

# BIOLOŠKI OZNAČEVALCI IN NJIHOVA UPORABA PRI RAZVOJU IN ZAGOTAVLJANJU VARNOSTI ZDRAVIL

## BIOMARKERS AND THEIR USE IN DRUG SAFETY ASSESSMENT

AVTORJI / AUTHORS:

Anja Fic, mag. farm.

doc. dr. Lucija Peterlin Mašič, mag. farm.

prof. dr. Marija Sollner Dolenc, mag. farm.

Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,  
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

Anja Fic

E-mail: anja.fic@ffa.uni-lj.si

### POVZETEK

Biološki označevalci so biološki kazalniki ali napovedniki zdravja, bolezni ali zastrupitve in so široko uporabni pri ugotavljanju etiologije bolezni, patofizioloških, farmakoloških in toksikoloških procesih ter v diagnostiki. V procesu raziskav in razvoja novih zdravil lahko s pomočjo ocenjenih bioloških označevalcev merimo učinkovitost zdravljenja ter predvidimo neželene učinke zdravil. Biološki označevalci tako pripomorejo k razvoju zdravil, znižajo stroške in skrajšajo čas razvoja zdravila, pomagajo pri izbiri najboljših kandidatov za učinkovine, bolje napovejo učinkovitost in varnost zdravila in odpirajo pot osebni medicini.

### KLJUČNE BESEDE:

*biološki označevalec, razvoj zdravila, varnost zdravila*

### ABSTRACT

Biomarkers are biological indicators of health, disease or poisoning, and are now widely applicable in determining the etiology of the disease, pathophysiological, pharmacological, toxicological processes and diagnostics. In the process of research and development of new drugs we can use validated biomarkers to measure the effectiveness of therapy and predict the adverse effects of drugs. So biomarkers can increase the success rates in drug development. They can reduce the costs and shorten the drug development process, they can help in selecting the best drug candidates and they can predict efficacy and safety of the drugs and open the way for personalized medicine.

### KEYWORDS:

*biomarker, drug development, drug safety*

## 1 UVOD

Odmerek, odziv organizma in dejavniki, ki oblikujejo odziv organizma na določeno snov, so pomembni parametri v toksikologiji. Biološki označevalci predstavljajo biološke merilce zdravja, bolezni ali zastrupitve. V pomoč so nam pri ugotavljanju odziva organizma in določanju odnosa odmerek-učinek ter pri procesu ocene tveganja za zdravje ljudi pri izpostavitvi različnim snovem (1). Merjenje bi-



oloških in patoloških procesov za spremljanje stanja organizma sega že daleč v zgodovino. Že Sushustra, oče Arjuvedske medicine, je v 7. stoletju pr. n. št. povedal, da urin bolnika s sladkorno boleznijo privlači mravlje, ker je sladek. Sama beseda 'biološki označevalec' pa se v medicini uporablja šele dobrih 30 let. Prva sta jo uporabila Humphrey in Levy Karpetsky leta 1977 (2).

V nadaljevanju bomo predstavili definicijo bioloških označevalcev ter kakšna je njihova uporabnost, kako jih lahko razdelimo, našteji bomo nekaj primerov ter opisali, kako so nam lahko v pomoč pri razvoju novih zdravil.

## 2 BIOLOŠKI OZNAČEVALCI IN NJIHOVA UPORABNOST

Delovna skupina za definicijo bioloških označevalcev pri Nacionalnem inštitutu za zdravje v ZDA je predlagala naslednje definicije:

- **BIOLOŠKI OZNAČEVALEC:** Je spremenljivka, ki omogoča objektivno vrednotenje normalnega biološkega procesa, patološkega procesa ali farmakološkega odziva na zdravljenje.
- **KLINIČNI IZID:** Je končno klinično stanje pacienta.
- **NADOMESTNI IZID:** Je spremenljivka (običajno biološki označevalec) kliničnih koristi/škode (ali pomanjkanje) glede na epidemiološke, terapevtske, patofiziološke ali druge znanstvene dokaze (3).

Primeri bioloških označevalcev in nadomestnih izidov ter kliničnih izidov so navedeni v preglednici 1. V preteklosti so bili biološki označevalci večinoma fiziološke spremel-

njivke (npr. telesna temperatura, krvni tlak, barva urina, srčni utrip) ali koncentracije snovi v bioloških tekočinah ali tkivih (npr. serumski kreatinin, nivo glukoze v urinu ali krvi, nivo encimov v urinu in krvi). Napredek v molekularni biologiji, molekularni medicini in drugih področjih so pripeljali do odkritja novih bioloških označevalcev iz področij genetike, epigenetike, genomike, proteomike in metabolomike (5).

