



Biofarmaceutyki – podstawowe narzędzie nowoczesnej farmakoterapii

Roman Kaliszan, Justyna Długokęcka

Katedra Biofarmacji i Farmakodynamiki, Akademia Medyczna, Gdańsk

Biopharmaceuticals – a basic tool of modern pharmacotherapy

Summary

Current status of innovative drug industry is briefly presented with emphasis on new biopharmaceuticals introduced in the years 1995-2007. Adverse effects and problems of safety and effectiveness of these pharmacotherapeutics are reviewed. A separate part of the manuscript is devoted to the newly introduced methods of molecular diagnostics based on pharmacogenomics and employed in personalized medicine. Theranostic approach consisting in a joint use of drugs and companion diagnostics are characterized.

Key words:

biopharmaceuticals, drug development, adverse effect, pharmacotherapy optimization, personalized medicine, diagnostic tests, biomarkers, theranostics.

1. Wstęp

Rozwój naukowych podstaw farmakoterapii, zapoczątkowany na początku XX w. przez Paula Ehrlicha, zrewolucjonizował medycynę. Druga fala postępu rozpoczęła się we wczesnych latach 80. XX w. wraz z wprowadzeniem produktów nowoczesnej biotechnologii opartej na inżynierii genetycznej.

Poszukiwanie nowatorskich leków jest obecnie procesem bardzo kosztownym i czasochłonnym. Według szacunków Tufts Center for the Study of Drug Development koszt wprowadzenia oryginalnego leku dochodzi do 1,3 mld USD, proces zajmuje 10-15 lat, a prawdopodobieństwo sukcesu wynosi jeden lek na 5000 związków poddawanych badaniom przedklinicznym.

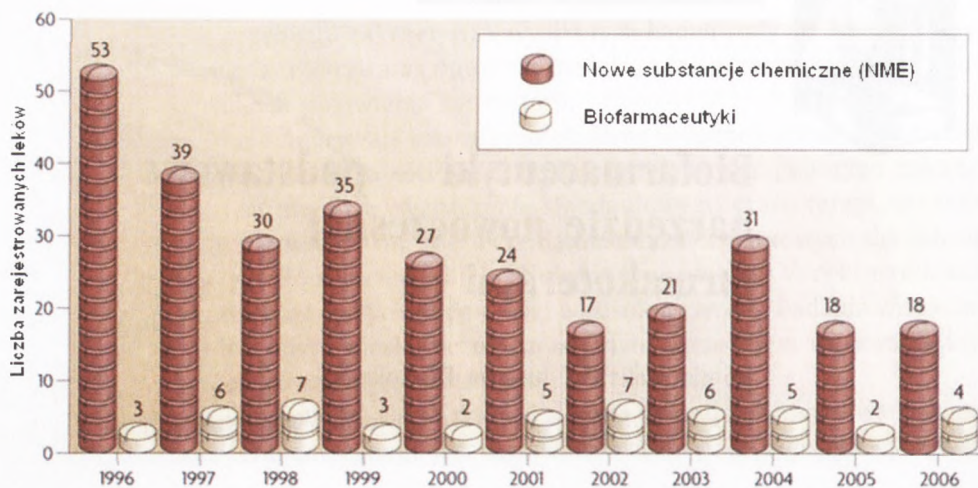
Adres do korespondencji

Roman Kaliszan,
Katedra Biofarmacji
i Farmakodynamiki,
Akademia Medyczna,
ul. Gen. J. Hallera 107,
80-416 Gdańsk;
e-mail:
roman.kaliszan@amg.gda.pl

biotechnologia

MONOGRAFIE

5 (2009)



Rys. 1. Leki zarejestrowane przez FDA w latach 1996-2006 według Owensa (1).

Mimo olbrzymich nakładów na prace badawczo-rozwojowe (około 60 mld USD w 2007 r.) w ostatnich latach obserwuje się wyraźną stagnację w zakresie wprowadzania nowatorskich leków (rys. 1) (1,2).

W roku 2006 amerykańska Agencja Żywności i Leków (FDA) zarejestrowała 18 nowych leczniczych substancji chemicznych (NME, ang. *New Medicinal Entities*) oraz cztery oryginalne preparaty biotechnologiczne: alglukozydazę alfa, ranibizumab, idursulfazę i panitumumab (tab. 1).

Tabela 1

Nowe substancje chemiczne (NME) i preparaty biologiczne zarejestrowane przez FDA w 2006 r. według Owensa (1)

Nowe substancje chemiczne (NME) Nazwa rodzajowa (nazwa handlowa)	Producent	Wskazania	Sposób działania
1	2	3	4
Sunitinib maleate (Sutent)	Pfizer	odporne na imatinib nowotwory podścieliska przewodu pokarmowego oraz zaawansowane nowotwory nerki	inhibitor kinazy wielocelowej
Ranolazine (Ranexa)	CV Therapeutics	przewlekła choroba niedokrwienna serca	czynnik przeciw dusznicy i przeciw niedokrwieniu
Lubiprostone (Amitiza)	Sucampo	zaparcia; kandydazy przełykowe	inhibitor kanałów chlorkowych
Anidulafungin (Eraxis)	Vicuron	kandydazy przełykowe	inhibitor syntezy ścian komórkowych grzybów

