

Protinádorová léčiva IV

„Biologická léčba“

Významnou skupinu cílených léčiv s vysoce specifickým účinkem tvoří tzv. biologická léčiva. Do této skupiny patří různé bílkoviny a oligopeptidy, především terapeutické protilátky, dále sem jsou řazeny vakcíny, přirozené i syntetické oligo- a polynukleotidy, nativní („divoké“) geny zkoušené jako náhrada mutacemi poškozených tumorsupresorových genů, genová terapie využívající geny zabudované do virů, plasmidů a jiných vektorů, buněčná terapie a využití onkolytických virů a bakterií. Biologická léčiva se v terapii (nejen protinádorové) uplatňují sice jen krátce, přesto si však již vydobily významné postavení a jejich význam neustále roste.

Podle některých údajů patří v současnosti až 75% všech protinádorových léčiv ve fázi II a III klinického zkoušení a v registračním řízení mezi biologická léčiva. V r. 2008 dosáhly prodeje protinádorových biofarmak 24,5 mld. USD, tj. 16% prodeje protinádorových léčiv. Výsledek však zkresluje vysoké ceny těchto léčiv. Ilustrativnější proto mohou být nárůsty prodeje v r. 2009: u monoklonálních protilátek to bylo o 28% více, u vakcín o 20% více a u ostatních biologických léčiv o 17% více. Odbyt se snížil pouze u léčiv určených pro buněčnou a genovou terapii. Do r. 2013 se mají prodeje biofarmak celkově zvýšit o 60%.

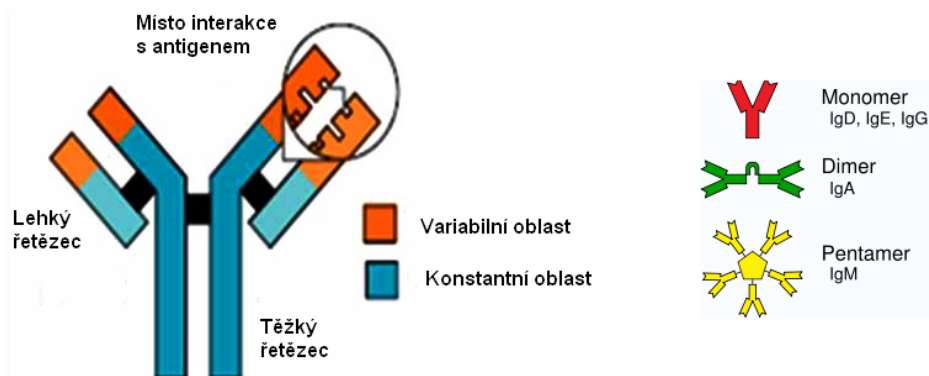
Rozvoj trhu biologických léčiv ale má před sebou jednu velkou překážku: patentovou ochranu dosavadních přípravků a zatím nevyjasněnou problematiku vstupu biogenerik na trh.

Zatím bylo v Evropě povoleno 13 biogenerik, šlo však o polypeptidická léčiva, jako je např. erythropoietin nebo růstový hormon, která mají ve srovnání s terapeutickými protilátkami jednoduchou strukturu. U první terapeutické monoklonální protilátky používané v onkologii, rituximabu, skončí patentová ochrana v roce 2014, takže do té doby budou snad otázky vstupu biogenerik se složitou strukturou dořešeny. Zatímco připravit přesné ekvivalenty nízkomolekulárních léčiv je relativně snadné, u biogenerik s komplikovanou stavbou velkých molekul to je krajně obtížné. Definice zásadní podobnosti monoklonálních protilátek a dalších biogenerik s originálním přípravkem, resp. určení hranice mezi novým léčivem, u něhož je třeba zajistit nové klinické zkoušky a kopii starého zůstává předmětem sporů. Do těchto sporů se přitom zapojují nejen odborníci, ale i politici, protože jde o problém, který může mít značný dopad na nákladovost zdravotní péče. Lékové agentury nedávno vydaly směrnice pro povolování biogenerik (EMA v polovině r. 2011, FDA až v únoru 2012), ty však jsou předmětem diskusí a lze očekávat, že se objeví problémy s jejich uplatňováním.

Monoklonální protilátky

Jeden z nejvýznamnějších přínosů pro protinádorovou terapii i diagnostiku představují **protilátky**. Jsou to bílkoviny, většinou glykosylované, které dovedou rozpoznávat, bakterie, viry, infikované i nádorové buňky, cizí bílkoviny a další cizorodé látky, ale někdy i vlastní bílkoviny, vázat se na ně a případně je různými mechanismy likvidovat. Látky, které jsou protilátkou rozpoznávány, se nazývají **antigeny**. Protilátky mohou být využity v protinádorové terapii buď přímo k „neutralizaci“, tj. **blokování růstových faktorů a jejich receptorů** nebo k **aktivaci imunitního systému proti nádorovým buňkám** nebo nepřímo k **nasměrování léčivých přípravků k nádorové tkáni**.

Základní jednotkou protilátek jsou **imunoglobuliny G (IgG)**, glykosylované plasmatické bílkoviny o molekulové hmotnosti asi 150 kDa, které mohou vytvářet dimery (IgA) nebo i pentamery (IgM). IgG mají tvar písmene Y a jsou tvořeny dvojicemi stejných polypeptidických řetězců – „lehkých“ a „těžkých“, propojených disulfidickými můstky. Na konci lehkých řetězců jsou variabilní části, které rozpoznávají antigen.



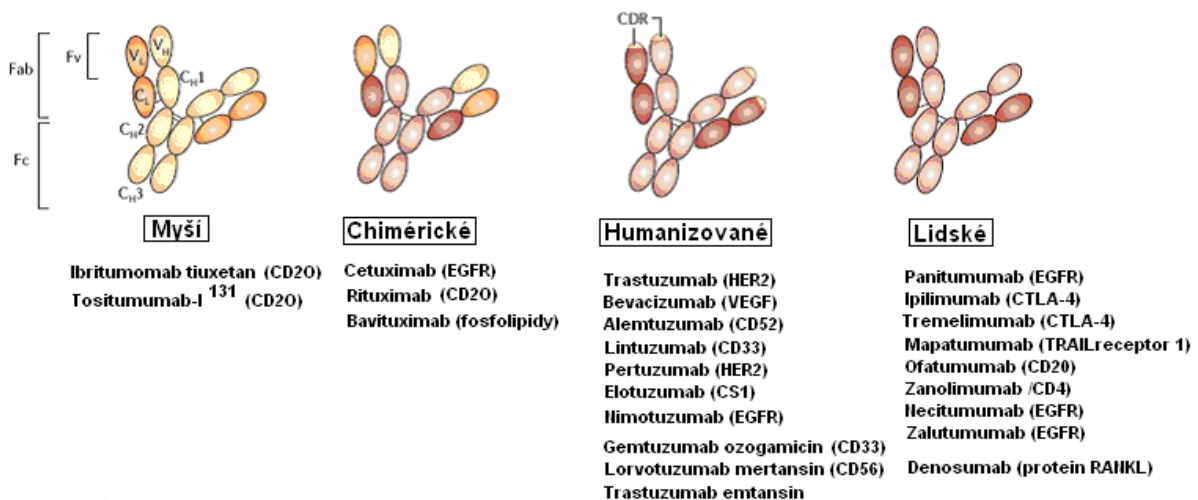
Protilátky se získávají imunizací zvířat nebo člověka antigeny. Vznikají v lymfocytech (bílých krvinkách) typu B. Ty jsou tvořeny různými populacemi (klony) buněk, takže vytvářené protilátky jsou **polyklonální**, tj. jsou směsí příbuzných bílkovin s různou afinitou k antigenu. Polyklonální protilátky bývají součástí vakcín. Když se po imunizaci pokusného zvířete (myš) získají ze sleziny lymfocyty B a působením polyethylenglykolu se spojí s nesmrtebnými nádorovými (myelomovými) buňkami, které samy protilátky vytvářet nemohou, vzniknou fúzané buňky zvané **hybridomy**. Ty si zachovávají vlastnosti původních buněk – schopnost lymfocytu B vytvářet protilátky i schopnost nádorové buňky se neomezeně a relativně rychle množit. Jednotlivé buňky hybridomů se pak mohou izolovat a pomnožit v oddělených tkáňových kulturách. Přitom se získají klony buněk, z nichž každý produkuje jediný typ protilátky. Klony jsou tvořeny stejnými buňkami, takže i protilátky klonem produkované jsou identické, „**monoklonální**“. Po otestování na afinitu k antigenu se k další kultivaci vyberou hybridomy, které vytvářejí nejučinnější protilátky. Za vývoj hybridomové techniky přípravy monoklonálních protilátek byli v r. 1984 César Milstein a Georges Köhler oceněni Nobelovou cenou.

Monoklonální protilátky jsou plasmatické glykoproteiny s jednotnou strukturou a stejným účinkem, který je vysoce specifický a selektivní. Lze je tedy považovat za chemická individua. Výroba monoklonálních protilátek je náročná, což se odráží v jejich vysokých cenách. Generické názvy monoklonálních protilátek mají koncovku **-mab** (od **monoclonal antibody**, *antibody* je anglicky protilátka). Koncovce **-mab** předchází jedna nebo dvě hlásky, jimiž jsou protilátky blíže charakterizovány.

Myší protilátky (koncovka **-omab**) se používají hlavně v diagnostice. Pro terapii nejsou vhodné, protože pro lidský organismus jsou cizorodé a vyvolávají tvorbu jiných protilátek. Používají se proto jen výjimečně. Myší monoklonální protilátka byla sice povolena pro použití v humánní terapii již v r. 1986, ale následovnice v podstatě neměla. Byl to muromomab-CD3, protilátka proti receptoru CD3 na povrchu T-lymfocytů, buněk imunitního systému. Muromomab-CD3 byl používán jako imunosupresant k potlačení akutního odmítnutí transplantovaných orgánů organismem. Zkoušen byl i v protinádorové terapii, při léčbě akutní lymfocytické leukemie vycházející z T-buněk, v této indikaci však úspěšný nebyl. Účinný byl hlavně při prvním podání, při opakovaném podání docházelo ke snížení účinnosti a anafylaktickým reakcím. Poměrně levné myší monoklonální protilátky byly později povoleny jen pro protinádorovou radioterapii, kdy protilátka slouží k nasměrování navázaných radioizotopů k nádorovým buňkám a její imunogenita tolik nevadí.

Pro humánní terapii by byly nejvhodnější lidské protilátky (**-umab**) získávané z hybridomů připravených fúzí lidských buněk nebo imunizací transgenních zvířat s lidskými geny. Ani to však není bez problémů. Proto se nejčastěji používají **rekombinantní monoklonální protilátky**. Přitom se připraví segmenty DNA kódující určité části protilátek. Řetězec DNA kódující variabilní část myší protilátky, která rozeznává antigen, se pak spojí s lidskou DNA kódující konstantní část protilátky. U získané DNA se ještě může provést řízená mutagenese některých nukleotidů, která zajistí další „humanizaci“ rekombinantní protilátky. DNA se pak vpraví pomocí vhodného vektoru do mikrobiálních (kvasničných) nebo i tkáňových buněk a ty pak při kultivaci produkují buď „**chimérické**“ protilátky (**-ximab**) s lidskými těžkými řetězci a myšími lehkými řetězci nebo „**humanizované**“ protilátky (**-zumab**), u nichž zůstává myší jen variabilní fragment lehkého řetězce protilátky. Humanizované protilátky mohou obsahovat až 95% lidské bílkoviny.

Typy monoklonálních protilátek



V protinádorové terapii byly zkoušeny i chimérické protilátky se sníženou imunogenicitou, které sestávají z variabilní oblasti protilátek primátů – opic makaků a konstantní části lidských protilátek. Vedle běžných monoklonálních protilátek rozpoznávajících jediný antigen mohou být bioinženýrskými metodami připravovány a terapeuticky využívány **protilátky bispecifické (BiTE)**, které rozpoznávají dva různé antigeny, jeden na T-lymfocytech a druhý na nádorových buňkách.

