



Uloga biomarkera i surogatnih parametara u pretkliničkim i kliničkim ispitivanjima lekova

Significance of biomarkers and surrogate endpoints in preclinical and clinical trials

Katarina Ilić*, Vesna Kuntić†

Farmaceutski fakultet, *Institut za farmakologiju, †Institut za fizičku hemiju, Beograd

Ključne reči:

biološki pokazatelji; istraživanje, biomedicinsko; istraživanja, višecentarska; bolest; karcinomi; hiv; lekovi, ispitivanje; prognoza; preživljavanje.

Key words:

biological markers; biomedical research; multicenter studies; disease; carcinoma; hiv; drug evaluation; prognosis; survival.

Uvod

Biomarker može se definisati kao objektivno meren i evaluiran pokazatelj normalnog biološkog procesa patološkog procesa ili odgovora na terapijsku intervenciju¹. U biomarkere spadaju razni molekuli (metaboliti, proteini ili geni), fiziološki parametri (npr. krvni pritisak, srčana frekvencija) i podaci dobijeni raznim tzv. „imidžing“ tehnikama (magnetna rezonancija, pozitron emisiona tomografija, spiralna kompjuterizovana tomografija). Molekuli koji se koriste kao biomarkeri su npr. lipidi u kardiovaskularnim obolenjima ili nivo glukoze u serumu kod bolesnika sa dijabetesom, zatim prostata-specifični antigen u karcinomu prostate i serumski C reaktivni protein u kardiovaskularnim bolestima (tabela 1)^{2,3}.

Dijagnostički, prognostički i terapijski značaj biomarkera

Biomarkeri se koriste za dijagnozu i prognozu bolesti, klasifikovanje različitih podtipova nekog oboljenja, procenu rizika od neke bolesti, kao i za procenu efikasnosti i toksičnosti terapije.

U dijagnozi različitih bolesti biomarkeri se koriste kako za ranu dijagnozu hroničnih bolesti (npr. dijabetes i karcinom), tako i za dijagnozu akutnih stanja (infarkt miokarda, cerebrovaskularni insult i infekcija). Njihov značaj naročito je veliki u dijagnozi bolesti kod kojih rano postavljanje dijagnoze poboljšava uspeh terapije i kod kojih ostali dijagnostički testovi ne omogućavaju detekciju bolesti dovoljno rano.

Tabela 1

Neki od primera primene biomarkera umesto kliničkih parametara

Biomarkeri	Bolesti
Leukotrijeni, citokini, hemokini	astma, hronična opstruktivna bolest pluća, reumatoidni artritis
Glukoza, fruktozamin, glikozilovani albumin i hemoglobin A1C Pregled retine, parametri funkcije bubrega, testovi za ispitivanje periferalne neuropatije	dijabetes melitus tip 1 i 2
Nivo angiotenzina I, angiotenzina II, renina u plazmi, aldosterona i angiotenzin-konvertujućeg enzima Krvni pritisak i srčana frekvencija	hipertenzija
C-reaktivni protein, interleukin (IL) 6, kardijalni Troponin I i T, intercelularni adhezioni molekul	infarkt miokarda
Natriuretikički peptid B-tip	srčana insuficijencija
Alanin transaminaza, γ glutamiltransferaza	oštećenja jetre
Prostata-specifični antigen	karcinom prostate

Biomarkeri su od značaja i za praćenje progresije hroničnih bolesti, kao što su karcinomi (karcinoembrionski antigen – CEA, CA-125), dijabetes (hemoglobin – A_{1c}). Pri tome, neophodno je da apsolutne vrednosti biomarkera korelišu sa težinom bolesti (npr. koncentracija u krvi, veličina tumora na kompjuterizovanoj tomografiji) ⁴. Trend koji biomarker pokazuje od pregleda do pregleda često je bolji pokazatelj pravog stanja bolesti od njegove apsolutne vrednosti. Na primer, povećan, ali stabilan tumorski marker, može ukazivati na stabilnost bolesti kod osobe sa karcinomom, dok povećanje tumorskog markera tokom nekoliko uzastopnih pregleda ukazuje na ponovni rast tumora.