1	2	3	4
Decitabine (Dacogen)	MGI Pharma	syndrom mielodysplastyczny	czynnik demetylujący
Varenicline (Chantix)	Pfizer	rzucenie palenia	częściowy agonista receptora nAch
Rasagiline mesylate (Azilect)	Teva	choroba Parkinsona	inhibitor MAO B
Darunavir (Prezista)	Tibotec	HIV	inhibitor proteaz
Dasatinib (Sprycel)	Bristol-Myers	przewlekła białaczka szpikowa	inhibitor kinazy tyrozynowej
Avobenzone, ecamsule and octocrylene (Anthelios SX)	L'Oreal	ochrona p/słoneczna	filtry UVA/UVB
Posaconazole (Noxafil)	Schering	infekcje szczepami <i>Aspargillus</i> i <i>Candida</i>	inhibitor syntezy ścian komórkowych grzybów
Biscalcitrato potassium, metronidazole, tetracycline hydrochloride (Pylera)	Axcan Scandipharm	wrzody żołądka i dwunastnicy	eradykacja <i>Helicobacter pylori</i>
Vorinostat (Zolinza)	Merck	skórny chłoniak z limfocytów T	inhibitor deacetyazy histonowej
Sitagliptin phosphate (Januvia)	Merck	cukrzyca typu 2	inhibitor DPP4
Ciclesonide (Omnaris)	Altana	alergiczy nieżyt nosa	kortykosteroid
Telbivudine (Tyzeka)	Idenix	zapalenie wątroby typu B	inhibitor odwrotnej transkryptazy
Kunecatechnis (Veregen)	MediGene	brodawki zewnętrzne narządów płciowych i okołoodbytnicze	antyoksydant
Paliperidone (Invega)	Janssen	schizofrenia	antydepresant
Preparaty biologiczne			
Alglucosidase alfa (Myozyme)	Genzyme	niedobór α -glukozydazy	enzymatyczna terapia zastępcza
Ranibizumab (Lucentis)	Genentech	wysiękowe starcze zmiany zwyrodnieniowe płamki żółtej	fragment przeciwciała anti-VEGF
Idursulfase (Elaprase)	Shire Human Genetic Therapies	syndrom Huntera (mukopolisacharydoza II)	enzymatyczna terapia zastępcza
Panitumumab (Vectibix)	Amgen	nadekspresja receptorowego nabłonkowego czynnika wzrostu (EGFR) w przerzutowym nowotworze jelita grubego	przeciwciała anti-EGFR

W 2007 r. FDA zaaprobowała 26 nowych farmakoterapeutyków, w tym 10 pochodzenia biologicznego (3). Wśród nowych leków był maraviroc (Selzentry™) przeciwko CCR5-tropowej infekcji HIV-1 i lapatinib (Tykerb®) do stosowania przeciw rakowi piersi w skojarzeniu z preparatem Xeloda®. W roku 2008 zostało zarejestrowanych w USA 18 NME (plus trzy preparaty diagnostyczne) oraz 6 biofarmaceutyków (plus 7 szczepionek) (4). Wśród nowych biofarmaceutyków wymienić można romiplostin do leczenia trombocytopenii idiopatycznej oraz certolizumab pegol dla

dorosłych chorych na chorobę Crohna, którzy nie reagują na terapię konwencjonalną.

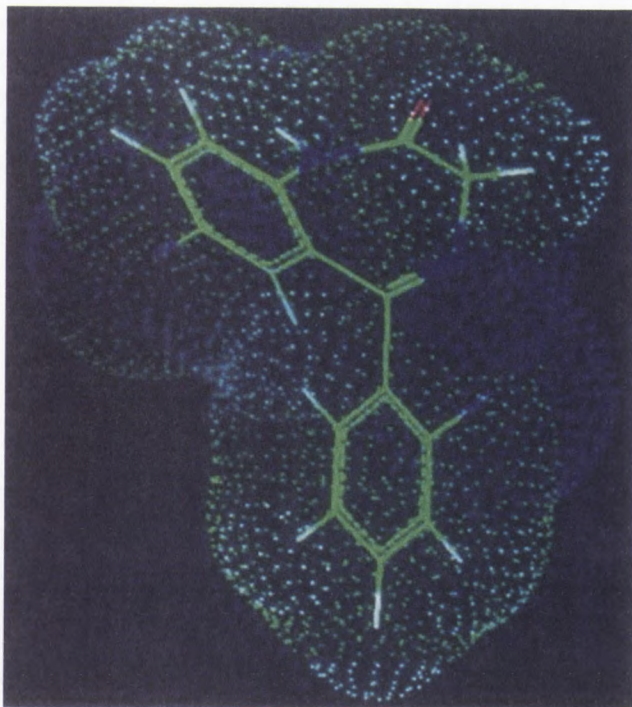
Klasyfikacja produktów farmaceutycznych wyraźnie rozróżnia substancje o jednoznacznie określonej strukturze chemicznej, otrzymywane na drodze syntetycznej, od związków leczniczych o możliwej niejednorodności wynikającej z procedur pozyskiwania (tab. 2).

Tabela 2

Klasyfikacja produktów farmaceutycznych

Substancje o jednoznacznie określonej budowie chemicznej: Związki małowcząsteczkowe syntetyczne	
Substancje mało- lub średniocząsteczkowe o możliwej niejednorodności wynikającej z procedur otrzymywania:	
peptydy	
polinukleozydy	
produkty fermentacji	
substancje półsyntetyczne	
substancje pochodzenia roślinnego	
Biofarmaceutyki	
Otrzymywane według technologii standardowych	Otrzymywane według technologii zaawansowanych
szczepionki	przeciwciała monoklonalne
preparaty z krwi	białka rekombinowane
toksyny	cytokiny
surowice lecznicze	białka funkcyjne
enzymy	hormony
	komórki macierzyste
	komórki autologiczne, allogeniczne, ksenogeniczne
	szczepionki DNA
	wektory wirusowe
	geny terapeutyczne