Problémy s použitím myších protilátek znamenaly, že až 8 let po muromomabu-CD3 byla povolena další protilátka pro terapii. Byl to abciximab, chimérická protilátka určená k rozpouštění krevních sraženin. V protinádorové terapii se protilátky začaly používat v r. 1997, kdy byl povolen rituximab.

Rituximab (Rituxan, Mabthera; Biogen) je chimérická protilátka, která se váže na antigen CD-20 vyskytující se na povrchu nezralých B-lymfocytů, ne však diferencovaných krevních buněk. Osvědčil se při terapii tzv. nehodgkinských lymfomů, nádorů lymfatických žláz vycházejících z B-lymfocytů, nově je indikován i při revmatoidní artritidě. Přesný mechanismus účinku není znám, zřejmě se při něm kombinuje několik efektů vedoucích k eliminaci buněk, které na povrchu mají antigen CD20. To umožňuje, aby se z kmenových buněk vyvinuly nové zdravé B-buňky. Druhou monoklonální protilátkou zavedenou do protinádorové terapie byl **trastuzumab** (Herceptin, Roche), který byl povolen v r. 1998. Je to humanizovaná monoklonální protilátka proti receptoru HER2 (Her2/neu resp. erbB-2), který patří do rodiny receptorů pro lidský epidermální růstový faktor EGF. Trastuzumab se váže na receptor, zablokuje jej a tím brání přenosu signálu k buněčnému dělení. Kromě toho potlačuje angiogenesi a může svojí vazbou na receptor nasměrovat imunitní systém k likvidaci buněk s navázanou protilátkou. Používá se k léčbě pokročilých metastázujících nádorů prsu u pacientek, které nereagovaly na dva předchozí režimy chemoterapie. Zvýšené množství receptoru HER2 se vyskytuje nejen v buňkách některých nádorů prsu, ale i některých jiných nádorů.

Receptory pro EGF blokuje také chimérická monoklonální protilátka **cetuximab** (Erbix, ImClone), s níž byl spojen skandál na trhu akcií. Manažéři firmy ImClone se na sklonku roku 2002 dozvěděli, že FDA bude žádat doplnění výsledků jeho klinických zkoušek. Tuto informaci ale pozdrželi a rychle prodali akcie firmy. Po zveřejnění oznámení FDA cena akcií ImClone klesla z 20 \$ na 6 \$, čímž byli ostatní akcionáři poškozeni. Manažéři firmy pak byli odsouzeni k odnětí svobody za zneužití informací v obchodním styku (insider trading). Přes finanční potíže se ale nakonec firmě ImClone podařilo klinické zkoušky dokončit. V červenci 2004 byl cetuximab schválen FDA pro léčbu nádorů konečníku a střev a v březnu 2006 pro léčení nádorů hlavy a krku. Jinou monoklonální protilátkou proti receptoru EGF je **nimotuzumab** (Theraloc, YM Biosciences), určený pro rovněž léčbu nádorů hlavy a krku. Ve stejné indikaci je zkoušen **zalutumumab** (HuMax-EGFr, Genmab). Nejnověji povolenou terapeutickou protilátkou proti receptoru pro EGF je **panitumumab** (Vectibix, Amgen), zcela lidská protilátka pro terapii pacientů s jinak neléčitelnými nádory střev a konečníku. Protilátkou proti vaskulárnímu endoteliálnímu růstovému faktoru VEGF je **bevacizumab** (Avastin, Roche). Ten se váže na růstový faktor, který pak nemůže interagovat se svým receptorem VEGFR. Výsledkem je zablokování přenosu signálů pro růst cév v nádoru. Bevacizumab byl schválen v r. 2004 jako lék proti metastázujícímu kolorektálnímu karcinomu, používá se v kombinaci s 5-fluoruracilem. Zkoušeno je použití v očním lékařství.

V r. 2009 byl povolen pro léčbu chronické myeloidní leukemie **ofatumumab** (Arzerra, Genmab), čistě humánní protilátka proti CD20, antigenu, který je cílovou strukturou i pro rituximab. V březnu 2011 byl pro léčbu pokročilých stadií metastázujícího melanomu povolen **ipilimumab** (Yervoy, Bristol-Myers Squibb), protilátka proti TLCA-4, antigenu, který se vyskytuje na povrchu cytotoxických T-lymfocytů. Jejich vazbou na antigen TLCA-4 by měl být stimulován imunitní systém organismu k zásahu proti nádorovým buňkám. Podobný účinek by měl mít **tremelimumab** (Pfizer). V r. 2010 byl nejprve pro léčbu osteoporózy a pak i pro prevenci zlomenin u pacientů s kostními metastázami **denosumab** (Xgeva, Amgen), lidská protilátka proti ligandu aktivujícímu receptor RANK, který se podílí na regulaci odbourávání kostní tkáně.

Alemtuzumab (Campath, Genzyme) je protilátkou proti antigenu CD52, který se vyskytuje na povrchu zralých lymfocytů, ale ne na povrchu kmenových buněk, z nichž lymfocyty vznikají. Používá se k léčbě chronické lymfocytické leukemie a lymfomů. V kombinaci s interleukinem 2 je zkoušen **WX-G250** (Rencorex, Wilex AG), monoklonální chimérická protilátka proti anhydrase kyseliny uhličitě IX, která se vyskytuje na 95% buňkách nádorů ledvin, ne však na buňkách zdravých ledvin. WX-G250 se váže variabilní částí na antigen, zatímco jeho konstantní část interaguje s receptorem na povrchu buněk imunitního systému nazývaných přirození zabijáci (Natural Killer – NK cells). Tím se nastartuje mechanismus imunitní obrany závislý na protilátce (ADCC – antipody dependent cellular cytotoxicity). Podobným mechanismem by měl účinkovat **OvaRex**, jiná protilátka fy Wilex, tentokrát proti antigenu C-125, který se vyskytuje zejména na povrchu buněk nádorů vaječníků. **Girentuximab** (Rencorex, Wilex), protilátka proti antigenu CA IX, je zkoušen ve fázi III při adjuvantní léčbě nádorů ledvin. Protinádorovými monoklonálními protilátkami, které dospěly do pokročilých stadií klinických zkoušek, jsou **bavituximab** (Peregrine), řada dalších protilátek je v časných fázích vývoje. Bavituximab je protilátkou proti fosfolipidu, který se má vyskytovat pouze na povrchu cév v nádorech. Má nasměrovat imunitní systém organismu na likvidaci buněk cév v nádoru i nádoru samotného.

Zajímavý mechanismus účinku mají bispecifické **BiTE protilátky**, jako jsou **blinatumomab** (konjugát fragmentů 2 myších protilátek) nebo **katumaximab** (Removab, Fresenius Biotech, hybridní myši-potkání monoklonální protilátka). Jedním z jejich cílových antigenů je CD3, který se vyskytuje na povrchu T lymfocytů, buněk, které jsou důležitou součástí imunitní obrany organismu proti nádorovým buňkám. Druhým antigenem je některý z povrchových antigenů nádorových buněk. U blinatumomabu antigen CD19 na povrchu B-lymfocytů, u katuximabu adhesivní molekul epiteliálních buněk EpCAM. Bispecifická protilátka svými interakcemi nádorovou buňku i cytotoxickou T-buňku propojí. Tím se podstatně zvýší cytotoxický účinek a T-lymfocyty začnou likvidovat i takové nádorové buňky, které exprimují EpCAM nebo jiný nádorový antigen, a to i takové, které jinak imunitní obraně organismu unikají. Blinatumomab je zkoušen při léčbě akutní lymfoblastické leukemie, katuximab při terapii maligních ascitických nádorů.

Podobný protinádorový účinek jako monoklonální protilátka bevacizumab má mít **aflibercept** (Zaltrap, VEGF Trap, Regeneron/sanofi), který však není protilátkou, ale fúzním proteinem vzniklým spojením extracelulárních fragmentů receptorů pro vaskulární endoteliální růstový faktor VEGFR1 a VEGFR2 s konstantní částí lidského imunoglobulinu IgG1. Klinické zkoušky afliberceptu nebyly zatím příliš úspěšné, takže v r. 2009 bylo ukončeno jeho zkoušení u nádorů pankreatu a v březnu 2011 u nádorů plic, pokračují však zkoušky u pokročilých nádorů prostaty.

Některé protilátky proti antigenům vyskytujícím se na povrchu nádorových buněk se využívají k **nasměrování toxinů, cytostatik, enzymů nebo radioizotopů emitujících intenzivní záření krátkého dosahu na nádorové buňky**. Specificita protilátek přitom zajišťuje, že zdravé tkáně nejsou účinnou složkou přípravku výrazněji poškozeny.

Při nádorově specifické radioterapii se používají myší protilátky proti nádorovému antigenu CD-20 s navázanými radioizotopy. Jsou jimi **tositumomab** (Bexxar), protilátka s navázaným ^{131}I , který se rozpadá za vzniku β -záření, které proniká do hloubky 2,4 mm a **ibritumomab tiuxetan** (Zevalin), protilátka s kovalentně navázaným chelátotvorným seskupením, kde je navázán buď izotop yttria ^{90}Y (Y90-Zevalin) emitujícím β -záření, nebo india ^{111}In (In111-Zevalin) vydávajícím γ -záření s krátkým dosahem. Použití myších protilátek v těchto případech nevádí, protože jde o jednorázové zničení cílových nádorových buněk, zkoušeny však jsou i chimérické nebo humanizované protilátky proti nádorovým antigenům - při léčbě gliomů chimérická protilátka s navázaným ^{131}I , **Cotara** (Techniclone/Peregrine), při selektivní léčbě nádorů prsu výše zmíněný **nimotuzumab** a navázaným radioaktivním izotopem india ^{111}In a při léčbě nádorů pankreatu **klivatuzumab tetraxetan** s ^{90}Y .

Z **imunotoxinů**, toxických látek navázaných na protilátku, byl zkoušen konjugát prudce jedovatého ricinu, do terapeutické praxe se však nedostal. Lék s generickým názvem **gentuzumab ozogamicin** (Myotarg, Wyeth) obsahuje humanizovanou monoklonální protilátku proti nádorovému antigenu CD-33 s navázaným toxickým protinádorovým antibiotikem kalicheamycinem. Používá se k léčbě akutní myeloblastické leukemie. Konjugáty protilátek s cytotoxickými deriváty makrolidu maytansinu obsaženého v rostlinách rodu *Maytenus* a interagujícího s mikrotubuly jsou **lorvotuzumab mertansin** zkoušený při léčbě mnohočetného myelomu, malobuněčných nádorů plic a mnohočetného myelomu a **trastuzumab emtansin** určený (podobně jako samotný trastuzumab) k léčbě pokročilých nádorů prsu. **Proxinium** (Viventia Biotech) je konjugát exotoxinu A bakterií *Pseudomonas* s fragmentem monoklonální protilátky, proti antigenu epitelových buněk EpCAM, který se vyskytuje se zejména na povrchu buněk nádorů hlavy a krku, byl zatím povolen jako lék proti vzácným onemocněním. **Brentuximab vedotin** (Adcetris, Seattle Genetics) je konjugát protilátky proti antigenu CD-30 se silně cytotoxickým monomethylauristatinem E, byl povolen v r. 2011 pro léčbu Hodgkinských a anaplastických lymfomů.

Pod souhrnný pojem imunotoxiny jsou vedle konjugátů protilátek s toxiny řazeny i podobné konjugáty jiných bílkovin se zvýšenou afinitou vůči nádorovým buňkám. **Cintredekin besudotox** je konjugát interleukinu 13 (IL-13) s pseudomonádovým exotoxinem A. **TransMID 107** je konjugát transferrinu se záškrťovým toxinem. Je zkoušen při léčbě gliomů, agresivních nádorů mozku. Přitom se využívá toho, že nádorové buňky mají na svém povrchu zvýšené množství receptorů pro transferrin.

Zajímavým typem konjugátů protilátek proti nádorovým antigenům s kopolymerem N-hydroxypropylmethakrylamidu obsahujícím cytostatika (zejména doxorubicin) navázaná přes peptidickou spojku jsou „**cíleně směřovaná polymerní léčiva**“ vyvíjená na Ústavu makromolekulární chemie ve spolupráci s Mikrobiologickým ústavem AV ČR a firmou Zentiva. Otázkou je, zda poté, co Zentivu koupil farmaceutický koncern sanofi-aventis, budou dokončeny klinické zkoušky těchto léčiv s komplikovanou strukturou.