Biomarkeri su od značaja i za procenu prognoze bolesti. Nedavno sprovedena klinička studija koja je uključila 654 bolesnika utvrdila je da četiri biomarkera mogu predvideti smrtnost od kolorektalnog karcinoma, nezavisno od stadijuma, lokalizacije, godina ili pola bolesnika. Radi se o proteinima (tkivni inhibitor matriksne metaloproteinaze-1, inhibitor-1 aktivatora plazminogena, serin-proteaza i C reaktivni protein) čija ekspresija se može koristiti za procenu prognoze preživljavanja posle hiruške intervencije i donošenje odluke da li je pored hiruške terapije neophodno da bolesnik bude na dodatnoj hemoterapiji. U toku je studija koja će obuhvatiti 1 800 bolesnika u Skandinavskim zemljama i koja ima za cilj da izvrši validaciju testa za analizu ekspresije proteina ⁵.

U slučajevima u kojima nivo biomarkera korelišu sa težinom bolesti, biomarkeri se mogu koristiti za procenu efikasnosti terapije. Ovo je od koristi lekarima za donošenje odluke o lečenju, ali je i od značaja za procenu efikasnosti i toksičnosti terapije u pretkliničkim i kliničkim ispitivanjima.

Biomarkeri u razvoju lekova

Biomarkeri imaju važnu ulogu i u otkrivanju i razvoju novih lekova. Farmaceutske kompanije koriste biomarkere za donošenje interne odluke za odabir (*screening*) vodećih jedinjenja, koristeći ih kao pomoćno sredstvo za određivanje ili preciziranje mehanizma dejstva ispitivanog leka ⁶. Veliki troškovi koji nastaju ako se tokom kliničkih istraživanja lek ne pokaže dovoljno efikasan ili se ispostavi da je toksičan, povećalo je interesovanje za biomarkere i njihovu upotrebu u pretkliničkim istraživanjima i ranim fazama razvoja lekova. Biomarkeri se koriste za procenu: da li lek zaista deluje na ciljani organ za koji je razvijen, da li lek na ciljnom organu izaziva odgovarajući odgovor, kao i da li ispoljava terapijski korisne ili štetne efekte. Osim toga, biomarker može pomoći u određivanju subpopulacije bolesnika kod kojih određeni novi lek može biti od naročito velike potencijalne koristi ².

Biomarkeri su od izuzetnog značaja u ranim fazama razvoja lekova radi donošenja odluke o prestanku daljeg ispitivanja manje perspektivnih jedinjenja. Broj ispitivanih jedinjenja koja ulaze u I fazu kliničkih ispitivanja opao je sa 14% na samo 8% ⁷. Naročito visok procenat jedinjenja koja nisu ušla u fazu kliničkih ispitivanja nalazi se među lekovima sa novim mehanizmom dejstva. Međutim, iako se radi o lekovima čije je dalje ispitivanje povezano sa ogromnim finansijskim rizikom, radi se ujedno i o lekovima, koji, ako se

potvrde kao uspešni, mogu doneti najveću finansijsku dobit farmaceutskim kompanijama.

Strategija povezivanja razvoja lekova sa kliničkim istraživanjima poznata je kao translaciona medicina, eksperimentalna medicina ili translaciono istraživanje. Biomarkeri imaju centralno mesto u translacionom istraživanju. U fazi razvoja lekova istraživači nastoje da paralelno sa pronalaženjem vodećih jedinjenja i njihovih ciljnih mesta delovanja, korišćenjem animalnih modela ili tkivnih kultura identifikuju biomarkere koji se mogu koristiti u pretkliničkim, ali i kasnije u kliničkim studijama ⁸. U pretkliničkim ispitivanjima biomarkeri se koriste za potvrdu aktivnosti ispitivanog leka *in vivo*, kao i za ispitivanje odnosa između koncentracije, odnosno doze leka i njegovog efekta.

Od značaja je ispitati pod kojim uslovima se biomarkeri mogu koristiti za odabir kandidata u eksploratornim kliničkim istraživanjima (faza I / II A) i eventualno kao zamena za primarni parametar, tj. kao surogatni parametar u fazi II B / III kliničkih istraživanja. Ovakva zamena će omogućiti bržu i jeftiniju procenu novog terapijskog tretmana ⁹⁻¹¹.