Związki małowcząsteczkowe, jak przedstawiono na rysunku 2 pochodna benzodiazepiny, mogą być otrzymywane i charakteryzowane w sposób w pełni powtarzalny. Dlatego wypełnienie wymogu biorównoważności dla produktów farmaceutycznych opartych na tych substancjach umożliwia ich bezpieczną zamienność jako preparatów generycznych. Nie jest to oczywiste w przypadku substancji mało- i średniocząsteczkowych otrzymywanych na bazie surowców naturalnych. Pojęcie generyku (biogeneryku) nie stosuje się do leków produkowanych metodami biotechnologicznymi, zarówno klasycznymi jak wykorzystującymi inżynierię genetyczną. W najlepszym razie można mówić o lekach biopodobnych, które wymagają indywidualnych specyficznych badań klinicznych (5,6).



Rys. 2. Kontur molekularny leku małowcząsteczkowego.



Rys. 3. Model biomakrocząsteczki herceptyny. Reprodukacja za zgodą F. Hoffmann-La Roche Ltd, Basel, Szwajcaria.

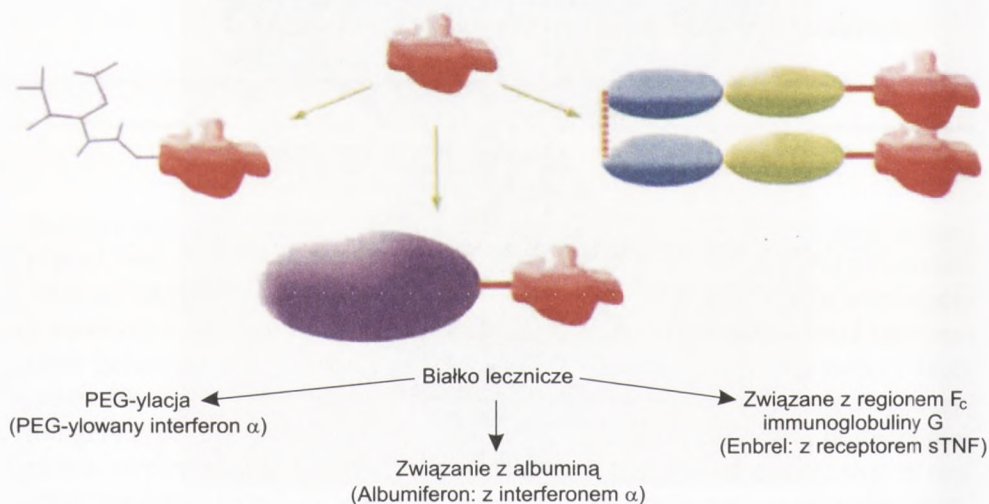
Biofarmaceutyki charakteryzują się skomplikowaną strukturą trzecio- i czwartorzędową, niewystępującą w przypadku związków małowymiarowych. Przedstawiony na rysunku 3 model molekularny białka leczniczego herceptyny tworzą setki fragmentów aminokwasowych, z których każdy (zaznaczony jako obły obiekt składowy) odpowiada wielkością cząsteczce benzodiazepiny, jak na rysunku 2. Struktura herceptyny jest finezyjna i plastyczna. Naturalna jest, jak się wydaje, jej zmienność w zależności od subtelnych różnic warunków wytwarzania.

2. Nowe biofarmaceutyki

Preparaty pochodzenia biotechnologicznego znajdują się w obrocie farmaceutycznym od 1982 r., kiedy została wprowadzona rekombinowana insulina. Białka rekombinowane, identyczne z natywnymi białkami ludzkimi, stały się wkrótce podstawą terapii substytucyjnej wielu chorób.

Dążenie do ulepszenia właściwości farmakoterapeutycznych biofarmaceutyków, zwłaszcza poprawa farmakokinetyki, zaowocowało białkami leczniczymi II generacji (7,8). Przedłużenie biologicznego okresu półtrwania, a zatem zmniejszenie częstotliwości podawania leku i kosztów terapii, osiągnięto przez wiązanie biofarmaceutyku z polimerami, zwłaszcza z polietylenoglikolem (pegylacja), białkami krwi, zwłaszcza z albuminą surowicy krwi ludzkiej, i przez fuzję z regionem Fc bardzo trwałej biologicznie immunoglobuliny G1 (białka hybrydowe) (rys. 4).

W latach 1995-2007 w USA (FDA) i w Unii Europejskiej (EMA, ang. *European Medicines Evaluation Agency*) zarejestrowano 174 nowe substancje biopochodne (tab. 3) (9).



Rys. 4. Leki białkowe II generacji: poprawa farmakokinetyki ($t_{1/2}$).

Tabela 3

Preparaty biopochodne zatwierdzone pomiędzy styczniem 1995 a czerwcem 2007 r. według klas terapeutycznych

Preparaty biopochodne stosowane w leczeniu układów	Stany Zjednoczone (n = 136)	Unia Europejska (n = 105)
przewód pokarmowy i metabolizm		
insulina i odpowiedniki	10	24
inne środki działające na przewód pokarmowy oraz metabolizm	6	7
krew i układ krwiotwórczy		
czynniki antytrombotyczne	13	9
witamina K oraz inne hemostatyki	12	9
inne preparaty przeciwanemiczne	1	4
inne czynniki hematologiczne	4	0
układ sercowo-naczyniowy	1	0
środki dermatologiczne	1	1
układ moczowo-płciowy oraz hormony płciowe		
gonadotropiny oraz inne stymulatory owulacji	7	4
ogólnoustrojowe preparaty hormonalne, wyłączając hormony płciowe i insulinę		
hormony przedniego płata przysadki oraz analogi	13	4
hormony trzustki	2	0
wapniowe środki homeostatyczne	2	2
środki działające ogólnoustrojowo w chorobach infekcyjnych		
immunoglobuliny	15	2
środki przeciwnowotworowe oraz czynniki immunomodulujące		
cytokiny i immunomodulatory	9	12
czynniki immunosupresyjne	12	11
inne czynniki przeciwnowotworowe	8	5
układ mięśni szkieletowych	2	3
układ oddechowy	3	1
narządy czuciowe	2	1
inne	13	6

ogółem 174 nowe preparaty: 136 w USA i 105 w UE; niektóre zarejestrowano równocześnie w USA i UE (9).