Konjugáty enzymu (např. fosfatasy) a protilátky proti nádorovým antigenům se zkoušejí při způsobu léčby nesoucím zkratku **ADEPT** (Antibody Directed Enzyme Prodrug Therapy). Protilátka se váže na nádorové buňky. Navázaný enzym pak v okolí nádorové buňky štěpí netoxické (fosforylované) profarmakum, např. fludarabin fosfát, na protinádorově účinný lék, který (na rozdíl od silně polárního fosforylovaného derivátu) může pronikat přes buněčnou membránu do nádorových buněk.

Podobně jako u jiných cílených léčiv je protinádorová terapie využívající protilátky méně riziková z hlediska vedlejších účinků, bez rizik však není ani ona. Závažným problémem je již zmíněná **imunogenita terapeutických protilátek**, kdy podaný přípravek může být imunitním systémem vnímán jako cizorodá bílkovina. To pak vyvolá v organismu vznik jiných protilátek, což pak vede v lepším případě ke snížení účinnosti původní protilátky, v horším k imunitní reakci – anafylaktickému šoku. Jiným problémem může být orgánová toxicita některých protilátek, zejména kardiotoxicita

Např. trastuzumab způsobuje u 2-7% léčených pacientek kardiovaskulární problémy. Činnost srdce u pacientek léčených trastuzumabem proto musí být pravidelně kontrolována, pro léčbu žen, které měly problémy s funkcí srdce je trastuzumab nevhodný a rizikový. Kardiotoxicitu vykazují i jiné protilátky. Problémem dalších protilátek je poškození ledvin, které je způsobené rozpadem nádorových buněk (syndrom lýzy nádorů).

Monoklonálních protilátek určených pro terapii rychle přibývá. Přes relativně krátkou dobu, po níž se používají, dosáhly v r. 2008 prodeje protinádorových terapeutických protilátek 8,7 mld. USD. Vysoké číslo přitom ale neodráží počet prodaných dávek, ale spíše velmi vysoké ceny protilátek, do nichž se promítá velká náročnost vývoje, přípravy, čištění i kontroly jakosti a bezpečnosti.

Např. v r. 2011 činila výše úhrady za 150 mg balení trastuzumabu (Herceptin) pro léčbu pokročilých stadií nádorů prsu 17.060 tis. Kč. Doporučenou počáteční dávku činí 4 mg na 1 kg tělesné hmotnosti, udržovací dávka, která se má podávat každé 1-3 týdny je 2 mg/kg. Náklady na 6 léčebných cyklů u průměrné pacientky tak dosahují asi 0,6 mil. Kč. Podle farmakoekonomické studie provedené britským NICE činí zvýšené náklady pro celoživotní léčbu pacientek s pokročilými stadii nádorů prsu v případě, že trastuzumab byl přidán k běžné terapii 82.340 Lbst při přežití ohodnoceném na 10,7 QALY, na léčbu bez trastuzumabu 77.786 Lbst při 8,78 QALY. Náklady na 1 QALY tak činí 2396 Lbst, což je ještě únosná částka. Jiné terapeuticky používané protilátky jsou ale mnohem dražší. Náklady na léčbu pak mohou dosahovat částek přesahujících 2 mil. Kč za rok. V některých případech je dosahováno lepších výsledků při použití kombinace více protilátek, což náklady dále zvyšuje. Zdravotní pojišťovny řady zemí proto odmítají takovou nákladnou léčbu hradit. Moderní léčiva tak nedostávají všichni pacienti, kterým by prospěla. V ČR se podle vyjádření předsedy České onkologické společnosti peníze zatím našly v případech, kdy nákladná léčba může zachránit pacientovi život, ne však v případě, kdy mu život prodlouží jen o několik měsíců. Roční náklady na „biologickou léčbu“ u nás v r. 2010 činily 2,2 mld. Kč. Pokud by byli léčeni všichni potřební pacienti, dosáhly by tyto náklady téměř 6 miliard korun. To dokazuje, že biologická léčba je indikována přísně výběrově. Vzhledem k úsporám nákladů na zdravotnictví se ale situace patrně zhorší. Do konce roku 2010 hradily pojišťovny léčbu konkrétním pacientům, od r. 2011 dostávají onkologická centra paušální částku bez ohledu na počet a potřeby pacientů a onkologové se obávají, že to povede ke zvýšení podléčenosti.

Nákladovost léčby protilátkami mohou snížit diagnostické testy, jimiž se zjišťuje, zda v nádoru dochází k nadměrné expresi genu kódujícího cílovou strukturu protilátky. Podle výsledků se pak drahá léčba nasadí jen tam, kde je šance, že protilátka pomůže.

Jako první byly zavedeny testy pro prognózu terapie trastuzumabem. V tomto případě je gen kódující receptor erbB2, proti němuž je protilátka zacílena, nadměrně exprimován v buňkách 20-25% nádorů prsu. U nemocných žen s pozitivním nálezem receptoru představuje léčba trastuzumabem výrazný terapeutický přínos, u 75-80% jiných pacientek by však byla jen neúčelným vyhazováním peněz.

V budoucnosti by mohla zlevnění léčby také přinést generická analoga originálních terapeutických protilátek. Jak již bylo zmíněno, o problémech vývoje a povolování biogenerik se široce diskutuje, protože dosáhnout strukturní ekvivalence protilátek, které jsou složitými glykoproteiny, není prakticky možné.

Lze to např. ilustrovat tím, že již zmíněný trastuzumab má sumární vzorec $C_{6470}H_{10012}N_{1726}O_{2013}S_{42}$ a molekulovou hmotnost 145531,5 g/mol. Terapeutické monoklonální protilátky jsou při kultivaci genově upravených mikrobiálních nebo tkáňových buněk produkovány do média, z něhož se izolují a čistí. To je nákladné. Zkoušeny jsou možnosti produkce monoklonálních protilátek pomocí transgeních zvířat i rostlin. Ani to však nezajistí podstatné snížení nákladů na jejich výzkum, vývoj a výrobu. Jistou šanci na zlevnění terapie protilátkami údajně představují „nanoprotilátky“ (nanobodies) objevené v krvi velbloudů. Nanoprotilátky mají asi 10 x menší molekulu než lidské protilátky s molekulovou hmotností kolem 150000. Mají jednoduchou strukturu tvořenou malými „těžkými“ řetězci. „Lehké“ řetězce jim chybí, přesto jsou však plně funkční a jejich afinita k antigenům je podobná jako u běžných protilátek. Navíc jsou stálejší, nevadí jim tolik teplo a také lépe překonávají nízké hodnoty pH. Pokusy se zvířaty ukazují, že samy o sobě asi nebudou imunogenní – že při jejich aplikaci nedojde k tvorbě „protilátek proti nanoprotilátkám“. Pokud by se tyto přednosti potvrdily, pak by jejich cena měla být výrazně nižší než u běžných humanizovaných monoklonálních protilátek. V r. 2011 byly připraveny nanoprotilátky proti receptoru Her2. Případné léčebné využití velbloudích nanoprotilátek je však zatím dosti vzdálené. Výzkum v této oblasti není nijak zvlášť intenzivní a teprve v r. 2007 bylo zahájeno klinické zkoušení první nanoprotilátky (mimo oblast onkologie).

Jinou možností zlevnění „biologické léčby“ představují „**plastické protilátky**“ – čistě syntetické polymerní nanočástice s terciární strukturou získanou „molekulárním otiskem“ antigenu po jeho přidání do polymerační směsi.

I když jde o postup známý již z 80. let minulého století, kdy představoval jednu z variant přípravy sorbentů pro afinitní chromatografii, příprava a použití polymerních nanočástic s výraznou afinitou k určitému antigenu byla opublikována až v r. 2010. Šlo o částice s afinitou vůči hlavní složce včelího jedu. Myši, kterým byla bezprostředně po injekci letální dávky jedu podána suspenze „plastické protilátky“ přežily výrazně déle než myši, které dostaly pouze jed. Ovšem i zde je případné terapeutické využití značně vzdálené.

Místo protilátek lze k zacílení na nádorové antigeny využít i **aptamery**, malé oligoribo- nebo -deoxyribonukleotidy vyselektované tak, aby se vázaly na zvolené antigeny. Vedle těchto oligonukleotidových aptamerů byly připraveny i peptidické aptamery, malé oligopeptidy rozeznávající určitou látku, které bývají obvykle připojeny k určité bílkovině.

Aptamery sice mohou být připravovány snáze než monoklonální protilátky, ale i v jejich případě je vývoj a praktické využití v terapii zatím jen v plénkách. Velkým problémem je malá biologická stabilita aptamerů (viz oligonukleotidická léčiva). Podstatně lepší perspektivu má uplatnění různě značených aptamerů při diagnostických zobrazovacích technikách, kde jejich rychlé biologické odbourání lze naopak považovat za přednost.

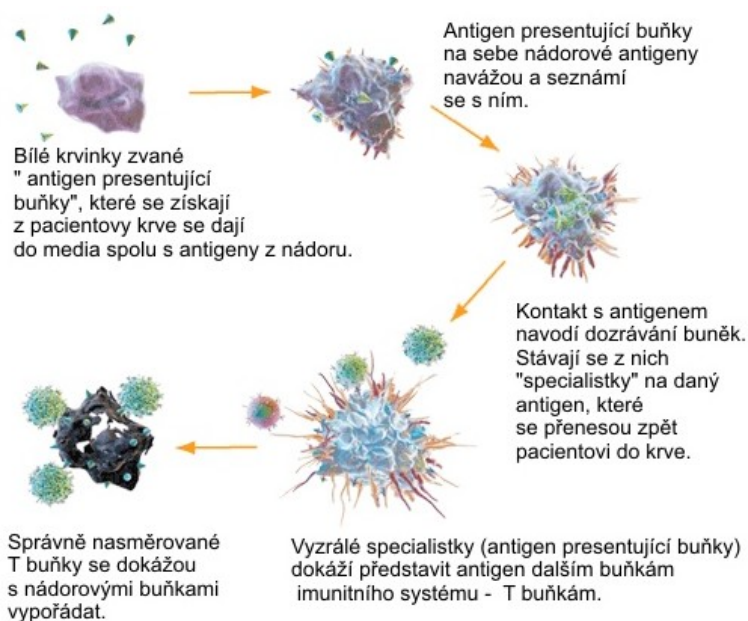
Protinádorové vakcíny

V protinádorové prevenci se uplatnily jen vakcíny, jejichž cílovými strukturami nejsou nádorové buňky, ale které chrání organismus proti infekcím předcházejícím vzniku nádorového onemocnění.

Infekce pohlavních orgánů lidskými papilloma viry (HPV) typu 16 a 18 má v asi 70% případů za následek vznik nádorů děložního čípku. Proti infekci HPV byly vyvinuty bivalentní vakcína Cervarix (GlaxoSmithKline) proti HPV 16 a 18 a kvadrivalentní vakcína Gardasil (Merck), která chrání i proti HPV 6 a 11, které vyvolávají vznik bradavičnatých výrůstků na genitáliích. Různé aspekty použití těchto vakcín v prevenci gynekologických nádorů byly v poslední době široce diskutovány.

Imunoterapie pomocí vakcín zaměřených přímo na nádorové buňky by měla být vysoce selektivní a šetrná, měla by umožnit současnou léčbu primárního nádoru i jeho metastáz a dokonce i přinést možnost prevence rakoviny nebo alespoň návratu onemocnění. Zatím se však potýká s problémem různorodosti nádorů a nedostatečné imunitní odpovědi organismu na vakcinaci. Vývoj protinádorových vakcín je sice poměrně intenzivní, ale jeho úspěšnost je omezená. Účinná protinádorová preventivní vakcinace je ještě dosti vzdálenou perspektivou a možná i utopií, určité úspěchy však byly zaznamenány při léčbě již rozvinutého nádorového onemocnění pomocí vakcín specificky vyvinutých pro určitého pacienta a jeho nádor.