Bioološki označevalci so danes široko uporabni na številnih področjih, npr. pri odkrivanju in spremljanju bolezni, ugotavljanju vzrokov za nastanek bolezni, pri spremljanju zdravljenja, na področju klinične toksikologije, idr. Dajejo informacije o učinkovitosti zdravljenja, omogočajo oceno odnosa med odmerkom in učinkom ter izbor pacientov za zdravljenje ter spremljanje zdravljenja. Podatki, ki jih dobimo z merjenjem odnosa med odmerkom in učinkom, pripomorejo k izboljšanju farmakokinetičnih modelov ter pomagajo pri optimizaciji režima odmerjanja določenih učinkovin. Uporabni pa so tudi v diagnostiki. Merjenje dovolj specifičnega in občutljivega biološkega označevalca omogoča objektivno (merljivo) oceno stanja organizma v zdravem ali bolezenskem stanju, npr. pri zastrupitvah. V procesu raziskav in razvoja novih zdravil lahko s pomočjo ocenjenih (validiranih) bioloških označevalcev merimo učinkovitost zdravljenja ter predvidimo neželene učinke zdravil (6).

*Preglednica 1. Primeri bioloških označevalcev in nadomestnih izidov ter kliničnih izidov (povzeto po 4).*

BOLEZEN	BIOLOŠKI OZNAČEVALEC/NADOMESTNI IZID	KLINIČNI IZID
povišan krvni tlak	↓krvni tlak	↓kapi
glavkom	↓intraokularni tlak	↓izguba vida
osteoporoza	↑mineralna kostna gostota	↓zlomov
aritmije	↓aritmij	↑preživelost
diabetes	↓glukoze v krvi	↓smrtnost
AIDS	↑CD4, ↓virusna RNA	zakasnjeno napredovanje bolezni



### 3 RAZDELITEV BIOLOŠKIH OZNAČEVALCEV NA PODROJČJU FARMAKOLOGIJE IN TOKSIKOLOGIJE

#### a) BIOLOŠKI OZNAČEVALCI IZPOSTAVLJENOSTI

So biološki označevalci, ki kažejo na izpostavljenost organizma določeni snovi. Merijo se v telesnih tekočinah ali tkivih. Izpostavljenost bi na grobo lahko določili z odmerkom, toda ne moremo predvideti niti obsega absorpcije niti intraindividualne variabilnosti v metabolizmu in izločanju proučevane snovi. Zato lahko bolj pravilno ocenimo izpostavljenost z določanjem krvnih ali tkivnih koncentracij bioloških označevalcev izpostavljenosti, tj. snovi ali njenega presnoveka ali pa merimo nastale adukte pri reaktivnih spojinah (npr. adukti z DNA ali proteini pri izpostavljenosti alkilirajočim spojinam). Biološki označevalci izpostavljenosti so večinoma prehodni, zato lahko z njimi merimo akutno izpostavljenost. Kronično izpostavljenost pa lahko merimo z biološkimi označevalci, ki imajo daljšo razpolovno dobo, npr. z adukti hemoglobina, saj jih lahko določimo še do 4 mesece po izpostavitvi (7,8). Veliko zanimanja in raziskav poteka pri iskanju bioloških označevalcev izpostavljenosti mutagenom in karcinogenim snovem (9).

#### b) BIOLOŠKI OZNAČEVALCI ODZIVA

Biološki označevalec odziva je sprememba strukture ali funkcije v organizmu zaradi vnosa določene snovi. Merijo se v telesnih tekočinah ali tkivih, npr. spremembe v sestavi urina, številu krvnih celic, prisotnosti protiteles, v regulaciji genov, aktivnosti encimov (indukcija ali inhibicija), nivoju stresnih proteinov ali različne druge biokemijske in patološke spremembe ali pa adaptacijski odzivi (npr. povečana sinteza metalotioneina pri izpostavitvi težkim kovinam, npr. kadmiju). Lahko so invazivni ali neinvazivni. Določamo najbolj preproste (npr. telesna teža, volumen urina, teža organa), kot tudi bolj kompleksne (npr. določanje izoencima v plazmi z imunokemijsko metodo, določanje protiteles, intermediatov) (7,8).