Niektóre biofarmaceutyki wprowadzone do terapii do roku 2003 zostały uwzględnione w pracy Jareckiej i Borowicza opublikowanej w „Biotechnologii” w 2005 r. (10). Celem obecnego opracowania jest aktualizacja wiedzy ze szczególnym ukierunkowaniem na problematykę bezpieczeństwa i osobniczej optymalizacji farmakoterapii z użyciem biofarmaceutyków w kontekście personalizowanej medycyny (ang. *Personalized Medicine*).

W 2008 r. w badaniach klinicznych lub w trakcie procedury rejestracyjnej FDA znajdowały się 633 leki biotechnologiczne, w tym 254 preparaty przeciwrakowe, 162 przeciw chorobom zakaźnym, 59 przeciw chorobom autoimmunologicznym i 34 przeciwko HIV/AIDS (9). Niemniej jednak, w świecie medycznym pojawiają się opinie, że nisko rosnące owoce zostały już zerwane i szansa na rewelacje farmaceutyczne, tzw. *blockbuster drugs* w rodzaju rh-EPO czy alteplazy, stają się niewielkie. Dlatego przełomowego postępu w medycynie oczekuje się dzisiaj głównie poprzez rozwój farmakoterapii dostosowanej indywidualnie do reaktywności poszczególnych pacjentów uwarunkowanych genetycznie.

W trakcie rozwoju biologii molekularnej wykształciła się farmakogenomika, która jest nauką określającą wpływ zróżnicowania genetycznego na reakcje fizjologiczne na poszczególne leki. Farmakogenomika charakteryzuje pacjentów pod względem różnic w zakresie absorpcji leków, ich wiązania z białkami krwi, metabolizmu, wydalania, a także efektów farmakodynamicznych i terapeutycznych (11).

Na podstawie informacji farmakogenomicznych można zidentyfikować pacjentów, którzy są bardziej podatni na niepożądane działania danego leku i takich, którzy są bardziej predysponowani do uzyskania szczególnych korzyści terapeutycznych po jego zastosowaniu. Znajomość farmakogenomiki daje możliwość indywidualnego zaprojektowania optymalnego dawkowania oraz ustalania farmakoterapii celowanej dla danego pacjenta. Na przykład, w zależności od genetycznie uwarunkowanego zróżnicowania enzymów reagujących z warfaryną można dobierać dawkowanie tak, aby utrzymywać poziom antykoagulacyjny, a nie przekraczać stężeń toksycznych. Możliwości przekroczenia szczególnie wąskiego dla warfaryny zakresu stężeń terapeutycznych wynikają z odmienności białka receptorowego, czyli reduktazy epoksydu witaminy K (VKORC1) lub enzymu metabolizującego, czyli cytochromu P450 (genu CYP2C9).

3. Problematyka bezpieczeństwa przy stosowaniu biofarmaceutyków

Leki biotechnologiczne są generalnie mało toksyczne ze względu na identyczność bądź wybitne podobieństwo do substancji naturalnie występujących w organizmie. Ich skomplikowana struktura gwarantuje też szczególną wybiórczość działania. W przeciwieństwie do małowystępkowych ksenobiotyków, jakimi są leki pochodzenia chemicznego, biofarmaceutyki nie powinny wywoływać mutagenyzy czy karcynogenyzy chemicznej. Jednakże, specyficzny dla biofarmaceutyków, a zwłaszcza ich zanieczyszczeń biologicznych, jest problem immunogenności.

Biofarmaceutyki są stosunkowo nową klasą leków. W związku z tym obserwacje działań niepożądanych w trakcie tzw. IV fazy badań klinicznych są prowadzone od niedawna. Dotyczy to zwłaszcza najnowszych preparatów. Instytucje kontroli obrotu lekami w Stanach Zjednoczonych i w Unii Europejskiej, odpowiednio: FDA i EMEA, przedstawiają systematyczne raporty na temat bezpieczeństwa stosowania

leków. Odnośnie do preparatów biotechnologicznych zarejestrowanych w USA i UE w latach 1995-2007 (174 – z wyłączeniem szczepionek, alergenów i półproduktów do transfuzji) ostrzeżenia przed ewentualnymi efektami niepożądanymi zawarte zostały w specjalnych wydawnictwach skierowanych do lekarzy i innych fachowych pracowników ochrony zdrowia. Są to “Dear Healthcare Professional Letters” (DHPL) i “Black Box Warnings” (BBW) w USA oraz “Direct Healthcare Professional Communications” (DHPC) w Europie. Wśród 174 biofarmaceutyków zarejestrowanych od stycznia 1995 r. do czerwca 2007 r. 136 uzyskało akceptację FDA, a 105 – EMEA; 67 nowych leków biologicznych zarejestrowały w tym okresie obie instytucje. Dla 23,6% tych preparatów (41 ze 174) wydano 46 DHPL, 17 DHPC i 19 BBW. W tabelach 4-6 zostały przedstawione najważniejsze informacje na podstawie danych skompilowanych przez Giezena i in. (9).