Protinádorové vakcíny jsou tvořené polyklonálními protilátkami, tj. směsí protilátek s různou afinitou vůči antigenům na povrchu nádorových buněk. Jejich interakce s nádorovými antigeny upozorní imunitní systém organismu na přítomnost nežádoucích buněk, aktivuje cytotoxicky působící T-lymfocyty, makrofágy, tzv. přirozené zabíječe (natural killer cell) nebo jiné specializovaným buňkám imunitního systému a dá jim signál k tomu, aby nádorovou buňku zlikvidovaly. Po aktivaci buněk imunitního systému dojde ke specifické diferenciaci a klonálnímu pomnožení cytotoxických lymfocytů. Ty pak likvidují rozpoznané nemocné buňky. Signál k aktivaci poskytne souhra interakcí „naivního“ nediferencovaného lymfocytu, při níž klíčovou roli hrají buňky prezentující antigen. Nejúčinnějšími aktivátory přitom jsou tzv. dendritické buňky, které antigen pohltní, zpracují a pak se v lymfatických uzlinách přemění na buňky prezentující antigen. Při přípravě protinádorových vakcín se proto často izolují z krve prekursor dendritických buněk, ty se nechají dozrát a pak inkubují s nádorovými antigeny, lyzáty nádorových buněk nebo i živými nádorovými buňkami. Nejnověji se připravují tzv. DNA vakcíny, kde se místo antigenů používá DNA kódující nádorový antigen. Použity mohou být i geneticky modifikované viry s vneseným genem kódujícím antigenní proteiny nádorových buněk (např. proteiny gp100 a MART1 z melanomových buněk). Antigeny jsou glykoproteiny a pro organické chemiky může být zajímavá informace, že se pro úspěšný „trénink“ imunitního systému podařilo oligosacharidy některých nádorových antigenů syntetizovat. Pracovníci MBÚ AV ČR před časem ukázali, že k označení nádorových buněk pro likvidaci zabíječskými buňkami lze kromě protilátek využít i navázání oligosacharidových ligandů na povrch buněk pomocí směrovaných liposomů.



Schematické znázornění přípravy protinádorové vakcíny (zdroj: <http://www.osel.cz/index.php?clanek=4382>)

Problémem výzkumu a vývoje protinádorových vakcín je, že povrchové antigeny nádorových buněk se od antigenů na povrchu normálních tkáňových buněk liší jen nepatrně.

Problémem pro uplatnění protinádorových vakcín proto mohou být nežádoucí autoimunitní reakce, kdy imunitní systém začne likvidovat i normální buňky se stejnými antigeny jaké mají buňky nádorové. Např. po podání vakcíny proti melanomu imunitní systém organismu pacienta někdy napadá i normální melanocyty, kožní buňky produkující hnědé kožní barvivo melanin. To pak má za následek, že se na kůži léčeného pacienta začnou objevovat světlé skvrny (vitiligo). Závažnější autoimunitní projevy se však zatím při klinických zkouškách protinádorových vakcín nevyskytly.

Malé rozdíly mezi antigeny normálních a nádorových buněk jsou však spíše příčinou toho, že imunitní odezva je jen velmi slabá, takže organismus nedokáže nádorové buňky zlikvidovat.

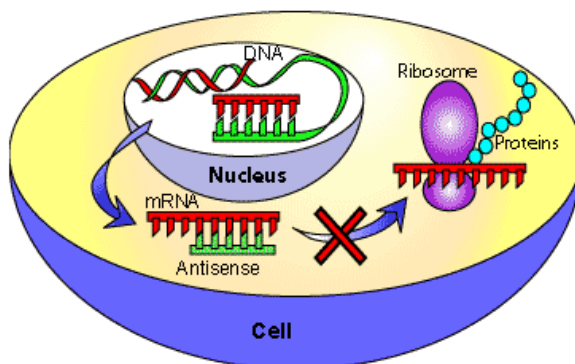
Paradoxně může přitom někdy docházet i k situaci, že protinádorová vakcína dokonce vyvolá imunitní toleranci proti nádorovým antigenům. V takových případech může vakcinace průběh nádorového onemocnění dokonce urychlit. Imunitní tolerance vůči nádorovým buňkám může být způsobena tím, že nádorová transformace je postupným procesem, takže si organismus může na nádorové buňky zvyknout. Zvyknout si však mohou i nádorové buňky, protože imunitní systém organismu na ně vykonává určitý selekční tlak. Množí se pak jen nejodolnější buňky, s nimiž se imunitní systém nedokáže vypořádat. Příčinou může být to, že si nádorové buňky osvojily schopnost určitých regulačních buněk bránit tomu, aby imunitní systém napadal vlastní tkáň. Nedávno byl identifikován enzym označovaný jako A20, který v dendritických buňkách tlumí přenos signálu o zánětlivých procesech a tím ovlivňuje prezentaci antigenů. Při jeho nedostatku nebo po jeho inhibici produkují dendritické buňky nadměrná množství cytokinů a dalších stimulačních molekul. Důsledkem je silná imunitní odezva, kterou regulační buňky neumí potlačit. Při pokusech na myších se ukázalo, že imunitní systém, jehož hyperaktivita byla vyvolána dendritickými buňkami s deficitem A20, dokáže likvidovat nádorové buňky tam, kde současné vakcíny byly neúčinné nebo jen málo účinné. Selektivní inhibice A20 by proto mohla účinnost protinádorové vakcinace výrazně zvýšit, na druhé straně by však mohla vést k nežádoucím projevům autoimunitního onemocnění, mezi něž patří roztroušená skleróza, revmatoidní artritida, psoriáza apod.

Jak již bylo zmíněno, protinádorové vakcíny se zatím používají spíše k imunoterapii již vzniklých nádorů než k prevenci rakoviny (na rozdíl od vakcín proti onkogenním virům).

I když se zkouší i možnosti vakcinace proti různým typům nádorů, hlavní pozornost byla věnována vývoji vakcíny proti melanomu, kožnímu nádoru, jehož výskyt se zvyšuje v souvislosti se snižováním tloušťky ozónové vrstvy. Melanom byl považován za imunogenní, ukázalo se však, že specifické antigeny spojených s melanomem vyvolávají jen slabou imunitní odezvu. Výsledky vakcinace jsou proto zatím stále jen rozporné. Zkoušeno je několik typů vakcín. Vakcína Oncophage (Antigenics Inc.) proti melanomu a nádorům ledvin je založena na využití tvorby protilátek proti antigenům buněk získaných přímo z nádoru pacienta. Při klinických zkouškách vakcíny u několika pacientů nádor vymizel, u jiných došlo k prodloužení doby bez známkem onemocnění o 3–4 měsíců, celková průměrná doba přežití se však u těchto pacientů nezvýšila. Jiný typ vakcíny, Canvaxin (CancerVax), je založen polyklonálních protilátkách proti 30 antigenům tří buněčných linií nádorových buněk melanomu i jiných nádorů. Při klinických zkouškách ale nebylo pozorováno prodloužení přežití pacientů. Určité úspěchy přinesla vakcína Provenge proti metastázujícím nádorům prostaty nereagujícím na jinou léčbu, která byla v dubnu 2010 povolena americkým FDA. Při klinických zkouškách Provenge prodloužila dobu přežívání pacientů o 4,1 měsíce. Vzhledem k ceně vakcíny (za jednu infuzi 31 tis. USD, léčba zahrnuje 3 dávky za 93 tis. USD) se vedou spory o její úhradu. Jinou, zatím neschválenou, vakcínou proti nádorům prostaty je Prostavac vyvíjený ve spolupráci s americkým Národním ústavem pro rakovinu, který při klinických zkouškách zvýšil dobu přežití pacientů o 8,5 měsíců. Ve vývoji je ještě DNA vakcína SynCon zacílená na dva nádorové antigeny. Vedle vakcín proti nádorovým antigenům je ve vývoji i vakcína proti telomerase. Vývojem protinádorových vakcín se nezabývají pouze zahraniční instituce, ale i některé týmy českých onkologů v Brně (vakcína proti mnohočetnému myelomu) a v Praze (vakcína proti nádorům prostaty).

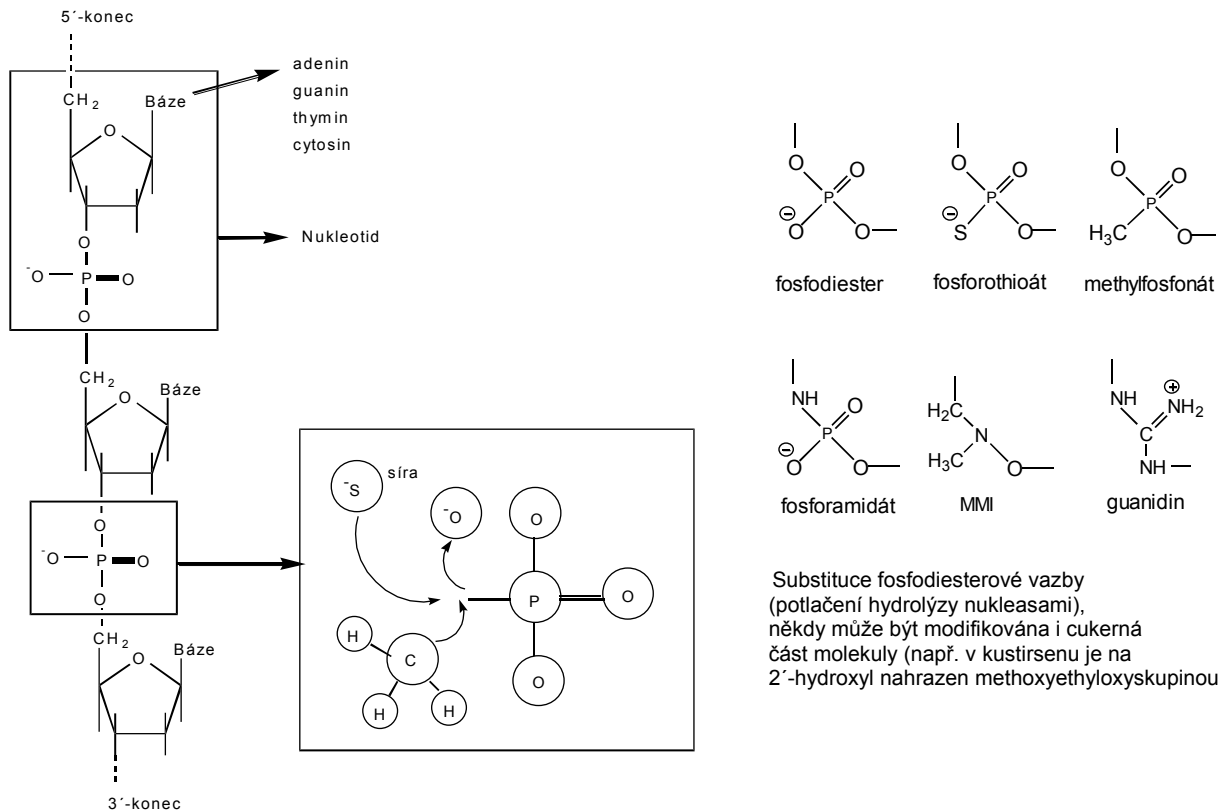
Oligonukleotidy a další látky blokující přenos genetické informace

Další možnost protinádorové terapie představují zásahy do přenosu genetické informace. Přepis onkogenů lze blokovat pomocí **komplementárních** (protisměrných, antisense) **oligonukleotidů**.