Biomarkeri su od velike koristi u kliničkim ispitivanjima za ¹¹⁻¹³: utvrđivanje efikasnosti ispitivanog leka – biomarkeri efikasnosti; selekciju odgovarajuće doze (ili doznog režima) leka; izbor bolesnika koji će biti uključeni u kliničko ispitivanje, kao i za brzo razlikovanje bolesnika koji će reagovati na primenjenu terapiju (respondenti) od onih koji neće (non respondenti); predviđanje ili detektovanje toksičnih efekata leka – biomarkeri toksičnosti; identifikaciju ciljnih populacija kao i subpopulacija sa važnim razlikama u odgovoru na dejstvo lekova; ubranu registraciju lekova za bolesti sa visokom stopom smrtnosti; registraciju novih oblika lekova; procenu kvaliteta lekova; primenu lekova u novim populacijama.

Primeri primene biomarkera i surogatnih parametara u različitim stadijumima pretkliničkih i kliničkih ispitivanja dati su u tabeli 2.

Za procenu težine bolesti i evaluaciju terapije potrebno je uglavnom više od jednog biomarkera, jer jedan biomarker može samo delimično predvideti klinički ishod. Tako, kod HIV pozitivnih bolesnika broj CD4 limfocita samo se kod 30% slučajeva poklapa sa dužim preživljavanjem bolesnika, dok taj procenat iznosi 70% u slučaju kad se broj CD4 limfocita kombinuje sa brojem HIV čestica u plazmi. Slično tome, za procenu da li je šteta zbog neželjenih efekata uzrokovanih tretmanom veća od koristi, neophodno je više od jednog dodatnog biomarkera. Na primer, pozitivan efekat tiazidnih diuretika na sniženje krvnog pritiska znatno je smanjen zbog povećanog rizika od iznenadne smrti usled hipokalijemije, koja se javlja kao neželjeno dejstvo tiazida ¹⁴.

Biomarkeri mogu omogućiti bolje razumevanje patofiziologije bolesti i mehanizma dejstva intervencije koja je proučavana u kliničkim istraživanjima. Korišćenje biomarkera u kliničkim studijama umesto primarnih parametara pogodno je, između ostalog, jer je konzistentno sa rutinskom kliničkom praksom i može pomoći u predviđanju i praćenju kliničkog odgovora na primenjenu intervenciju.

Tabela 2

**Neki od primera primene biomarkera i surogatnih parametara u
pretkliničkim i kliničkim ispitivanjima**

Studije ispitivanja ciljnog obolenja
Procena korelacije između dijagnoze i prognoze
Rasvetljavanje patofiziologije bolesti
Pretklinička ispitivanja
Potvrda predložene farmakološke aktivnosti <i>in vivo</i>
Procena odnosa između doze (ili koncentracije supstance u plazmi) i efekta u studijama na životinjama
Faza I-II kliničkih studija
Potvrda farmakološke aktivnosti kod ljudi
Definisanje odnosa između doze (ili koncentracije supstance u plazmi) i efekta
Faza III kliničkih studija
Osnova za podelu (stratifikaciju) bolesnika u grupe
Praćenje komplikacije i bezbednosti
Baza za međuanalizu odgovora bolesnika
Baza za uslovnu registraciju od strane regulatornih agencija
Faza IV kliničkih istraživanja
Utvrđivanje nove indikacije već registrovanog leka
Baza za registraciju novog oblika leka
Primena u kliničkoj praksi
Postavljanje dijagnoze bolesti i predviđanje prognoze
Pomoć u određivanju terapije
Praćenje odgovora na lečenje

S druge strane, odnos između rizika i koristi od intervencije može se proceniti samo na osnovu kliničkih istraživanja koja su veća i duža od onih koja koriste biomarkere, gde se pored očekivanih efekata mogu registrovati i neželjeni efekti. Stoga, klinička istraživanja koja koriste biomarkere kao primarne parametre istraživanja treba koristiti samo onda kada korišćenje kliničkih parametara nije izvodljivo ili efikasno¹⁵.

Razne nove oblasti istraživanja, kao što su: farmakogenetika, farmakogenomika, proteomika (*proteomics*) i imidžing identifikuju i razvijaju nove biomarkere. Zahvaljujući farmakogenetici omogućena je analiza genetskih razlika na osnovu koje se može predvideti kako pojedine subpopulacije mogu reagovati na lek. Od izuzetnog značaja je razvoj i masene spektrometrije koja je omogućila da se uzorci biološkog materijala (npr. krvi, cerebrospinalne tečnosti) skeniraju u cilju identifikacije promena u ekspresiji proteina koje korelišu sa kliničkim ishodom¹².