#### c) BIOLOŠKI OZNAČEVALCI OBČUTLJIVOSTI

Biološki označevalci občutljivosti kažejo na dovzetnost organizma za nek toksičen ali farmakološki učinek zaradi okolja ali genetskih razlik (npr. polimorfizmi). Veljajo za določen organizem (individualni indikatorji) ali pa za populacijo. Pomagajo predvideti odziv organizma.

To so lahko npr. povečan odziv receptorja, odsotnost določenega encima ali izoencima, genetske spremembe, ki npr. zmanjšajo aktivnost encima, ki je odgovoren za detoksifikacijo ksenobiotika (npr. N-acetiltransferaza) (8). Najbolj pomembna in raziskovana variabilnost se kaže v metabolizmu. Primer so posamezniki, ki imajo hitrejšo ali počasnejšo sposobnost acetiliranja vnešene snovi (genetsko določena variabilnost). Seveda pa ne smemo zanemariti tudi vpliva okolja in drugih dejavnikov. Razvoj neke bolezni ali neželenega učinka je lahko kombinacija večih dejavnikov (npr. tip acetilatorja, spol, prehrana, odmerek) (7).

Genetski biološki označevalci (npr. genetski polimorfizmi) spadajo v področje farmakogenomike, toksikogenomike in nutrigenomike. S pomočjo farmakogenetskih bioloških označevalcev lahko prilagodimo odmerek in/ali režim odmerjanja učinkovine posamezniku in izberemo zdravljenje, ki bo najbolj uspešno in bo hkrati povzročilo najmanj neželenih učinkov (posamezniku prilagojeno zdravljenje) (6). Biološki označevalci občutljivosti omogočajo tudi delitev pacientov v skupine, ki so bolj ali manj primerni za neko zdravljenje. To je v pomoč pri razvoju zdravila, saj lahko zmanjša obseg klinične študije in s tem tudi stroške ter pospeši odločitev ali nadaljevati naslednjo stopnjo razvoja zdravila (10).

Zgoraj naštetе skupine se lahko včasih prekrivajo. Biološki označevalci so lahko enostavni ali kompleksni. Dober biološki označevalec je tisti, ki je enostavno merljiv na neinvaziven način in daje kvantitativne podatke o stanju organizma z visoko občutljivostjo in specifičnostjo, ki kažejo na izpostavljenost, odziv ali občutljivost. Ni pa enostavno, kako ugotovljene biološke označevalce vrednotiti in jih povezati s tveganjem za zdravje. Kljub temu, da zaznamo snov v telesu ali merimo njen učinek, to še ne pomeni, da snov predstavlja nevarnost. Nekateri biološki označevalci so lahko nepomembni za toksičnost, nekateri pa lahko zaznajo spremembe že pri zelo nizki izpostavljenosti, ki še ni nevarna (7). Zato je vse težje razločiti med spremembami v organizmu, ki so posledica adaptacije in so reverzibilne in tistimi, ki so patološke in ireverzibilne (11). Zato je za interpretacijo dobro hkrati uporabljati več različnih bioloških označevalcev (7).

Biološke označevalce lahko razdelimo tudi na farmakološke in toksikološke (merijo se pri zdravih ljudeh in zastrupljenih) ter patološke biološke označevalce (merijo se pri bolnih) (12).

Klinično jih lahko delimo na:

- preventivne (omogočijo odkrivanje pacientov z visokim tveganjem za bolezen),
- diagnostične (omogočajo odkrivanje, potrjevanje, spremljanje in ocenjevanje bolezni),
- prognostične (ugotovijo tveganje za napredovanje bolezni),
- napovedovalne (prepoznajo paciente, primerne za zdravljenje) in
- terapevtske biološke označevalce (kvantitativno merijo učinek zdravljenja) (2).