Blokování translace komplementárními (antisense) oligonukleotidy

Jde o krátké jednořetězcové sekvence ribo- nebo deoxyribooligonukleotidů nebo jejich analog („peptidových NA“) s 15-30 bázemi, které jsou obvykle spojeny modifikovanými fosfátovými vazbami nebo jsou pegylovány, popř. mají v poloze 2 cukerné části místo vodíku methoxylovou skupinu. Takové modifikace zvyšují stabilitu molekul oligonukleotidů, které pak lépe odolávají hydrolyze katalyzované nukleasami. Když se komplementární oligonukleotid naváže na určitý úsek mRNA, je zablokována tvorba příslušné bílkoviny a mRNA s navázaným oligonukleotidem je rozštěpena ribonukleasou H. Od komplementárních oligonukleotidů jsou odvozena tzv. **morfolina** (Morpholinos), které mají cukernou složku nahrazenou zbytkem morfolinu. Mívají kolem 25 bází a v důsledku své nepřírozané struktury nejsou degradovány nukleasami. Morfolina účinně blokují translaci mRNA, ukázalo se však, že mohou negativně ovlivňovat sestřih pre-mRNA, takže se do řetězce mRNA dostávají místo exonů některé introny. Jejich vnášení do buněk je komplikované a také jsou relativně málo specifická. Jejich chybné párování pak může být příčinou buněčné smrti, která byla pozorována u nervových i jiných buněk. Přestože dovedou geny účinně umlčovat je proto otázkou, zda budou moci být v terapii využívány.



Komplementární oligonukleotidy jsou intenzivně studovány od 80. let, přesto se však na rozdíl od monoklonálních protilátek zatím v terapii výrazněji neprosadily. Širšímu terapeutickému využití komplementárních oligonukleotidů nebo i ribozymů (viz dále) bude zřejmě bránit jejich omezená stabilita a vysoká cena.

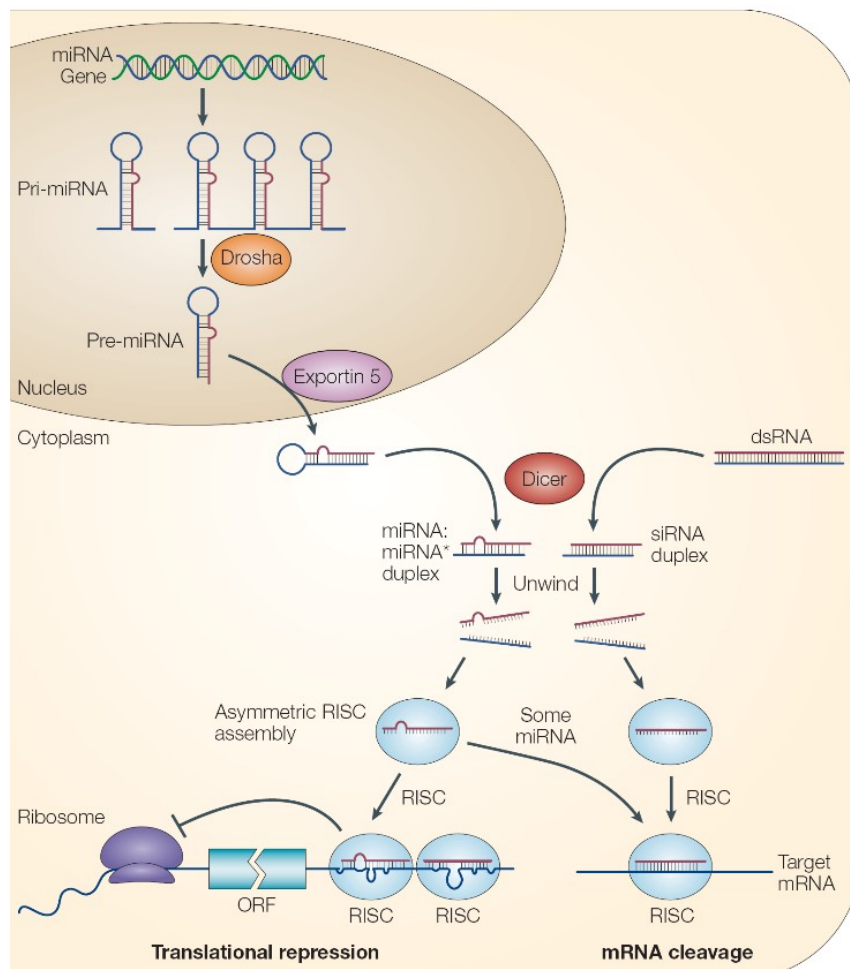
Prvním povoleným komplementárním oligonukleotidem je **formivirsen** (Vitravene, Isis), který však není určen pro protinádorovou terapii, ale pro léčbu cytomegalovirových infekcí v očním lékařství. Protinádorově účinný je **oblimer-sen** (Genasense, Genta), který je komplementární k prvním 6 trinukleotidovým sekvencím genu kódujícího inhibitor apoptózy, protein Bcl-2. Zkoušen je pro léčbu chronické myeloidní leukémie a pokročilých stadií melanomu. Jiným komplementárním nukleotidem ve fázi III klinických zkoušek při léčbě nádorů mozku je **trabedersen**, komplementární oligonukleotid blokující tvorbu transformujícího růstového faktoru TGFβ2. Statut urychleného posouzení obdržel **custirsen** (OGX-011/TV1011, OncoGenex Pharmaceuticals), komplementární oligonukleotid druhé generace blokující tvorbu klusterinu, kyselého glykoproteinu (označovaného také TRPM-2, což je zkratka pro Testosterone-Repressed Prostatic Message), který je nadměrně exprimován v buňkách nádorů prostaty a blokuje jejich apoptózu. Podání kustirsenu potlačuje rezistenci nádorových buněk a zvyšuje účinnost používaných chemoterapeutik, používá se proto v kombinaci s docetaxelem a prednisonem. Kromě léčby rezistentních nádorů prostaty je kustirsen zkoušen i při léčbě nádorů plic. Podobným komplementárním oligonukleotidem je **OGX-427**, který blokuje tvorbu proteinu tepelného šoku Hsp27 produkovaným buňkami nádorů prostaty a některých dalších nádorů jako odezva na stres z působení chemoterapií a radioterapií a souvisí s rezistencí nádorových buněk na antiandrogeny. **Cenersen** (Eleos), je oligonukleotid komplementární k mutované formě genu *p53*, který má potlačovat tvorbu neúčinné varianty proteinu p53. Zkoušen je v kombinaci s idarubicinem. Mezi komplementární oligonukleotidy lze zařadit i některá již zmíněná potenciální léčiva zkoušená jako inhibitory telomerasy (viz Farm 11)

Zatímco komplementární oligonukleotidy blokují přepis genetické informace z DNA na mRNA, **ribozomy**, ribonukleové kyseliny s katalytickou aktivitou, mohou štěpit již vytvořenou mRNA.

Zkonstruovány byly ribozymy štěpící mRNA odvozenou od onkogenů *ras* nebo *fos*, resp. genu *mdr* podílejícího se na rezistenci nádorových buněk vůči cytostatikům. Klinicky je zkoušen ribozym **Herzime** (Ribozyme Pharmaceuticals), který štěpí mRNA kódující receptor typu 2 pro lidský epidermální růstový faktor HER2, který se v nadměrném množství vyskytuje na povrchu buněk některých nádorů prsu. Vzniku nových cév má bránit „**angiozym**“, ribozym specificky štěpící mRNA, která kóduje jeden z receptorů pro vaskulární endoteliální růstový faktor.

V poslední době je věnována velká pozornost tzv. **malým interferujícím RNA** (siRNA, small interfering RNA) nebo **mikroRNA** (miRNA, microRNA). Jsou to malé oligoribonukleotidy se 17-25 bázemi, které jsou přirozenými regulátory exprese genů. Oba typy oligoribonukleotidů mohou způsobit posttranslační umlčení genů (gene silencing), tj. zablokovat přepis mRNA na odpovídající bílkovinný produkt. Mohou tak narušit funkci genu, aniž by přitom došlo k jeho poškození.

Malé regulační RNA byly objeveny v r. 1993 u červíka *Caenorhabditis elegans*, předtím byly považovány pouze za fragmenty RNA. Ukázalo se že mají významnou úlohu při „umlčování“ genů (regulují přepis až 30% genů) a to vyvolalo obrovský zájem o jejich studium. Dnes je známo na 600 lidských siRNA a miRNA. Jsou komplementární k určitým částem mRNA, vzniklý komplex s mRNA pak není schopen translace. siRNA jsou tvořeny krátkými zdvojenými řetězci RNA, miRNA jsou jednořetězcové. Zvláštním typem jsou krátké (malé) vlásenkové shRNA (short/small hairpin RNA) se dvěma komplementárními řetězci, které jsou ale na jednom konci propojeny ostrým záhybem a připomínají tak vlásenku. Jsou meziproducty tvorby siRNA. V organismu vznikají siRNA z dvouřetězcové RNA nebo shRNA působením endoribonukleasy Dicer, miRNA vzniká z při- a pre-mikroRNA. Cílovým místem siRNA jsou zejména oblasti bohaté na tzv. AU-elementy, které často obsahuje mRNA odvozená od onkogenů. Při interakci nasměrují siRNA s komplementární sekvencí k m-RNA komplex RISC (RNA-induced silencing complex), který část m-RNA rozštěpí. Zbytek molekuly se pak stane vysoce náchylný k další degradaci. Translaci blokují i miRNA, nemusí však vyvolávat štěpení mRNA.



He, L. and Hannon, G.J.. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. *Nat Rev Genet.* 5(7):522-31, (2004), převzato z M. Mráz, BIOLOGICAL ROLE OF microRNAs IN ANIMAL CELLS, DEVELOPMENT AND CANCER, Web Book, 2010

Zatímco komplementarita siRNA je značná, k dostatečně silné interakci miRNA s mRNA má stačit, aby komplementární byla sekvence pouhých 2-8 nukleotidů na 5'-konci.

Jedna miRNA tak může interagovat s celou řadou různých mRNA, blokáda funkce určité miRNA může naopak ovlivňovat expresi mnoha genů v různých tkáních. V některých nádorech byl zjištěn zvýšený výskyt určitých typů miRNA, které mohou inaktivovat geny tlumící růst a dělení buněk. Např. v metastázujících melanomech bylo zjištěno zvýšené množství miRNA-182 (miR-182), která potlačuje expresi dvou tumorsupresorových genů. Koncentrace tumorsupresorů pak je v melanomových buňkách velmi nízká. Jiná miRNA, miR-155, inhibuje geny kódující enzymy opravující špatné spárování bázi v DNA. Zvýšená exprese miR-155 pak má za následek genetickou nestabilitu buněk a tedy zvýšené riziko jejich nádorové transformace. Jiné miRNA mohou naopak mít protinádorové účinky, např. tím, že blokují onkogeny. Příkladem takových miRNA mohou být miR-192, miR-194 a miR-215, které potlačují expresi genu kódujícího protein MDM2. Protein MDM2 inaktivuje tumorsupresor p53 tím, že katalyzuje jeho ubiquitinaci a následnou degradaci v proteasomech. Jiným příkladem protinádorově účinné miRNA může být miR145/147 inaktivující onkogen *KRAS*. Ve srovnání s normálními buňkami je v buňkách nádorů pankreatu koncentrace miR145/147 podstatně snížena. Zvýšení její hladiny by proto mělo růst nádorů potlačovat. Snížená hladina miR-429 v buňkách metastázujících nádorů vaječníků souvisí s jejich invazivností, návrat na původní úroveň může proto potlačit metastázování.

Důležitým objevem z poslední doby je, že v kmenových nádorových buňkách je koncentrace jedné miRNA označované jako *let-7* podstatně nižší nejen ve srovnání s diferencovanými normálními tkáňovými buňkami, ale i běžnými zralými nádorovými buňkami.

Ukázalo se že *let-7* může umlčovat onkogen *ras* a že tedy působí jako tumorsupresor. Ovšem *let-7* zřejmě může ovlivňovat i expresi dalších genů, které se podílejí na buněčné proliferaci. Nízký obsah *let-7* v kmenových nádorových buňkách naznačuje, že dodání této miRNA by mohlo tyto buňky aktivovat, aby se začaly dělit a pak mohly být lépe zasáhnuty protinádorovými léčivy.

V budoucnosti bude zřejmě možné využít malé regulační RNA v terapii nádorových onemocnění, studium takových možností je však zatím na samotném počátku.