Tabela 4

Preparaty biopochodne uwzględnione w “Dear Healthcare Professional Letters” (DHPL) w USA (9)

Klasy preparatów biologicznych	Substancje aktywne	Nazwa preparatu	Ostrzeżenia
1	2	3	4
przeciwciała	Adalimumab	Humina	poważne infekcje w połączeniu z anakinrą, nadwrażliwość, incydenty hematologiczne
	Basiliximab	Simulect	reakcje nadwrażliwości o ostrym przebiegu
	Bevacizumab	Avastin	incydenty zatorowo-zakrzepowe tętnic zespół odwracalnej leukoencefalopatii przetoka tchawiczo-przelykowa
	Cetuximab	Erbitux	niedobór magnezu we krwi, reakcje w trakcie wlewu
	Daclizumab	Zenapax	wzrost śmiertelności w trakcie badań, nadwrażliwość
	Efalizumab	Raptiva	niedokrwistość autohemolityczna, groźne infekcje, trombocytopenia
	Ibritumomab Tiuxetan	Zevalin	ciężkie reakcje skórne i śluzówkowo-skórne
	Infliximab	Remicade	niepożądane reakcje wywoływane przez przeciwciała gruźlica i inne oportunistyczne infekcje pogarszająca się niewydolność serca nowotwory złośliwe (chłoniak) hepatotoksyczność
	Natalizumab	Tysabri	postępująca leukoencefalopatia ogniskowa hepatotoksyczność
	Normal immunoglobulin	Venoglobulin	zaburzenia czynności nerek i/lub ostra niewydolność nerek
	Palivizumab	Synagis	anafilaksja
Ranibizumab	Lucentis	udar	

1	2	3	4
	Immunoglobulina dożylna RhoD	WinRho SDF liquid	hemoliza wewnątrznaczyniowa u pacjentów z idiopatyczną plamicą małopłytkową; możliwy wpływ na pomiar stężenia glukozy we krwi
	Rituximab	Rituxan	ciężkie, niepożądane zaburzenia towarzyszące infuzji nawrót zapalenia wątroby typu B z piorunującym zapaleniem wątroby
	Technetium fanolesomab	Neutrospec	incydenty sercowo-płucne
	Trastuzumab	Herceptin	nadwrażliwość, incydenty płucne i w trakcie wlewu kardiotoksyczność
cytokiny	Denileukin difitox	Ontak	utrata widzenia
	Opelvekin (interleukina-11)	Neumega	tarczyca zastoinowa
enzymy	Drotrecogin alfa	Xigris	zejścia pacjentów z zaburzeniami pojedynczego narządu po niedawnej operacji krwawienia w centralnym układzie nerwowym
	Eptacog alfa	Novoseven	zakrzepy i incydenty zatorowo-zakrzepowe
	Nesiritide	Natrecor	wzrost śmiertelności trzydziestodniowej
	Streptokinaza	Streptase	niepożądane działania przy zastosowaniu we wskazaniach pozarejestrowanych; hipotensja, nadwrażliwość, krwawienia, bezdech
czynniki wzrostu	Beclapermin	Regranex	wzrost ryzyka zejścia śmiertelnego – wtórny względem nowotworu
hormony	Darbepoetin alfa	Aranesp	zakrzepy, wzrost śmiertelności, potencjalny wzrost guza aplazja czerwonych krwinek i ciężkie anemie związane z neutralizacją przeciwciał
	Insulina ludzka proszek do inhalacji	Exubera	pierwotny nowotwór płuc
	Somatropina	Genotropin	wzrost śmiertelności w badaniach klinicznych ofiary śmiertelne
interferony	Interferon beta-1a	Avonex	tworzenie przeciwciał uszkodzenie wątroby
inne	Danaparoid sodium	Orgaran	krwiak nadtwardówkowy lub kręgowy
receptory	Alepacept	Amevive	przeciwwskazany u pacjentów z HIV – może przyspieszać postęp lub zwiększać powikłania choroby
	Etanercept	Enbrel	poważne infekcje włącznie z sepsą zaburzenia centralnego układu nerwowego, niedokrwiłość aplastyczna

Tabela 5

Preparaty biopochodne opatrzone "Direct Healthcare Professional Communication" (DHPC) w UE (9)

Klasy preparatów biopochodnych	Substancja czynna	Nazwa leku	Ostrzeżenia
przeciwciała	Alemtuzumab	MabCampath	przypadki zgonów związane z infekcjami
	Bevacuzimab	Avastin	przetoka tchawiczno-przetykowa
	Infliximab	Remicade	gruźlica pogorszenie niewydolności sercowej infekcje, włączając gruźlicę wątrobowo-śledzionowy chłoniak T-komórkowy
	Rituximab	Mabthera	zespół uwalniania cytokin leukoencefalopatia postępująca wieloogniskowa
	Trastuzumab	Herceptin	kardiotoksyczność; przy łącznym podaniu z antracykliną konieczność monitorowania sercowego
cytokiny	Anakinra	Kineret	poważne infekcje oraz neutropenia przy łącznym podaniu z etanerceptem
enzymy	Lepirudin	Refludan	śmiertelne reakcje anafilaktyczne
czynnik wzrostu	Diboterminalfa	Inductos	pooperacyjny obrzęk w miejscu aplikacji zbieranie się płynu w miejscu implantacji
hormony	Ludzka insulina proszek do inhalacji	Exubera	pierwotny rak płuc
inne	Toksyna botulinowa	Neuroblock	osłabienie mięśniowe, utrudnione przeliskanie, zachłyśnięcia
receptory	Etanercept	Enbrel	zaburzenia składu krwi (pancytopenia, anemia aplastyczna) poważne infekcje i neutropenia przy łącznym podaniu z kineretem