## 4 PRIMERI BIOLOŠKIH OZNAČEVALCEV

Biološke označevalce lahko delimo po organskih sistemih ali (pato)fizioloških procesih, kjer se kažejo spremembe zaradi izpostavitve različnim snovem. Tu je še posebej potreba po neinvazivnih bioloških označevalcih, ki bi zaznali poškodbo ali izgubo funkcije, še preden se pojavi ireverzibilna okvara organa (2). V nadaljevanju navajamo nekaj primerov bioloških označevalcev po posameznih organskih sistemih in pri rakavih obolenjih:

- **Ledvici:** Starejši diagnostični biološki označevalci (serumska koncentracija kreatinina, sečnine, uratov idr. v serumu), so manj občutljivi in specifični ter pozno zaznajo poškodbo ledvic. Glavni problem predstavljajo kompenzatorni mehanizmi ob poškodbi (velika rezerva ledvic), ki preprečijo zgodnje odkrivanje bolezni ledvic, saj se funkcija ledvic zmanjša šele ko je poškodovanih več kot dve tretjini nefronov. Novejši biološki označevalci zaznajo bolezen ledvic bolj zgodaj, npr. biološki označevalci ledvične poškodbe (nivo protein cistatina C v serumu, celotnih proteinov v urinu, b2-mikroglobulina v urinu, nevtrofilna gelatinaza povezana z lipokalinom (NGAL) in molekula ledvične okvare (KIM-1)), biološki označevalci zmanjšane ledvične funkcije (merjenje oz. ocena hitrosti glomerulne filtracije in b2-mikroglobulina v urinu za oceno tubulne reabsorpcije) (5). Kombinacija večih označevalcev izboljša diagnostično občutljivost in specifičnost ter pomaga lokalizirati in opredeliti poškodbo (13-16). V predkliničnih študijah pomagajo pri razvoju varnejših učinkovin, v kliničnih študijah (faza I do III) pa so v pomoč pri nadzoru potencialnih neželenih učinkov. Poškodba se tako prej zazna in zdravljenje s takšno nefrotoksično učinkovino je pravočasno ustavljeno (2).

- **Hemostaza:** Novi obetajoči biološki označevalci motenj v hemostazi zaradi zdravil so von Willebrandov faktor in njegov propeptid (vWF in vWFpp) ter protein kaveolin-1. Konzorcij PSTC (Predictive Safety Testing Consortium) trenutno preučuje uporabnost teh treh bioloških označevalcev v predkliničnih in kliničnih študijah (5, 17).
- **Živčni sistem:** Poslužujemo se različnih tehnik slikanja možganov (npr. računalniška tomografija oz. CT, magnetna resonanca oz. MRI, pozitronska emisijska tomografija oz. PET), testov za anksioznost, genetskih bioloških označevalcev, koncentracij kateholaminov, nevroendokrinih bioloških označevalcev.
- **Rakava obolenja:** S PET slikanjem lahko določimo metabolizem tumorja, poti prenosa signalov in celično proliferacijo. Zaradi različnih patofiziologij tipov raka, lahko danes s pomočjo bioloških označevalcev paciente razdelimo v več skupin z različnimi (tarčnimi) zdravljenji (6). Označevalci rakavih obolenj (t.i. tumorski označevalci) lahko zelo zgodaj zaznajo maligno obolenje. Po drugi strani pa so farmakogenetski označevalci najbolj razširjeni prav na tem področju. Z njihovo pomočjo danes lahko prepoznamo bolnike, ki so neodzivni in se zato pri teh terapijah ne uvede.

## 5 BIOLOŠKI OZNAČEVALCI V RAZVOJU NOVIH ZDRAVIL

Razvoj novih zdravil je težak, tvegan in finančno potraten proces. V zadnjem času postaja vse bolj kompleksen in neučinkovit. Strošek razvoja od odkritja učinkovine do pridobitve dovoljenja za promet z zdravilom zanaša okoli 1 milijardo \$ in traja do 20 let (povprečno 8,5 let) (6).

Od leta 1999 se je število pridobitev dovoljenj za promet z zdravili zmanjšalo za 50 %, medtem ko se je vložek v raziskave in razvoj zvečal za 3-krat. Veliko učinkovin se izkaže neprimernih šele v kasnejših fazah razvoja (npr. v fazi III kliničnih študij), kar predstavlja ogromen finančni strošek (5). Danes le približno 10 % zdravil v razvoju uspešno zaključi prve klinične študije, kjer sta glavna razloga toksičnost in pomanjkanje učinkovitosti. Iz tega lahko povzamemo, da predklinične študije na živalih relativno neuspešno predvidevajo učinke na človeku. Zato mora biti farmacevtska industrija bolj uspešna pri ugotavljanju toksičnosti in učinkovitosti nove učinkovine pri človeku v čim bolj zgodnjih fazah razvoja (10). Toda kako predvideti