Malé interferující RNA nebo jejich analoga se zvýšenou stabilitou mohou být přímo využity jako léčiva. První terapeutická siRNA již postoupila do fáze III klinických zkoušek v očním lékařství. Zatím ve stadiu pokusů na zvířatech je tlumení růstu krevních kapilár v nádorech blokadou genů kódujících proteiny účastníci se angiogeneze nebo buněčného dělení. Přípravek vyvíjený firmou Alnylan pro léčbu nádorů jater přitom obsahuje dvě siRNA (blokující tvorbu VEGF a rovněž kinesinu, bílkovinného motoru zajišťujícího pohyb po mikrotubulech). Zahájeny by měly být klinické zkoušky siRNA blokující expresi genu kódujícího jednu z kinas buněčného cyklu PLK1 (Polo-Like Kinase 1).

V případě miRNA je situace složitější. Jak bylo ukázáno, dodání některých miRNA může nádorové bujení potlačovat. U pokusných myši vyvolalo např. podávání miRNA-124 regresi nádorů jater. V jiných případech je ale naopak účelné tvorbu a účinky miRNA blokovat. Ve vývoji je proto mimo jiné řada „anti-miRNA“, tzv. **antagomirů**, oligonukleotidů s vysokou komplementaritou k cílové miRNA. Antagomiry blokují příslušné miRNA, čímž mají zabránit nežádoucímu umlčování genů. Jsou vyvíjeny pro léčbu nádorových, ale i virových a kardiovaskulárních onemocnění.

Výhodou siRNA a miRNA je, že tyto malé ribonukleotidy jsou přirozenými látkami, které lze připravovat biotechnologickými postupy.

To by mohlo zajistit jejich snazší přípravu a lepší dostupnost ve srovnání se syntetickými oligonukleotidy. Problémem regulačních oligoribonukleotidů ale je jejich omezená stabilita v prostředí obsahujícím různé nukleasy. Řešením problému by v budoucnosti mohly být genové manipulace, při nichž se do buněk vnese gen, který kóduje „mikroRNA houbu“ trvale „vysávající“ miRNA. Na každou takovou „houbu“, kterou přitom buňka s modifikovaným genomem produkuje trvale, se přitom váže několik molekul miRNA umlčujících tumorsupresorové nebo jiné geny. Společným problémem syntetických i přirozených oligonukleotidů je kromě jejich stability i průnik do nádorových buněk. Zkoušena je proto celá řada technik a lékových forem vhodných pro podání léčiv oligonukleotidového charakteru, např. enkapsulace do liposomů nebo chitosanových nebo jiných nanočástic, ale třeba i využití neškodných genově upravených bakterií.

Genová terapie

Genová terapie je založena na vnášení celých funkčních genů do organismu. Nejde tedy o relativně malé oligonukleotidy, ale rozsáhlé dvouřetězcové DNA.

Teoreticky může být do buněk vnesen „nahý“ gen, samotná kódující DNA. Prakticky použitelné je však dopravení genu do buněk pomocí vhodného „vektoru“. Zatím se geny nejčastěji vkládají do adenovirů, které jsou upravené tak, že je eliminována jejich patogenita. Zkoušena je „doprava“ genů do buněk pomocí nevirálních vektorů.

Genová terapie byla poprvé využita při léčbě kombinované imunodeficiencie (SCID, severe combined immunodeficiency) způsobené mutací genu, který zajišťuje růst a zrání buněk imunitního systému.

Nemoc je naštěstí velmi vzácná. Gen se vyskytuje na nepárovém chromosomu, takže SCID onemocní jen chlapci. Postižení nemají funkční imunitní systém a mohou snadno podlehnout i lehkým nákazám. Aby se vyhnuli infekcím, musí žít v aseptickém prostředí. To jim zajišťují plastové vaky, „bublíny“, naplněné filtrovaným vzduchem (nemoc je proto anglicky nazývaná nemoc bublinových chlapců, „bubble boy disease“). Přes veškerou péči se postižení dožívají v průměru jen 12 let. Léčba byla možná jen transplantací kostní dřeně. Ta však nemusí být vždy úspěšná a kromě toho je problémem nalezení vhodného dárce. Genová terapie spočívající ve vnesení funkčního genu do organismu postižených pomocí virového vektoru byla považována za velký přínos, protože se jí podařilo úspěšně vyléčit 15 chlapců z 18. Pak se však vyskytly komplikace, když jeden z léčených chlapců onemocněl leukemií. Ukázalo se, že vnesený gen se dostal do blízkosti genu, který se podílí na regulaci buněčného dělení. Ten přitom byl aktivován a spustil procesy vedoucí ke vzniku nádorového onemocnění. Další zkoušky genové terapie proto byly v říjnu 2002 pozdrženy do doby, kdy budou získány lepší předpoklady, že pacienti se uzdraví a neonemocní jinak. Pak byly zkoušky obnoveny, avšak v r. 2005 další z pacientů dříve léčených genovou terapií dostal leukemii. Zkoušky byly znovu pozastaveny do doby a hledány jsou možnosti selektivního vnesení genů na taková místa genomu, kde by nežádoucí aktivace sousedních genů nehrozila. Až se podaří podobné obtíže překonat, stane se genová terapie důležitou léčebnou metodou.

Při léčbě nádorových onemocnění se genová terapie může uplatnit zejména v těch případech, kdy původní („divoké“, wild) tumorsupresorové geny, geny kódující reparační enzymy apod., jsou změněny mutací nebo jinak poškozeny a nemohou proto plnit svoji funkci. Do buněk se vpravují většinou pomocí adenovirových vektorů.

Jeden ze zkoušených přípravků pro genovou terapii nádorových onemocnění, **kontusgen ladenovek** (contusgene ladenovec, Advexin, Introgen Therapeutics), obsahuje lidský gen *p53* a promotor cytomegaloviru, které jsou zabudované do adenoviru 5 tak, aby nahradily virové geny *E1A* a *E1B*. Při klinických zkouškách byl virový vektor s funkčním tumorsupresorovým genem vstříknut pacientům přímo do nádoru. U 29% pacientů došlo ke zmenšení nádoru a interval do progresu nádoru činil více než 12 měsíců, u 48% pacientů došlo k nejméně tříměsíční stabilizaci onemocnění. Žádné dlouhodobé toxické účinky nebyly zjištěny (doba sledování 2,3 – 46,5 měsíců). Při léčbě melanomu nebo v kombinaci s radioterapií je zkoušen přípravek je **INGN-241** (Introgen Therapeutics) s DNA kódující IL-24 (interleukin 24, jiný název: protein mda-7), který působí jednak jako tumorsupresor, jednak jako cytokin regulující imunitní systém. **TNF erade** (Biologic) je přípravek obsahující gen pro faktor nekrózy nádorů zabudovaný do upraveného adenoviru. Je zkoušen při léčbě nádorů pankreatu, hlavy a krku, kolorektálního karcinomu a melanomu v kombinaci s chemoterapií a/nebo radioterapií. Podobným přípravkem pro genovou terapii, který rovněž postoupil do fáze I klinických zkoušek, je **Ad5-TRAIL** (University of Iowa), adenovirový vektor s lidským genem kódujícím induktor apoptózy TRAIL. **Allovectin-7** je plasmidový/lipidický komplex obsahující sekvence DNA kódující lidský leukocytární antigen HLA-B7 a β_2 -mikroglobulin, které dohromady tvoří hlavní histokompatibilní komplex I MHC-I. Ten je jakýmsi podstavcem pro prezentaci různých peptidů z nádorové buňky. Ty pak dávají signál T-lymfocytům, aby buňku likvidovaly.

Jinou možností genové protinádorové terapie představuje vpravení „sebevražedných“ genů do nádorových buněk.

Takovým sebevražedným genem je gen viru Herpes simplex kódující thymidin kinasu, který je součástí přípravku **sitimagen ceradenovek** (Cerepro, Ark Therapeutics) s adenovirovým vektorem (ad-HSV-tk) zkoušený při léčbě mozkových nádorů, gliomů. Virová kinasa aktivuje antivirotikum gancyklovir, který je účinný jen po převedení na fosfát. V normálních buňkách se kinasa schopná fosforylovat gancyklovir nevyskytuje, takže antivirotikum zabíjí jen buňky napadené virem. Podobným způsobem by mohly působit po vnesení do nádorových buněk geny, které kódují enzymy štěpící neškodná profarmaka na cytotoxické produkty.

Genová terapie by se mohla uplatnit i při posílení odolnosti normálních buněk vůči cytostatikům a konečně při genetické imunomodulaci, ke zvýšení antigenního charakteru povrchu nádorových buněk pomocí DNA vakcín nebo znásobení počtu genů zodpovědných za produkci různých cytokinů v nádorových buňkách. Je perspektivní metodou terapie, bude však třeba ještě mnoho úsilí a zkoušek, než bude možné ji rutinně využívat.

Léčba nádorových onemocnění pomocí některých virů a bakterií

Viroterapie je jedním z nově vyvíjených léčebných postupů, který využívá viry upravené genovými manipulacemi tak, že atakují pouze buňky s některými mutovanými geny. Takovými buňkami mohou být nádorové buňky s nefunkčními tumorsupresorovými geny. Podobně jako u genové terapie vystupuje však i u těchto metod do popředí otázka rizik, které taková léčba přináší a která vyžaduje dlouhodobé zkoumání. Nelze proto očekávat, že by onkologičtí pacienti byli v brzké době ve větším rozsahu léčeni geneticky modifikovanými viry. Přesto si možnosti rozvíjející se **viroterapie** zmínku zaslouží.

Onkolyticky působícím virem je např. modifikovaný adenovirus ONYX-015. Ten selektivně zabíjí jen buňky obsahující mutovaný tumorsupresorový gen *p53*, zatímco na buňky s funkčním genem *p53* nepůsobí. Destrukci nádorových buněk a aktivaci imunitního systému organismu vyvolává další modifikovaný adenovirus CG0070. Jiný virus upravený metodami genového inženýrství může usmrcovat buňky s mutovaným genem *Rb*. Nedávno se ukázalo, že lidské reoviry, které nejsou pro normální tkáňové buňky patogenní, mohou selektivně infikovat a zabít buňky nádorů prsu, a to i kmenové nádorové buňky. Zkoušky možností léčebného využití reovirů jsou však zatím na samém počátku. Podobně tomu je v případě parvoviru H-1, který je infekční pro hlodavce, pro člověka je však neškodný. Pokusy na zvířatech s transplantovanými lidskými nádory ukázaly, že parvovirus napadá buňky nádorů mozku, ale okolní zdravou nervovou tkáň nepoškozuje. Herpetický virus HSV1716 byl metodami genového inženýrství upraven tak, aby se mohl množit pouze v dělicích se buňkách. Po injekci do nádorové tkáně zabíjel a lyzoval nádorové buňky, zatímco normální diferencované tkáňové buňky nepoškozoval. Jeho použití bylo úspěšně vyzkoušeno na nádorech mozku, zahájeny byly zkoušky u některých sarkomů postihujících dětské pacienty. Rovněž viry spalniček a planých neštovic se podařilo geneticky modifikovat tak, že přednostně napadaly nádorové buňky. Onkolytické vlastnosti některých virů mohou být zlepšeny vnesením genů kódujících bakteriální chondroitinasy do virového genomu, protože enzym může odbourávat proteoglykany vyplňující prostor mezi buňkami některých nádorů.

Z historické literatury jsou známy případy, kdy bakteriální infekce měla za následek regresi nádorů. I v současnosti některá pracoviště možnosti selektivního usmrcování nádorových buněk bakteriemi s upraveným genomem studují. „**Bakterioterapie**“ je zatím ale pouze předmětem preklinických pokusů.

Zkoumané postupy jsou založeny zejména na využití mutant bakterií *Salmonella typhimurium*. Tyto mutanty byly vybrány tak, aby se přednostně množily v nádorových tkáních s deficitem funkčního genu *p53* a v podstatě neinfikovaly normální buňky.

Farmakoeconomika terapie protinádorovými léčivy

Vstup nových přípravků na trh protinádorových chemoterapeutik je nyní obtížnější než dříve. Příčinou je mnohem složitější, nákladnější a zdlouhavější klinické zkoušení nových léčiv. Nová schválená léčiva jsou sice účinnější a selektivnější, jsou však také podstatně dražší než dosavadní léky.