Surogatni parametri

Surogatni parametar (*surrogate endpoint*) je biomarker koji se koristi kao zamena za klinički parametar i za koji se očekuje da ima sposobnost da predvidi korist (ili štetu, ili odsustvo koristi ili štete) na osnovu epidemioloških, terapijskih, patofizioloških i drugih naučnih dokaza¹. Ova definicija ukazuje na glavnu razliku između surogatnog parametra i biomarkera. Biomarker se može koristiti kao surogatni parametar, ako može da predvidi korist od primenjene intervencije.

Surogatni parametri su parametri prihvaćeni od strane naučne zajednice i regulatornih agencija kao zamena za

primarne parametre u kliničkim ispitivanjima. Radi se o relativno lako merljivim parametrima koji se koriste za predviđanje očekivanog ili toksičnog dejstva terapijske intervencije, ali koji sami nisu direktne mere terapijske efikasnosti ili toksičnosti.

U toku kliničkih istraživanja poredi se razlika između kontrolne i eksperimentne grupe u unapred definisanom parametru (*primary endpoint*), koji se prati tokom kliničkih studija¹⁶. U većini slučajeva potrebno je puno vremena da bi se u kliničkim istraživanjima dokazala značajna razlika između ispitivanih tretmana, ako se prate takozvani tvrdi primarni parametri, koji se odnose na mortalitet ili morbiditet. Pored toga, duga klinička ispitivanja povezana su i sa velikim finansijskim ulaganjima¹⁷. Iz tih razloga istraživači nastoje da identifikuju parametre koji se mogu koristiti kao zamena za direktna praćenja morbiditeta i mortaliteta. Stoga se surogatni parametri koriste kao zamena kada je primarni parametar isuviše komplikovano i/ili skupo meriti rutinski i kada su dostupni drugi, lakše merljivi parametri koji su dovoljno dobri prediktori bolesti (rizika od bolesti)¹⁸⁻²⁰.

Interesovanje za korišćenje surogatnih parametara u kliničkim istraživanjima sve je veće, a to je pre svega uslovljeno brojnim prednostima njihovog korišćenja^{5, 14, 16-18}: značajno smanjenje ispitivanog uzorka, tj. broja ispitanika ili dužine studije, što smanjuje troškove i čini klinička ispitivanja izvodljivijim; bolja komplikacija bolesnika, jer smanjuju dužinu studije za svakog bolesnika; mogućnost procene tretmana u uslovima kada bi korišćenje primarnih parametara bilo previše invazivno i/ili neprijatno za bolesnika; primena surogatnih parametara umesto čekanja fatalnih kliničkih parametara (na primer smrtnost od neke bolesti) je etičnija; surogatni parametri pogodniji su kada su klinički parametri te-

ško merljivi ili kada na njih utiče prateća terapija ili komorbiditet; surogatni parametri mogu pomoći u određivanju doze leka odnosno doznog režima.

Korišćenje surogatnih parametara naročito je atraktivno u studijama sa bolesnicima koji boluju od hroničnih bolesti, kada može proteći više godina do pojave primarnog parametra¹⁹. U tim slučajevima korišćenje surogatnog parametra u kliničkim istraživanjima može omogućiti dobijanje klinički značajnih podataka znatno ranije. Primeri koji dokumentuju ove slučajeve su, npr. korišćenje broja HIV virusnih čestica u plazmi kod HIV pozitivnih osoba kao zamena za progresiju HIV u klinički manifestni sindrom stečene imunodeficijencije (AIDS)²⁰ ili

Surogatni parametri u postupku registracije lekova

Da bi biomarker mogao da se koristi kao surogatni parametar u postupku registracije lekova mora biti prihvaćen od strane regulatornih agencija. Regulatorne agencije prihvataju surogatne parametre kao zamenu za kliničke parametre samo ako je validiran njihov klinički značaj. Međutim, u nekim slučajevima promene u biomarkerima prihvataju se kao dokaz efikasnosti terapije pre nego što se pokažu efekti na kliničke parametre. Primeri su lekovi za hipertenziju, hiperholesterolemiju, HIV. U ovim slučajevima, surogatni parametri (krvni pritisak, holesterol, broj HIV čestica) su do te

Tabela 3

Surogatni parametri/klinički ishodi

Surogatni parametri	Klinički ishod
HbA1c	retinopatija, kardiomiopatija, neuropatija
HIV/CD4	vreme preživljavanja kod HIV+ bolesnika
Krvni pritisak	infarkt miokarda/šlog – vreme preživljavanja
Veličina tumora	vreme preživljavanja
Holesterol (HDL, LDL, VLDL) *	infarkt miokarda/šlog – vreme preživljavanja

*HDL – lipoprotein visoke gustine, LDL – lipoprotein niske gustine, VLDL – lipoprotein veoma niske gustine; HbA1c – glikolizovani hemoglobin; HIV – virus humane imunodeficijencije

vreme do progresije ili ponovnog javljanja tumora posle njegovog hirušskog uklanjanja, nasuprot petogodišnjem preživljavanju kod bolesnika posle operacije karcinoma¹⁴ (tabela 3).