učinkovitost in toksičnost? S pomočjo bioloških označevalcev učinkovitosti in varnosti lahko v procesu raziskav in razvoja novih zdravil merimo učinkovitost zdravljenja in predvidimo neželene toksične učinke zdravil. Biološki označevalci tako povečajo stopnjo uspešnosti pri razvoju zdravil, znižajo stroške in skrajšajo čas razvoja, pomagajo pri izbiri najboljših kandidatov za učinkovine, bolje predvidevajo učinkovitost in varnost zdravila ter tako zmanjšajo število zaustavitev razvoja zdravil šele v poznih stopnjah razvoja (klinične študije) in odpirajo pot osebni medicini (2). Seveda je v zgodnjih raziskavah (na celičnih in živalskih modelih) potrebno izbrati biološke označevalce, ki so merljivi tudi pri človeku (10). Glede na kompleksnost procesov v človeškem telesu (kompenzatorni mehanizmi, več različnih poti metabolizma, mehanizmi odpornosti) je včasih biološki označevalac težko prenesti iz predkliničnih v klinične študije (6). Glavna vloga bioloških označevalcev v predkliničnih študijah je določanje toksičnosti in s tem tudi MTD (maksimalen sprejemljiv odmerek). Pomembno je tudi določiti biološke označevalce v vsaki vrsti organizma in jih povezati s farmakokinetičnimi in farmakodinamičnimi podatki. Tako lahko izpopolnimo obliko zdravila, njegovo aplikacijo in režim odmerjanja (5).

## 6 BIOLOŠKI OZNAČEVALCI VARNOSTI V RAZVOJU NOVIH ZDRAVIL

Vsako zdravilo mora biti učinkovito, varno in kakovostno. Ocena varnosti zdravila je ena ključnih točk pri njegovem razvoju. Za oceno varnosti je potreben multidisciplinaren pristop (farmakologija, kemija, farmakokinetika, toksikologija, genetika, epidemiologija, medicina, statistika). Toksikološke študije so najpomembnejše pri ocenjevanju varnosti zdravila. Poleg tega moramo upoštevati tudi kemijske in farmakološke podatke, metabolizem ter vpliv okolja in genov (18).

ICH smernice za varnost zdravila (S1 - S10) podajajo priporočila za ne-klinično testiranje toksičnosti (19). Toksikološke študije vključujejo baterijo testov za določanje genotoksičnosti, mutagenosti in karcinogenosti, testov za akutno, subkronično in kronično toksičnost, razvojno in reproduktivno toksičnost, farmakološke študije varnosti, toksikokinetiko, lokalno toksičnost (npr. draženje) in fototoksičnost (18). Toda samo ti testi niso zadostni, zdravila je potrebno testirati na živalskih vrstah, kjer so pridobljene informacije čimbolj prenosljive na človeka in

nato tudi opredeliti razlike med uporabljenimi živalsko vrsto in človekom (20). Biološki označevalci varnosti so tisti, ki napovedujejo ali zaznajo neželene učinke zdravila (2). Ti vedno bolj pomagajo pri odločanju, kdaj bodo projekti v zgodnjih stopnjah razvoja zdravila ustavljeni, hkrati pa omogočajo, da bodo kasnejše stopnje razvoja manj tvegane. S pomočjo bioloških označevalcev varnosti lahko uspešno nadziramo ali predvidevamo neželene učinke in tako izboljšamo zdravljenje ali pa celo izločimo paciente, ki so bolj dovzetni za neželene učinke. Javni zavodi in zasebna podjetja vlagajo veliko časa, denarja in truda v razvoj bioloških označevalcev varnosti. V zadnjem času je zgodba uspeha razvoj bioloških označevalcev za oceno nefrotoksičnosti (KIM-1, cistatin C, klusterin in trefoil faktor, ki sta jih odobrila FDA in EMA za predklinične študije in delno za prenos ugotovitev na človeka. To je bil mejnik v razvoju bioloških označevalcev in v prihodnosti pričakujemo razvoj novih še za druge organe (srce, jetra, vaskularni sistem) s pomočjo novih tehnologij in molekularnih pristopov (5).

