ομάδας αξιολογεί την ετερογένεια των μελετών σύμφωνα με το σχεδιασμό της κλινικής δοκιμασίας και τα χαρακτηριστικά του πληθυσμού που συμμετέχει σε αυτή. Τα στοιχεία που διαχωρίζονται και αναλύονται μπορεί να αφορούν την εθνικότητα του πληθυσμού, την ηλικία, το πλήθος τους, ή ακόμα και τις κλινικές συνθήκες διεξαγωγής της έρευνας. Σκοπός είναι ο υπολογισμός ενός συνολικού μεγέθους επίδρασης για κάθε κατηγορία στοιχείων και να αξιολογηθεί η πηγή από την οποία προέρχεται η ετερογένεια που εμφανίζεται μεταξύ τους.

❖ Ανάλυση ευαισθησίας (sensitivity testing)

Η ανάλυση της ευαισθησίας, είναι επίσης μια μέθοδος αξιολόγησης της ετερογένειας, η οποία αναλύει την επιρροή κάθε μελέτης ξεχωριστά στο συνολικό μέγεθος επίδρασης [50]. Η διαδικασία της συστηματικής ανασκόπησης, περιλαμβάνει μια σειρά αποφάσεων, εκ των οποίων κάποιες είναι αυθαίρετες (πχ επιλογή ηλικίας του πληθυσμού) και δεν βασίζονται σε σαφή και αιτιολογούμενα κριτήρια. Επομένως, είναι επιθυμητό να αποδειχθεί έγκυρα πως τα αποτελέσματα της μετα-

ανάλυσης δεν βασίζονται σε τέτοιου είδους αποφάσεις. Η ανάλυση ευαισθησίας, αποτελεί μια επανάληψη ανάλυσης των πρωτογενών μελετών, παραλείποντας από την ανάλυση μελέτες χαμηλής ποιότητας, με αντιφατικά και ασαφή αποτελέσματα συγκριτικά με τις υπόλοιπες. Οι αναλύσεις ευαισθησίας μερικές φορές συγχέονται με την ανάλυση υποομάδων. Αν και ορισμένες αναλύσεις ευαισθησίας περιλαμβάνουν τον περιορισμό της ανάλυσης σε ένα υποσύνολο μελετών, οι δύο μέθοδοι διαφέρουν με δύο τρόπους. Πρώτον, οι αναλύσεις ευαισθησίας δεν επιχειρούν να εκτιμήσουν την επίδραση μελετών που αφαιρέθηκαν στο συνολικό αποτέλεσμα, ενώ σε αναλύσεις υποομάδων, οι εκτιμήσεις παράγονται για κάθε υποομάδα. Δεύτερον, στις αναλύσεις ευαισθησίας, πραγματοποιούνται άτυπες συγκρίσεις μεταξύ διαφορετικών τρόπων εκτίμησης του ίδιου παράγοντα ενώ σε αναλύσεις υποομάδων, πραγματοποιούνται επίσημες στατιστικές συγκρίσεις μεταξύ των υποομάδων [57].

❖ **Ανάλυση μετα-παλινδρόμησης (meta-regression analysis)**

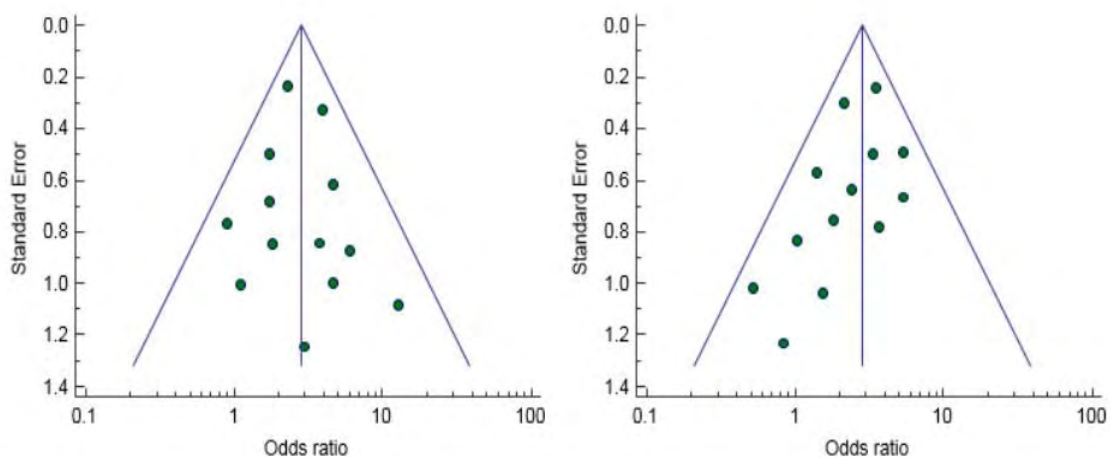
Η ανάλυση μετα-παλινδρόμησης είναι μια ακόμη μέθοδος ανάλυσης ετερογένειας, η οποία χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της επιρροής των ανεξάρτητων μεταβλητών (moderator variables) στο συλλογικό μέγεθος επίδρασης και αξιολογεί τυχόν σφάλματα. Γενικά, υπάρχουν 3 κατηγορίες παλινδρόμησης που χρησιμοποιούνται σε μετα-αναλύσεις: η απλή παλινδρόμηση (simple regression), η μετα-παλινδρόμηση σταθερών επιδράσεων (fixed effect meta-regression) και η μετα-παλινδρόμηση τυχαίων επιδράσεων (random effects meta-regression) [57].

2.3.3.5. Έλεγχος για σφάλμα δημοσίευσης (publication bias)

Συνήθως, οι μελέτες που παρουσιάζουν θετικά αποτελέσματα τείνουν να δημοσιεύονται πιο συχνά από τις μελέτες που τα αποτελέσματά τους δεν είναι τα επιθυμητά. Μια μετα-ανάλυση χρησιμοποιεί δημοσιευμένες μελέτες, γεγονός που αυξάνει τον κίνδυνο υπερεκτίμησης της επίδρασης και της ποιότητας των μελετών που επιλέγονται. Ο αναφερόμενος κίνδυνος, ονομάζεται σφάλμα δημοσίευσης (publication bias) και αποτελεί το πιο συχνό σφάλμα στις μετα-αναλύσεις. Οι πιο συνηθισμένοι λόγοι που ενισχύουν αυτό το φαινόμενο είναι πως πολλά επιστημονικά περιοδικά επιλέγουν μόνο τη δημοσίευση συγκεκριμένων άρθρων που περιέχουν στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα (γκρίζα βιβλιογραφία / grey literature) και οι ίδιοι οι ερευνητές διστάζουν να αποστείλουν τις μελέτες τους όταν

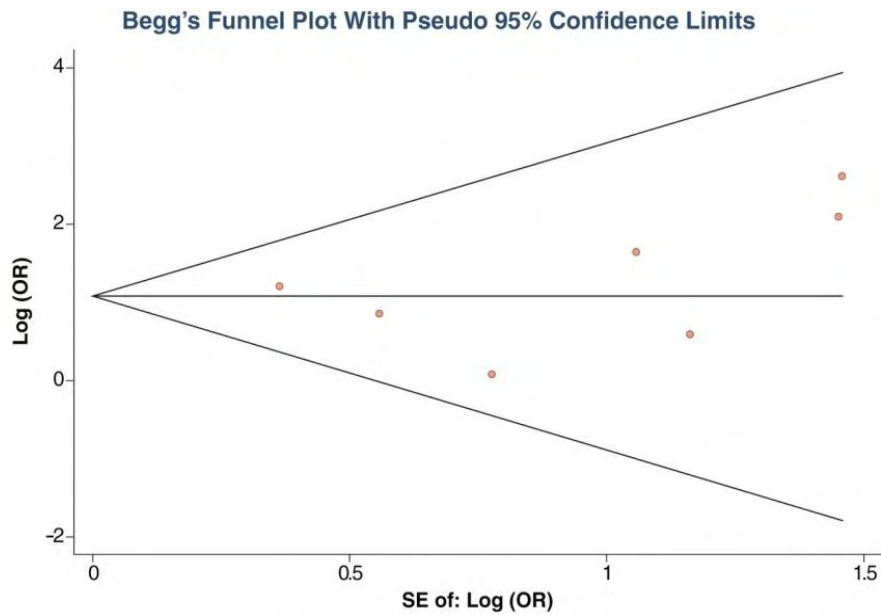
τα ευρήματά τους δεν είναι θετικά. Επίσης, ένας ακόμη λόγος ενίσχυσης του σφάλματος δημοσίευσης αποτελεί η γλώσσα δημοσίευσης των περισσότερων περιοδικών. Τα επιστημονικά περιοδικά εκδίδονται κυρίως στην αγγλική γλώσσα, με αποτέλεσμα μελέτες σε διαφορετική γλώσσα να δημοσιοποιούνται μόνο σε τοπικά περιοδικά χωρίς να έχουν πρόσβαση σε διεθνείς βάσεις δεδομένων για ευρύτερη χρήση από άλλους επιστήμονες.

Για τον έλεγχο ύπαρξης σφάλματος δημοσίευσης χρησιμοποιείται ένα γράφημα το οποίο ονομάζεται **funnel plot** [49]. Το funnel plot είναι ένα απλό διάγραμμα διασποράς και η μορφή του μοιάζει με χωνί. Η κάθε μελέτη παρουσιάζεται με τη μορφή τελείας. Ο κάθετος άξονας y , αντιπροσωπεύει το τυπικό σφάλμα (standard error) το οποίο αποτελεί το δείκτη μεταβλητότητας της αρχικής εκτίμησης. Ο οριζόντιος άξονας x , αντιπροσωπεύει την ακρίβεια εκτίμησης της μελέτης. Οι μελέτες με μεγαλύτερη επιρροή (μεγαλύτερο πληθυσμό συμμετοχής) βρίσκονται στην κορυφή του διαγράμματος, αντίστοιχα οι μελέτες με μικρότερη επιρροή βρίσκονται κοντά στη βάση του σχήματος, η εικόνα αυτή αντιπροσωπεύει την απουσία σφάλματος δημοσίευσης (εικόνα 2.6.). Παρατηρείται πως στην απουσία σφάλματος η εικόνα του διαγράμματος είναι συμμετρική, επομένως η ασυμμετρία υποδηλώνει την ύπαρξη σφάλματος δημοσίευσης σε μια μετα-ανάλυση [58].

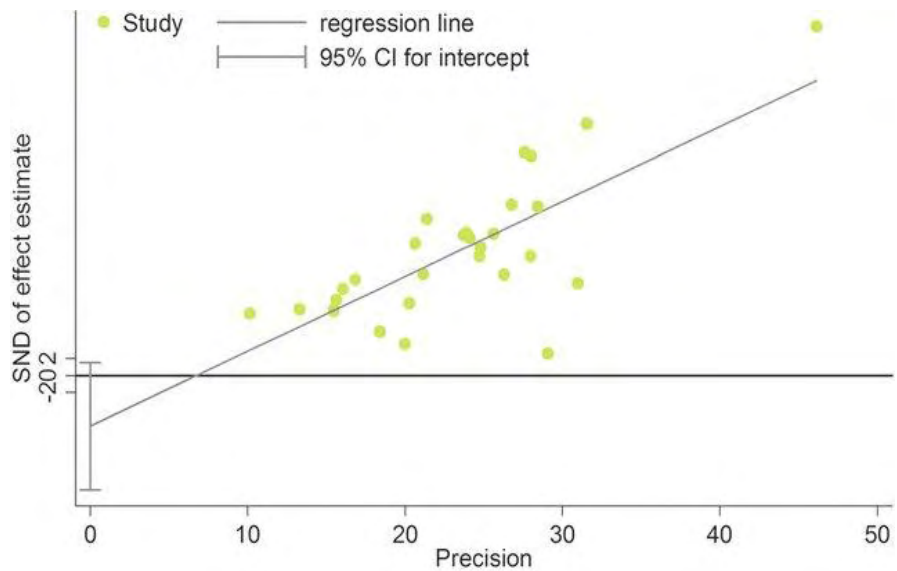


Εικόνα 2.6. Συμμετρικό (αριστερή εικόνα) και ασύμμετρο (δεξιά εικόνα) funnel plot [59]

Άλλες μέθοδοι που προτείνονται για αξιολόγηση, είναι η συσχέτιση κατάταξης του Begg και η μέθοδος του Egger (γραμμική παλινδρόμηση) και οι δύο βασίζονται στις έννοιες του τυπικού σφάλματος και του συνολικού μεγέθους του δείγματος [60].

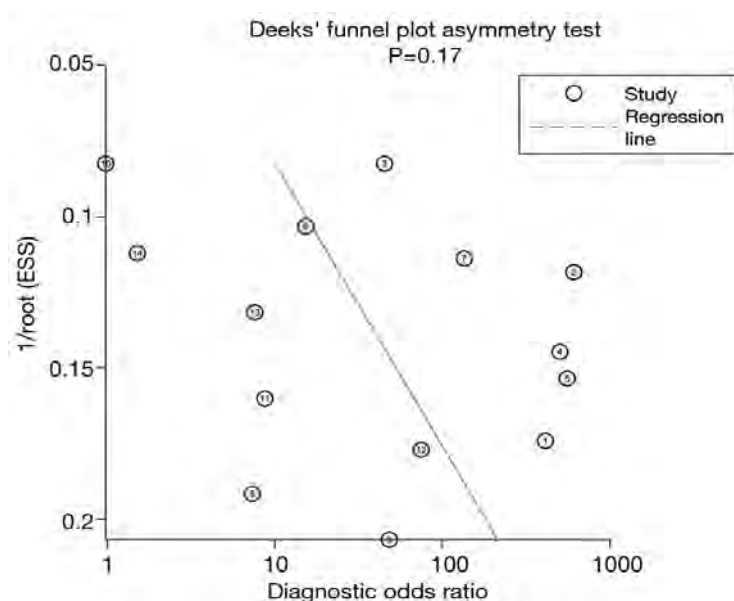


Εικόνα 2.7. Γράφημα του Begg για το σφάλμα δημοσίευσης [61]



Εικόνα 2.8. Γράφημα του Egger για το σφάλμα δημοσίευσης [61]

Παρόλα αυτά, σε περιπτώσεις που ο αριθμός των μελετών είναι μικρός η ερμηνεία του διαγράμματος των παραπάνω μεθόδων, είναι δύσκολη και πολλές φορές παραπλανητική. Μια μέθοδος που προτείνεται για υψηλότερη ακρίβεια αξιολόγησης της μεροληψίας στην επιλογή μελετών είναι η μέθοδος του Deeks. Το γράφημα που προκύπτει είναι αποτέλεσμα παλινδρόμησης του λόγου log odds (λογάριθμος πιθανότητας) έναντι του $1/\sqrt{ESS}$, όπου ESS είναι η μέγεθος επίδρασης του δείγματος (effective sample size) και είναι ίσο με $ESS = (4n_1n_2)/(n_1 + n_2)$.

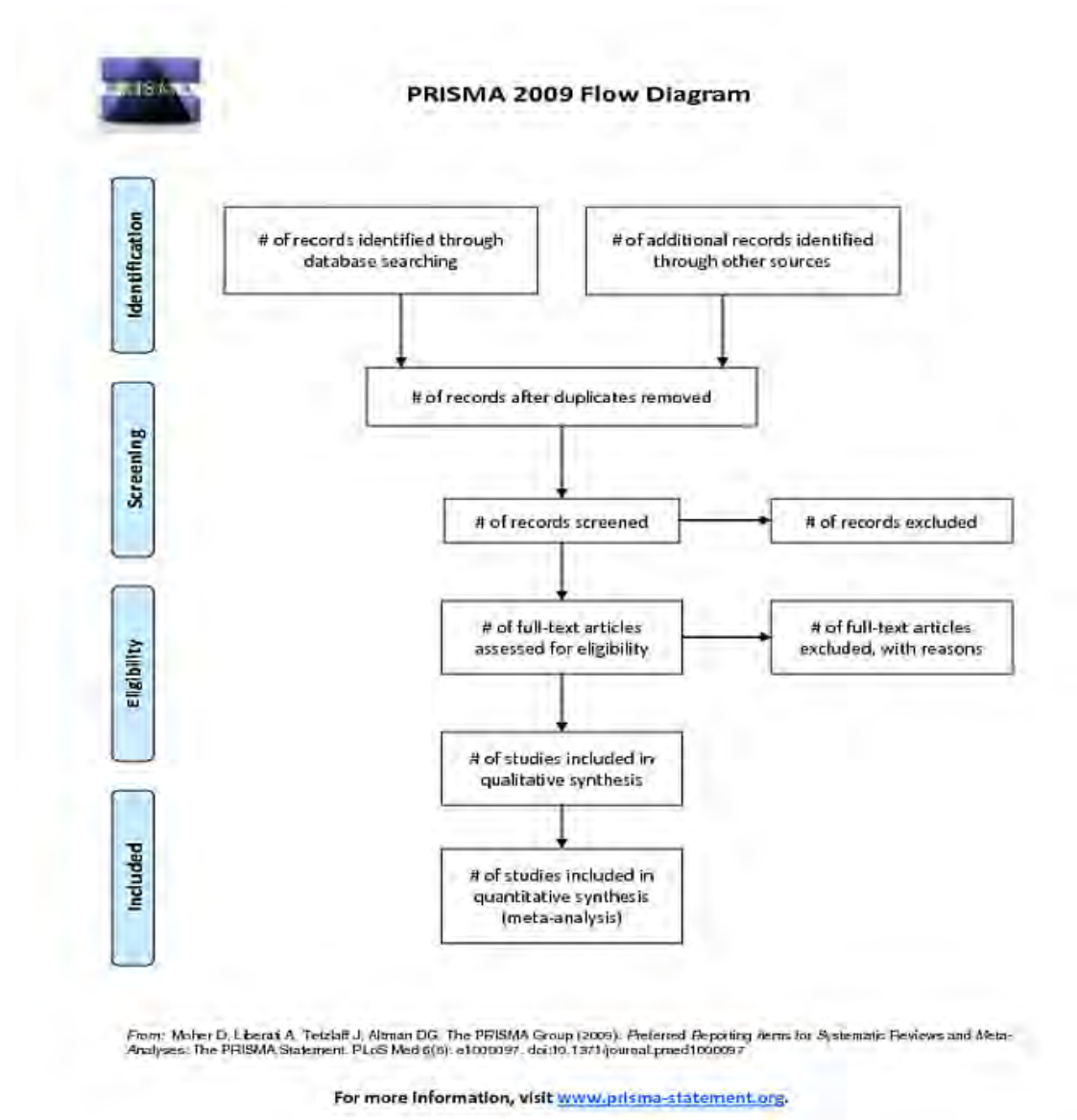


Εικόνα 2.9. Το γράφημα του Deek's με απουσία του σφάλματος δημοσίευσης [62]

Ο κάθετος άξονας εμφανίζει το αντίστροφο της τετραγωνικής ρίζας του πραγματικού μεγέθους δείγματος ($1 / \sqrt{ESS}$). Ο οριζόντιος άξονας εμφανίζει την αναλογία διαγνωστικών αποδόσεων (diagnostic odds ratio, DOR). Το p-value πρέπει να είναι μικρότερο του 0.10 ($p < 0.10$, κλίση ευθείας) για σημαντική ασυμμετρία το οποίο αντιπροσωπεύει την ύπαρξη σφάλματος δημοσίευσης. Στην εικόνα 2.9. το $p = 0.17$ που υποδεικνύει ένα συμμετρικό σχήμα και υποδηλώνει ότι απουσιάζει το σφάλμα δημοσίευσης [62].

2.3.3.6. Παρουσίαση αποτελεσμάτων βάσει του διαγράμματος PRISMA

Η παρουσίαση των αποτελεσμάτων της βιβλιογραφικής ανασκόπησης γίνεται με το διάγραμμα PRISMA (flow diagram) όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα 2.10.



Εικόνα 2.10. PRISMA – Flow Diagram [63]

Το PRISMA (Preferred Reporting Item for Systematic Reviews and Meta-analyses), αποτελεί ένα σύνολο τεκμηριωμένων στοιχείων όπου παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προκύπτουν από τη διαδικασία της συστηματικής ανασκόπησης. Η δομή του PRISMA εξυπηρετεί τους συγγραφείς/ερευνητές στη διασφάλιση της

πλήρης αναφοράς των αποτελεσμάτων σε μια συστηματικής ανασκόπησης και μετα-ανάλυση που διεκπεραιώνουν. Το σύνολο από το οποίο αποτελείται το PRISMA checklist, περιέχει μια λίστα με 27 στοιχεία που σχετίζονται με το περιεχόμενο, τον τίτλο, την περίληψη, τις κλινικές μεθόδους και τα αποτελέσματα για εξασφάλιση της πλήρους καθοδήγησης. Η λίστα ελέγχου, είναι επιθυμητό να χρησιμοποιείται από τους ερευνητές για τη βελτίωση της ποιότητας αναφοράς, παρέχοντας διαφάνεια στη διαδικασία επιλογής μελετών σε μια συστηματική ανασκόπηση.