Tabela 6

Preparaty biopochodne opatrzone "Black Box Warning" (BBW) w USA (9)

Klasy preparatów biopochodnych	Substancja czynna	Nazwa leku	Ostrzeżenia
1	2	3	4
przeciwciała	Cetuximab	Erbitux	blok sercowo-płucny
	Gemtuzumab ozogamicin	Mylotarg	nadwrażliwość, wliczając anafilaksję, reakcje w trakcie wlewu, incydenty płucne, hepatotoksyczność
	Ibritumomab tiuxetan	Zevalin	ciężkie reakcje skórne i śluzówkowo-skórne
	Infliximab	Remicade	ryzyko infekcji wątrobowo-śledzionowy chłoniak T-komórkowy

1	2	3	4
	Natalizumab	Tysabri	leukoencefalopatia postępująca wieloogniskowa
	Omalizumab	Xolair	anafilaksja
	Rituximab	Rituxan	śmiertelne reakcje w trakcie wlewu, zespół rozpadu guza, ciężkie reakcje śluzówkowo-skinne leukoencefalopatia postępująca wieloogniskowa
	Trastuzumab	Herceptin	reakcje w trakcie wlewu, toksyczność płucna
cytokiny	Oprelvekin (interleukina 11)	Neumega	reakcje alergiczne włącznie z anafilaksją
enzymy	Laronidase	Aldurazyme	reakcje anafilaktyczne zagrażające życiu
czynnik wzrostu	Beclapernin	Regranex	wzrost ryzyka śmiertelności – wórnny względem nowotworu
hormony	Darbepoetin alfa	Aranesp	wzrost śmiertelności, incydenty sercowo-naczyniowe, incydenty zatorowo-zakrzepowe, progresja guza
interferony	Interferon alfacon	Infergen	zaburzenia neuropsychiatryczne, autoimmunologiczne, niedokrwienne oraz infekcyjne – letalne lub zagrażające życiu
	Peginterferon alfa-2a	Pegasys	wady wrodzone i/lub śmierć płodu przy łącznym podaniu z ribawirinem
	Peginterferon alfa-2b	Pegintron	wady wrodzone i/lub śmierć płodu przy łącznym podaniu z ribawirinem
inne	Danaparoid sodium	Orgaran	krwiak nadtwardówkowy lub kręgowy
receptory	Etanercept	Enbrel	ryzyko infekcji

4. Diagnostyka molekularna oparta na genomice, proteomicie i metabolomicie

Rozwój biologii molekularnej doprowadził do powstania niezwykle czułych i specyficznych metod sekwencjonowania genowego i ekspresji genów. Podstawową rolę w genomice odegrała metoda amplifikacji DNA oparta na łańcuchowej reakcji polimerazy, tzw. PCR. W ramach proteomiki identyfikowane są powstające w wyniku ekspresji genów białka, które mogą być markerami reaktywności poszczególnych pacjentów na konkretne leki i przebiegu procesu chorobowego. Różna aktywność białek przekłada się często na różnice szlaków metabolicznych opisywane przez metabolomikę.

Zarówno pojedyncze biomarkery jak profile stężeniowe wielu metabolitów są obecnie wykorzystywane diagnostycznie. Odpowiednią informację ekstrahuje się z dużych zbiorów danych bioanalitycznych przetworzonych zaawansowanymi metodami bioinformatycznymi. Na przykład, wyniki pomiarów stężeń w moczu około 20. nukle-

ozydów, poddane wielowymiarowej analizie statystycznej, dają profile stężeniowe różniące osoby zdrowe od chorych na nowotwory dróg moczowo-płciowych (12).

Diagnostyka molekularna jest wykorzystywana w przypadku szeregu chorób. Dodatkowo, coraz większa liczba testów jest w trakcie badań klinicznych. Biomarkery genomiczne wymieniane są w standardowych informacjach o lekach. Służą do przewidywania prawdopodobieństwa wystąpienia oczekiwanych reakcji klinicznych oraz ich intensywności, polimorfizmu białek receptorowych dla leku, do oceny ryzyka farmakoterapii, do ustalania właściwego dawkowania, a także do oceny wrażliwości pacjenta, oporności na lek i do porównawczej diagnozy choroby.

Zastosowania diagnostyki molekularnej obejmują identyfikację wirusów HIV, żółtaczki typu B i C, *Papilloma* i raka szyjki macicy, bakterii *Chlamydia*, *Gonorrhea* i opornych na metycylinę szczepów *Staphylococcus aureus*. Testy onkologiczne dotyczą ekspresji wielogenowej i prognostyki nowotworowej, prawdopodobieństwa metastazy w raku piersi, wczesnego wykrywania raka okrężnicy, białaczek i innych nowotworów. Istnieją testy molekularne do diagnostyki prenatalnej, wykrywania mukowiscydozy, zespołu genetycznego Żydów askenazyjskich i innych chorób dziedzicznych. Na podstawie istniejących technologii diagnostycznych można też przewidywać ryzyko tromboembolii naczyniowej, wystąpienia nowotworu i innych chorób (13).