## 7 RAZVOJ BIOLOŠKEGA OZNAČEVALCA VARNOSTI: OD ODKRITJA DO DIAGNOSTIČNEGA TESTA

Velik napredek pri optimizaciji ocene varnosti z novimi biološkimi označevalci je povezan z napredkom v znanosti in tehnologiji. Razvoj biološkega označevalca je sestavljen iz naslednjih korakov:

- a) **Odkritje (identifikacija) bioloških označevalcev varnosti**  
Ko znani biološki označevalci ne zadovoljijo potrebnih kriterijev pri razvoju zdravila, je potrebno odkriti nove ali pa oceniti že znane. Poznamo različne pristope za odkrivanje bioloških označevalcev, npr. histopatološki, genetski, genomski, toksikogenomski, proteomski, metabolomski pristop, neinvazivno slikanje (npr. MRI, PET, CT, DEXA). Ni dovolj le odkritje novih bioloških označevalcev varnosti, ampak tudi določanje njihove vloge v organizmu, klinične in biološke pomembnosti, koristi ter tudi omejitev. Vse to spada pod sprejemljivost (kvalifikacijo) biološkega označevalca. V preteklosti je bilo za sprejemljivost biološkega označevalca potrebnih več desetletij izkustvenega zbiranja kliničnih dokazov. Veliko nevzporednih študij je prineslo ogromno podatkov o varnosti zdravila, ki so prepričevale v glavnem le z maso podatkov. Zato se je tako iz kli-

ničnih kot iz farmacevtskih strani pojavila potreba po oceni sprejemljivosti bioloških označevalcev (5,10).

#### b) Predklinična sprejemljivost (kvalifikacija) bioloških označevalcev varnosti

Sprejemljivost biološkega označevalca je proces zbiranja dokazov o njegovi predklinični in klinični uporabnosti ter omejitvah (5). Kriteriji zanjo so odvisni od namena uporabe biološkega označevalca (2). Zadnje čase so se v postopek sprejemanja biološkega označevalca vključili tudi regulatorni organi, ki so biološke označevalce označili kot ključne dejavnike v razvoju novih zdravil v prihodnosti (21).

Regulatorni organi so prvič omenili biološke označevalce v smernicah o predložitvi farmakogenomičnih podatkov (Pharmacogenomic Data Submission by the FDA, 2004) (22). Razdelili so jih v tri kategorije:

- biološki označevalci, ki se še raziskujejo,
- verjetni biološki označevalci (kandidati) in
- znani biološki označevalci (se že uporabljajo v regulativi za sprejemanje odločitev o režimu odmerjanja v kliničnih študijah, izbiri pacientov in dokazovanju varnosti).

Sprejemljivost bioloških označevalcev danes poteka izključno zaradi namena uporabe z zdravilom, s katerim se sočasno razvija. Regulatorni organi do sedaj namreč še niso uradno opisali postopka sprejetja bioloških označevalcev varnosti za določen organ, ki bi bil širše uporaben. Prva prijava postopka predklinične sprejemljivosti biološkega označevalca je bila objavljena kot del sporazuma o sodelovanju med FDA in Novartisom (23). Ko je bila v regulatorne organe (EMA in FDA) prvič vložena dokumentacija za odobritev bioloških označevalcev nefrotoksičnosti, je PSTC (Predictive Safety Testing Consortium) prvič preverjal ta postopek sprejemljivosti. PSTC sestavlja 16 farmacevtskih podjetij, organizacija pacientov, predstavniki EMA-e in FDA ter akademski predstavniki kot svetovalci in opazovalci. S tem se kaže zelo pozitivno povezovanje farmacevtskih podjetij z namenom razvoja bioloških označevalcev pri ocenjevanju varnosti zdravil (24-25). Cilj PSTC-ja je izboljšati razvoj zdravil in zmanjšati negotovost pri vpeljavi novih tehnologij (26). Med drugim je njihov cilj trenutno tudi sprejetje bioloških označevalcev za ledvica, srce, vaskularni sistem, miopatijo in negetoksično karcinogenost (5).