2.3.4. Η εφαρμογή της μετα-ανάλυσης σε μελέτες διαγνωστικής ακρίβειας

Οι τεχνικές της μετα-ανάλυσης διαφέρουν ανάλογα με το είδος και το σκοπό της κάθε έρευνας που εκτελείται. Η μετα-ανάλυση σε μελέτες διαγνωστικής ακρίβειας, απαιτεί πολυπλοκότερη στατιστική ανάλυση και έχουν προταθεί ποικίλες μέθοδοι προσέγγισης. Το παλαιότερο μοντέλο ανάλυσης προτάθηκε το 1993 από τους Moses, Shapiro, Littenberg και εφαρμόζεται σε γραμμικά μοντέλα σταθερού φαινομένου συγκεντρώνοντας τα μεγέθη ευαισθησίας (Se) και ειδικότητας (Sp) μιας διαγνωστικής δοκιμασίας από διάφορες επιλεγμένες μελέτες. Σε παραδοσιακά μοντέλα μετα-ανάλυσης παράγεται ένα συγκεντρωτικό αποτέλεσμα από τη συλλογή ενός στοιχείου. Παρόλα αυτά, υπάρχουν μετα-αναλύσεις που έχουν παραπάνω από ένα συγκεντρωτικό αποτέλεσμα και αποτελούν τα πολυμεταβλητά μοντέλα μετα-ανάλυσης.

Ένα από αυτά τα μοντέλα είναι το διμεταβλητό μοντέλο τυχαίων επιδράσεων το οποίο αξιολογεί την ακρίβεια μιας διαγνωστικής δοκιμασίας στην περίπτωση συνδυασμού των αποτελεσμάτων. Η μέθοδος προσέγγισης περιλαμβάνει την εκτίμηση των τιμών του λογάριθμου της πιθανότητας της ευαισθησίας (logit-Se) και της ειδικότητας (logit-Sp). Έστω ότι οι μελέτες $i = 1$ έως n συμμετέχουν σε μια συστηματική ανασκόπηση και ότι είναι διαθέσιμα δύο σημεία ενδιαφέροντος ($j = 1$ ή 2) από κάθε μελέτη. Κάθε μελέτη παρέχει συνοπτικά μεγέθη Y_{ij} και σχετικά τυπικά σφάλματα, s_{ij} , για κάθε τελικό σημείο. Η ευαισθησία logit Y_{i1} είναι και η ειδικότητα logit είναι Y_{i2} και αντιπροσωπεύουν την πιθανότητα των αληθώς θετικών αποτελεσμάτων (TPR) και την πιθανότητα των ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων (FPR) αντίστοιχα. Οι τύποι που ισχύουν για τον υπολογισμό τους είναι οι παρακάτω [64]:

- Η διακύμανση μεταξύ των μελετών:

$$\mathbf{S} = \mathbf{var} \begin{pmatrix} Y_{I1} \\ Y_{I2} \end{pmatrix}$$

Όπου: $Y_{I1} = \mathit{logit}(TPR_i) = \log \frac{TP_i}{FN_i}$,

$$Y_{I2} = \mathit{logit}(FPR_i) = \log \frac{FP_i}{TN_i}$$

και $s_{I1}^2 = 1/TP_i + 1/FN_i$, $s_{I2}^2 = 1/FP_i + 1/TN_i$

Τα αποτελέσματα των πρωτογενών μελετών με διαφορετικά διαγνωστικά όρια (thresholds) προτείνεται να συνοψίζονται με μια καμπύλη SROC και είναι επιθυμητή η αποφυγή της χρήσης των μεγεθών ευαισθησίας και ειδικότητας καθώς διαφέρουν ανάλογα με τη διακύμανση του κατωφλιού. Η γραφική προσέγγιση εξυπηρετεί την ευκολότερη ερμηνεία του κατωφλιού και η αναπαράσταση του ζεύγους Se-Sp στην καμπύλη ενισχύει την παρατήρηση της ετερογένειας των μελετών καθώς και τη σχέση μεταξύ τους. Η μέθοδος Moses – Littenberg αποτελεί μια απλή μέθοδο που χρησιμοποιείται συχνά για την παραγωγή της SROC σε μετα-αναλύσεις διαγνωστικών δοκιμασιών [65]. Αποτελεί μοντέλο σταθερών επιδράσεων και αντιπροσωπεύει τον έλεγχο της απόδοσης μιας διαγνωστικής δοκιμασίας. Η SROC είναι μια γραμμική παλινδρόμηση η οποία χρησιμοποιεί μετασχηματισμούς σε κλίμακα των logit της ευαισθησίας (Se) και της 1 – ειδικότητα (1 – Sp) κάθε μελέτης. Το παραπάνω ζεύγος χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό της συνδιασποράς μεταξύ των μελετών D και του S μια ποσότητα που σχετίζεται με την συνολική αναλογία των θετικών ευρημάτων. Οι τύποι για τον υπολογισμό τους αναφέρονται παρακάτω [66] :

- $$D = \mathit{logit}(TPR) - \mathit{logit}(FPR) = \ln \left(\frac{TPR}{1-TPR} \right) - \ln \left(\frac{FPR}{1-FPR} \right)$$

με άλλη μορφή: $D = \mathit{logit}(Se) - \mathit{logit}(1 - Sp)$

- $$S = \mathit{logit}(TPR) + \mathit{logit}(FPR) = \ln \left(\frac{TPR}{1-TPR} \right) + \ln \left(\frac{FPR}{1-FPR} \right)$$

με άλλη μορφή: $S = \mathit{logit}(Se) + \mathit{logit}(1 - Sp)$

Παρατηρείται πως η μεταβλητή S αυξάνεται αναλογικά με την αύξηση του συνολικού ποσοστού θετικών δοκιμών και μπορεί να θεωρηθεί κατώφλι της δοκιμής (threshold).

Σε πολλές μελέτες ως δεδομένο δίνεται η AUC που αντιπροσωπεύει την περιοχή κάτω από την καμπύλη ROC, με διάστημα εμπιστοσύνης 95%. Για τον υπολογισμό της αναλογίας των διαγνωστικών πιθανοτήτων (DOR) και του τυπικού σφάλματος ($SE(DOR)$) χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω τύποι [67] [68]:

- $$AUC = \frac{DOR}{(DOR - 1)^2} [(DOR + 1) - \ln(DOR)]$$

- $$SE(\hat{AUC}) = \frac{1}{(DOR - 1)^2} [DOR + 1) \ln(DOR) - 2(DOR - 1)] SE(\hat{DOR})$$

Για τον υπολογισμό των στατιστικών ταξινόμησης και του πίνακα 2x2, ο οποίος παρουσιάζει τη σχέση των αποτελεσμάτων της διαγνωστικής δοκιμασίας και την παρουσία ή μη της νόσου ενδιαφέροντος, χρησιμοποιείται ο μέσος όρος (μ) και η τυπική απόκλιση (σ) θεωρώντας ότι ακολουθούν κανονική κατανομή. Για τα δεδομένα των ασθενών και του υγιή πληθυσμού ισχύουν $\mu = 0$ και $\sigma = 1$. Ο τύπος της τυχαίας μεταβλητής δίνεται παρακάτω:

- $$Z = \frac{X - \mu}{\sigma}$$

Όπου: μ η μέση τιμή, σ η τυπική απόκλιση της μεταβλητής X .

Η τυχαία μεταβλητή Z ακολουθεί κανονική κατανομή και αποτελεί την τυποποιημένη μορφή που μπορεί να λάβουν οι διάφορες τιμές της μεταβλητής X .

Για τον υπολογισμό της απόδοσης του διαγνωστικού τεστ, χρησιμοποιούνται οι τιμές των εκτιμητών TP, FP, FN, TN για κατά αυτό τον τρόπο εκτιμάται η πιθανότητα μιας τεκμηριωμένης απόφασης. Η μέθοδος που χρησιμοποιείται είναι του Youden (Youden index). Ο δείκτης προτάθηκε από τον W.J. Youden το 1950 και η τιμή του κυμαίνεται από 0 έως 1. Ο δείκτης έχει μηδενική τιμή όταν ένα διαγνωστικό

τεστ δίνει το ίδιο ποσοστό θετικών αποτελεσμάτων για τον πληθυσμό των ασθενών και των υγιών. Η τιμή 1 υποδεικνύει ότι δεν υπάρχουν ψευδώς θετικά ή ψευδώς αρνητικά, δηλαδή η απόδοση της δοκιμής είναι άρτια. Ο τύπος του Youden index δίνεται παρακάτω [69]:

■

$$Y = \text{Specificity} + \text{Specificity} - 1$$

Ο δείκτης ορίζεται για όλα τα σημεία μιας καμπύλης ROC και η μέγιστη τιμή του μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως κριτήριο για την επιλογή του βέλτιστου σημείου αποκοπής (cutoff).

Οι παραπάνω μέθοδοι χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία για την αξιολόγηση της διαγνωστικής ακρίβειας του βιοδείκτη NAG της νόσου της διαβητικής νεφροπάθειας. Κάθε βήμα από τις μεθόδους που υλοποιήθηκαν θα παρουσιαστεί αναλυτικά στην επόμενη ενότητα των αποτελεσμάτων της συστηματικής ανασκόπησης και μετα-ανάλυσης.

2.3.5. Μελέτες με συνεχή δεδομένα – Μετασχηματισμοί δημοσιευμένων δεδομένα

Οι μελέτες που συμπεριλαμβάνονται σε μια συστηματική ανασκόπηση περιέχουν δεδομένα τα οποία, ορισμένες φορές χρήζουν επεξεργασίας για την κατάλληλη εφαρμογή τους στους υπολογισμούς της μετα-ανάλυσης. Η επεξεργασία των δεδομένων σε όσες μελέτες κρίθηκε απαραίτητο και οι μετασχηματισμοί που χρησιμοποιήθηκαν παρουσιάζονται παρακάτω:

Η τυπική απόκλιση (SD) αποτελεί μέτρο μεταβλητότητας ενός συνόλου δεδομένων. Εκφράζει τη διασπορά των τιμών του συνόλου δεδομένων [70]: Ο τύπος του είναι:

■

$$SD = \sqrt{\frac{(s_1 - \mu)^2 + (s_2 - \mu)^2 + \dots + (s_n - \mu)^2}{n - 1}}$$

Όπου: $\mu = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n S_i$ είναι η μέση τιμή και $n =$ πλήθος των δειγμάτων

Η μέση τιμή και η τυπική απόκλιση όταν δε δίνονται ως δεδομένα στις μελέτες και δίνονται η τιμή του τυπικού σφάλματος SE, χρησιμοποιήθηκε ο παρακάτω τύπος για τον υπολογισμό τους:

- $$SD = SE \times \sqrt{n}$$

Ο υπολογισμός του τυπικού σφάλματος SE πραγματοποιήθηκε από το 95% διάστημα εμπιστοσύνης σύμφωνα με το εγχειρίδιο του Cochrane όπως φαίνεται παρακάτω [70]:

- $$SE = (\text{upperlimit} - \text{lowerlimit})/3.92$$

Υπήρχαν μελέτες στις οποίες τα αποτελέσματα περιλάμβαναν την τιμή της διαμέσου (M) και του ενδοτεταρτημορίου (IQR), επομένως η μέση τιμή και η τυπική απόκλιση, υπολογίστηκαν σύμφωνα με το εγχειρίδιο του Cochrane [70]:

- $$SD = \frac{IQR}{1.35}$$

Η διάμεσος χρησιμοποιήθηκε ως μέση τιμή.

Στις μελέτες των οποίων τα αποτελέσματα περιλάμβαναν τις τιμές της διαμέσου (M) και του εύρους, η μέση τιμή και η τυπική απόκλιση υπολογίστηκαν σύμφωνα με τις τεχνικές που αναφέρονται στην μελέτη των Hozo et al [71]:

- $$\bar{x} = \frac{\text{min} + 2M + \text{max}}{4}$$

- $$SD^2 = \frac{1}{12} \left(\frac{(\text{min} + 2M + \text{max})^2}{4} - (\text{max} - \text{min})^2 \right)$$

Όπου: *min*, *max* είναι το μέγιστο και το ελάχιστο όριο του εύρους (range) .

Ο παρακάτω πίνακας περιλαμβάνει συγκεντρωτικά όλους τους μετασχηματισμούς που αναφέρθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν στη παρούσα μελέτη πίνακας 2.1:

ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΜΕΛΕΤΩΝ	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ (μ)	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ (SD)
Μέση τιμή και τυπικό σφάλμα	$\mu = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n s_i$	$SD = SE \times \sqrt{n}$
Διάμεσος (M) και ενδοτεταρτημόριο (IQR)	διάμεσος = μέση τιμή	$SD = \frac{IQR}{1.35}$
Διάμεσος (M) και εύρος (range)	$\bar{x} = \frac{min + 2M + max}{4}$	$SD^2 = \frac{1}{12} \left(\frac{(min + 2M + max)^2}{4} (max - min)^2 \right)$

Πίνακας 2.1. Πίνακας μετασχηματισμών δημοσιευμένων δεδομένων

Κεφάλαιο 3: Αποτελέσματα

3.1. Προσδιορισμός ερευνητικού ερωτήματος – αξιολόγηση και καταγραφή δεδομένων

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε η μεθοδολογία της συστηματικής ανασκόπησης και μετα-ανάλυσης, ακολουθώντας πιστά τα βήματα που επεξηγήθηκαν στο κεφάλαιο 2. Αρχικά δημιουργήθηκε το ερευνητικό ερώτημα, αντλώντας κάθε πιθανή ονομασία και λέξεις κλειδιά των εννοιών που περιείχε (ονομασίες του ενζύμου NAG και της νόσου) για τη συμπερίληψη περισσότερων μελετών. Διεξήχθη μια συστηματική ηλεκτρονική έρευνα στη βάση δεδομένων PubMed έως τον Σεπτέμβριο του 2019 χρησιμοποιώντας το παρακάτω ερευνητικό ερώτημα: (*"URINARY BIOMARKER" OR "N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE" OR "GLcNAc" OR "N-ACETYLGLUCOSAMINE" OR "URINARY NAG" OR "SERUM NAG" OR "URINARY LYSOSOMAL ENZYME"*) AND (*"DIABETES" OR "DIABETIC NEPHROPATHY" OR "DIABETIC KIDNEY DISEASE"*). Οι μελέτες που προέκυψαν από την αναζήτηση κρίθηκαν αυστηρά με προκαθορισμένα κριτήρια επιλογής και απόρριψης που αφορούσαν την καταλληλότητάς τους για το σκοπό της παρούσας εργασίας.

Από τις επιλεγμένες μελέτες συγκεντρώθηκαν ορισμένα δεδομένα, χρήσιμα για τη διαδικασία της μετα-ανάλυσης αλλά και για την ολοκληρωμένη εικόνα κάθε μελέτης που συμμετέχει στην παρουσίαση των τελικών αποτελεσμάτων. Τα δεδομένα που εξήχθησαν από κάθε μελέτη αφορούσαν τα παρακάτω:

- ονοματεπώνυμο του πρώτου συγγραφέα
- έτος δημοσίευσης του άρθρου
- χώρα μελέτης
- ηλικία και φύλο των συμμετεχόντων πληθυσμών (ασθενείς, υγιείς)
- τύπος σακχαρώδη διαβήτη (τύπος 1, τύπος 2)
- εκτιμώμενος δείκτης σπειραματικής διήθησης, eGFR
- γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη (HbA1c)
- συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση (SBP/DBP)
- λόγος αλβουμίνης ούρων προς κρεατινίνη (UACR)

- μεθοδολογία ανίχνευσης του NAG των ούρων και του ορού/πλάσματος
- τιμές του NAG (uNAG) ούρων και ορού/πλάσματος (sNAG)

Οι επιλεγμένες μελέτες περιλάμβαναν μετρήσεις για την NAG είτε σε δείγμα ούρων είτε σε δείγμα ορού/πλάσματος, σε υγιή και ασθενή πληθυσμό με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και τύπου 2. Η ηλικία του πληθυσμού ήταν ένας περιοριστικός παράγοντας καθώς επιλέχθηκαν μελέτες μόνο με ενήλικο πληθυσμό. Οι μετρήσεις που εξήχθησαν ήταν η μέση τιμή και η τυπική απόκλιση, όπου κρίθηκε απαραίτητο εφαρμόστηκαν οι μετασχηματισμοί που αναφέρθηκαν στο προηγούμενο κεφάλαιο, ανάλογα με τα διαθέσιμα δεδομένα της κάθε μελέτης. Η μέση τιμή και η τυπική απόκλιση για την NAG σε υγιείς (controls) και ασθενείς και το συνολικό πλήθος (ασθενείς, controls) χρησιμοποιήθηκαν για την εύρεση της βέλτιστης τιμής κατωφλιού (cut-off). Από τα αποτελέσματα που προέκυψαν επιλέχθηκε το cut-off με τον υψηλότερο δείκτη Youden και εξήχθησαν οι αντίστοιχες τιμές των αληθώς θετικών (TP), των ψευδώς θετικών (FP), των αληθώς αρνητικών (TN) και των ψευδώς αρνητικών (FN) της κάθε μελέτης, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν στη συνέχεια στη μετα-ανάλυση.

Βασικό κριτήριο επιλογής της κάθε μελέτης αποτέλεσε ο προσδιορισμός του βαθμού της διαβητικής νεφροπάθειας (ΔΝ), ο αποδεκτός τρόπος υπολογισμού ήταν ο λόγος λευκοματίνης/κρεατινίνης ουρίας (UACR). Σύμφωνα με την παραπάνω μέτρηση, οι μελέτες περιλάμβαναν 3 κατηγορίες ασθενών: πρώτη ομάδα αποτελούν οι ασθενείς με **νορμολευκωματουρία** (UACR < 30mg/g), δεύτερη ομάδα αποτελούν οι ασθενείς με **μικρολευκωματουρία** (UACR 30-300 mg/g) και τρίτη ομάδα αποτελούν οι ασθενείς με **μακρολευκωματουρία** (UACR > 300mg/g). Στη μετα-ανάλυση συμμετείχαν μόνο μελέτες οι οποίες ακολουθούσαν την παραπάνω κατηγοριοποίηση. Η δοκιμασία κάθε μελέτης περιλάμβανε την λήψη τυχαίου πρωινού δείγματος ούρων ή δείγματος ούρων 24ωρών (24h).

Η μετα-ανάλυση και στατιστική εκτίμηση των αποτελεσμάτων των μελετών πραγματοποιήθηκε με συγκρίσεις μεταξύ ομάδων των ασθενών και των υγιών, οι οποίοι χρησιμοποιούνται ως controls, σύγκριση με τη φυσιολογική κλινική εικόνα. Ειδικότερα, οι ομάδες σύγκρισης ήταν οι παρακάτω:

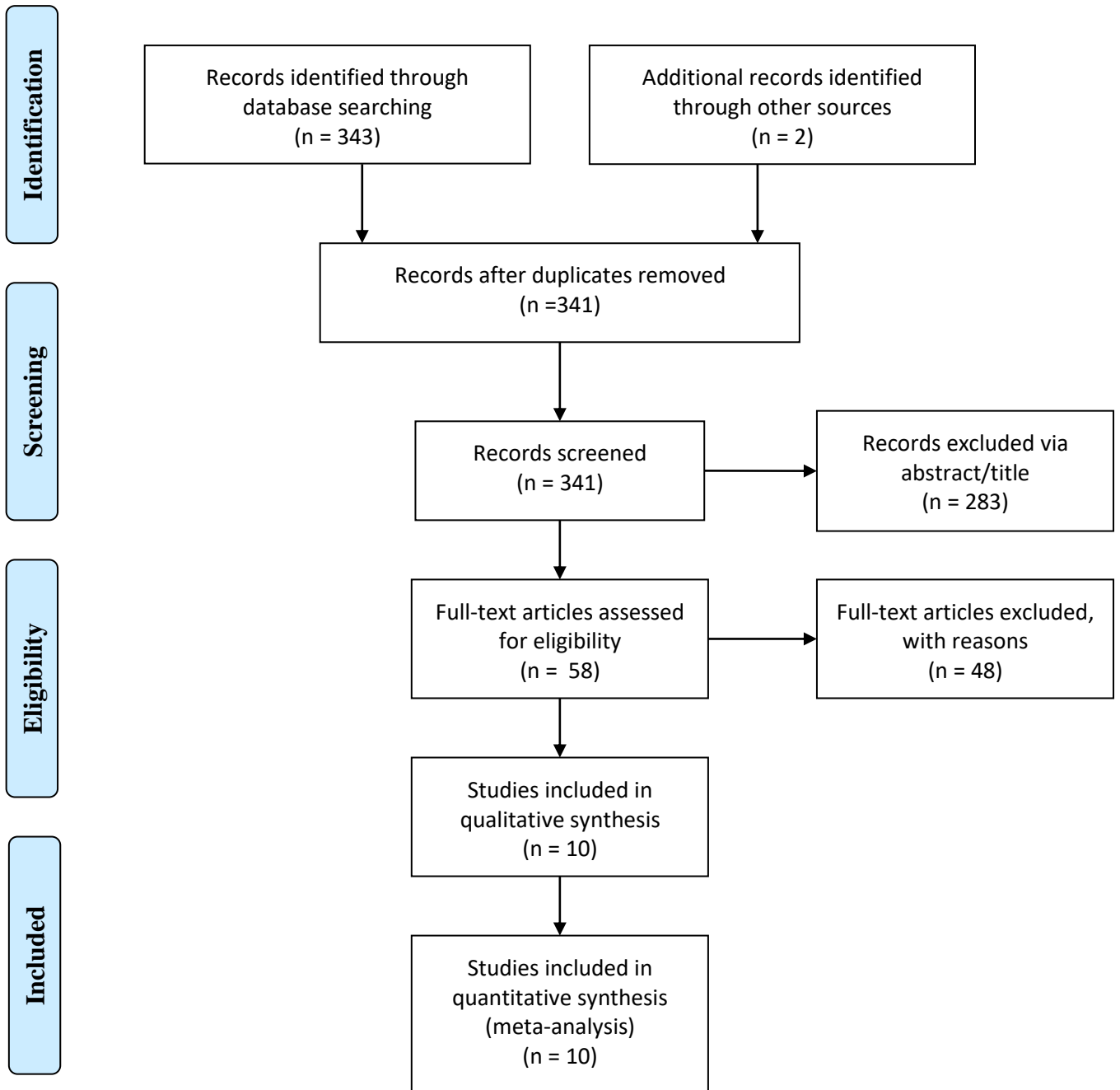
- controls έναντι των ασθενών με νορμολευκωματουρία
- ασθενείς με νορμολευκωματουρία έναντι ασθενών με μικρολευκωματουρία
- ασθενείς με νορμο-μικρολευκωματουρία έναντι controls

Για τη σύγκριση του υγιή πληθυσμού με τους ασθενείς με νορμο-μικρολευκωματουρία και του υπολογισμού της μέσης τιμής και της τυπικής απόκλισης του uNAG και uNAG/Cr χρειάστηκε η εκτίμηση του σταθμισμένου μέσου όρου και η τιμή της συγκεντρωτικής τυπικής απόκλισης. Η μεθοδολογία που εφαρμόστηκε στη μετα-ανάλυση αποτελείται από τα βήματα που επεξηγήθηκαν στο κεφάλαιο 2.