Z punktu widzenia osobniczo optymalizowanej farmakoterapii, czyli medycyny personalizowanej, ważna jest możliwość oceny sprawności układów metabolizujących leki u poszczególnych pacjentów. Szczególnie istotne w tym względzie mogą być genetycznie uwarunkowane różnice aktywności cytochromu P450. W 2005 r. komercyjnie dostępny stał się przenośny aparat AmpliChip CYP450, opracowany przez Roche Diagnostics we współpracy z Affymetrix (rys. 5). Jest to tzw. chip oligonukle-



Rys. 5. Przenośne urządzenie diagnostyczne AmpliChip do oznaczania aktywności enzymów z grupy cytochromu P450.

otyldowy, który pozwala na pomiar różnic w obrębie dwóch genów cytochromu P450: CYP2D6 i CYP2C19.

Osoby z mało aktywną odmianą CYP2D6 wolniej metabolizują lek atomoxetine. CYP2D6 może także wpływać na różnice stężeń w organizmie takich leków jak venlafaxine, risperidone, tiotropium, tamoxifen, timolol, fluoxetine, olanzapine, cevimeline, tolterodine, terbinafine, tramadol + acetaminophen, clozapine, aripiprazole, metoprolol, propranolol, carvedilol, propafenone, thioridazine i protriptyline. Z kolei, odmienność w zakresie CYP2C19 determinuje poziom voriconazolu, omeprazolu, pantoprazolu, esomeprazolu, diazepam, nelfinawiru i rabeprazolu (15).

5. Zestawy farmakoterapeutyczno-diagnostyczne

Personalizowana farmakoterapia jest szansą na przełamanie stagnacji w leczeniu wielu chorób. Jest też szansą na rozwój nowatorskiego przemysłu farmaceutycznego. Chociaż od dawna było wiadome, że reakcja na leki jest osobniczo zróżnicowana, to w praktyce obowiązywała zasada, że lek ma być dla wszystkich. Przykłady zasadniczych różnic między indywidualnymi pacjentami w reakcji na imatinib czy trastuzumab pozostawały odosobnione, jeśli chodzi o praktykę kliniczną. W ostatnim okresie nastąpił jednak zdecydowany wzrost zainteresowania lekarzy, instytucji odpowiedzialnych za organizację systemów ochrony zdrowia, a przede wszystkim producentów leków i wytwórców testów genetycznych i farmakogenomicznych, farmakoterapią indywidualnie dostosowaną dla poszczególnych pacjentów, czyli medycyną personalizowaną (ang. *personalized medicine*). Zwycięża zasada „właściwy lek dla właściwego pacjenta we właściwej dawce”.

W farmakoterapii personalizowanej wykorzystuje się wyniki różnorodnych testów diagnostycznych opartych na najnowszych technologiach biologii molekularnej. Coraz częściej testy tego rodzaju są wymagane lub rekomendowane przez FDA i EMEA przy stosowaniu poszczególnych leków (15,16). Publikowane są także informacje o dostępnych testach, które mogą dostarczyć terapeutycznie użytecznych wskazówek (tab. 7).

Tabela 7

Leki i wskazania terapeutyczne, odnośnie do których dostępne są testy diagnostyczne (15,16)

Lek/wskazanie	Wytwórca leku	Test/dystrybutor testu	Technologia
1	2	3	4
Test diagnostyczny wymagany przez FDA			
Erbitux/ rak okrężnicy	Imclone	EGFR pharmDX/ DAKO Cytomation	wykrywanie obecności bądź braku genu EGFR metodą IHC
Selzentry/ HIV AIDS	Pfizer	Trofile (CCR5 tropism)/ Monogram Biosciences	analiza genomu pacjentów z HIV, tworzenie sztucznej cząstki wirusa oraz próby infekcyjne

1	2	3	4
Vectibix/ rak okrężnicy	Amgen	ekspresja EGFR KRAS/Dxs	badanie jest wymagane w Unii Europejskiej; mutacje KRAS mogą być istotne dla rozwoju różnych typów nowotworów
Herceptin/ rak piersi	Genentech/ Roche	nadekspresja HER2/różni	może być wykonany metodą FISH lub IHC, jednak możliwe są różnice pomiędzy laboratoriami; test jest również przydatny przy wyborze leku Tykerb (lapatinib)

Test diagnostyczny zalecany przez FDA

Imuran (azathioprine)/ choroby autoimmunologiczne oraz przeszczepy	GSK	odmiany metyltransferazy tiopuryny/różni	aktywność enzymu i/lub genotypowanie
Tegretol (carbamazepine)/ padaczka oraz zaburzenia dwubiegunowe	różni	odmiana HLA-B 1502 u osób pochodzenia azjatyckiego/różni	zaleca się, aby osoby o pochodzeniu azjatyckim zostały przetestowane genetycznie przed rozpoczęciem leczenia, ponieważ ryzyko wystąpienia u nich poważnych działań niepożądanych jest 10-krotnie większe niż u Europejczyków (od 1 do 6 na 10 000)
Tarceva (erlotinib)/ NSCLC	Genentech/OSI	EGFR pharmaDX/ DAKO Cytomation	znaczenie testu jest niepewne, ponieważ przebadano zbyt mało pacjentów
Camptosar (irinotecan)/ rak okrężnicy	Pfizer	odmiany UTG1A1/ Third Wave	firma Third Wave związana jest z Genoyme Genetics w zakresie dystrybucji tego testu
Elitek (rasburicase)/rak	Sanofi-Aventis	niedobór G6PD/ różni	test plamki fluorescencyjnej Beutlera
Coumadin/ przeciwzakrzepowo	różni	CYP2C9 i odmiany genotypowe VKOR (reduktaza epoksydowa witaminy K)/Clinical Data, Genelex (Seattle) oraz Roche	trwa dyskusja czy i w jaki sposób prowadzić testowanie