V r. 2005 dosáhly v ČR náklady na léky z ATC skupiny L, která však zahrnuje i léky používané v jiných než onkologických indikacích, na druhé straně však nezahrnuje antidota a jiné pomocné a podpůrné léky používané při protinádorové léčbě) 8,47 mld. Kč, což byla druhá nejvyšší částka vynaložená na léky určité terapeutické kategorie (po léčích kardiovaskulárního systému – ATC skupina C). Prodeje cytostatik (skupina L01) přitom činily 3,7 mld. Kč. Na celkových nákladech na léky za rok 2005 se léky skupiny L podílely téměř 15%. Nárůst nákladů na léky skupiny L proti roku 2004 činil 12,5%, růst se však výrazně zpomalil (v r. 2004 činil nárůst 23,7%). V r. 2006 se spotřeba léků skupiny L v ČR snížila o 8,5 % na 7,79 mld Kč, přičemž prodeje cytostatik (L01) klesly ve srovnání s předchozím rokem dokonce o 15% na 3,19 mld. Kč. Mezi protinádorovými léčivy se v letech 2006 na první místo dostal s prodeji za 467 mil. Kč imatinib pro léčbu některých typů leukémie. V r. 2005 byl s 871 mil. Kč na prvním místě paklitaxel pro léčbu metastázujících nádorů prsu a vaječníků, v r. 2006 prodeje paklitaxelu klesly na 414 mil. Kč. V r. 2007 bylo na léky ze skupiny L vynaloženo 9,1 mld. Kč, tj. o 17,3% více než v r. 2006, v r. 2009 10,99 a v r. 2010 11,42 mld Kč (nárůst 3,9%). Skupina L se přitom v tabulce nákladů za léky dostala na první místo před léky kardiovaskulárního systému. Spotřeba cytostatik (L01) činila v r. 2009 6,3 mld. Kč. Do první desítky léčiv s nejvyšším objemem prodeje se z přípravků používaných v onkologii dostaly tři monoklonální protilátky: rituximab (4. místo s 689 mil. Kč), trastuzumab (6. s 645 mil. Kč) a bevacizumab (7. s 602 mil. Kč) a tyrosinkinasy inhibitor imatinib (10. místo s 508 mil. Kč).

Průměrná cena protinádorových léků je řádově vyšší než u léků ostatních terapeutických kategorií.

Počet balení přitom v r. 2007 vzrostl jen o 6,5%. V r. 2008 poněkud klesl, ale v r. 2009 se opět zvýšil (o 6,7%). Výrazně přitom rostly průměrné ceny balení léčiv skupiny L: v r. 2007 na cca 3.365 Kč/bal., v r. 2008 na 4.640 Kč/bal., ale v r. 2009 dokonce na 5.274 Kč/bal. Přitom průměrné ceny balení přípravků ze skupiny cytostatických léčiv (L01) činily dokonce 6.680 Kč/bal.

Příčinou vysokých cen nových protinádorových léčiv není jen snaha farmaceutických firem o vysoké zisky, ale spíše o kompenzaci nákladů na zdlouhavé a organizačně i finančně náročné preklinické a klinické zkoušení s velkým rizikem neúspěchu a také velká nákladovost složité přípravy nejmodernějších léčiv. Přestože protinádorová léčiva často dostávají statut nezbytného léčiva, u něhož je urychlováno posuzování a povolování, většinou mezi přihlášením léčiva k patentové ochraně a jeho vstupem na trh často uplyne poměrně dlouhá doba. Doba monopolního postavení prvního výrobce se tak zkracuje

Např. výzkum a vývoj paklitaxelu byl zahájen již v r. 1962, kdy byly shromážděny první vzorky rostlinného materiálu z tisu a zahájeno testování protinádorové účinnosti extraktů. Účinná složka byla v dostatečně čistém stavu připravena do poloviny roku 1966, samotný přípravek (Taxol) však byl zaveden na trh až v první polovině 90. let. V roce 2005 schválila americká FDA jako „nový“ protinádorový lék 5-azacytidin, který, jak již bylo zmíněno, vyvinul A. Pískala v ÚOChB AV ČR před více než 40 lety. Aby si výrobci zajistili právo přednosti, musí si nové léčivo včas zapatentovat. Klinické zkoušky jsou však zdlouhavé, vzhledem k různorodému charakteru nádorových onemocnění se obvykle provádějí postupně pro různé indikace. Časově ještě náročnější může být preklinická fáze. Do expirace patentů pak zbývá poměrně krátká doba. Pokud si ji výrobcům nepodaří některými triky prodloužit, snaží se zajistit návratnost vynaložených prostředků jejich rozpočítáním na poměrně krátkou dobu, po níž budou mít na výrobu nového léčiva zaručený monopol.

K vysokým cenám nových protinádorových léčiv přispívá i technologická náročnost jejich výroby.

Velmi náročná je např. výroba terapeutických monoklonálních protilátek, značné technologické nároky však jsou kladeny i na výrobu nových nízkomolekulárních léčiv. Výrobu přitom prodražují náklady na složitá výrobní zařízení. Zařízení jsou sice podobná jako při výrobě necytostatických léků, ale jejich cena se rozpočítává na podstatně menší šarže. Cenu výroby zvyšují i velké nároky na ochranu pracovníků – cytostatika jsou považována za látky, které mohou rakovinu nejen léčit, ale ji také vyvolávat.

Značně vysoké je také riziko neúspěchu při klinických zkouškách nových protinádorových léčiv.

Klinické zkoušení bývá povolováno u pacientů s pokročilým stadiem nádorového onemocnění, kdy standardní terapeutické postupy buď úplně selhaly nebo jsou málo účinné. Zkouší se tedy jako tzv. léky druhé nebo i třetí volby. Pacienti v kontrolních skupinách většinou nedostávají placebo, ale jsou léčeni standardními postupy léčby. Někdy se provádí „historická kontrola“, kdy se srovnávají dosažené výsledky se starými záznamy o neléčených nebo jinak léčených pacientech. Zkoušení léku i u pacientů s časnými stadii onemocnění nebo „naivních“ (dosud neléčených) pacientů je většinou povolováno teprve poté, až se lék osvědčí. To bývá předmětem kritiky, jiný postup by však byl neetický.

Nová léčiva jsou povolována, jen když se prokáže, že jsou skutečným přínosem pro terapii.

Až do nedávné doby považovali experti FDA za prokazatelný přínos pouze prodloužení doby přežití nebo doby do výskytu nových příznaků onemocnění nejméně o 15%. Temozolomid nebyl v USA před časem doporučen panelem expertů FDA pro léčení metastázujícího melanomu, protože prodloužení doby přežití pacientů bylo ve srovnání s léčbou dakarbazinem sice zřetelné, ne však dostatečně velké (7,7 proti 6,4 měsíců). Nyní se kritéria pro schvalování nových léčiv poněkud změnila a každý přípravek je posuzován individuálně a v úvahu jsou brány i další přínosy

Ve snaze zastavit prudký růst nákladů na zdravotní péči hledají mnohé země možnosti úspory nákladů v úhradě léčiv. Do konfliktu s omezenými zdroji se přitom dostává zejména vysoká cena moderní protinádorové chemoterapie. To pak má za následek, že přístup pacientů k nejnovějším terapeutickým přístupům a možnostem efektivní protinádorové léčby bývá omezen.

Zavedení taxanů (paklitaxel, docetaxel) přineslo výrazné zlepšení výsledků léčby nádorových onemocnění vaječnicků, prsu a plic, avšak současně značně zvýšilo nákladovost protinádorové léčby. Např. terapie kombinací cisplatinu a paklitaxelu stojí 10 x více než standardní léčba používající kombinaci cisplatinu a cyklofosfamidu. Proto jsou taxany předepisovány v průměru pouze asi 50% pacientům, kterým by mohly pomoci. Ve Velké Británii byla např. léčba taxany hrazena pouze 20% pacientů. Po protestech pacientů proti šetření na protinádorových léčivích musela britská vláda přislíbit nápravu a předepisování taxanů se rozšířilo. Situace však není příznivá ani v jiných zemích. Vysoká nákladovost léčby brzdí preskripci dalších moderních léčiv. Jak již bylo zmíněno, velmi drahá je zejména léčba monoklonálními protilátkami. Např. náklady na léčbu nádorů pankreatu bevacizumabem (Avastin) dosahují 800 tis. Kč za rok a za tuto částku se dosáhne prodloužení života pacienta o cca 6 měsíců. Roční léčba kolorektálního karcinomu cetuximabem (Erbix) je ještě dražší a stojí až asi 2 mil. Kč. O mnoho nižší cenu nemá ani léčba nejstarší protinádorovou protilátkou trastuzumabem (Herceptin), která stojí cca 590 tis. Kč za rok. Trastuzumab, který přinesl pozoruhodné výsledky léčení metastázujících nádorů prsu zejména při kombinaci s taxany a jehož použití je – jak již bylo ukázáno – u některých skupin pacientek nákladově ještě poměrně efektivní, není pro vysoké náklady terapie běžně dosažitelný pro převážnou většinu evropských pacientek. Vysoké náklady na protinádorovou léčbu dále zvyšuje podávání moderních chemoprotektiv, antiemetik a dalších přípravků podpůrné léčby – a samozřejmě i hospitalizace, nemocniční ošetření a kontroly. Vysoké náklady na rozsáhlou léčbu některými protinádorovými léčivy brzdí jejich využití prakticky po celém světě. V ČR se v minulých dvou letech podařilo uzavřít dohody České onkologické společnosti s VZP a některými dalšími pojišťovnami o rozsahu podmínkách úhrady nákladné onkologické léčby. V r. 2008 proto mohlo být novými moderními léky („biologickou léčbou“) léčeno 4250 pacientů VZP a celkem (podle MZdr) asi 1800 pacientů ostatních pojišťoven, zatímco v r. 2007 to bylo jen několik desítek. Jak již bylo zmíněno, aktuální snahy o šetření nákladů na léky, materiál a vybavení nemocnic, aby bylo možné zvýšit mzdy lékařů na slíbenou úroveň, vyvolávají obavy onkologů z omezování moderní terapie.

Vzhledem k vysokým nákladům na léčbu onkologických pacientů mají největší úspěchy na poli boje s rakovinou ty země, které do zdravotnictví vkládají nejvíce prostředků.

V čele jsou USA s vyšší dobou přežití nemocných vyšší, mortalita má sestupný trend a s výjimkou kožních nádorů je nižší než v Evropě. V letech 1975-79 žilo v USA 5 let od diagnózy kolorektálního karcinomu 51% bílých a 44% černých mužů a 53/48% žen, v letech 1995-2001 se podíl přežívajících zvýšil na 65,5/55,5% u mužů a 59,5/54,5% u žen. Mezi léty 1990 a 2007 došlo v USA k poklesu mortality na nádorová onemocnění u mužů o 22,2% a u žen o 13,9%. V r. 1990 vynakládaly Spojené státy na léčbu nádorových onemocnění celkem 104 mld. \$, kolem r. 2000 již 240 mld. \$. Nemalý podíl na tom představují náklady na protinádorové léky. V 80. letech se v USA spotřebovalo protinádorových léků za 200 mil. \$ ročně, v r. 1994 to již bylo 2,9 mld. a v r. 2000 už 9 mld. \$. Celkové výdaje systému Medicare, který v USA hradí léčbu seniorů starších 65 let a invalidních pacientů, vzrostly v období 1994-2004 o 47%, ale výdaje Medicare na onkologickou léčbu o plných 267%.

Prudký růst nákladů na léčbu nádorových onemocnění přestává ale být únosný i pro nejbohatší země, jako je USA. Různé státy se proto snaží omezit růst nákladů na drahou léčbu vydáváním doporučení pro terapii a standardů léčby, případně vazbou určitých způsobů léčení na výši pojistného nebo připojištění.