Από την ηλεκτρονική αναζήτηση στη βάση δεδομένων PubMed βασισμένη στο παραπάνω ερευνητικό ερώτημα, προέκυψαν 343 μελέτες συνολικά. Οι μελέτες αυτές κρίθηκαν από την περίληψη και τον τίτλο του άρθρου με αποτέλεσμα να απορριφθούν 283 μελέτες. Η πρόσβαση στο πλήρες κείμενο κάθε άρθρου πραγματοποιήθηκε σε 58 συνολικά μελέτες από τις οποίες με βάση τα προκαθορισμένα κριτήρια αξιολόγησης απορρίφθηκαν 12 μελέτες που δεν συμπεριλάμβαναν την κατηγοριοποίηση του βαθμού εξέλιξης της ΔΝ και 36 μελέτες οι οποίες απορρίφθηκαν λόγω έλλειψης συγκεκριμένων μετρήσεων της NAG και αναφοράς στη πρότυπη μέθοδο (gold standard) προσδιορισμού της νόσου του σακχαρώδη διαβήτη. Εν τέλει, οι μελέτες που συμπεριλήφθηκαν στη μετα-ανάλυση ήταν 10 αποτελούμενες από 1506 ασθενείς και 442 υγιείς συνολικά, τα παραπάνω βήματα παρουσιάζονται στην εικόνα 3.1. Τα χαρακτηριστικά που εξήχθησαν από κάθε μελέτη απεικονίζονται στον πίνακα 3.1.



PRISMA 2009 Flow Diagram



Εικόνα 3.1. Διάγραμμα Ροής

ΥΓΙΕΙΣ / CONTROLS					ΑΣΘΕΝΕΙΣ / PATIENTS									Τύπος NAG / NAG Type	Μέθοδος προσδιορισμού NAG / Determination Method of NAG	Δεδομένα / Data
Όνομα πρώτου συγγραφέα, χρονολογία / Author name, date	Χώρα / Country	Αριθμός συμμετεχόντων / number of participants (n)	Φύλο / Sex (% male)	Ηλικία / Age (mean)	Normoalbuminuria			Microalbuminuria			Macroalbuminuria					
					Αριθμός συμμετεχόντων / number of participants (n)	Φύλο / Sex (% male)	Ηλικία / Age (mean)	Αριθμός συμμετεχόντων / number of participants (n)	Φύλο / Sex (% male)	Ηλικία / Age (mean)	Αριθμός συμμετεχόντων / number of participants (n)	Φύλο / Sex (% male)	Ηλικία / Age (mean)			
Anane H.A. , 2016	GHANA	65	44.6	51.2	39	-		26	-	-	-	-	-	uNAG	Spectrophotometric	Mean, SD
Anane H.A. , 2016	GHANA	65	44.6	54	39	-		26	-	-	-	-	-	NAG/Cr	Spectrophotometric	Mean, SD
A. M. Karakani, 2007	IRAN	25	60	55.2	24	62.5	58.2	8	62.5	53.1	-	-	-	NAG/Cr	Immunoturbidimetry	Mean, SD
Salema M. A. K., 2002	EGYPT	40	40	15.1	48	-	14.6	11	-	16.8	-	-	-	NAG/Cr	Colorimetric analysis	Mean, SD
Piwowar A. , 2006	POLAND	42	28.5	56	14	-		89	-	-	27	-	-	NAG/Cr	Spectrophotometric	Median, IQR
Ambade V. 2003	INDIA	48		45.6	94	-		102	-	-	-	-	-	NAG/Cr	ELISA	Mean, SD
Assal H. S. 2013	EGYPT	20	60	51	20	50	51.3	25	44	52.9	25	48	51.7	uNAG	Spectrophotometric	Median, IQR
Zurawska P.E. 2014	POLAND	32	37.5	61.9	29	38	63.4	32	34.3	63.4	29	34.5	62.4	uNAG	ELISA	Mean, SD

Όνομα πρώτου συγγραφέα, χρονολογία / Author name, date	Χώρα / Country	ΥΓΙΕΙΣ / CONTROLS			ΑΣΘΕΝΕΙΣ / PATIENTS									Μέθοδος προσδιορισμού NAG / Determination Method of NAG	Δεδομένα / Data	
		Αριθμός συμμετεχόντων / number of participants (n)	Φύλο / Sex (% male)	Ηλικία / Age (mean)	Normoalbuminuria	Αριθμός συμμετεχόντων / number of participants (n)	Φύλο / Sex (% male)	Ηλικία / Age (mean)	Microalbuminuria	Αριθμός συμμετεχόντων / number of participants (n)	Φύλο / Sex (% male)	Ηλικία / Age (mean)	Macroalbuminuria			Αριθμός συμμετεχόντων / number of participants (n)
Vishal S. 2011	USA	38	50	43	363	44	39	296	61	41	-	-	-	uNAG	Spectrophotometric	Mean, SD
Gehan S. 2015	EGYPT	10	60	47.3	10	80	51.36	20	50	48.6	20	40	52.8	uNAG	ELISA	Mean, SD
Shimojo N. 1987	JAPAN	57	59.6	44.5	90	-	47.5	-	-	-	-	-	-	NAG/Cr	RIA	Mean, SD

Πίνακας 3.1. Περιγραφικά χαρακτηριστικά που εξήχθησαν από τις μελέτες της μετα-ανάλυσης για τον υγιή πληθυσμό και τους ασθενείς με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2

Οι μελέτες που επιλέχθηκαν για τη μετα-ανάλυση περιλάμβαναν στη διαγνωστική δοκιμασία ασθενή πληθυσμό με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 και μια ομάδα υγιή πληθυσμού (controls) ως μέτρο σύγκρισης της φυσιολογικής κλινικής εικόνας και της κλινικής εικόνας της νόσου. Συγκεκριμένα υπήρχαν των 1036 ασθενείς με ΣΔΤ1 470 ασθενείς με ΣΔΤ2 και 442 υγιείς. Στην ομάδα των ασθενών με ΣΔΤ1 συμμετείχαν 619 ασθενείς (59.7%) με νορμολευκωματουρία που παρουσίαζαν φυσιολογική απέκκριση λευκωματίνης στα ούρα και 417 ασθενείς με μικρολευκωματουρία (40.2%), ασθενείς σε μεταγενέστερο στάδιο της νόσου δηλαδή άτομα με μακρολευκωματουρία δεν είχαν καταγραφεί στις μελέτες που αφορούσαν ΣΔΤ1. Στην ομάδα ασθενών με ΣΔΤ2 συμμετείχαν 151 ασθενείς (32.1%) με νορμολευκωματουρία, 218 ασθενείς (46.3%) με μικρολευκωματουρία και 101 ασθενείς (21.4%) με μακρολευκωματουρία. Οι ασθενείς με μακρολευκωματουρία δεν συμπεριλήφθηκαν στη μετα-ανάλυση λόγω του μη επαρκούς πλήθους των μελετών ανά είδος δείγματος του NAG (uNAG, sNAG, NAG/Cr). Από το συνολικό πληθυσμό των ασθενών το 48.3% αποτελούσε τους άνδρες και ο μέσος όρος ηλικίας του ασθενή πληθυσμού κυμαινόταν στο 53.4. Στον υγιή πληθυσμό το 48.8% ήταν άντρες και η μέση ηλικία του πληθυσμού ήταν 47.7. Τα κλινικά χαρακτηριστικά που συγκεντρώθηκαν από τις μελέτες παρουσιάζονται στον πίνακα 3.2 εκφράζονται από το σταθμισμένο μέσο όρο και τη συγκεντρωτική τυπική απόκλιση. Τα χαρακτηριστικά αφορούν το δείκτη μάζας σώματος (BMI), την τιμή για τη γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη (HbA1c), το λόγο UACR (Urine Albumin (mg/dL) / Urine Creatinine (g/Dl)), τον εκτιμώμενο δείκτη σπειραματικής διήθησης (eGFR) και τη συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση (SBP,DBP) σε ασθενείς και υγιείς.

	ΥΓΙΕΙΣ / CONTROLS	Normoalbuminuria	Microalbuminuria
BMI	23.01±3.07	26.82±4.3	26.95±4.41
HbA1c	5.25±1.05	7.23±2.03	7.93±2.6
eGFR	96.3±16.31	83.13±19.44	68.46±15.42
UACR	11.98±10.17	22.63±4.28	94.29±35.48
SBP	132.44±18.83	136.35±12.68	141.75±10.22
DBP	82.54±9.68	80.7±7.21	83.65±8.12

Πίνακας 3.2. Κλινικά χαρακτηριστικά υγιών και ασθενών με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2

Συγκεκριμένα, στον υγιή πληθυσμό παρατηρήθηκαν τα παρακάτω χαρακτηριστικά: BMI = 23.01±3.07 (kg/m²), HbA1c = 5.25±1.05 (%), eGFR = 96.3±16.31 (mL/min/1.73m²) εμφανίζει την υψηλότερη τιμή στους υγιείς καθώς δεν υπάρχει δυσλειτουργία στη διαδικασία φιλτραρίσματος των νεφρών , UACR = 11.98±10.17 (mg/g/Cr) αναμενόμενη χαμηλή τιμή καθώς λόγω φυσιολογικής λειτουργίας των νεφρών δεν παρατηρείται υψηλή ποσότητα πρωτεΐνης (αλβουμίνης) στα ούρα, SBP = 132.44±18.83 (mmHg) και DBP = 82.54±9.68 (mmHg). Στους ασθενείς διαγνωσμένους με νορμολευκωματουρία καταγράφηκαν τα παρακάτω χαρακτηριστικά, τα οποία συγκριτικά με τους ασθενείς με μακρολευκωματουρία είναι εμφανής η εξέλιξη της νόσου της διαβητικής νεφροπάθειας, BMI = 26.82±4.3 (kg/m²), HbA1c = 7.23±2.03 (%), eGFR = 83.13±19.44 (mL/min/1.73m²), UACR = 22.63±4.28 (mg/g/Cr), SBP = 136.35±12.68 (mmHg), DBP = 80.7±7.21 (mmHg). Στην ομάδα των ασθενών με μικρολευκωματουρία παρατηρήθηκαν τα εξής κλινικά χαρακτηριστικά: BMI = 26.95±4.41(kg/m²), HbA1c = 7.93±2.6 (%), eGFR = 68.46±15.42 (mL/min/1.73m²) μειωμένος ρυθμός σπειραματικής διήθησης λόγω της προχωρημένης βλάβης των λειτουργιών των νεφρών, UACR = 94.29±35.48 (mg/g/Cr) παρατηρείται αυξημένη τιμή λόγω της σημαντικής ποσότητας αλβουμίνης στα ούρα, SBP = 141.75±10.22 (mmHg), DBP = 83.65±8.12 (mmHg).

Οι παραπάνω τιμές των κλινικών χαρακτηριστικών υπολογίστηκαν σύμφωνα με τους τύπους του σταθμισμένου μέσο όρου και τη συγκεντρωτική τυπική απόκλιση:

- Σταθμισμένος μέσος όρος:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

όπου x = τιμή κάθε μελέτης και n = πλήθος μελετών

- Συγκεντρωτική τυπική απόκλιση:

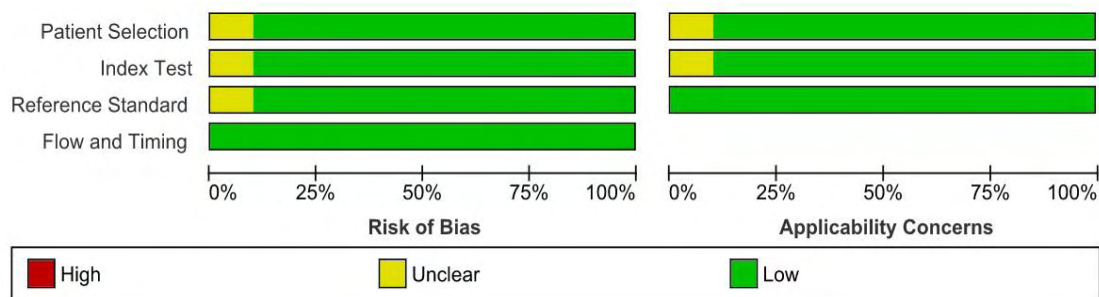
$$S_{pooled} = \sqrt{\frac{(n_1-1)*s_1^2 + (n_2-1)*s_2^2 + \dots + (n_i-1)*s_i^2}{n_1 + n_2 + \dots + n_i}}$$

όπου n_i = ο πληθυσμός της κάθε μελέτης και s_i = η τυπική απόκλιση κάθε μελέτης

3.2. Ποιοτική αξιολόγηση μελετών - QUADAS

Η ποιοτική αξιολόγηση των μελετών της συστηματικής ανασκόπησης για το μέγεθος του κινδύνου της βιβλιογραφικής μεροληψίας και εφαρμογής των διαγνωστικών δοκιμασιών των μελετών, πραγματοποιήθηκε με το βοηθητικό εργαλείο αξιολόγησης QUADAS-2. Είναι ένα δημοφιλές προτεινόμενο εργαλείο, το οποίο περιλαμβάνει 4 βασικούς τομείς: την επιλογή ασθενούς, τη διαγνωστική δοκιμασία, το κλινικό πρότυπο αναφοράς, και τη ροή / συγχρονισμός μελέτης. Κάθε τομέας αξιολογείται ως προς τον κίνδυνο μεροληψίας και οι 3 πρώτοι τομείς αφορούν τις ανησυχίες σχετικά με την ποιότητα εφαρμογής της δοκιμής. Στη διαδικασία αξιολόγησης περιλαμβάνονται ανά τομέα - ερωτήσεις σηματοδότησης οι οποίες απαντήθηκαν σχολαστικά, σύμφωνα με το περιεχόμενο των μελετών (χαρακτηριστικά πληθυσμού, συνθήκες δοκιμασίας, μέθοδοι που ακολουθήθηκαν).

Τα αποτελέσματα της ολοκληρωμένης ποιοτικής αξιολόγησης των 10 περιλαμβανόμενων μελετών της μετα-ανάλυσης, απεικονίζονται στην παρακάτω εικόνα (εικόνα 3.2).



Εικόνα 3.2. Ποιοτική αξιολόγηση των μελετών με το QUADAS-2. Αποτελέσματα παρουσιασμένα ως ποσοστά για την κάθε συμπεριλαμβανόμενη μελέτη.

Ο ασαφής κίνδυνος μεροληψίας σε μερικές μελέτες σχετικά με την επιλογή των ασθενών οφείλεται στην έλλειψη πληροφοριών για τα χαρακτηριστικά των ασθενών με microalbuminuria και macroalbuminuria όπως είναι ο συνολικός αριθμός συμμετοχής των ασθενών, η ηλικία και το φύλο τους. Η ανησυχία σχετικά με τη διαγνωστική δοκιμασία και την εφαρμογή της οφείλεται στην επεξεργασία του δείγματος ούρων για το NAG το οποίο σε μια μελέτη αναμείχθηκε με ένα διάλυμα

m-Cresol Purple sodium, πριν από την ανάλυσή του. Σε συνολική εικόνα η ανησυχία για την ροή και την εφαρμογή της δοκιμασίας είναι χαμηλή. Τα αποτελέσματα κρίνονται ικανοποιητικά χωρίς ιδιαίτερο κίνδυνο βιβλιογραφικής μεροληψίας και προτύπου εφαρμογής.

3.3. Αποτελέσματα μετα-ανάλυσης

Η εκτίμηση της ποιότητας του βιοδείκτη NAG που κατατάσσει την κλινική κατάσταση ενδιαφέροντος ως ασθένεια έναντι του υγιή πληθυσμού είναι το επόμενο και πιο σημαντικό βήμα στη διαδικασία στις συστηματικής ανασκόπησης και μετα-ανάλυσης. Κατά τη διαδικασία αξιολόγησης του βιοδείκτη έναντι του προτύπου αναφοράς (gold standard) χρησιμοποιούνται οι τιμές της ευαισθησίας και της ειδικότητας, οι οποίες έχουν επεξηγηθεί αναλυτικά στην ενότητα της εισαγωγής. Η ευαισθησία (Se) και η ειδικότητα (Sp) εξαρτώνται από την τιμή του σημείου αποκοπής, το cut-off το οποίο προσδιορίστηκε ξεχωριστά για κάθε μελέτη. Η τιμή αποκοπής που μεγιστοποιεί το άθροισμα της ευαισθησίας και της ειδικότητας (ή ελαχιστοποιεί εξίσου το άθροισμα των ψευδώς θετικών και ψευδών αρνητικών σφαλμάτων) που μπορούν να θεωρηθούν ως κριτήρια για την επιλογή του βέλτιστου ορίου. Η επιλογή του cut-off κρίθηκε σύμφωνα με τη μέθοδο του δείκτη με του Youden Index, η οποία μεγιστοποιεί την κατακόρυφη γραμμή μεταξύ της καμπύλης ROC και της διαγώνιας γραμμής (δηλαδή το επίπεδο πιθανότητας) και έχει ως αποτέλεσμα το δείκτη Youden's = $Se + Sp - 1$.

Για την εύρεση του βέλτιστου cut-off δημιουργήθηκε μια φόρμα excel που περιείχε τα παρακάτω στοιχεία: το κωδικό PubMed της μελέτης, το πλήθος ασθενών, το πλήθος των υγιών (controls), τη μέση τιμή και τη τυπική απόκλιση για το NAG, καθώς και τυχαίες τιμές αποκοπής με βάση τα όρια της μέσης τιμής. Το στατιστικό εργαλείο που χρησιμοποιήθηκε ήταν το STATA, ένα λογισμικό πακέτο ευρείας χρήσης που προτείνεται για στατιστικές αναλύσεις διαγνωστικών δοκιμασιών, και πραγματοποιήθηκε η εκτέλεση του παρακάτω κώδικα που παρουσιάζεται στην εικόνα 3.3.:

```

gen c = log (cutoff)

gen z1 = ln (cmean) - 0.5*ln((csd^2 / cmean^2)+1)
gen z1sd = sqrt (ln ((csd^2 / cmean^2) +1))

gen z2 = ln (nrmean)-0.5*ln ((nrstd^2 / nrmean^2)+1)
gen z2sd = sqrt (ln ((nrstd^2 / nrmean^2)+1))

gen x1 = (c-z1) /z1sd
gen P = normal (x1)
gen P1 = 1-P

gen x2 = (c-z2) / z2sd
gen P2 = 1 - normal (x2)
gen P22 = 1 - P2

gen TP = P*100*(nnr/100)
gen FN = P1*100*(nnr/100)
gen TN = P2*100*(nc/100)
gen FP = P22*100*(nc/100)

gen Sens = TP / (TP+FN)
gen Spec = TN / (FP+TN)
gen Y1 = Sens + Spec-1

```

Εικόνα 3.3. Κώδικας για τον υπολογισμό cut-off, TP, FN, FP και TN για τη διάγνωση της ΔΝ σε ασθενείς με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2.