#### c) Klinična sprejemljivost in uporaba bioloških označevalcev varnosti v diagnostiki

Klinična sprejemljivost bioloških označevalcev za širšo uporabo predstavlja veliko večji izziv kot predklinična

sprejemljivost. Težave predstavljajo nedostopnost histopatologije, nepopolni klinični izidi, slabo upoštevanje heterogenost populacije, prisotnost drugih bolezni, uporaba drugih zdravil, etični pomisleki itd. PSTC se ukvarja predvsem s predklinično in manj s klinično sprejemljivostjo (5). Zato je bil v Evropi ustanovljen SAFE-T (Safer And Faster Evidence-based Translation consortium), ki ga sestavlja 20 predstavnikov farmacevtske industrije, manjših in srednje velikih podjetij, akademskih ustanov ter predstavniki EMA-e in FDA kot svetovalci in zunanji opazovalci. Konzorcij se osredotoča na klinično sprejemljivost bioloških označevalcev varnosti za ugotavljanje poškodb ledvic, jeter in vaskularnega sistema pri ljudeh zaradi uporabe novih učinkovin. Zbirajo dokaze o njihovi klinični uporabnosti in omejitvah na predkliničnem in kliničnem nivoju z namenom odobritve novega zdravila pri regulatornih organih (27).

Najvišja stopnja sprejemljivosti biološkega označevalca je status nadomestnega izida, ki je priznan s strani regulatornih organov. Glavne prednosti sprejetega biološkega označevalca varnosti so njegova povezava s kliničnim izidom, zadostna klinična občutljivost (malo lažno negativnih) in klinična specifičnost (malo lažno pozitivnih rezultatov). Po hierarhiji zaupanja si sledijo: nadomestni izid > znan biološki označevalec > verjeten biološki označevalec > kandidat za biološkega označevalca (2). Klinično sprejeti biološki označevalci bodo v kliniki v pomoč pri diagnosticiranju različnih bolezni in pri ocenjevanju dovzetnosti pacienta za poškodbo organa. Posledica sprejetja bodo tudi nove diagnostične preiskave za organe (ang. diagnostic organ safety tests), ki se bodo lahko izvajali ob pacientu. Pacienti se bodo tako bolje spremljali in zdravili z bolj varnimi zdravili (5).

## 8 SKLEP

Zavedati se moramo, da je ocenjevanje varnosti v procesu razvoja zdravila le eden od primerov uporabe bioloških označevalcev. Trenutno je še veliko neskladnosti v procesu sprejemanja bioloških označevalcev predvsem zaradi njihove raznolikosti, različnih metod in namenov njihove uporabe. Zato je zanje težko postaviti vseveljavne smernice. V prihodnosti bodo regulatorni organi morali natančno določiti merila za odobritev bioloških označevalcev. Poleg tega bo potrebno razviti bazo podatkov o



bioloških označevalcih, da se pospeši njihovo sprejemanje ter napisati priporočila za njihovo poimenovanje. Trenutno se biološki označevalci pri razvoju zdravil večinoma uporabljajo v predklinični toksikologiji v zgodnjih stopnjah razvoja. V prihodnosti pa pričakujemo, da se bo njihova uporaba še bolj razširila tudi na klinične študije ter v diagnostiko bolezni in zastrupitev. Proces bo obojesmeren. V diagnostiki bolezni in zastrupitev trenutno že obstaja veliko bioloških označevalcev in stroka laboratorijske medicine neprestano išče in ocenjuje nove bolj občutljive in specifične označevalce za potrebe diagnostike. Zagotovo pa se z razvojem bioloških označevalcev odpira tudi pot osebni medicini oziroma bolniku prilagojeni medicini ter se izboljšujejo možnosti pri ocenjevanju tveganja za zdravje zaradi izpostavljenosti različnim ksenobiotikom.

Farmacevtska podjetja so na področju bioloških označevalcev 'pozabila' na tekmovalnost in združila moči (različne pobude: Critical path initiative, Innovative medicines initiative, sodelovanje v različnih združenjih, privatno-zasebna partnerstva). Vse to je vodilo do vidnega uspeha – regulatorni organi so odobrili biološke označevalce varnosti za ledvica v predkliničnih fazah. Tako so se odprla vrata, ki motivirajo tako zasebna podjetja kot javni sektor za delo na tem področju. Sledila bo verjetno odobritev bioloških označevalcev varnosti še za druge organske sisteme, ki so trenutno v različnih stopnjah razvoja. Glede na omejeno število sprejetih in odobrenih bioloških označevalcev in manjše število potencialnih kandidatov lahko zaključimo, da je njihov razvoj kompleksen in zato zahteva multidisciplinaren pristop.