Test diagnostyczny jest oferowany

Ziagen (abacavir)/ HIV AIDS	GSK	HLA-B 5701b/różni	umożliwia przewidywanie wystąpienia reakcji nadwrażliwości
Strattera (atomoxetine)/ ADHD	Eli Lilly	CYP2D6/różni	odmiany enzymu mogą hamować metabolizm leku prowadząc do wysokich stężeń we krwi
Xeloda (capecitabine)/rak	Roche	niedobór dehydrogenazy dihydropyrimidyny/różni	związek z ostrą toksycznością
Prozac (fluoxetine)/ depresja	Eli Lilly	CYP2D6/różni	fluoksetyna, i wiele podobnych preparatów, hamuje aktywność P450 2D6 przez co osoby o prawidłowym metabolizmie reagują jakby miały osłabiony metabolizm

1	2	3	4
Gleevec/ nowotwory, wliczając CML oraz guz podścieliskowy przewodu pokarmowego (GIST)	Novartis	chromosom filadelfijski, c-KIT, receptor płytkowego czynnika wzrostu (PDGF)/różni	lek został wprowadzony do leczenia CML typu Philadelphia Chromosome+, jednak okazał się też użyteczny w leczeniu szeregu nowotworów, także GIST
VFEND (voriconazole)/ infekcje grzybicze	Pfizer	CYP2C19/ Gentrin, Roche	metabolizm leków omeprazol, pantoprazol, esomeprazol oraz diazepam jest również modyfikowany przy różnicach tego samego genu

Przy zaleceniu łącznego stosowania farmakoterapii i diagnostyki molekularnej mówi się o teranostyce (*Theranostics* = *Therapeutics* + *Diagnostics*). Test diagnostyczny związany z konkretnym lekiem nazywany jest „diagnostyką stowarzyszoną” (ang. *companion diagnostics*). Przykładowo, zastosowanie cetuximabu (Erbix) w raku okrężnicy wymaga oznaczenia obecności lub braku receptora naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR, ang. *Epidermal Growth Factor Receptor*). Z tym biomarkerem wiąże się także racjonalne użycie takich leków jak panitumab czy gefitinib.

Zainteresowanie teranostyką stymuluje rozwój testów molekularnych (17). To pozwala na odpowiednią rekrutację kandydatów do badań klinicznych nowo wprowadzanych leków. Obecnie prace badawczo-rozwojowe nad nowymi lekami są skierowane na podgrupy populacyjne identyfikowane farmakogenomicznie. Przenośne urządzenie, podobne do przedstawionego na rysunku 5, zostało zaproponowane przez firmę Roche do teranostyki przy użyciu nowych środków przeciwrakowych z grupy tzw. nutlin. Działa ono poprzez oznaczenia genotypu białka p53, który jest zmutowany w około 50% przypadków nowotworów. W ten sposób można zidentyfikować pacjentów, którzy pozytywnie zareagują na leczenie nutlinami. Aktualnie zestaw nutlina i towarzyszący test diagnostyczny znajduje się w zaawansowanej fazie badań rozwojowych (14).

Farmakogenomiczne testy stowarzyszone dotyczą nie tylko leków przeciwnowotworowych. Stwarzają one szansę na lepsze wykorzystanie znanych od dawna preparatów farmaceutycznych, takich jak warfaryna czy karbamazepina. Przede wszystkim jednak otwierają nowe perspektywy dla poszukiwania specyficznych biofarmaceutyków i podwyższają skuteczność i bezpieczeństwo farmakoterapii.

Literatura

- Owens J., (2007), *Nat. Rev. Drug Discov.*, 6, 99-101.
- Parren W. H. I., van de Winkel J. G. J., (2008), *Curr. Opin. Immunol.*, 20, 426-430.
- New Drug Approvals in 2007, (2008), <http://www.phrma.org>.
- New Medicines Approved in 2008. FDA Data, (2009), <http://www.phrma.org>.

5. Narhi M., Nordstrom K., (2005), *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 59, 397-405.
6. Schneider C. K., Kalinke U., (2008), *Nat. Biotechnol.*, 26, 985-990.
7. Walsh G., (2004), *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 58, 185-196.
8. Szymkowski D. E., (2004), *Drug Discov. Devel.*, 9, 381-383.
9. Giezen T. J., Mantel-Teeuwisse A. K., Straus S. M. J. M., Schellekens H., Leufkens H. G. M., Egberts A. C. G., (2008), *JAMA*, 300, 1887-1896.
10. Jarecka M., Borowicz P., (2005), *Biotechnologia*, 4, 7-27.
11. Lesko L. J., Woodcock J., (2004), *Nat. Rev. Drug Discov.*, 3, 763-769.
12. Szymańska E., Markuszewski M. J., Capron X., van Nederkassel A.-M., Markuszewski M., Krajka K., Kaliszan R., (2007), *Electrophoresis*, 28, 2861-2873.
13. *Molecular Diagnostics: A Rapidly Shifting Commercial and Technology Landscape*, (2009); www.InsightPharmaReports.com.
14. Netterwald J., (2008), *Drug Discov. Devel.*, 11, 30-34.
15. *Table of Valid Genomic Biomarkers in the Context of Approved Drug Labels*, U.S. Food and Drug Administration, (2008); http://www.fda.gov/cder/genomic_biomarkers_table.htm.
16. Allison M., (2008), *Nat. Biotechnol.*, 26, 509-517.
17. Joshi K., (2008), *Drug Discov. Devel.*, 11, 14-18.