Τα αποτελέσματα εκτελώντας τον παραπάνω κώδικα, απεικονίζονται στον πίνακα 3.3. 3.4. και 3.5., ο οποίος περιέχει τις τιμές των TP, FN, FP, TN, την ευαισθησία και την ειδικότητα, καθώς και την τιμή αποκοπής που επιλέχθηκε ως βέλτιστη σε κάθε μελέτη ξεχωριστά, για τη διάγνωση της ΔΝ σε ασθενείς με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2. Η επιλογή της βέλτιστης τιμής του σημείου αποκοπής, πραγματοποιήθηκε με τη σύγκριση δύο ομάδων: οι υγείς έναντι των ασθενών που είναι διαγνωσμένοι με νορμολευκωματουρία και οι ασθενείς με νορμολευκωματουρία έναντι των ασθενών που είναι διαγνωσμένοι με μικρολευκωματουρία. Η σύγκριση αφορούσε το NAG στα ούρα (uNAG) και το λόγο NAG προς κρεατινίνη (NAG/Cr). Στους παρακάτω πίνακες έχει χρησιμοποιηθεί η κωδικοποίηση του uNAG ως “1” και του uNAG/Cr ως “3”. Μεθοδολογία για την επιλογή του cut-off ήταν η επιλογή της τιμής που αντιστοιχεί σε δείκτη Youden που βρίσκεται κοντά στην τιμή 1 ή την επιλογή του cut-off όπου η τιμή του θα αντιστοιχούσε σε σχεδόν ίσες τιμές ευαισθησίας και ειδικότητας. Στη συνέχεια υπολογίστηκε ο σταθμισμένος μέσος όρος και η συγκεντρωτική τυπική απόκλιση των ασθενών με νορμολευκωματουρία και των ασθενών με μικρολευκωματουρία, για την εύρεση της κατάλληλης τιμής cut-off αντίστοιχα, έναντι του υγιή πληθυσμού, τα αποτελέσματα απεικονίζονται στον πίνακα 3.5.

uNAG : Υγιείς VS ασθενείς με νορμολευκωματουρία

PUBMED_ID	AUTHOR NAME	COUNTRY	YEAR	tpDIABETES	NAG	cut-off	TP	FN	TN	FP	Ευαισθησία / Sensitivity	Ειδικότητα / Specificity
27594733	Anane	GHANA	2016	2	1	11.15	31	8	52	13	0.7983289	0.7948532
23966807	Assal	EGYPT	2013	2	1	8.25	15	5	15	5	0.7280108	0.7246807
25519006	Zurawska	POLAND	2014	2	1	156.5	28	10	23	9	0.7317456	0.7350312
20980978	Vishal	USA	2011	1	1	1.15	347	16	37	1	0.956203	0.9658308
25717442	Gehan S.	EGYPT	2015	2	1	1	7	3	7	3	0.702973	0.7064196

uNAG/Cr : Υγιείς VS ασθενείς με νορμολευκωματουρία

PUBMED_ID	AUTHOR NAME	COUNTRY	YEAR	tpDIABETES	NAG	cut-off	TP	FN	TN	FP	Ευαισθησία / Sensitivity	Ειδικότητα / Specificity
27594733	Anane H.A.	GHANA	2016	2	3	9.2	22	17	38	27	0.5536019	0.5854567
18022929	A. M. Karakani	IRAN	2007	1	3	3.6	24	0	25	0	0.8772334	0.9991462
23105632	Ambade V.	INDIA	2003	1	3	6.2	65	29	33	15	0.6870875	0.6933896
16641878	Piwowar A.	POLAND	2006	2	3	0.3	5	9	14	28	0.3525359	0.3339823
2881186	Shimojo N.	JAPAN	1987	1	3	2.3	90	0	57	0	0.5368737	0.5959573
15016173	Salema M. A. K.	EGYPT	2002	1	3	4.6	38	10	31	9	0.7925631	0.7763351

Πίνακας 3.3. Πίνακας αποτελεσμάτων για το uNAG και το uNAG/Cr σε ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενείς με νορμολευκωματουρία, απεικονίζονται οι τιμές της ευαισθησίας, ειδικότητας, TP, FN, TN, FP που αντιστοιχούν στη βέλτιστη τιμή αποκοπής cut-off

uNAG : Ασθενείς με νορμολευκωματουρία VS ασθενείς με μικρολευκωματουρία

PUBMED_ID	AUTHOR NAME	COUNTRY	YEAR	tpDIABETES	NAG	cut-off	TP	FN	TN	FP	Ευαισθησία / Sensitivity	Ειδικότητα / Specificity
27594733	Anane	GHANA	2016	2	1	12.9	21	18	14	12	0.5356824	0.5288205
23966807	Assal	EGYPT	2013	2	1	13.8	15	5	23	2	0.7682365	0.9163571
25519006	Zurawska	POLAND	2014	2	1	193.5	21	17	15	17	0.5489903	0.4824225
20980978	Vishal	USA	2011	1	1	2.5	299	64	250	46	0.824519	0.8454434
25717442	Gehan S.	EGYPT	2015	2	1	1.2	6	4	12	8	0.6200072	0.6002

uNAG/Cr : Ασθενείς με νορμολευκωματουρία VS ασθενείς με μικρολευκωματουρία

PUBMED_ID	AUTHOR NAME	COUNTRY	YEAR	tpDIABETES	NAG	cut-off	TP	FN	TN	FP	Ευαισθησία / Sensitivity	Ειδικότητα / Specificity
23105632	Ambade V.	INDIA	2003	1	3	9.6	58	36	62	40	0.615769	0.61176
15016173	Salema M. A. K.	EGYPT	2002	1	3	9.8	41	7	10	1	0.8550839	0.8702803
18022929	A. M. Karakani	IRAN	2007	1	3	6.2	24	0	8	0	0.98838	0.9945129
27594733	Anane H.A.	GHANA	2016	2	3	15	30	9	20	6	0.7625632	0.7530454
16641878	Piwowar A.	POLAND	2006	2	3	1.1	8	6	54	35	0.5909843	0.6021506

Πίνακας 3.4. Πίνακας αποτελεσμάτων για το uNAG και το uNAG/Cr σε ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενείς με νορμολευκωματουρία και μικρολευκωματουρία , απεικονίζονται οι τιμές της ευαισθησίας, ειδικότητας, TP, FN, TN, FP που αντιστοιχούν στη βέλτιστη τιμή αποκοπής cut-off

uNAG : Υγιείς VS ασθενείς με νορμο-μικρολευκωματουρία

PUBMED_ID	AUTHOR NAME	COUNTRY	YEAR	tpDIABETES	NAG	cut-off	TP	FN	TN	FP	Ευαισθησία / Sensitivity	Ειδικότητα / Specificity
27594733	Anane	GHANA	2016	2	1	11.5	56	9	49	16	0.8592119	0.7462316
23966807	Assal	EGYPT	2013	2	1	10	38	7	19	1	0.8387816	0.9326278
25519006	Zurawska	POLAND	2014	2	1	160	53	17	23	9	0.7562677	0.7201657
20980978	Vishal	USA	2011	1	1	1.3	597	62	38	0	0.9063935	0.9913472
25717442	Gehan S.	EGYPT	2015	2	1	1	21	9	8	2	0.702973	0.7902472

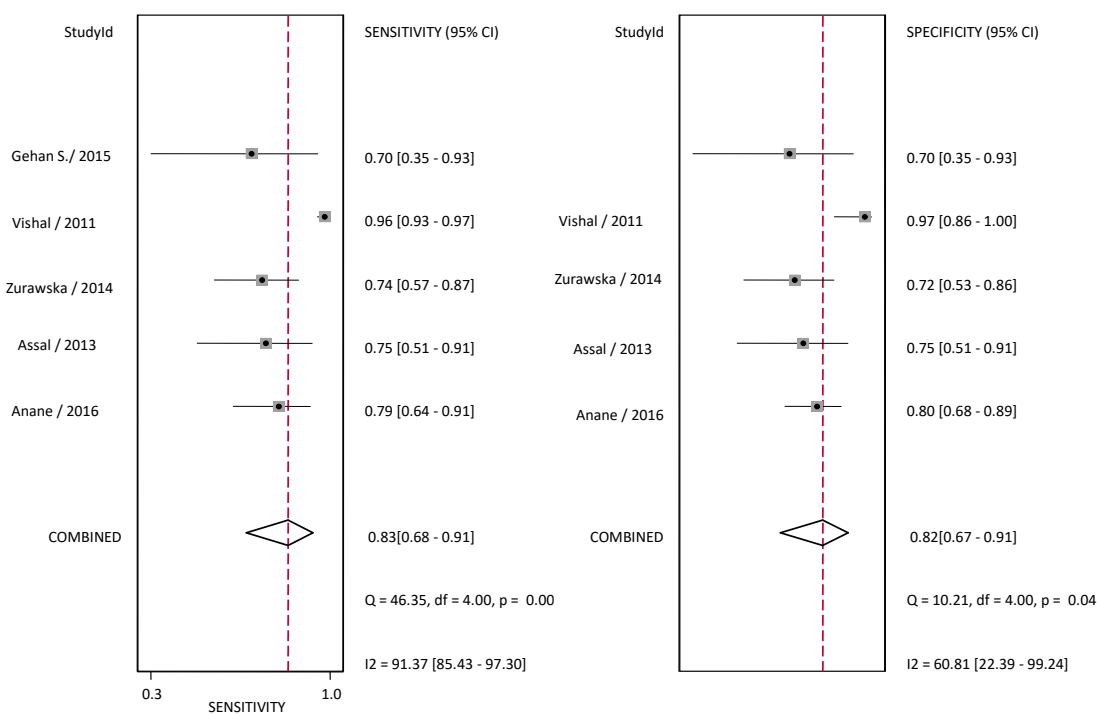
uNAG /Cr : Υγιείς VS ασθενείς με νορμο-μικρολευκωματουρία

PUBMED_ID	AUTHOR NAME	COUNTRY	YEAR	tpDIABETES	NAG	cut-off	TP	FN	TN	FP	Ευαισθησία / Sensitivity	Ειδικότητα / Specificity
27594733	Anane H.A.	GHANA	2016	2	3	11	45	20	44	21	0.6850231	0.6832003
15016173	Salema M. A. K.	EGYPT	2002	1	3	5.2	53	6	33	7	0.8939015	0.827581
16641878	Piwowar A.	POLAND	2006	2	3	0.5	55	48	17	25	0.5332943	0.396608
23105632	Ambade V.	INDIA	2003	1	3	6.5	142	54	34	14	0.7236576	0.7095733
18022929	A. M. Karakani	IRAN	2007	1	3	4	32	0	25	0	0.9991312	0.9998192

Πίνακας 3.5. Πίνακας αποτελεσμάτων για το uNAG και το uNAG/Cr σε ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενείς με νορμο-λευκωματουρία, απεικονίζονται οι τιμές της ευαισθησίας, ειδικότητας, TP, FN, TN, FP που αντιστοιχούν στη βέλτιστη τιμή αποκοπής cut-off

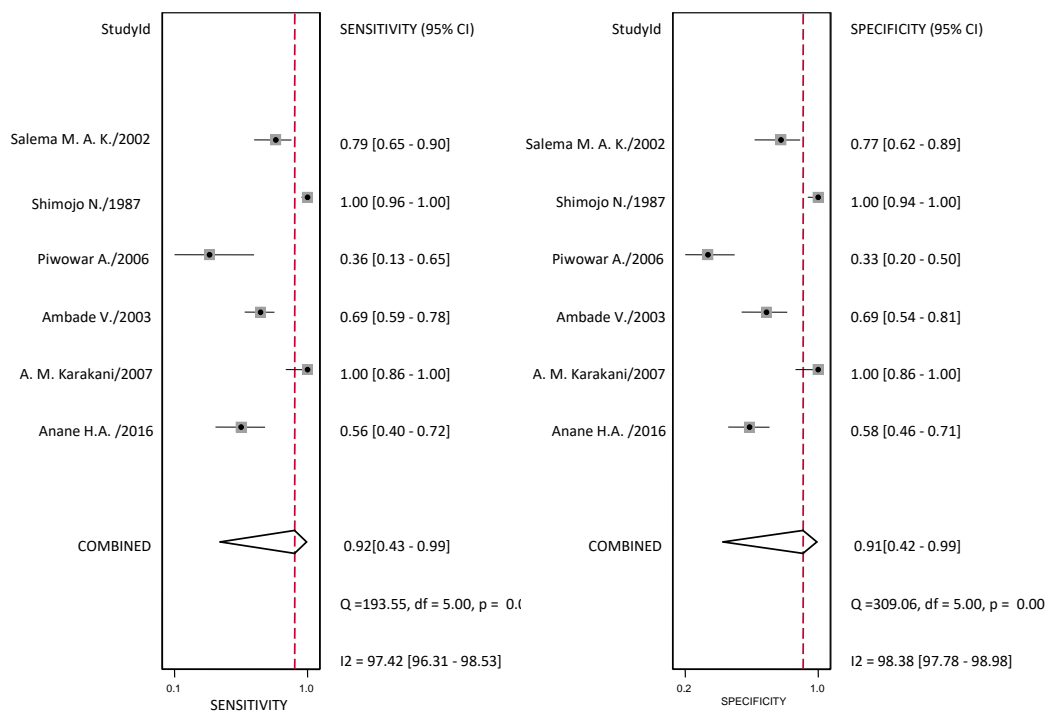
Στη συνέχεια της μετα-ανάλυσης, χρησιμοποιήθηκε το midas, ένα ολοκληρωμένο πακέτο στατιστικών και γραφικών αναλύσεων για την αξιολόγηση της απόδοσης των διαγνωστικών δοκιμών για κάθε ομάδα ξεχωριστά, οι υπολογισμοί πραγματοποιήθηκαν στο STATA. Τα δεδομένα εισόδου που χρησιμοποιήθηκαν, είναι τα αποτελέσματα των πινάκων 3.3., 3.4. και 3.5. και το πλήθος της κάθε ομάδας. Αρχικά, παρουσιάζονται τα ευρήματα που αφορούν τη διαγνωστική ακρίβεια του uNAG σε 5 μελέτες στις οποίες συμμετείχαν 165 υγείς και 470 ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενείς με νορμολευκωματουρία καθώς και του uNAG/Cr σε 6 μελέτες, οι οποίες περιλάμβαναν 277 υγείς και 309 ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενείς με νορμολευκωματουρία. Παρακάτω παρουσιάζονται αναλυτικά τα γραφήματα που προέκυψαν καθώς και οι εντολές που χρησιμοποιήθηκαν:

- `midas tp fp fn tn, texts(0.60) bfor(dss) id(aname year) ford fors`



Εικόνα 3.4. α) Forest plot της ευαισθησίας και της ειδικότητας του βιοδείκτη uNAG για το διαχωρισμό των ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενών με νορμολευκωματουρία από τους υγείς.

Η εικόνα 3.4.α) απεικονίζει το forest plot του uNAG με συμμετοχή 5 μελετών για το διαχωρισμό των ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενών με νορμολευκοματουρία από τον υγιή πληθυσμό. Παρουσιάζεται η συγκεντρωτική ευαισθησία και ειδικότητα ξεχωριστά για κάθε μία από τις μελέτες, με διάστημα εμπιστοσύνης 95% CI, το I^2 της ετερογένειας και οι τιμές κατωφλιού για το διαχωρισμό των δύο ομάδων. Συγκεκριμένα, η τιμή της συγκεντρωτικής ευαισθησίας και της συγκεντρωτικής ειδικότητα είναι 0.83 [95% CI: 0.68 – 0.91] και 0.82 [95%CI: 0.67 – 0.91] αντίστοιχα. Η τιμή του I^2 για την ευαισθησία είναι 91.37 [95% CI: 85.43–97.30, Cochrane’s Q P = 0.00] και αντίστοιχα για την ειδικότητα είναι 60.81 [95% CI: 22.39–99.24, Cochrane’s Q P = 0.00]. Ο θετικός λόγος πιθανοφάνειας $LR+ = 4.62$ [95% CI: 2.10 – 10.16] και ο αρνητικός λόγος πιθανοφάνειας είναι $LR- = 0.21$ [95% CI: 0.10 – 0.46].

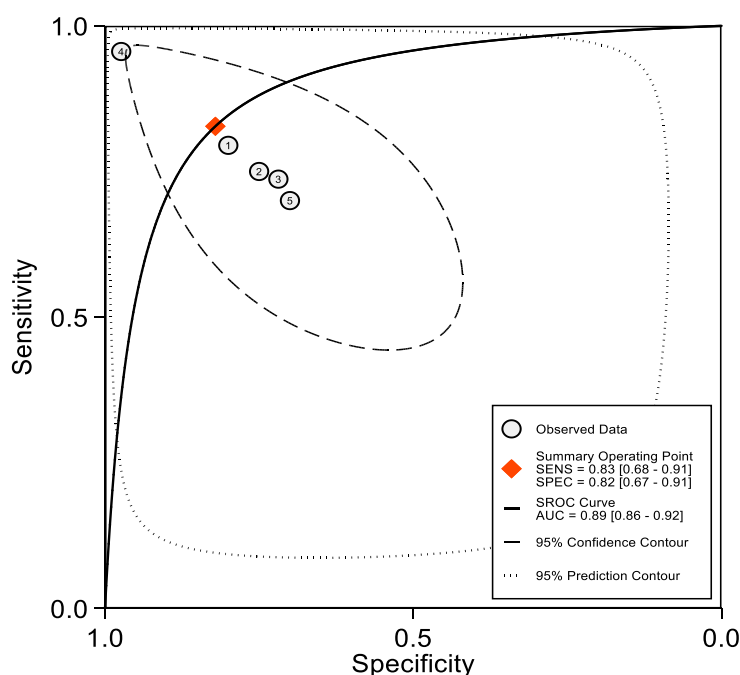


Εικόνα 3.4. β) Forest plot της ευαισθησίας και της ειδικότητας του βιοδείκτη uNAG/Cr για το διαχωρισμό των ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενών με νορμολευκοματουρία από τους υγιείς.

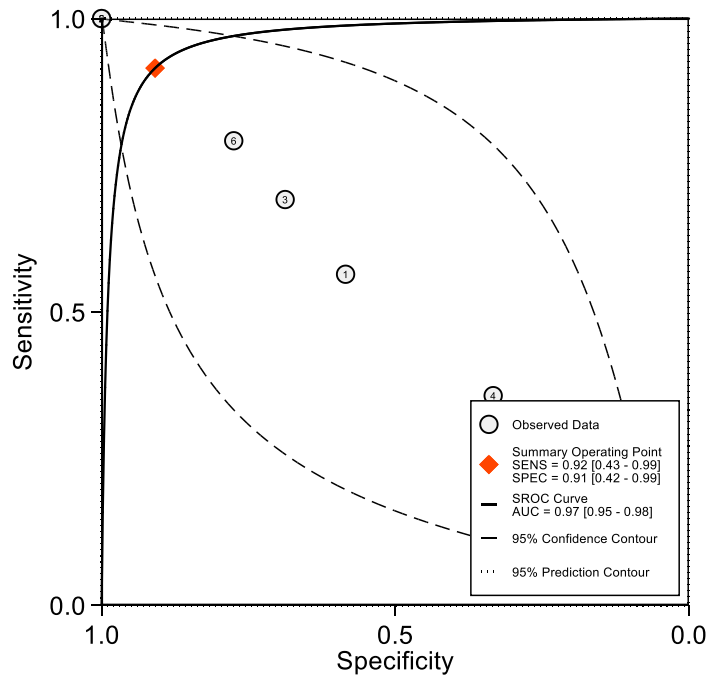
Αντίστοιχα η εικόνα 3.4.β) απεικονίζει το forest plot του uNAG/Cr με συμμετοχή 6 μελετών, για το διαχωρισμό των ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενών με νορμολευκωματουρία από τον υγιή πληθυσμό. Παρουσιάζεται η συγκεντρωτική ευαισθησία και ειδικότητα ξεχωριστά για κάθε μία από τις μελέτες, με διάστημα εμπιστοσύνης 95% CI, το I^2 της ετερογένειας και οι τιμές κατωφλιού για το διαχωρισμό των δύο ομάδων. Συγκεκριμένα, η τιμή της συγκεντρωτικής ευαισθησίας και της συγκεντρωτικής ειδικότητα είναι 0.92 [95% CI: 0.43 – 0.99] και 0.91 [95%CI: 0.42 – 0.99], αντίστοιχα. Η τιμή του I^2 για την ευαισθησία είναι 97.42 [95% CI: 96.31– 98.53, Cochrane’s Q P = 0.00] και αντίστοιχα για την ειδικότητα είναι 98.38 [95% CI: 97.78–98.98, Cochrane’s Q P = 0.00]. Ο θετικός λόγος πιθανοφάνειας που υπολογίστηκε είναι $LR+ = 10.05$ [95% CI: 0.77 – 132.03] και ο αρνητικός λόγος πιθανοφάνειας είναι $LR- = 0.09$ [95% CI: 0.01 –1.34].

Στην εικόνα 3.5. α) απεικονίζεται η ιεραρχική καμπύλη ROC (hsROC) του uNAG για 5 μελέτες εξετάζοντας την ακρίβεια ανίχνευσης του ασθενή πληθυσμού με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 που παρουσιάζει νορμολευκωματουρία από τον υγιή πληθυσμό. Η περιοχή κάτω από την καμπύλη ROC για το uNAG έχει εμβαδόν $AUC = 0.89$ [95% CI: 0.86 – 0.92].