Za selekciju surogatnih parametara klinički istraživači koriste znanja iz raznih oblasti nauke. Idealni surogatni parametar treba ne samo da bude prediktor bolesti (rizika od obolevanja) već treba da je pouzdan, osetljiv, specifičan, ponovljiv, da se lako i relativno jeftino kvantifikuje, da ispoljava dozozavisni efekat i, takođe, treba da postoji precizna razlika između normalnih i abnormalnih vrednosti²⁰.

Veoma često se biomarkeri efikasnosti mogu koristiti kao surogatni parametri. Američki *Food and Drug Administration* (FDA) definiše biomarkere efikasnosti kao kvantitativne mere bioloških efekata koje obezbeđuju informativnu vezu između mehanizma dejstva leka i kliničke efikasnosti i surogatne markere kao kvantitativne mere koje mogu predvideti efikasnost³. U stvari, surogatni markeri su biomarkeri efikasnosti prihvaćeni i validirani od strane naučne zajednice, ali i od regulatornih agencija kao parametar koji se može koristiti za registrovanje lekova umesto kliničkih parametara. Biomarkeri mogu postati surogatni parametri ako imaju moć predviđanja efikasnosti terapije i ako je izvršena njihova provera u smislu postojanja uzročnosti između patološkog procesa i kliničke manifestacije. Do koje mere biomarker može adekvatno služiti kao surogatni parametar u proceni novog načina lečenja zavisi od stepena do kojeg on može pouzdano predviđati kliničku korist od ispitivanog, u poređenju sa standardnim lečenjem. Biomarker, koji se može uspešno koristiti kao surogatni parametar, može da predvidi očekivani klinički ishod, kao i glavne efekte novog načina lečenja¹⁵. Biomarker koji predviđa efekat intervencije na klinički parametar sa preciznošću do 50% (npr. broj CD4 limfocita u HIV infekciji) ne može biti dobar surogatni parametar²¹.

mere validirani da se smatraju glavnim faktorima rizika za nastanak koronarne bolesti.

Regulatorne agencije odobravaju registraciju lekova, ako se dokaže da deluju na faktore rizika. Na primer, registracija statina biće odobrena ako se dokaže da deluju na hiperholesterolemiju i hipertenziju kao faktore rizika, pre nego na infarkt miokarda i mortalitet usled koronarne bolesti, koji je pravi klinički parametar. Međutim, farmaceutske kompanije u cilju registrovanja leka, kao i za registraciju leka za nove indikacije uglavnom sprovode i dodatna klinička ispitivanja, kako bi, na primer, odredile da li statin smanjuje rizik od koronarne bolesti.

Regulatorna tela mogu odobriti registraciju leka na osnovu adekvatno dizajniranih, kontrolisanih kliničkih istraživanja koja su utvrdila da ispitivana terapija ima koristan efekat na surogatni parametar. Glavno pitanje u donošenju odluke o registraciji leka na osnovu kliničkih istraživanja sa surogatnim parametrom jeste da li bi se do istog zaključka o efektu leka na mortalitet i morbiditet došlo da je korišćen takozvani tvrdi parametar.

Glavni kriterijumi za razmatranje ubrzane registracije leka su: korišćenje leka za teške bolesti ili bolesti koje su opasne po život; postojanje surogatnog parametra koji može da predvidi kliničku korist od leka; veća efikasnost leka u odnosu na registrovane lekove ili efikasnost leka kod subpopulacije kada je neophodna dodatna terapijska opcija, na primer, u slučajevima u kojima lek može biti efikasan u lečenju bolesnika kod kojih postoji rezistencija ili nepodnošljivost na postojeću terapiju.