## 9 LITERATURA:

1. Timbrell J. A. *Principles of biochemical toxicology*, 4th ed. Informa healthcare 2008: 7-8.
2. Hargreaves R. *Biomarkers in Drug Development: A Handbook of Practice, Application, and Strategy*. Edited by Bleavins M.R., Carini C., Jurima-Romet M. and Rahbari R. Wiley. 2010: 1-19, 37, 55-59, 291-294, 336, 697.
3. Biomarkers Definitions Working Group. *Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework*. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69: 89-95.
4. <http://www.scribd.com/doc/1049200/National-Institutes-of-Health-woodcock-20062007>. Dostop: 15-3-2011.
5. Marrer E., Dieterle F. *Impact of biomarker development on drug safety assesment*. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2010; 243: 167-176.
6. Bakhtiar R. *Biomarkers in drug discovery and development*. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 2008; 57: 85-91.
7. Timbrell J.A. *Biomarkers in toxicology*. *Toxicology* 1998; 129:1-12.
8. Timbrell J.A. *Introduction to Toxicology*, 3rd ed. Taylor & Francis. 2009; 67-70.
9. Van Welie R.T.H., Van Dijk R.G.J.M., Vermeulen N.P.E., Van Sittert N.J. *Mercapturic acids, protein adducts and DNA adducts as biomarkers of electrophilic chemicals*. *Crit Rev Toxicol* 1992; 22 5-6.: 271.
10. Van Gool A.J., Henry B. and Sprengers E.D. *From biomarker strategies to biomarker activities and back*. *Drug discovery today* 2010; 15: 121-126.
11. Kelce W.R., Ewing L.L. *Male reproductive toxicology*. *Biomed Environ Sci* 1990; 4: 35.
12. Danhof M., Alvan G. et al. *Mechanizm based pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling: a new clasification of biomarkers*. *Pharm Res* 2005; 22:1432-1437.
13. Han W.K., Bonventre J.V. *Biologic markers for early detection of acute kidney injury*. *Cur Opin Crit Care* 2004; 10: 476-482.
14. Han W.K., Waikar S.S., Johnson A. et al. *Urinary biomarkers for early detection of acute kidney injury*. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 403A.
15. Han W.K., Waikar S.S., Johnson A. et al. *Urinary biomarkers in the early diagnosis of acute kidney injury*. *Kidney Int* 2008; 73 7.: 863-869.
16. Maurer G. *Current experience with pre-clinical safety biomarker qualification*, DIA Workshop 2005, Washington. 2005; [http://www.fda.gov/cderg/genomics/presentations\\_20051006/051007\\_13\\_Maurer.pdf](http://www.fda.gov/cderg/genomics/presentations_20051006/051007_13_Maurer.pdf). Dostop: 15-3-2011.
17. Konzorcij PTSC. <http://www.c-path.org/index.cfm>. Dostop: 15-3-2011.
18. Albert P. Li. *An integrated, multidisciplinary approach for drug safety assessment*. *Drug Discovery Today* 2004; 9 16.: 687-693.
19. ICH Safety guidelines. <http://www.ich.org/products/guidelines/safety/article/safety-guidelines.html>. Dostop: 15-3-2011.
20. ICH S7A: *Safety pharmacology studies for human pharmaceuticals*. [http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Safety/S7A/Step4/S7A\\_Guideline.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S7A/Step4/S7A_Guideline.pdf). Dostop: 15-3-2011.
21. *Critical Path Opportunities Report*. <http://www.fda.gov/downloads/ScienceResearch/SpecialTopics/CriticalPathInitiative/CriticalPathOpportunitiesReports/UCM077254.pdf>. Dostop: 15-3-2011.
22. US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, *Guidance for industry: pharmacogenomic data submission*. <http://www.fda.gov/downloads/RegulatoryInformation/Guidances/ucm126957.pdf>. Dostop: 15-3-2011.
23. Goodsaid F., Frueh F. *Process map proposal for the validation of genomic biomarkers*. *Pharmacogenomics* 2006; 75.: 773-782.
24. Marson B. "Critical Path" is on the road forward; FDA reports industry activity is high. *The Pink Sheet* 2007; 69: 29.
25. Owens J. *Funding for accelerating drug development initiative critical*. *Nature Reviews Drug Discovery* 2006; 5: 271.
26. Woodcock J., Woosley R. *The FDA critical path initiative and its influence on new drug development*. *Annu Rev Med* 2008; 59: 1-12.
27. IMI SAFE-T Press Release. [http://pr.euractiv.com/files/SAFE-T\\_Press\\_Release\\_Final.doc](http://pr.euractiv.com/files/SAFE-T_Press_Release_Final.doc) Dostop: 15-3-2011.