- midas tp fp fn tn, sroc(both)



Εικόνα 3.5. α) Ιεραρχική καμπύλη ROC (hsROC) του βιοδείκτη uNAG για την ικανότητα διαχωρισμού των ΣΔΤ και ΣΔΤ2 ασθενών με νορμολευκωματουρία από τους υγιείς

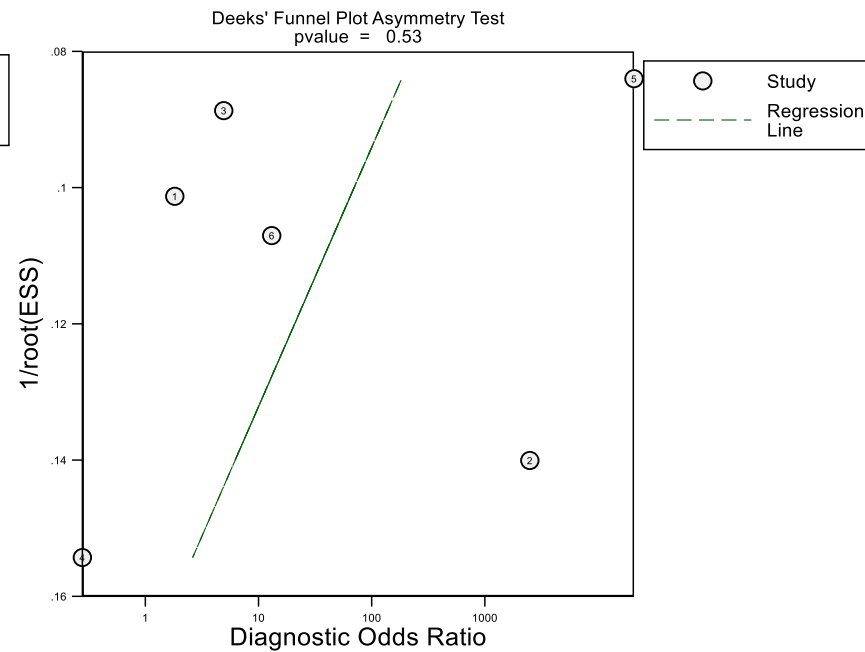
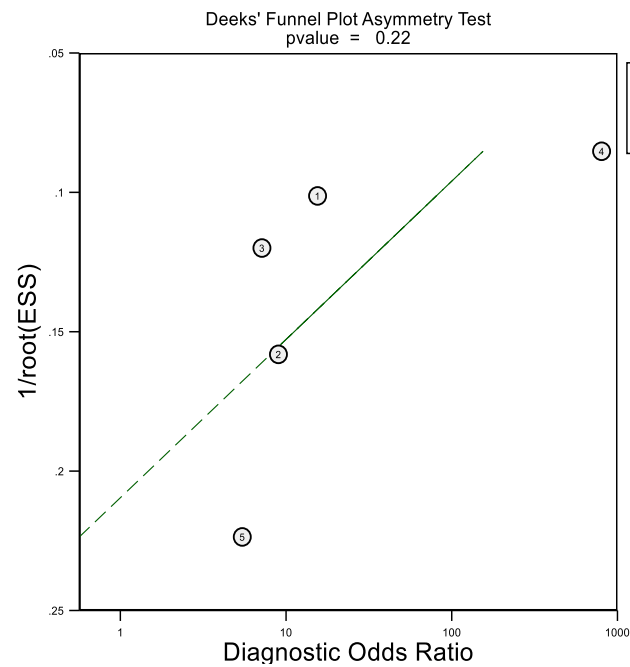


Εικόνα 3.5. β) Ιεραρχική καμπύλη ROC (hsROC) του βιοδείκτη uNAG/Cr για την ικανότητα διαχωρισμού των ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενών με νορμολευκωματουρία από τους υγιείς

Αντίστοιχα στην εικόνα 3.5. β) απεικονίζεται η ιεραρχική καμπύλη ROC (hsROC) του uNAG/Cr για 6 μελέτες, εξετάζοντας την ακρίβεια ανίχνευσης του ασθενή πληθυσμού με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 που παρουσιάζει νορμολευκωματουρία από τον υγιή πληθυσμό. Η περιοχή κάτω από την καμπύλη ROC για το uNAG/Cr έχει εμβαδόν που ισούται με $AUC = 0.97$ [95% CI: 0.95 – 0.98].

Στην εικόνα 3.6. απεικονίζεται η γραφική παράσταση του Deek για το uNAG με συμμετοχή 5 μελετών στην εικόνα α) και του uNAG/Cr με συμμετοχή 6 μελετών στην εικόνα β). Το γράφημα να αξιολογήσει το σφάλμα δημοσίευσης των μελετών για τη διάγνωση των ασθενών με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 οι οποίοι παρουσιάζουν νορμολευκωματουρία, ως controls - μάρτυρες τέθηκε ο υγιής πληθυσμός. Το p-value για το uNAG είναι ίσο με $p = 0.22$ και για το uNAG/Cr είναι ίσο με $p = 0.53$.

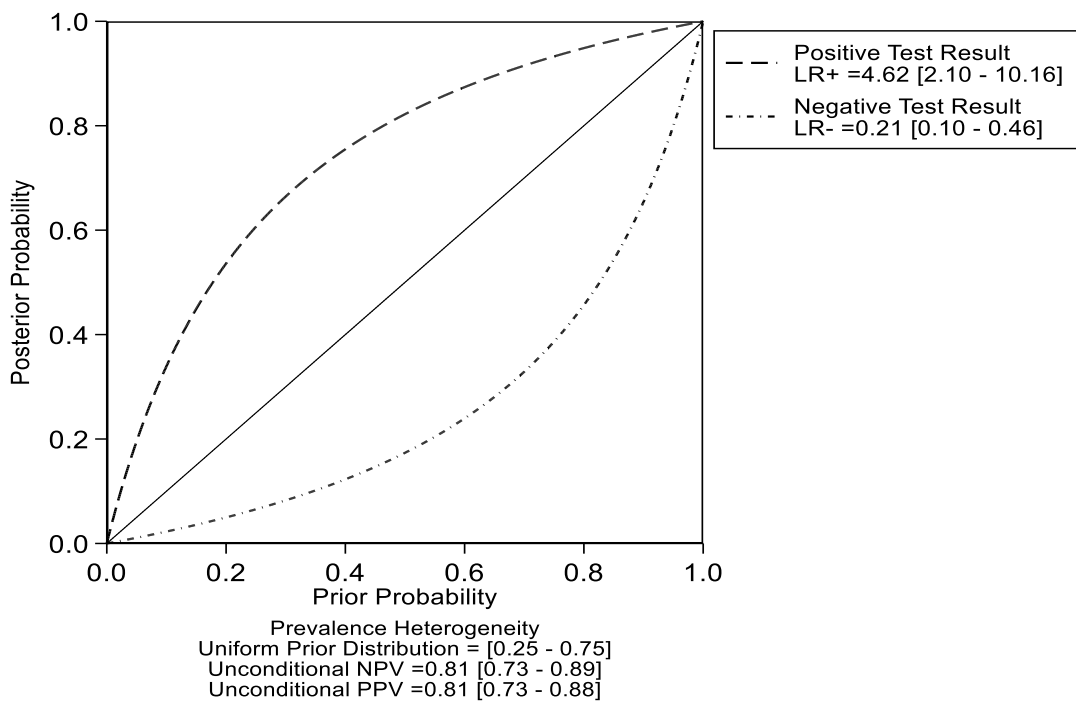
- midas tp fp fn tn, pubbias



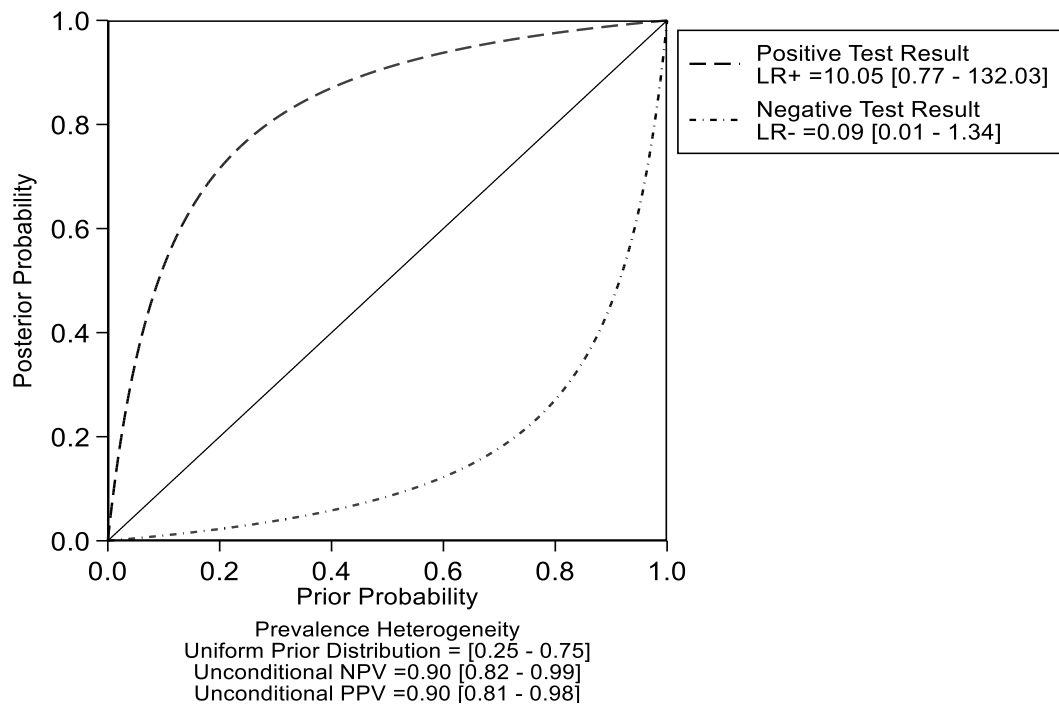
Εικόνα 3.6. Deek's plot του uNAG α) και uNAG/Cr για τη διάγνωση της νορμολευκωματουρίας, οι υγιείς χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες έναντι των ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενών με νορμολευκωματουρία.

Η εικόνα 3.7. α) αποτελεί γράφημα του uNAG που απεικονίζεται τη σχέση μεταξύ της πιθανότητας πριν και μετά τη δοκιμή και η εικόνα 3.7. β) αντίστοιχα γράφημα του uNAG/Cr. Για το uNAG ο θετικός λόγος πιθανοφάνειας που υπολογίστηκε είναι $LR+ = 4.62$ [95% CI: 2.10 – 10.16] και ο αρνητικός λόγος πιθανοφάνειας είναι $LR- = 0.21$ [95% CI: 0.10 – 0.46]. Αντίστοιχα, στην εικόνα 3.7. β) για το uNAG/Cr, ο θετικός λόγος πιθανοφάνειας που υπολογίστηκε είναι $LR+ = 10.05$ [95% CI: 0.77 – 132.03] και ο αρνητικός λόγος πιθανοφάνειας είναι $LR- = 0.09$ [95% CI: 0.01 – 1.34].

- midas tp fp fn tn, pddam(0.25 0.75)



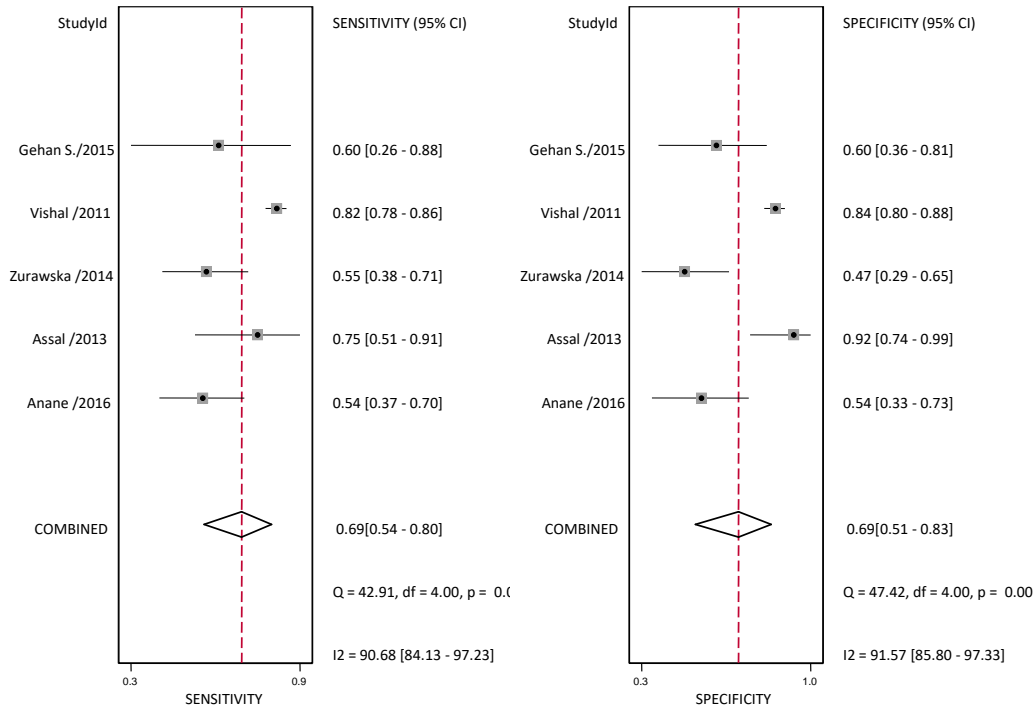
Εικόνα 3.7. α) Γράφημα πιθανότητας μετά την εξέταση του uNAG στη διάγνωση της νορμολευκωματουρίας σε ασθενείς με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2



Εικόνα 3.7. β) Γράφημα πιθανότητας μετά την εξέταση του uNAG/Cr στη διάγνωση της νορμολευκωματουρίας σε ασθενείς με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2.

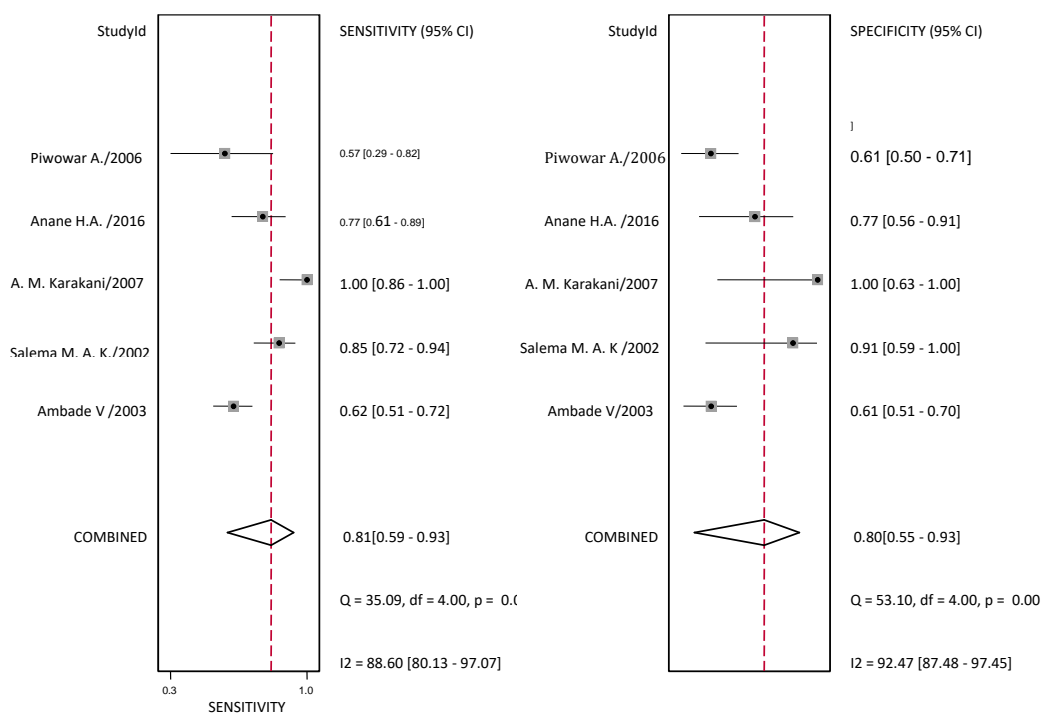
Παρακάτω παρουσιάζονται αναλυτικά τα ευρήματα που αφορούν τη διαγνωστική ακρίβεια του uNAG σε 5 μελέτες στις οποίες συμμετείχαν 470 ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενείς με νορμολευκωματουρία και 399 ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενείς με μικρολευκωματουρία. Αντίστοιχα, παρουσιάζονται τα ευρήματα του uNAG/Cr σε 5 μελέτες, στις οποίες συμμετείχαν 209 ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενείς με νορμολευκωματουρία και 236 ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενείς με μικρολευκωματουρία.

- `midas tp fp fn tn, texts(0.60) bfor(dss) id(aname year) ford fors`



Εικόνα 3.8. α) Forest plot της ευαισθησίας και της ειδικότητας του βιοδείκτη uNAG για το διαχωρισμό των ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενών με νορμολευκωματουρία από τους ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενείς με μικρολευκωματουρία.

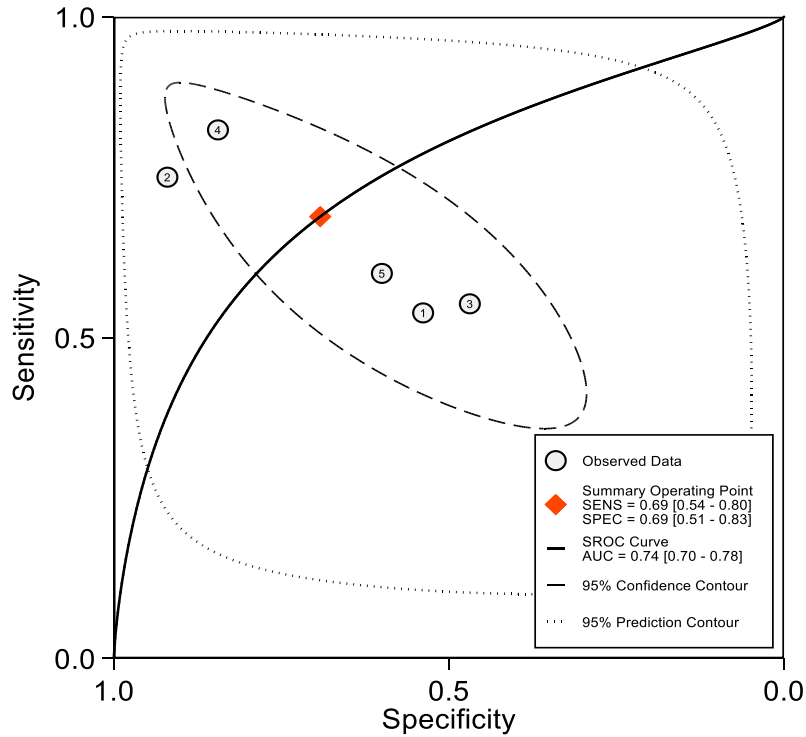
Η εικόνα 3.8 .α) απεικονίζει το forest plot του uNAG με συμμετοχή 5 μελετών για το διαχωρισμό των ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενών με νορμολευκωματουρία από τους ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενείς με μικρολευκωματουρία. Παρουσιάζεται η συγκεντρωτική ευαισθησία και ειδικότητα ξεχωριστά για κάθε μία από τις μελέτες, με διάστημα εμπιστοσύνης 95% CI, το I^2 της ετερογένειας και οι τιμές κατωφλιού για το διαχωρισμό των δυο πληθυσμών. Συγκεκριμένα, η τιμή της συγκεντρωτικής ευαισθησίας και της συγκεντρωτικής ειδικότητα είναι 0.69 [95% CI: 0.54 – 0.80] και 0.69 [95%CI: 0.51 – 0.83] αντίστοιχα. Η τιμή του I^2 για την ευαισθησία είναι 90.68 [95% CI: 84.13–97.23, Cochran’s Q P = 0.00] και αντίστοιχα για την ειδικότητα είναι 91.57 [95% CI: 85.80 – 97.33, Cochran’s Q P = 0.00]. Ο θετικός λόγος πιθανοφάνειας $LR+ = 2.24$ [95% CI: 1.12 – 4.46] και ο αρνητικός λόγος πιθανοφάνειας είναι $LR- = 0.45$ [95% CI: 0.24 – 0.85].



Εικόνα 3.8. β) Forest plot της ευαισθησίας και της ειδικότητας του βιοδείκτη uNAG/Cr για το διαχωρισμό των ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενών με νορμολευκωματουρία από τους ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενείς με μικρολευκωματουρία.