Surogatni parametri prvi put su upotrebljeni 1991. godine tokom epidemije AIDS-a, kada je korišćenje broja CD4 limfocita kao surogatnog markera dovelo do registracije didanozina za lečenje HIV-a. *Food and Drug Administration* je 1992. godine usvojila Zakon za ubranu registraciju lekova i

bioloških produkata, koji će biti korišćeni u lečenju ozbiljnih bolesti sa smrtnim ishodom. Ovaj zakon odobrava registraciju novog leka ili biološkog produkta na osnovu odgovarajućih kontrolisanih kliničkih ispitivanja u kojima je potvrđeno da lek ima efekta na surogatni parametar, koji može predvideti kliničku korist od ispitivanog tretmana, ili na klinički parametar koji nije vreme preživljavanja ili morbiditet. Od decembra 1992. do juna 2004. godine FDA je odobrila ubrzanu registraciju 22 leka za terapiju karcinoma²². Ako postoji izvesna neizvesnost u odnosu na odnos između surogatnog parametra i kliničke koristi ili između zapažene koristi i neposrednog ishoda, lekovi za koje se odobri ubrzanu registraciju, moraju biti dalje ispitivani od strane podnosioca za registraciju leka, kako bi se verifikovala korist od leka. U tim slučajevima FDA očekuje (ali ne uslovljava) da studije koje imaju za cilj da potvrde da je lečenje klinički korisno, budu u toku u momentu podnošenja zahteva za ubrzanu registraciju. Ako se potvrđne studije ne odvijaju sa potrebnom marljivošću ili ne dokažu kliničku korist, lek može biti povučen sa tržišta²³.

Godine 1997. FDA je odobrila korišćenje broja HIV čestica kao drugog surogatnog markera za regularnu i ubrzanu registraciju anti HIV terapije. Ova odluka FDA odmah je bila praćena ubrzanom registracijom indinavira zasnovanom na smanjenju nivoa ribonukleinske kiseline (RNK) posle 24 nedelje. Međutim, Savetodavni Komitet za AIDS lekove (FDA *Advisory Committee* – AIDS Drugs) ukazao je da broj CD4 limfocita treba da bude konzistentan sa promenama RNK HIV-a²¹.

Biomarkeri u istraživanjima karcinoma

Biomarkeri imaju izuzetno veliki značaj za ranu detekciju i dijagnostiku karcinoma, u identifikovanju osoba koje imaju rizik od nastanka karcinoma, u predviđanju njihovog odgovora na preventivnu terapiju, u razvoju novih hemoterapeutika, kao i u proceni efikasnosti i bezbednosti terapije karcinoma (tabela 4). U eri velikog broja citostatika, odgovarajući

Za razliku od razvoja lekova koji počinje skriningom velikog broja molekula, a potom ispitivanjem uglavnom jednog za koji se smatra da je najperspektiviji, razvoj karcinomskih biomarkera identifikuje kandidate za biomarkere, a potom ispituje svaki od njih u tkivima i krvi 100 bolesnika sa karcinomom i zdravih volontera, kako bi se utvrdilo da li je biomarker pogodan za detekciju karcinoma.

Prvi karcinomski biomarker otkrio je dr Jozef Gold 1965. godine u krvi bolesnika sa karcinomom kolona. Kako se ovaj biomarker normalno nalazi u fetalnim tkivima nazvan je karcinoembrionski antigen (CEA). U sledećih petnaestak godina otkriveno je još nekoliko biomarkera, kao što su: CA 19–9 za kolorektalni i karcinom pankreasa, CA 15–3 za karcinom dojke i CA-125 za karcinom ovarijuma. Ovi markeri su pogodni za ranu detekciju karcinoma, ali uglavnom nisu specifični za pojedinačni tip karcinoma. Na primer, CA-125 takođe je povećan u endometriozii i nekim drugim benignim stanjima, dok je negativan u 50% ranih stadijuma karcinoma ovarijuma. Međutim, kod bolesnica kod kojih je primarni tumor CA-125 pozitivan, uvećanje CA-125 posle operacije ukazuje na rekurentni karcinom. Takođe, osobe sa karcinomom pluća ili dojke mogu imati povećane nivoe CEA, te se on zbog niske specifičnosti i niske senzitivnosti ne koristi za masovni skrining karcinoma kolona, ali je od koristi u postoperativnom praćenju bolesnika²⁴. Iako povećani preoperativni nivo CEA (> 5 mg/ml) može korelisati sa lošom prognozom, nema dovoljno podataka koji podržavaju korišćenje CEA za određivanje da li je bolesnik kandidat za adjuvantnu terapiju. Karcinoembrionski antigen treba koristiti preoperativno za određivanje prognoze bolesnika sa kolorektalnim karcinomom, kao i bolesnika kod kojih će biti rađena resekcija jetre usled metastaza. Takođe, CEA preoperativno može biti od koristi u određivanju stadijuma karcinoma i planiranju hiruškog lečenja. Postoperativno CEA u serumu treba određivati svaka tri meseca kod bolesnika sa stadijumom II ili III kolorektalnog karcinoma najmanje u toku tri godine. U slučaju po-