Podle ředitele Masarykova onkologického ústavu v Brně a předsedy České onkologické společnosti profesora Vorlíčka by náklady na léčbu všech českých pacientů s nádorovým onemocněním s využitím nejnovějších možností medicíny činily asi 700 mld. Kč ročně. Takové náklady uhradit nelze, jsou asi 2,5x vyšší než celkové roční výdaje ČR na zdravotnictví. Onkologové ale říkají, že se u nás ale najdou alespoň prostředky pro léčbu těch pacientů, jimž protinádorové léky mohou zachránit nebo alespoň významně prodloužit život. Na léky, které život pacientů prodlouží jen o několik měsíců, ale prostředky již nejsou. V ČR jsou protinádorové léky většinou plně hrazeny. To však neznamená, že by mohly být libovolně předepisovány. Většina protinádorových léků je zařazena do kategorie "X", kde jsou hrazeny pojišťovny jako zvlášť účtované léčivé přípravky. Ty mohou být předepsány rámci lékového paušálu zdravotnického zařízení nebo po předchozím souhlasu revizního lékaře pojišťovny. Bohužel, při schvalování preskripce se často hledí pouze na cenu léku a nepřihlíží k celkovým nákladům léčby, kam patří i cena hospitalizace a další přímé i nepřímé zdravotní výdaje.

Omezenost zdrojů a nákladovost protinádorové terapie staví do popředí otázku volby terapeutického přístupu, aby se dosáhlo co nejlepšího poměru celkových nákladů na léčbu k dosaženému přínosu pro pacienta (cost/benefit ratio). Přitom je třeba brát v úvahu nejen ceny léků, ale i celkové náklady na léčbu. Srovnání celkových nákladů na různé způsoby terapie umožňuje **farmakoekonomika** (viz Farm07).

Farmakoekonomická analýza může vést ke zjištění, že použití dražšího léku je ekonomicky výhodnější než použití léku levnějšího, protože se sice zvýší náklady na lék, ale uspoří celkové náklady na léčebnou péči o pacienta. Např. dražší perorální cytostatikum může pacient užívat doma, zatímco podávání levnějšího přípravku formou infuze může vyžadovat hospitalizaci. Podle studie Asociace britského farmaceutického průmyslu posuzující nákladovost terapie u nádorů prsu činí u pokročilých stadií nemoci cena léků jen 5% celkových nákladů léčby, zatímco náklady spojené s hospitalizací 56%. Z toho připadá 80% nákladů na nemocniční péči a jen 20% na vlastní léčení. Asociace ukázala, že zvýší-li se náklady na léky o 5,5%, mohou náklady na hospitalizaci klesnout o 6,4% a celkové náklady tak klesnou o 3,3%. Ve Švýcarsku bylo provedeno farmakoekonomické srovnání nákladů na antiemetickou léčbu drahými inhibitory 5 HT₃ receptorů (ondansetron, tropisetron, granisetron) s konvenční léčbou metoklopramidem a dexamethasonem. Ačkoliv náklady na drahé „setrony“ byly podstatně vyšší, celkové náklady na ošetření pacientů a doplňkovou medikaci byly při jejich použití nižší (105 SFr proti 126 SFr) a přitom účinnost léčby byla výrazně vyšší (67% : 42%). V ČR je farmakoekonomika stále ještě v plenkách a farmakoekonomická srovnání protinádorových preparátů se v české medicínské literatuře objevují jen sporadicky. Na pražských klinikách byly např. porovnány náklady na léčbu vlasatobuněčné leukemie kladribinem (Leustatin) a 10 x levnějším interferonem α . Přesto činily při léčbě drahým kladribinem náklady na navození remise onemocnění 133 tis. Kč, při použití INF α byly při stejném nebo horším efektu 190 tis. Kč. Ve FN Brno Bohunice bylo provedeno farmakoekonomické zhodnocení nákladné doplňkové léčby hemopoietskými růstovými faktory, jejichž podávání zabraňuje infekčním komplikacím spojeným s poruchou krvetvorby po podání cytostatik. Zatímco léčba septického stavu stála v průměru asi 8000 Kč denně (bez doprovodné léčby), denní dávka růstových faktorů stála 3.800 – 4.700 Kč.

V ČR mají být farmakoekonomické rozborů využívány jako podklady pro kategorizaci léčiv.

Problémem je, že rozborů předkládá výrobce, který má zájem farmakoekonomické parametry svého léčiva vylepšit, např. vynecháním nákladů na potlačení vedlejších účinků. Při kategorizaci léků proto byla farmakoekonomika opomíjena a pouze se porovnávaly ceny léků určité terapeutické kategorie bez přihlídnutí k celkovým nákladům terapie. Ve Spojeném království porovnává nákladovost terapie s jejími přínosy NICE (National Institute for Clinical Excellence). Z takového porovnání vyvodil NICE, že léčba fludarabin fosfátem a monoklonálními protilátkami bevacizumabem a cetuximabem není nákladově efektivní. V USA má nyní vzniknout podobná instituce v rámci opatření prezidenta Obamy na pomoc ekonomice.

V ČR se zabývá farmakoekonomikou léčby rakoviny drahými moderními léčivy Česká onkologická společnost, která ve spolupráci s Institutem biostatistiky a analýz MU a Masarykovým onkologickým ústavem vede registry nákladné léčby převážně metastázujících nádorů bevacizumabem, cetuximabem, imatinibem, lapatinibem, sunitinibem, sorafenibem a pemetrexedem, sumarizuje její přínosy i negativa.

Nové protinádorové nebo pomocné léky mohou přispět ke zkrácení doby hospitalizace nebo intenzivní péče, snížení počtu návštěv u lékaře, potřeby diagnostických testů, léků k potlačení vedlejších účinků apod. V takových případech je jasné, jak má být farmakoekonomická analýza provedena. Otázkou však je jak postupovat, jestliže výsledkem nasazení nového léku je **prodloužení doby a/nebo zlepšení kvality života pacienta**. Celkové náklady na léčbu přitom často vzrostou. Klasická farmakoekonomická analýza by proto ukázala, že nový lék není pro terapii přínosem. Situace se však změní, zahrneme-li mezi přínosy i prodloužení života pacienta. Problémem přitom je, jak tento parametr objektivizovat, tj. jaké kritérium použít k rozhodování, zda má smysl pacientův život chemoterapií prodlužovat.

Např. v případě nemalobuněčného karcinomu plic zvyšují různé režimy kombinované chemoterapie ve srovnání s pouhou podpůrnou péčí medián přežití 2 – 3 x (z 9 – 22 týdnů na 20 – 37 týdnů). Tři měsíce života navíc však mohou pacientovi současně přinést zhoršení kvality života, protože bude přitom vystaven toxickým účinkům cytostatik. Nabízí se proto otázka, zda je v takovém případě drahá chemoterapie pro pacienta vhodnější než paliativní léčba zmírňující příznaky onemocnění. A zda je přitom chemoterapie účelná, protože při omezených zdrojích prostředků mohou náklady na léčbu jednoho pacienta znamenat, že budou chybět peníze na léčbu jiného pacienta s příznivější prognózou.

Má-li takové rozhodování být objektivní, je třeba určit určitou hranici nákladů, kdy je prodloužení života pacienta přínosem a kdy už ne.

I když se to může zdát neetické, mělo by být jasně řečeno, jaké nejvyšší náklady lze v průměru vynaložit na prodloužení života pacienta s nádorovým onemocněním o 1 rok. Současně s tím musí ovšem být definována kritéria pro určování pacientovy prognózy. V USA jsou náklady na prodloužení života o jeden rok obecně považovány za efektivně vynaložené, jestliže jsou nižší než průměrné roční náklady na dialýzu pacientů v konečném stadiu selhání ledvin. Většina expertů považuje cenu dialýzy za celospolečensky použitelné měřítko efektivnosti léků při prodloužování života pacientů. Náklady na dialýzu se v USA v minulosti pohybovaly kolem 50 tis. \$.

Vedle pouhého prodloužení života je však třeba brát v úvahu i **kvalitu života pacienta**.

Vyčísľují se proto náklady, které je třeba vynaložit na získání „roku života standardní kvality“, QALY (Quality Adjusted Life Year)“. Ty se přepočítávají vynásobením doby přežití koeficientem vyjadřujícím stupeň poškození zdraví. Ten např. u pacienta s jednou amputovanou končetinou činí 0,5. U pacientky přežívající po chirurgickém odstranění nádoru prsu bez známek onemocnění jeden rok to je asi 0,75, při nejméně dvouletém přežívání bez známek nemoci se koeficient zvyšuje na 0,85. Dojde-li k metastázování primárního nádoru, pak klesá koeficient na 0,48. Jestliže se při nasazení nového léku prodlouží průměrná doba přežití pacientů o půl roku při kvalitě života vyjádřené koeficientem 0,7, pak se novou léčbou získá 0,35 QALY. Zvýší-li se přitom ve srovnání se současnou terapií náklady na léčení o 5 tis. \$, pak náklady na 1 QALY vzrostou o 14.285 \$. Podle amerických pramenů se terapie považuje za nákladově výhodnou, nepřesáhne-li její cena 93.500 \$/QALY, britský NICE má limit 30 tis. Lbšt, limity jiných evropských zemí se pohybují mezi 25-50 tis. €/QALY. V ČR se podle VZP považuje za podobný limit částka 1,2 mil. Kč u nádorů prsu a 750 tis. Kč u nádorů plic.

V budoucnosti bude patrně možné snížit nákladovost léčby nádorových onemocnění zlepšením selektivnosti preskripce. Lepší znalost mechanismů účinku jednotlivých protinádorových léčiv a nové diagnostické postupy by měly umožnit **personalizovanou** neboli **individualizovanou terapii**. Tu čeká velký rozvoj zejména při léčbě pacientů s nádorovým onemocněním. Půjde o nasazení drahých protinádorových léčiv jen tam, kde lze předpokládat, že budou účinkovat a neztrácet čas a nezatěžovat pacienty neúčinnou léčbou drahými preparáty, které nebudou na jejich onemocnění působit a dokonce mohou vyvolat nežádoucí vedlejší účinky. Současné možnosti diagnostiky při predikci účinnosti léčiv jsou zatím omezené. Genomické nebo proteomické analýzy jsou zatím často poměrně nákladné a pojišťovny váhají s jejich úhradou. Vzhledem k extrémně vysokým cenám některých nových „biologických“ léčiv se specifickým účinkem, jsou však už nyní některé specifické testy farmakoekonomicky výhodné. V budoucnosti význam molekulární diagnostiky při predikci výsledků léčby ještě více vzroste v souvislosti se směřováním směrem k tzv. individualizované neboli personalizované terapii, kterou čeká velký rozvoj zejména při léčbě pacientů s nádorovým onemocněním.

Závěr

Protinádorová léčiva, která byla v minulosti dosti opomíjená, představují dnes nejrychleji se rozvíjející skupinu léčiv. Přibývají nová protinádorová léčiva, další jsou ve výzkumu a vývoji. Mapování nádorového genomu přináší nové poznatky o příčinách nádorové transformace buňky a současně nabízí i nové možnosti pro hledání nových účinných léčiv. Nové přípravky pomáhají snižovat mortalitu na nádorová onemocnění, jejichž výskyt roste, hlavně v důsledku stárnutí populace. Přes obrovské úsilí věnované výzkumu a vývoji nových protinádorových léčiv a úspěchy nových přípravků v terapii nelze však předpokládat, že podaří všechna onemocnění shrnovaná pod pojmem rakovina v dohledné době vyléčit. Lze však očekávat, že příští léta přinesou onkologickým pacientům prodloužení doby života a zejména podstatné zvýšení jeho kvality.

Kontrolní otázky pro zopakování

1. Co jsou monoklonální protilátky a jak se získávají?
2. Jaké monoklonální protilátky mohou být používány v terapii?
3. K čemu se monoklonální protilátky používají v terapii nádorových onemocnění?
4. Co to jsou imunotoxiny?
5. Jaké jsou možnosti využití protinádorových vakcín?
6. Jak a čím lze blokovat replikaci, transkripci a translaci genů stimulujících růst a množení buněk?
7. Jaké problémy je třeba překonávat při využití různých oligonukleotidů v terapii?
8. Co to jsou malé interferující RNA a k čemu mohou být v terapii využity?
9. Co jsou mikro RNA a jak působí?
10. Jaké jsou možnosti genové terapie nádorových onemocnění?
11. Jaké jsou principy viroterapie a bakterioterapie nádorových onemocnění?
12. Jaké jsou možnosti snížení nákladů na drahou protinádorovou terapii bez dopadů na léčbu pacientů?