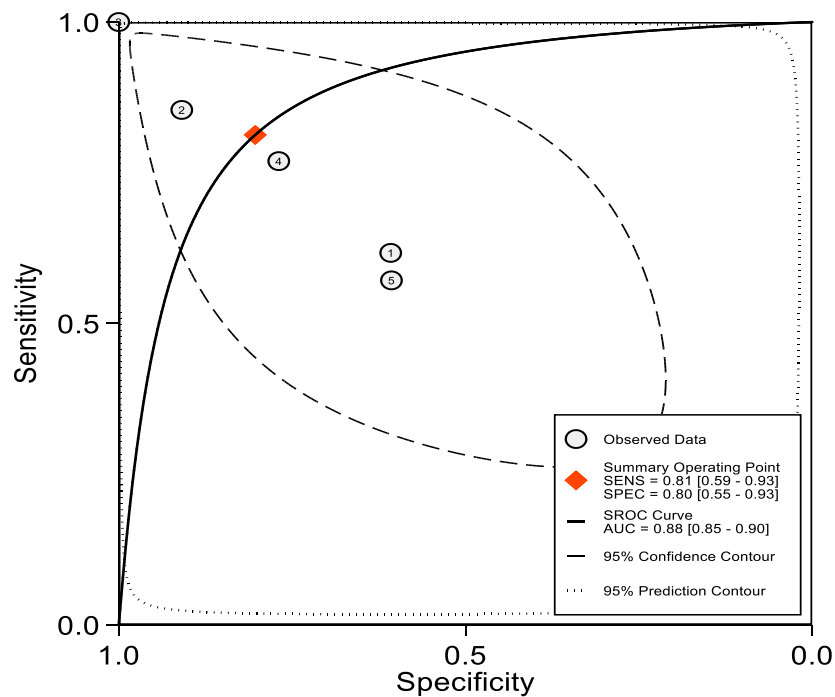
Αντίστοιχα η εικόνα 3.8.β) απεικονίζει το forest plot του uNAG/Cr με συμμετοχή 5 μελετών για το διαχωρισμό των ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενών με νορμολευκωματουρία από τους ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενείς με μικρολευκωματουρία. Παρουσιάζεται η συγκεντρωτική ευαισθησία και ειδικότητα ξεχωριστά για κάθε μία από τις μελέτες, με διάστημα εμπιστοσύνης 95% CI, το I^2 της ετερογένειας και οι τιμές κατωφλιού για το διαχωρισμό των δύο πληθυσμών. Συγκεκριμένα, η τιμή της συγκεντρωτικής ευαισθησίας και της συγκεντρωτικής ειδικότητα είναι 0.81 [95% CI: 0.59 – 0.93] και 0.80 [95%CI: 0.55 – 0.93] αντίστοιχα. Η τιμή του I^2 για την ευαισθησία είναι 88.60 [95% CI: 80.13– 97.07, Cochran’s Q P = 0.00] και αντίστοιχα για την ειδικότητα είναι 92.47 [95% CI: 87.48–97.45, Cochran’s Q P = 0.00]. Ο θετικός λόγος πιθανοφάνειας που υπολογίστηκε είναι $LR+ = 4.13$ [95% CI: 1.31 – 12.97] και ο αρνητικός λόγος πιθανοφάνειας είναι $LR- = 0.23$ [95% CI: 0.08 – 0.70].

- midas tp fp fn tn, sroc(both)



Εικόνα 3.9. α) Ιεραρχική καμπύλη ROC (hsROC) του βιοδείκτη uNAG για την ακρίβεια διαχωρισμού των ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενών με νορμολευκωματουρία από τους ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενείς με μικρολευκωματουρία.

Στην εικόνα 3.9. α) απεικονίζεται η ιεραρχική καμπύλη ROC (hsROC) του uNAG για 5 μελέτες εξετάζοντας την ακρίβεια ανίχνευσης του ασθενή πληθυσμού με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 που παρουσιάζει νορμολευκωματουρία από τον πληθυσμό που παρουσιάζει μικρολευκωματουρία. Η περιοχή κάτω από την καμπύλη ROC για το uNAG έχει εμβαδόν $AUC = 0.74$ [95% CI: 0.70 – 0.78].

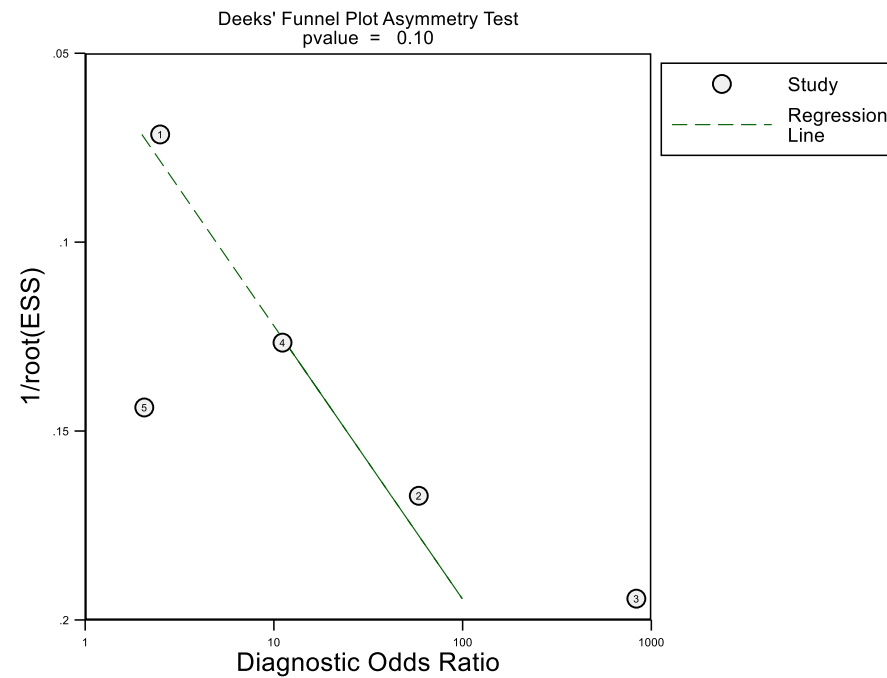
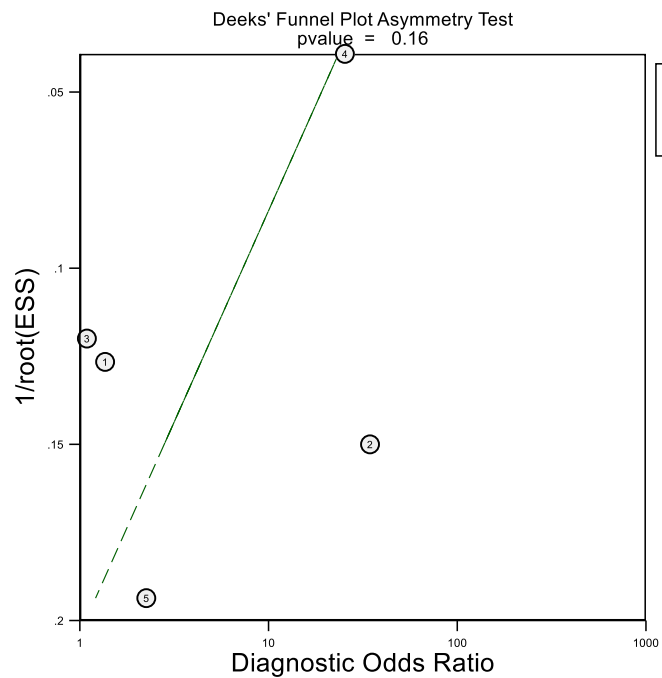


Εικόνα 3.9. β) Ιεραρχική καμπύλη ROC (hsROC) του βιοδείκτη uNAG/Cr για την ακρίβεια διαχωρισμού των ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενών με νορμολευκωματουρία από τους ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενείς με μικρολευκωματουρία.

Αντίστοιχα στην εικόνα 3.9. β) απεικονίζεται η ιεραρχική καμπύλη ROC (hsROC) του uNAG/Cr για 5 μελέτες, εξετάζοντας την ακρίβεια ανίχνευσης του ασθενή πληθυσμού με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 που παρουσιάζει νορμολευκωματουρία από τον πληθυσμό που παρουσιάζει μικρολευκωματουρία. Η περιοχή κάτω από την καμπύλη ROC για το uNAG/Cr έχει εμβαδόν που ισούται με $AUC = 0.88$ [95% CI: 0.85-0.90].

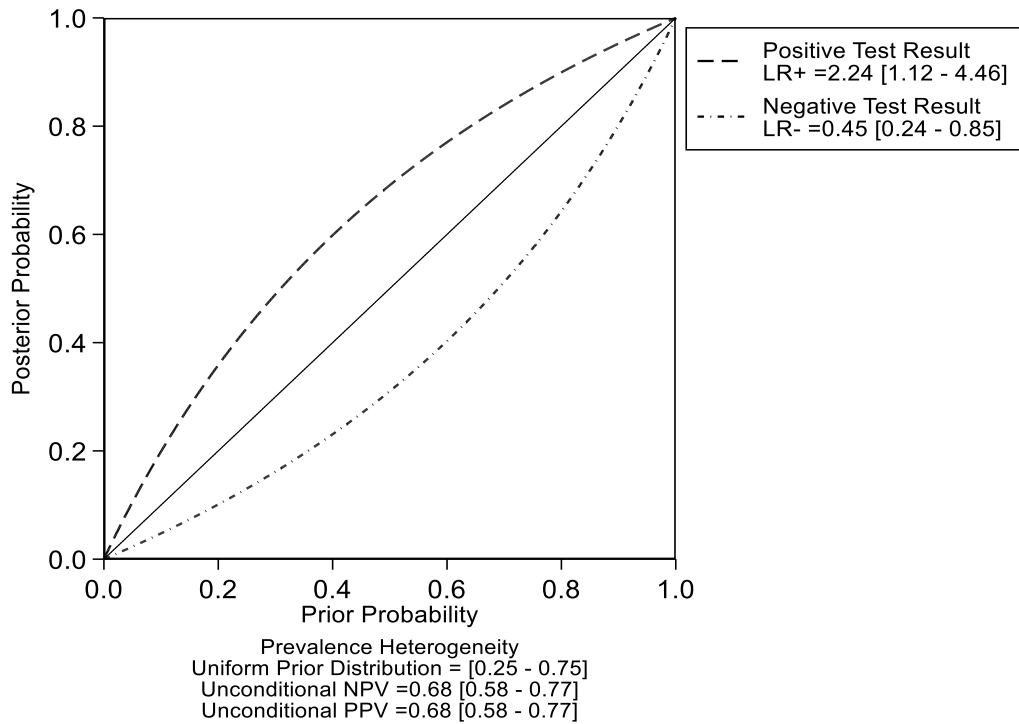
Στην εικόνα 3.10. απεικονίζεται η γραφική παράσταση του Deek για το uNAG με συμμετοχή 5 μελετών στην εικόνα α) και του uNAG/Cr με συμμετοχή 5 μελετών στην εικόνα β). Το γράφημα αξιολογεί το σφάλμα δημοσίευσης των μελετών για τη διάγνωση των ασθενών με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 οι οποίοι παρουσιάζουν μικρολευκωματουρία, από τους ασθενείς με νορμολευκωματουρία. Το p-value για το uNAG είναι ίσο με $p = 0.16$ και για το uNAG/Cr είναι ίσο με $p = 0.10$.

- midas tp fp fn tn, pubbias



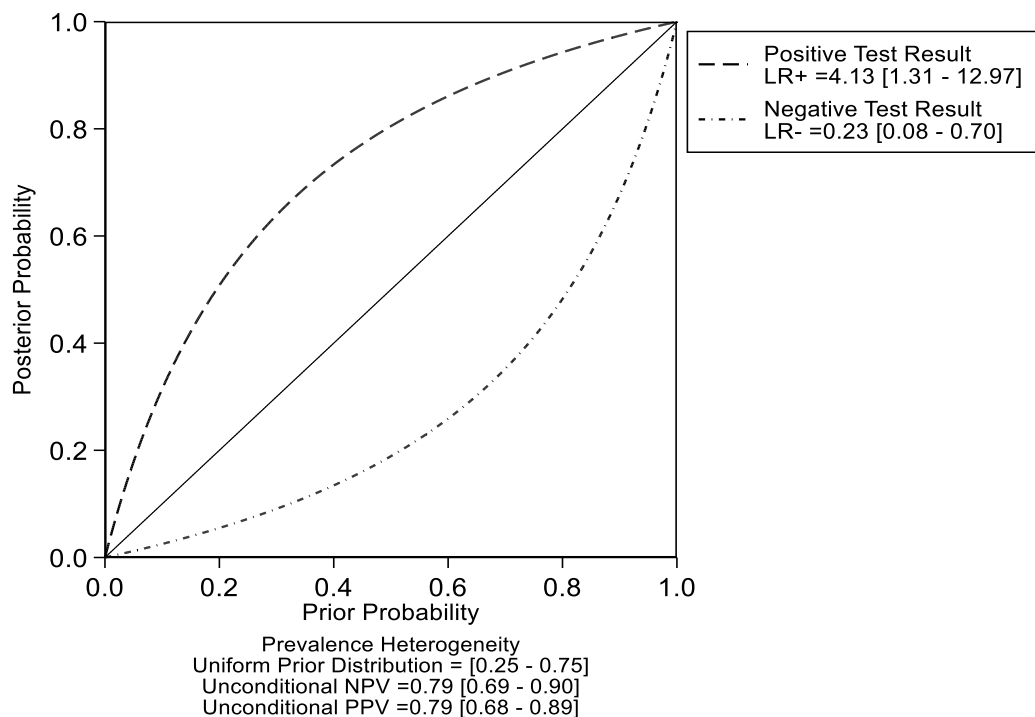
Εικόνα 3.10. Deek's plot του uNAG α) και uNAG/Cr για τη διάγνωση της μικρολευκωματουρίας, οι ασθενείς με νορμολευκωματουρία χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες έναντι των ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενών με μικρολευκωματουρία

- midas tp fp fn tn, pddam(0.25 0.75)



Εικόνα 3.11.α) Γράφημα πιθανότητας μετά την εξέταση του uNAG στη διάγνωση της μικρολευκοματουρίας σε ασθενείς με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2.

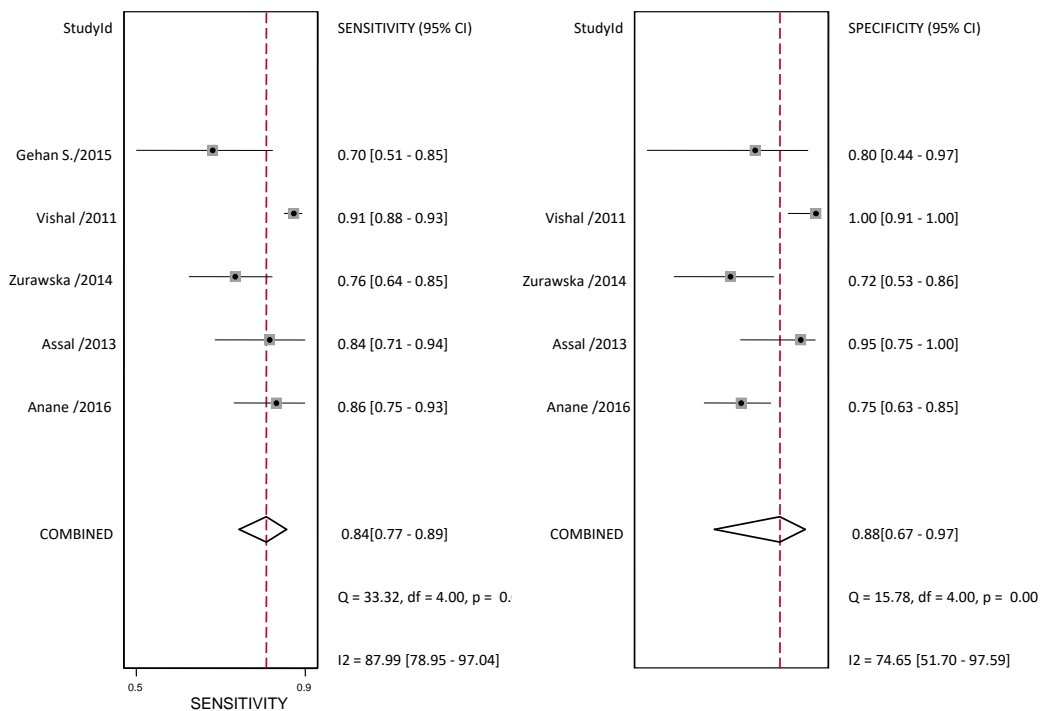
Η εικόνα 3.11. α) αποτελεί γράφημα του uNAG που απεικονίζεται τη σχέση μεταξύ της πιθανότητας πριν και μετά τη δοκιμή και η εικόνα 3.11.β) αντίστοιχα το γράφημα του uNAG/Cr. Για το uNAG ο θετικός λόγος πιθανοφάνειας που υπολογίστηκε είναι $LR+ = 2.24$ [95% CI: 1.12 – 4.46] και ο αρνητικός λόγος πιθανοφάνειας είναι $LR- = 0.45$ [95% CI: 0.24 – 0.85]. Αντίστοιχα, στην εικόνα 3.11. β) για το uNAG/Cr, ο θετικός λόγος πιθανοφάνειας που υπολογίστηκε είναι $LR+ = 4.13$ [95% CI: 1.31 – 12.97] και ο αρνητικός λόγος πιθανοφάνειας είναι $LR- = 0.23$ [95% CI: 0.08 – 0.70].



Εικόνα 3.11.β) Γράφημα πιθανότητας μετά την εξέταση του uNAG στη διάγνωση της μικρολευκωματουρίας σε ασθενείς με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2.

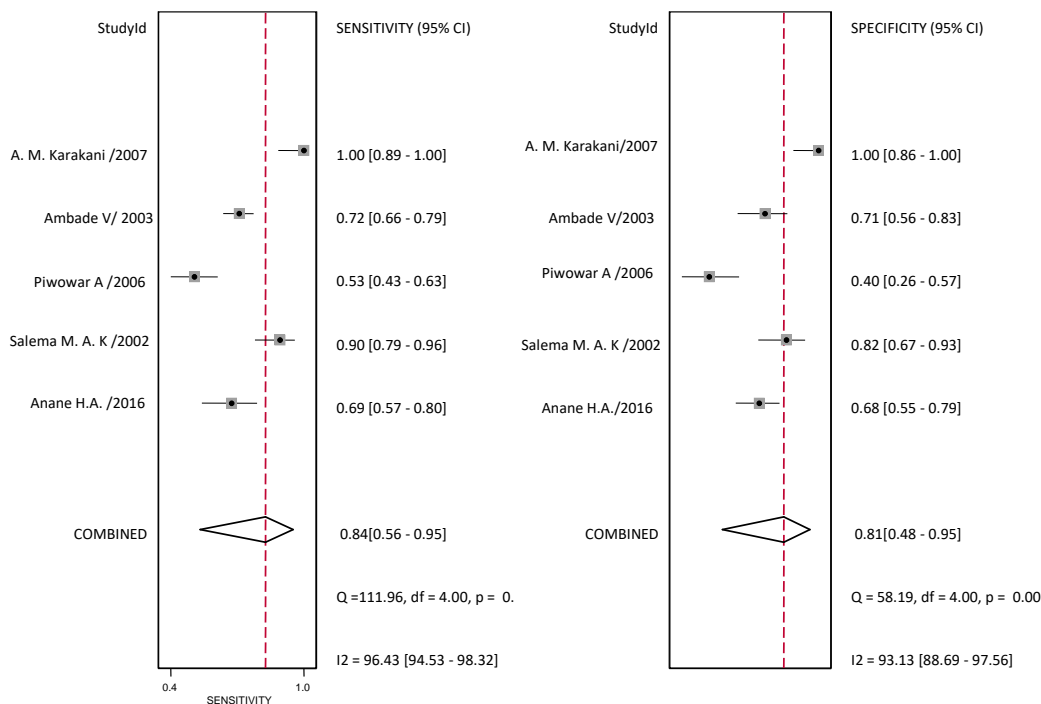
Παρακάτω παρουσιάζονται αναλυτικά τα ευρήματα που αφορούν τη διαγνωστική ακρίβεια του uNAG σε 5 μελέτες στις οποίες συμμετείχαν 869 ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενείς με νορμο-μικρολευκωματουρία και 165 υγιείς. Αντίστοιχα, παρουσιάζονται τα ευρήματα του uNAG/Cr σε 5 μελέτες, στις οποίες συμμετείχαν 455 ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενείς με νορμο-μικρολευκωματουρία και 220 υγιείς.

- `midas tp fp fn tn, texts(0.60) bfor(dss) id(aname year) ford fors`



Εικόνα 3.12. α) Forest plot της ευαισθησίας και της ειδικότητας του βιοδείκτη uNAG για το διαχωρισμό των ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενών με νορμο-μικρολευκωματουρία από τους υγιείς.