Tabela 4

Primena surogatnih i kliničkih parametara u kliničkim ispitivanjima u onkologiji

Faza kliničkih ispitivanja	Cilj ispitivanja	Uobičajeni parametri
Faza I	toksičnost leka, farmakokinetika, uspostavljanje maksimalne doze	stepen neželjenih efekata, nivo leka
Faza II	identifikovanje kliničke aktivnosti leka	odgovor tumora
Faza III	upoređivanje novog lečenja sa standardnim režimom	preživljavanje bolesnika

biomarkeri mogu se koristiti za određivanje koji tumor će reagovati na odgovarajuće lečenje. Iz ovih razloga, poslednjih godina razvoj karcinomskih biomarkera postao je glavni predmet interesovanja u istraživanjima karcinoma. Novija istraživanja u ovoj oblasti idu u pravcu identifikacije biomarkera koji će moći da razlikuju invazivne od neinvazivnih tumora i tumore koji imaju sposobnost metastaziranja od onih koji će verovatno ostati lokalizovani u primarnom organu.

većanog CEA, ako se povećan nivo potvrdi ponovnim testiranjem, neophodno je utvrditi da li bolesnik ima metastaze. CEA treba određivati na početku terapije metastaza i svaka jedan do tri meseca tokom aktivnog lečenja²⁵.

Za sada jedini karcinomski biomarkeri koji su odobreni od strane FDA za skrining karcinoma su prostata specifični antigen (PSA) zajedno sa digitalnim rektalnim pregledom za dijagnozu karcinoma prostate i, od pre nekoliko godina, tu-

morski antigen mokraćne bešike i nuklearni matriksni protein-22 za dijagnozu karcinoma mokraćne bešike²⁴.

Biomarkeri dobijaju sve veći značaj u razvoju novih lekova za prevenciju i terapiju karcinoma koji je spor, neefikasan i skup. U proseku treba 10–15 godina od izrade plana za razvoj leka do momenta kada se lek propiše bolesniku. Ovo je naročito nepovoljno kada se radi o lekovima za terapiju fatalnih bolesti, kao što je karcinom. Klinička ispitivanja novih antineoplastika registrovanih u Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) između 1998. i 2001. trajala su približno 75 meseci, dok je postupak registracije trajao dodatnih 7,6 meseci²⁶. Velika većina antineoplastika pokaže se neefikasnom u kasnijim fazama kliničkih istraživanja. Veliki broj ovih lekova ne pokaže potrebnu efikasnost za registrovanje zato što se ispituju u neodgovarajućim populacijama bolesnika i/ili uslovima u kojima je praćenje efekta terapije na klinički parametar veoma teško. Sve ovo dovelo je do potrebe za definisanjem strategije za efikasniji razvoj ovih lekova, uključujući primenu biomarkera u stratifikaciji rizika i dizajnu kliničkih studija, korišćenje novih tehnologija i postavljanje kriterijuma za uzimanje uzoraka i prikupljanje podataka.