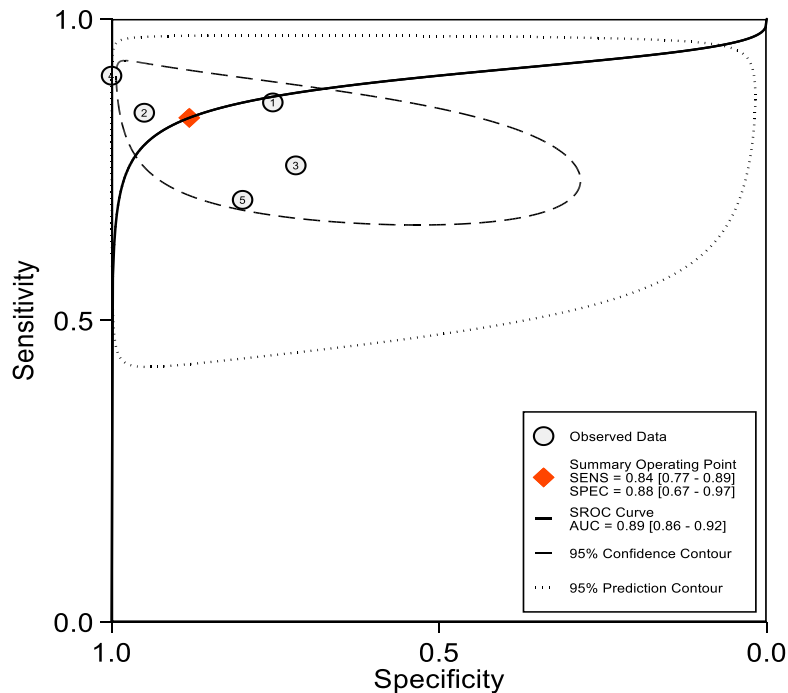
Η εικόνα 3.12 .α) απεικονίζει το forest plot του uNAG με συμμετοχή 5 μελετών για το διαχωρισμό των ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενών με νορμο-μικρολευκωματουρία από τους υγιείς. Παρουσιάζεται η συγκεντρωτική ευαισθησία και ειδικότητα ξεχωριστά για κάθε μία από τις μελέτες, με διάστημα εμπιστοσύνης 95% CI, το I^2 της ετερογένειας και οι τιμές κατωφλιού για το διαχωρισμό των δυο πληθυσμών. Συγκεκριμένα, η τιμή της συγκεντρωτικής ευαισθησίας και της συγκεντρωτικής ειδικότητα είναι 0.84 [95% CI: 0.77 – 0.89] και 0.88 [95%CI: 0.67 – 0.97] αντίστοιχα. Η τιμή του I^2 για την ευαισθησία είναι 87.99 [95% CI: 78.95 –97.04, Cochrane’s Q P = 0.00] και αντίστοιχα για την ειδικότητα είναι 74.65 [95% CI: 51.70 – 97.59, Cochrane’s Q P = 0.00]. Ο θετικός λόγος πιθανοφάνειας $LR+ = 2.24$ [95% CI: 1.12 – 4.46] και ο αρνητικός λόγος πιθανοφάνειας είναι $LR- = 0.45$ [95% CI: 0.24 – 0.85]



Εικόνα 3.12. β) Forest plot της ευαισθησίας και της ειδικότητας του βιοδείκτη uNAG για το διαχωρισμό των ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενών με νορμο-μικρολευκωματουρία από τους υγιείς.

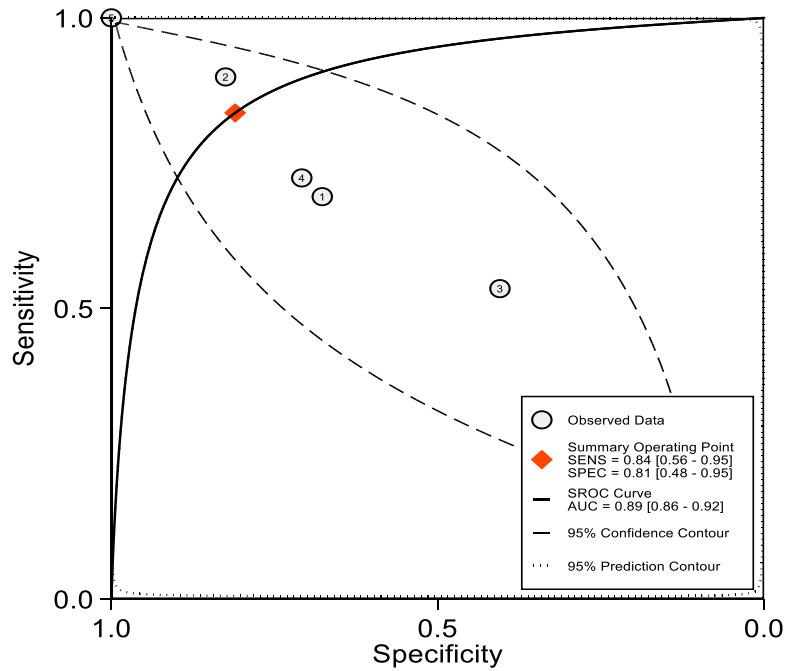
Η εικόνα 3.12. β) απεικονίζει το forest plot του uNAG/Cr με συμμετοχή 5 μελετών για το διαχωρισμό των ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενών με νορμο-μικρολευκωματουρία από τους υγιείς. Παρουσιάζεται η συγκεντρωτική ευαισθησία και ειδικότητα ξεχωριστά για κάθε μία από τις μελέτες, με διάστημα εμπιστοσύνης 95% CI, το I^2 της ετερογένειας και οι τιμές καταφλιού για το διαχωρισμό των δυο πληθυσμών. Συγκεκριμένα, η τιμή της συγκεντρωτικής ευαισθησίας και της συγκεντρωτικής ειδικότητα είναι 0.84 [95% CI: 0.65 – 0.95] και 0.81 [95%CI: 0.48 – 0.95] αντίστοιχα. Η τιμή του I^2 για την ευαισθησία είναι 96.43 [95% CI: 78.95 – 97.04, Cochran's Q P = 0.00] και αντίστοιχα για την ειδικότητα είναι 74.65 [95% CI: 94.43 – 98.32, Cochran's Q P = 0.00]. Ο θετικός λόγος πιθανοφάνειας $LR+ = 2.24$ [95% CI: 1.12 – 4.46] και ο αρνητικός λόγος πιθανοφάνειας είναι $LR- = 0.45$ [95% CI: 0.24 – 0.85].

- midas tp fp fn tn, sroc(both)



Εικόνα 3.13. α) Ιεραρχική καμπύλη ROC (hsROC) του βιοδείκτη uNAG για την ακρίβεια διαχωρισμού των ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενών με νορμο-μικρολευκωματουρία από τους υγιείς.

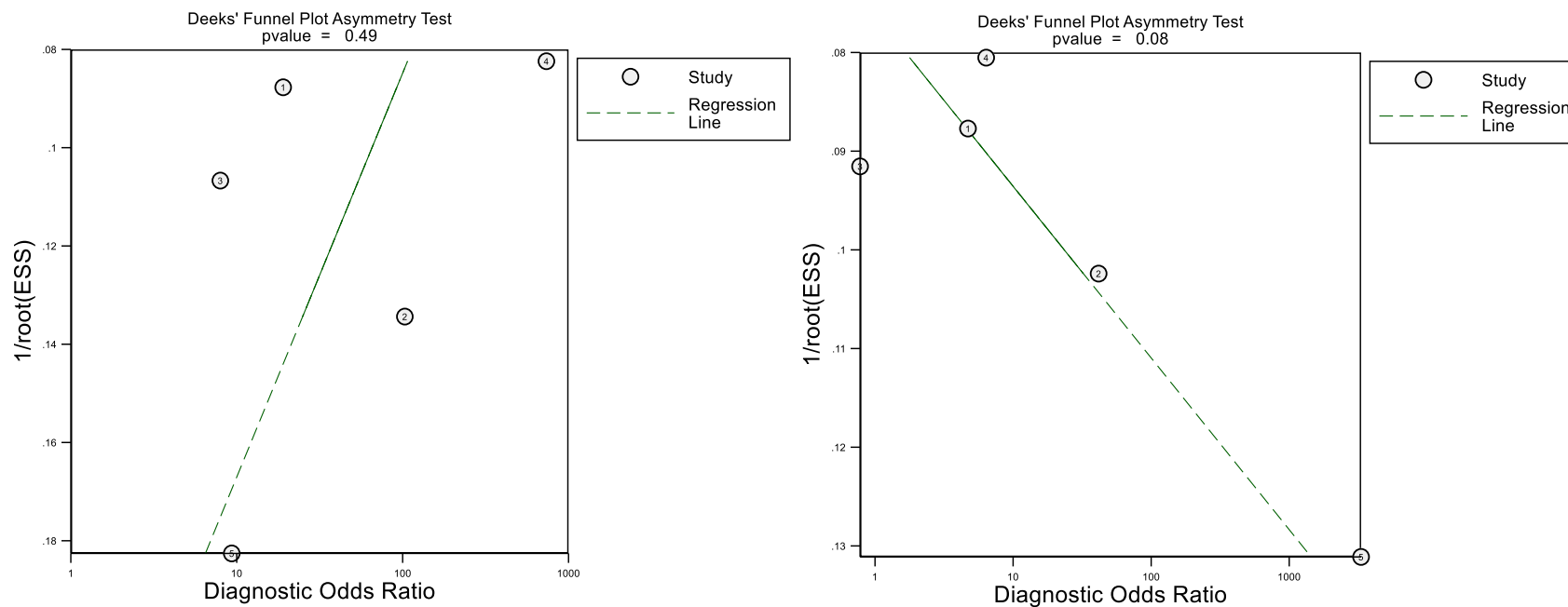
Στην εικόνα 3.13. α) απεικονίζεται η ιεραρχική καμπύλη ROC (hsROC) του uNAG για 5 μελέτες εξετάζοντας την ακρίβεια ανίχνευσης του ασθενή πληθυσμού με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 που παρουσιάζει νορμο-μικρολευκωματουρία από τον υγιή πληθυσμό. Η περιοχή κάτω από την καμπύλη ROC για το uNAG έχει εμβαδόν $AUC = 0.89$ [95% CI: 0.86 – 0.92]. Αντίστοιχα στην εικόνα 3.13. β) απεικονίζεται η ιεραρχική καμπύλη ROC (hsROC) του uNAG/Cr για 5 μελέτες, εξετάζοντας την ακρίβεια ανίχνευσης του ασθενή πληθυσμού με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 που παρουσιάζει νορμο-μικρολευκωματουρία από τον υγιή πληθυσμό. Η περιοχή κάτω από την καμπύλη ROC για το uNAG/Cr έχει εμβαδόν που ισούται με $AUC = 0.89$ [95% CI: 0.86 – 0.92].



Εικόνα 3.13. β) Ιεραρχική καμπύλη ROC (hsROC) του βιοδείκτη uNAG/Cr για την ακρίβεια διαχωρισμού των ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενών με νορμο-μικρολευκωματουρία από τους υγιείς.

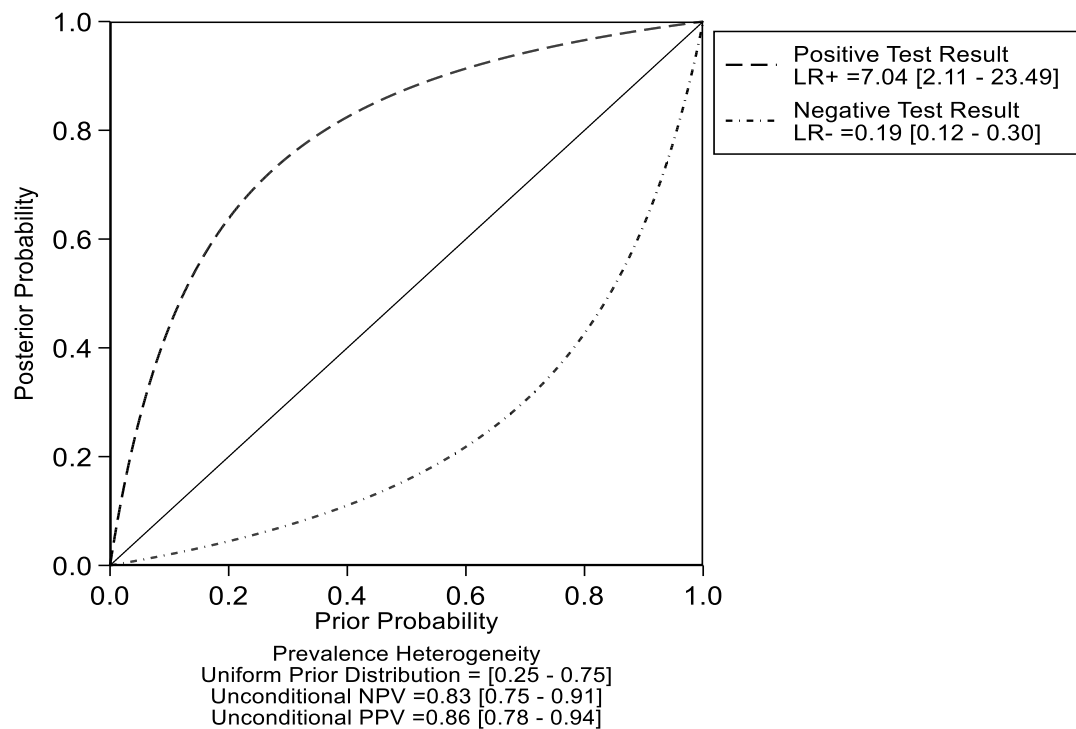
Στην εικόνα 3.14. απεικονίζεται η γραφική παράσταση του Deek για το uNAG με συμμετοχή 5 μελετών στην εικόνα α) και του uNAG/Cr με συμμετοχή 5 μελετών στην εικόνα β). Το γράφημα αξιολογεί το σφάλμα δημοσίευσης των μελετών για τη διάγνωση των ασθενών με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 οι οποίοι παρουσιάζουν νορμο-μικρολευκωματουρία, από τον υγιή πληθυσμό. Το p-value για το uNAG είναι ίσο με $p = 0.49$ και για το uNAG/Cr είναι ίσο με $p = 0.08$ αντίστοιχα.

- midas tp fp fn tn, pubbias



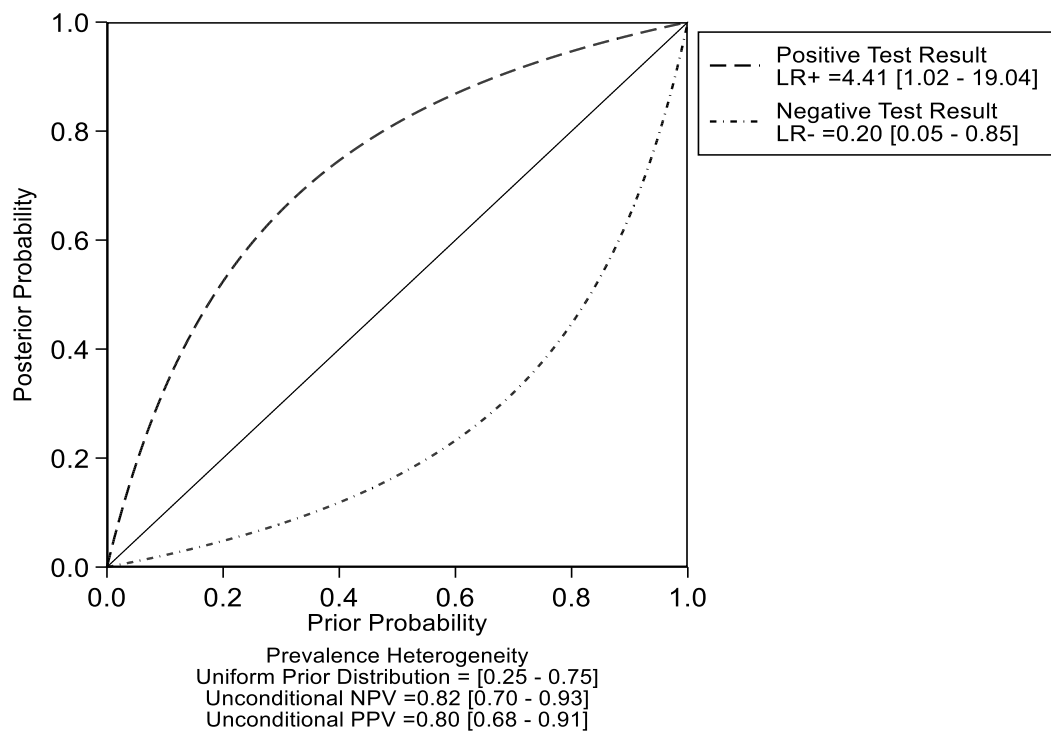
Εικόνα 3.14. Deek's plot του uNAG α) και uNAG/Cr για τη διάγνωση της νορμο-μικρολευκωματουρίας, οι υγιείς χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες έναντι των ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενών με νορμο-μικρολευκωματουρία.

- midas tp fp fn tn, pddam(0.25 0.75)



Εικόνα 3.15. α) Γράφημα πιθανότητας μετά την εξέταση του uNAG στη διάγνωση της νορμο-μικρολευκωματουρίας σε ασθενείς με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2.

Η εικόνα 3.15. α) αποτελεί γράφημα του uNAG που απεικονίζεται τη σχέση μεταξύ της πιθανότητας πριν και μετά τη δοκιμή και η εικόνα 3.15.β) αντίστοιχα το γράφημα του uNAG/Cr. Για το uNAG ο θετικός λόγος πιθανοφάνειας που υπολογίστηκε είναι $LR+ = 7.04 [95\% \text{ CI: } 2.11 - 23.49]$ και ο αρνητικός λόγος πιθανοφάνειας είναι $LR- = 0.19 [95\% \text{ CI: } 0.12 - 0.30]$. Αντίστοιχα, στην εικόνα 3.15. β) για το uNAG/Cr, ο θετικός λόγος πιθανοφάνειας που υπολογίστηκε είναι $LR+ = 4.13 [95\% \text{ CI: } 1.31 - 12.97]$ και ο αρνητικός λόγος πιθανοφάνειας είναι $LR- = 0.23 [95\% \text{ CI: } 0.08 - 0.70]$.



Εικόνα 3.15. β) Γράφημα πιθανότητας μετά την εξέταση του uNAG/Cr στη διάγνωση της νορμο-μικρολευκωματουρίας σε ασθενείς με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2.

Κεφάλαιο 4: Συζήτηση

Η παρούσα εργασία είχε ως σκοπό την εύρεση της διαγνωστικής ακρίβειας του βιοδείκτη NAG στην πρόβλεψη της διαβητικής νεφροπάθειας σε ασθενείς με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2. Ασχολήθηκε με την υλοποίηση της συστηματικής ανασκόπησης και μετα-ανάλυσης. Η συστηματική ανασκόπηση αποτελεί μια ποιοτική μέθοδο καθορισμού, η οποία εντοπίζει τις βέλτιστα σχεδιασμένες μελέτες που απαντούν σε ένα συγκριμένο ερευνητικό ερώτημα και έχουν επιλεγθεί βάση προκαθορισμένων κριτηρίων επιλογής και απόρριψης. Η μετα-ανάλυση αποτελεί μέρος της συστηματικής ανασκόπησης και αντιπροσωπεύει τη στατιστική ανάλυση των επιλεγμένων μελετών, εφαρμόζεται μέσω ποσοτικής μεθοδολογίας και οδηγεί σε ένα τελικό συγκεντρικό αποτέλεσμα που χαρακτηρίζει την στατική αξία των ευρημάτων. Η εφαρμογή της μετα-ανάλυσης στην παρούσα εργασία αφορά τον τομέα της κλινικής επιδημιολογίας σε μελέτες διαγνωστικής ακρίβειας.

Η μεθοδολογία και τα εργαλεία που χρησιμοποιήθηκαν, παρουσιάστηκαν αναλυτικά στο κεφάλαιο 2 της εργασίας. Ειδικότερα, το κεφάλαιο περιέχει τη διατύπωση του ερευνητικού ερωτήματος, τα κριτήρια αξιολόγησης των μελετών που επιλέχθηκαν από τη βάση δεδομένων, την εξαγωγή, τη σύνθεση και ερμηνεία των αποτελεσμάτων καθώς και όλες τις μεθόδους υπολογισμού και επεξεργασίας των δεδομένων που χρησιμοποιήθηκαν. Το κεφάλαιο 3 αποτελείται από τα δεδομένα που χρησιμοποιήθηκαν στη μετα-ανάλυση και τα αποτελέσματα που προέκυψαν ύστερα από την εφαρμογή των στατιστικών αναλύσεων μέσω του στατιστικού πακέτου STATA.

Η νόσος ενδιαφέροντος της παρούσας εργασίας, αποτελεί η διαβητική νεφροπάθεια (ΔΝ), η οποία θεωρείται κύρια αιτία της νεφρικής νόσου τελικού σταδίου και κρίσιμη επιπλοκή στην υγεία των ασθενών με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και τύπου 2 (ΣΔΤ1, ΣΔΤ2). Επομένως, κρίνεται ύψιστης αξίας η πρόβλεψη της νόσου σε πρώιμο στάδιο της εξέλιξης του. Όπως έχει αναφερθεί στο κεφάλαιο 1, η διάγνωση της ΔΝ πραγματοποιείται με τη μέτρηση και εκτίμηση της μικρολευκωματουρίας, ωστόσο σύγχρονες μελέτες αμφισβητούν και επαναξιολογούν τη διαγνωστική αξία της μεθόδου προτύπου, προτείνοντας μια διαφορετική προσέγγιση που αφορά τη χρήση συγκεκριμένων βιοδεικτών για τη πρώιμη διάγνωση της ΔΝ. Πολλές μελέτες, αποδεικνύουν ότι σε ορισμένο ποσοστό

διαβητικών ασθενών με μικρολευκωματουρία, η εξέλιξη της νόσου επιστρέφει σε προηγούμενη κατάσταση της νορμολευκωματουρίας, με εμφανώς μειωμένη ποσότητα λευκωματίνης στα ούρα. Επίσης, το γεγονός πως η παθογένεια της ΔΝ επηρεάζεται από τη σπειραματική και σωληναριακή βλάβη των νεφρών, οι οποίες μπορούν να εμφανιστούν ανεξάρτητα ως επιπλοκή, οι ερευνητές προτείνουν τη μελέτη νέων βιοδεικτών για την έγκυρη και έγκαιρη διάγνωση της νόσου. Ο βιοδείκτης NAG που μελετάται στην παρούσα εργασία είναι σωληναριακός βιοδείκτης και ερευνάται η διαγνωστική αξία του NAG στα ούρα (uNAG) και του uNAG/Cr σε ασθενείς με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2.

Η διαδικασία της μετα-ανάλυσης εφαρμόστηκε σε συγκεκριμένα δεδομένα που εξήχθησαν από τις επιλεγμένες μελέτες και τα κύρια αποτελέσματα παρουσιάζονται παρακάτω: Παρατηρήθηκε πως οι τιμές του uNAG και του λόγου uNAG/Cr από μετρήσεις στα ούρα των ασθενών, είχαν αυξητική πορεία όσο αυξάνονταν οι τιμές της λευκωματουρίας και μειωνόταν η τιμή του ρυθμού της σπειραματικής διήθησης (eGFR), η οποία υποδηλώνει τη σοβαρότητα της νεφρικής βλάβης και εξέλιξη της νόσου. Οι ασθενείς με μακρολευκωματουρία και υψηλότερο δείκτη σοβαρότητας της νόσου, εμφάνιζαν εξίσου υψηλές τιμές στις μετρήσεις του uNAG και του λόγου uNAG/Cr. Επίσης, παρατηρήθηκε η θετική συσχέτιση της UACR με το βιοδείκτη, όσο αυξανόταν η τιμή του UACR, εμφανίζονταν υψηλές συγκεντρώσεις uNAG και του λόγου uNAG/Cr από το αρχικό στάδιο της νόσου (νορμολευκωματουρία) μέχρι το επιδεινωμένο (μακρολευκωματουρία). Η παραπάνω κλινική εικόνα, υποστηριζόταν στις περισσότερες μελέτες που συμμετείχαν στη μετα-ανάλυση.

Σε όλες τις μελέτες που χρησιμοποιήθηκαν στη μετα-ανάλυση, ο καθορισμός της μικρολευκωματουρίας γινόταν με τον ίδιο τρόπο, βάση της μεθόδου αναφοράς δηλαδή τη εκτίμηση της έκκρισης λευκωματίνης-κρεατινίνης στα ούρα. Σύμφωνα με την ερμηνεία των forest plot, κάθε μια από τις κατηγορίες που αναλύθηκαν, υπήρξε σημαντική ετερογένεια στην ευαισθησία και στην ειδικότητα. Οι πιθανοί λόγοι ετερογένειας μεταξύ των μελετών μπορεί να οφείλονται στο σχεδιασμό και τις συνθήκες υλοποίησης της δοκιμασίας και στις διαφορές των πληθυσμών (όπως φυλή, ηλικία). Σημαντική μείωση της ετερογένειας παρατηρήθηκε στη σύγκριση του πληθυσμού των ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενών με νορμολευκωματουρία και του πληθυσμού των ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενών με μικρολευκωματουρία, συγκεκριμένα ο βαθμός ετερογένειας στην ευαισθησία και ειδικότητα μειώθηκε από

92% και 91% σε 69% αντίστοιχα, πιθανή αιτία είναι η κοινή διαδικασία εκτέλεσης από ακολουθήθηκε σε κάθε δοκιμασία.

Κατά τη διαδικασία της μετα-ανάλυσης δημιουργήθηκαν οι καμπύλες ROC για τα δείγματα που εξήχθησαν μέσω των οποίων αξιολογήθηκε η διαγνωστική αξία του βιοδείκτη, συγκεκριμένα εκτιμήθηκε η τιμή του εμβαδού της περιοχής κάτω από την καμπύλη (AUC). Η πρώτη ομάδα αξιολόγησης περιείχε ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενείς με νορμολευκωματουρία και τον υγιή πληθυσμό, η τιμή της AUC για το uNAG ήταν 0.89 και για το uNAG/Cr ήταν 0.97. Οι τιμές της AUC είναι υψηλές, υποδηλώνοντας την υψηλή διαγνωστική ακρίβεια για το διαχωρισμό των υγιών από τους ασθενείς με νορμολευκωματουρία. Αντίστοιχα, η δεύτερη ομάδα σύγκρισης περιείχε, ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενείς με νορμολευκωματουρία και ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενείς με μακρολευκωματουρία, η τιμή της AUC για το uNAG ήταν 0.74 και 0.88 για uNAG/Cr. Η τρίτη ομάδα σύγκρισης περιείχε τον υγιή πληθυσμό και ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενείς με νορμο-μικρολευκωματουρία, η τιμή της AUC για το uNAG και το uNAG/Cr ήταν ίση με 0.89. Επομένως οι τιμές διαγνωστικής ακρίβειας του uNAG και uNAG/Cr κυμαίνονταν από μέτριες μέχρι εξαιρετικές. Παρατηρείται, πως η διαγνωστική ακρίβεια του βιοδείκτη έχει την υψηλότερη τιμή στο διαχωρισμό του υγιή πληθυσμού από τους ασθενείς με ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 που παρουσιάζουν νορμολευκωματουρία. Το αποτέλεσμα αυτό, η αυξημένη ποσότητα συγκέντρωσης uNAG και uNAG/Cr, ενισχύει την υπόθεση ύπαρξης βλάβης στα σωληνάρια των νεφρών ακόμη και σε πρώιμο στάδιο της ΔΝ, πριν εμφανιστεί η παθολογική ποσότητα λευκωματουρίας, γεγονός που υποδηλώνει μια πολύ καλή διαγνωστική ακρίβεια του βιοδείκτη σε αυτή την κατηγορία. Σημαντική παρατήρηση είναι η καλύτερη απόδοση του uNAG/Cr στο διαχωρισμό των πληθυσμό και τη διάγνωση σε κάθε στάδιο της ΔΝ που μελετήθηκε.

Επιπροσθέτως, σύμφωνα με τα διαγράμματα του Deek, η μεροληψία δημοσίευσης ήταν απύσαστη στην πλειοψηφία των μελετών καθώς το p-value σε κάθε κατηγορία που αναλύθηκε κυμαινόταν από 0.16 έως 0.53. Το σφάλμα δημοσίευσης ήταν εμφανές σε μελέτες που υλοποιήθηκε ο συνδυασμός των ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενών με νορμολευκωματουρία με τους ασθενείς με μικρολευκωματουρία για το uNAG/Cr. Η μεροληψία αυτή μπορεί να προέκυψε λόγω έλλειψης διευκρίνησης μεθοδολογίας εκτίμησης των τιμών της μικρολευκωματουρίας σε ορισμένες μελέτες.

Όπως προέκυψε και από την ποιοτική αξιολόγηση QUADAS, ο ασαφής κίνδυνος μεροληψίας σε μερικές μελέτες σχετικά με την επιλογή των ασθενών οφείλονταν στην έλλειψη πληροφοριών για τα χαρακτηριστικά των ασθενών με νορμολευκωματουρία και μικρολευκωματουρία όπως είναι ο συνολικός αριθμός συμμετοχής των ασθενών, η ηλικία και το φύλο τους.

Εν κατακλείδι, τα τελικά αποτελέσματα της συστηματικής ανασκόπησης και μετα-ανάλυσης υποδεικνύουν ότι το uNAG είναι ένας υποσχόμενος και καλός βιοδείκτης και το uNAG/Cr (κανονικοποιημένο με την κρεατινίνη) είναι ένας εξαιρετικός βιοδείκτης για την πρόμνη και έγκυρη διάγνωση της διαβητικής νεφροπάθειας σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και τύπου 2. Σύμφωνα με τα ευρήματα της μετα-ανάλυσης το uNAG/Cr εμφανίζει μεγαλύτερη απόδοση και στις 3 κατηγορίες που πραγματοποιήθηκε η ανάλυση συγκριτικά με το uNAG ούρων, και ειδικότερα η εξαιρετική απόδοση παρατηρήθηκε στην κατηγορία διαχωρισμού του υγρή πληθυσμού από τους ΣΔΤ1 και ΣΔΤ2 ασθενείς με νορμολευκωματουρία.

Βιβλιογραφία

- [1] World Health Organization, WHO, «About Diabetes,» 4 April 2014.
- [2] WHO, World Health Organization, «Diabetes,» *Fact Sheets*, March 2013.
- [3] OpenStax, Rice University, «GROSS ANATOMY OF THE KIDNEY,» σε *Anatomy and Physiology*, OpenStax, 2013.
- [4] A. K. Lim, «Diabetic nephropathy – complications and treatment,» *International Journal of Nephrology and Renovascular Disease*, 2014.
- [5] C. K. C. a. E. V. C E Mogensen, «The Stages in Diabetic Renal Disease: With Emphasis on the Stage of Incipient Diabetic Nephropathy,» *American Diabetes Association*, June 1983.
- [6] Chaudhary Muhammad Junaid Nazar. Department of Endocrinology, University of Buckingham, Royal Gwent Hospital, NHS Trust, Wales, UK, «Diabetic nephropathy; principles of diagnosis and treatment of diabetic kidney disease,» *Journal of Nephro pharmacology*, 2014.
- [7] American Diabetes Association, «Nephropathy in diabetes (Position Statement),» σε *Diabetes Care* 27, 2004, p. (Suppl.1):S79 – S83.
- [8] European Diabetes Policy Group, «A desktop guide to type 2 diabetes. *Diabet Med*,» 1999.
- [9] American Diabetes Association, «Diabetic Nephropathy: Diagnosis, Prevention, and Treatment,» *Diabetes Care* 28:176 –188, 2005.
- [10] P. F. a. M. M. M. Luiza Caramori, «The Need for Early Predictors of Diabetic Nephropathy Risk. Is Albumin Excretion Rate Sufficient?,» σε *Perspectives in Diabetes*, 2000.
- [11] G. M. C. D. Gemma Currie, «Biomarkers in diabetic nephropathy: Present and future,» *World of Journal Diabetes*, 15 December 2014.
- [12] S. N. Uwaezuoke, «The role of novel biomarkers in predicting diabetic nephropathy: a review,» *International Journal of Nephrology and Renovascular Disease*, 17 August 2017.
- [13] Uwaezuoke, Samuel N , «The role of novel biomarkers in predicting diabetic nephropathy: a review,» σε *International Journal of Nephrology and Renovascular Disease*, 2017.
- [14] Biomarkers Definitions Working Group, «Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework,» σε *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, Bethesda, Md, 2001, pp. 89-92.
- [15] Silver Spring (MD) Food and Drug Administration (US); Bethesda (MD): National Institutes of Health (US), BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource, USA, 2016.
- [16] Robb, M. A., McInnes, P. M., & Califf, R. M., «Biomarkers and Surrogate Endpoints: Developing Common Terminology and Definitions,» *JAMA*, pp. 1-2, 15 March 2016.
- [17] U. FDA, «Biomarker Qualification Program: Biomarker Guidances and Reference Materials».
- [18] M. P. Michael Berk, «The Classification of Biomarkers,» *JAMA Psychiatry*, p. 1, 9 September 2015 .
- [19] H. M. C. & M. L. Marcovecchio², «Biomarkers of diabetic kidney disease,» *Diabetologia*, 2018.
- [20] M. F. V.S. Vaidya, «Renal Toxicology,» σε *Comprehensive Toxicology*, USA, Elsevier Science, 2010, p. 6448.

- [21] Wen X., Kellum J.A, Encyclopedia of Intensive Care Medicine, N-Acetyl-beta-D-Glucosaminidase (NAG), Springer, Επιμ., Vincent JL., Hall J.B. , 2012.
- [22] R. H. R. B. K. M. K. Kalahasthi RB, «Urinary N-acetyl-beta -D-glucosaminidase and its isoenzymes A & B in workers exposed to cadmium at cadmium plating,» *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, 20 July 2007.
- [23] 2014 Pearson Education, Inc.
- [24] E. Z. R. G. R. D. S. D. M. T. Westhuyzen J, «Measurement of tubular enzymuria facilitates early detection of acute renal impairment in the intensive care unit,» *Nephrol Dial Transplant*, 2003.
- [25] P. D. H. J. M. G. P. F. J. H. P. T. K. A. Herget-Rosenthal S, «Prognostic value of tubular proteinuria and enzymuria in nonoliguric acute tubular necrosis,» σε *Clin Chem*, 2004.
- [26] N. N. a. A. T. a. M. S. Gehan Sheira, «Urinary biomarker N-acetyl-β-D-glucosaminidase can predict severity of renal damage in diabetic nephropathy,» *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, 2015.
- [27] b. Y.-h. L. (. P. S.-G. L. (-S. C. (. P. J.-H. K. (. P. So Ra Kim (MD)a, «Urinary N-acetyl-b-D-glucosaminidase, an early marker of diabetic kidney disease, might reflect glucose excursion in patients with type 2 diabetes,» *Observational Study*, 26 February 2016.
- [28] B. Z. K. R. Z. L. Ali Mohammad Sharifi, «Urinary N-acetyl-β-D-glucosaminidase (NAG) activity in the early detection of diabetic nephropathy,» *Int J Diabetes Dev Ctries*, 4 February 2015.
- [29] J. M. Last, A Dictionary of Epidemiology - Fourth Edition, 2001.
- [30] U.S. Department of Health and Human Services, Principles of Epidemiology in Public Health Practice.
- [31] J. R. Paul, «President's Address Clinical Epidemiology,» 1938.
- [32] P. P. T. P. A. Knottnerus, *Journal of Clinical Epidemiology*, 1988.
- [33] «ROC curve analysis,» σε *MedCalc*.
- [34] J. M. B. Douglas G Altman, «Diagnostic tests 1: sensitivity and specificity,» 1994.
- [35] E. A. H. H J van der Helm, «Application of Bayes's theorem to results of quantitative clinical chemical determinations.,» June 1979.
- [36] D. G. F. W. E. John R. Thornbury, «Likelihood Ratios as a Measure of the Diagnostic Usefulness of Excretory Urogram Information,» 1 March 1975.
- [37] M. Gardner και D. G. Altman, *Statistics with confidence: confidence intervals and statistical guidelines*, London, 2000.
- [38] Ana-Maria Šimundić Department of Molecular Diagnostics, «Measures of diagnostic accuracy: basic definitions,» University Department of Chemistry, Sestre milosrdnice University Hospital, Zagreb, Croatia, 2008.
- [39] E. J.P., *Signal detection theory and ROC analysis*, Series in Cognition and Perception, New York: Academic Press, 1975.
- [40] H. B. D. J. W. E. Armstrong R, «Cochrane Update. "Scoping the scope' of a cochrane review",» *Journal of Public Health*, March 2011.
- [41] I. A. M. W. a. L. V. H. Andy P. Siddaway, «How to Do a Systematic Review: A Best Practice Guide for Conducting and Reporting Narrative Reviews, Meta-Analyses, and Meta-Syntheses,» *Annual Review of Psychology*, January 2019.
- [42] Khalid S Khan MB MSc Regina Kunz MD MSc1 Jos Kleijnen MD PhD2 Gerd Antes PhD3, «Five steps to conducting a systematic review,» *JOURNAL OF THE ROYAL SOCIETY OF MEDICINE*, March 2003.
- [43] K. A. S. D. M. Y. F. M. D. N. H. T. N. D. K. A. M. A. & N. T. H. Gehad Mohamed Tawfik, «A step by step guide for conducting a systematic review and meta-analysis with simulation data,» *Tropical Medicine and Health*, July 2019.

- [44] A. D. T. J. M. C. G. P. I. J. C. M. D. P. K. J. M. D. Liberati A1, «The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration.,» p. 108, 2009.
- [45] A. W. R. J. B. R. M. B. a. J. K. Penny Whiting*1, «The development of QUADAS: a tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews,» *BMC Medical Research Methodology*, 10 November 2003.
- [46] A. W. R. J. B. R. M. B. a. J. K. Penny Whiting*1, «The development of QUADAS: a tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews,» *BMC Medical Research Methodology*, p. 13, 10 November 2003.
- [47] K. J. Rothman, S. Greenland και T. L. Lash, *Modern Epidemiology*, 3rd Edition, 2008.
- [48] H. AB, «Meta-analysis in medical research,» *HIPPOKRATIA*, pp. 29-37, 2010.
- [49] H. K. EunJin Ahn, «Introduction to systematic review and meta-analysis,» *Korean Journal of Anesthesiology*, 7 April 2018.
- [50] Y. H. Lee, «An overview of meta-analysis for clinicians,» *Korean J Intern Med*, 2018.
- [51] M. C. F. A. M. B. M. C. F. Abdul Ghaaliq Lalkhen, *Statistics V: Introduction to clinical trials and systematic reviews*, 20088.
- [52] C. Hedges, «Panning for Gold: In Search of the Meta-analysis.,» *AACN advanced critical care*, 2009.
- [53] D. C. Hoaglin, «Misunderstandings about Q and ‘Cochran’s Q test’ in meta-analysis,» *Statistics in Medicine*, 24 August 2015.
- [54] S. G. T. J. J. D. D. G. A. Julian P T Higgins, «Measuring inconsistency in meta-analyses,» *Education and debate*, 2003.
- [55] K. Kelley και K. J. Preacher, «On Effect Size,» *Psychological Method*, pp. 137-152, 2012.
- [56] L. J. Zintzaras E, «Synthesis of genetic association studies for pertinent gene-disease associations requires appropriate methodological and statistical approaches.,» *Journal of Clinical Epidemiology*, pp. 634-645, 2008.
- [57] Higgins JPT, Green S, *The Cochrane Collaboration, Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*, Julian PT Higgins and Sally Green, 2011.
- [58] P. Sedgwick, «Meta-analyses: how to read a funnel plot.,» *BMJ*, 2013.
- [59] F. Schoonjans, *MedCalc manual: Easy-to-use statistical software*, Independently published, 2017.
- [60] J. J. M. P. & I. L. Deeks, «The performance of tests of publication bias and other sample size effects in systematic reviews of diagnostic test accuracy was assessed,» *Journal of Clinical Epidemiology*, 2005.
- [61] J. Y. R. H. C. J. H. X. Y. Y. Z. a. Y. H. Zhen Weng, «Prognostic Value of LGE-CMR in HCM: A Meta-Analysis,» *JACC: Cardiovascular Imaging*, 12 December 2016.
- [62] 2. J. W. W. Z. J. M. P. H. Y. C. Xinxin Yin1, «Diagnostic performance of coronary computed tomography angiography versus exercise electrocardiography for coronary artery disease: a systematic review and meta-analysis,» *The Journal of Thoracic Disease*, July 2016.
- [63] L. A. T. J. A. D. Moher D, «Preferred Reporting Items for systematic Analyses: The PRISMA Statement,» *PLoS Med*, 2009.
- [64] K. R. A. A. J. S. P. C. L. & J. R. T. Richard D Riley, «Bivariate random-effects meta-analysis and the estimation of between-study correlation,» *BMC Medical Research Methodology*, January 12 2007.
- [65] S. D. L. B. Moses LE, «Combining independent studies of a diagnostic test into a summary ROC curve: data- analytic approaches and some additional considerations.,» *Stat Med*, 1993.

- [66] P. K. W. K. M. P. S. H. C. M. J. H. M. H. P. M. P. Juneyoung Lee, «Systematic Review and Meta-Analysis of Studies Evaluating Diagnostic Test Accuracy: A Practical Review for Clinical Researchers–Part II. Statistical Methods of Meta-Analysis,» *Korean Journal of Radiology*, 2015.
- [67] S. D. Walter, «The partial area under the summary ROC curve,» *Statistics in Medicine*, July 2005.
- [68] A. M. B. P. Dimou NL, «A multivariate method for meta-analysis and comparison of diagnostic tests,» *Stat Med*, 10 Sep 2016.
- [69] W. Youden, «"Index for rating diagnostic tests",» *ACS Journals*, 1950.
- [70] T. J. C. J. C. M. L. T. P. M. W. V. Higgins JPT, *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*, 2019.
- [71] B. D. a. I. H. S.P. Hozo, «Estimating the Mean and Variance from the Median, Range, and the Size of a Sample,» *BMC Medical Research Methodology*, pp. 5-13, 2005.
- [72] S. A. G. A. L. A. C. Mathilde Fre´rot, «What is epidemiology? Changing definitions of epidemiology 1978-2017,» *PLOS ONE*, 10 December 2018.
- [73] N. Pearce, *Classification of epidemiological study designs*, International Journal of Epidemiology, 2012.
- [74] S. H. J. B. B. S. B. S. B. R. D. A. A. Chalmers TC, «A method for assessing the quality of a randomized control trial,» *Controlled Clinical Trials*, 1981.
- [75] S. G. a. H. Morgenster, «Classification Schemes For Epidemiologic Research Designs,» 1988.
- [76] Girish Singh, Ph.D. Biostatistics Unit, Department of Basic Principles, Institute of Medical Sciences, Banaras Hindu University, «Determination of Cutoff Score for a Diagnostic Test».
- [77] C.-G. Guo, R. Ji και Y.-Q. Li, «Deeks’ funnel plot to evaluate publication bias,» *PLOS ONE*, 2015.
- [78] B. D. & I. H. Stela Pudar Hozo, «Estimating the mean and variance from the median, range, and the size of a sample,» *BMC Medical Research Methodology*, 2005.