Odobrenje za registraciju lekova i bioloških produkata za tretman onkoloških bolesnika u SAD zahteva dokaze o efikasnosti leka dobijene u odgovarajućim kontrolisanim kliničkim istraživanjima²⁷. U većini slučajeva, FDA zahteva najmanje dva dobro kontrolisana klinička istraživanja. U izvesnim slučajevima FDA može smatrati da su dokazi o efikasnosti iz jednog kliničkog istraživanja dovoljni, ali uglavnom u slučajevima u kojima je višecentarsko ispitivanje pružilo veoma pouzdane i statistički značajne dokaze o kliničkoj koristi (kao što je efekat na preživljavanje) i u kojima bi potvrda rezultata u drugom kliničkom istraživanju bila praktično ili etički neizvodljiva²⁸. Zvanično uputstvo FDA objavljeno 1980. godine ukazalo je da efikasnost leka treba da bude dokazana kroz duže preživljavanje, poboljšan kvalitet života ili kroz povećanje nivoa surogatnog markera za bar jedan od ovih kliničkih ishoda. U potencijalno letalnim bolestima čekanje da se dokaže efektivnost leka, na primer, na petogodišnje preživljavanje bolesnika dovodi do značajnog usporavanja registracije potencijalno korisnog leka. Većina regulatornih tela prihvata promene u biomarkerima kao dokaz efektivnosti leka pre nego što se dokaže efekat leka na kliničke parametre. Međutim, u slučaju lekova za terapiju karcinoma, insistira se da lek pokaže efikasnost na produženje preživljavanja pre njegove registracije. Argumenti za ovakav stav su, pre svega, da je tumačenje promena u dužini preživljavanja, naročito u kliničkim istraživanjima, teško. Mnogi drugi faktori, koji nisu povezani sa bolešću, kao što su neželjena dejstva leka, mešajući faktori (*confounding factors*) u kliničkim istraživanjima, razlike između učesnika u kliničkoj studiji i bolesnika u kliničkoj praksi mogu uticati na preživljavanje²⁹.

U kliničkim ispitivanjima karcinoma insistira se na dobro validiranim surogatnim parametrima. Promena veličine tumora i vreme do progresije tumora obično se smatraju surogatnim parametrima, koji relativno često mogu da predvide

kliničku korist. FDA je u svom izveštaju iz 1996. godine, *Reinventing the regulation of Cancer Drugs*, proširila mogućnost ubrzane registracije za nove vidove lečenja karcinoma na osnovu dokazanog objektivnog smanjenja veličine tumora. Ovo je bio prvi izveštaj koji je ukazao na specifični surogatni marker koji je prihvatljiv za ubranu registraciju onkoloških lekova²⁶.

Smanjenje tumora je surogatni parametar koji se često koristi u terapijskim istraživanjima uznapredovalog karcinoma, naročito dojke, solidnih tumora pluća i kolorektalnog karcinoma. Odgovor tumora na primenjenu terapiju može biti: potpuni (tumor nije vidljiv na pregledu), delimični (smanjenje veličine tumora za 50% ili više) i odsustvo promene u veličini tumora. Međutim, pokazalo se da smanjenje tumora nije pouzdani surogatni parametar koji se može koristiti umesto preživljavanja¹⁷.

Uopšte uzevši efekat terapije na klinički parametar često se ne može predvideti na osnovu efekta koji terapija ima na surogatni parametar. To može biti objašnjeno na različite načine, ali jedno od najverovatnijih objašnjenja je da primenjena terapija može imati mehanizam dejstva koji je nezavistan od patofiziološkog procesa bolesti. Stoga efekat terapije na klinički parametar može biti nekonzistentan sa onim što bismo očekivali na osnovu evaluacije surogatnih parametara. Iz tih razloga, surogatne parametre u kliničkim istraživanjima treba, pre svega, koristiti za skrining novih lekova u toku evaluacije biološke aktivnosti u preliminarnim ispitivanjima druge faze. Dobijeni rezultati mogu odlučiti da li je lek dovoljno perspektivan da bi opravdao dalja i duža klinička ispitivanja. Iako informacije dobijene na osnovu surogatnih parametara u III fazi kliničkih ispitivanja mogu poslužiti za dalje rasvetljavanje mehanizma dejstva leka, primarni cilj je da se dobiju podaci o efektu leka na kliničke parametre, kao i podaci o neželjenim dejstvima leka.

Zaključak

Biomarkeri imaju široku primenu u modernoj medicini i biologiji. Oni su promenili način dijagnostikovanja i klasifikacije bolesti, praćenja efekata terapije, određivanja toksičnosti, a imaju i sve veću primenu u razvoju novih lekova. Karakteristike biomarkera određuju i njihovu primenu. Biomarkeri koji imaju malu moć predviđanja korisnosti tretmana koriste se u ranim fazama razvoja lekova za preliminarni skrining. Biomarkeri velike prediktivne moći mogu biti upotrebljeni kao surogatni parametri u proceni efikasnosti i bezbednosti tretmana. Surogatni parametri validirani u kliničkim istraživanjima i prihvaćeni od strane regulatornih agencija mogu biti korišćeni i za registraciju lekova, naročito za ubranu registraciju antiinfektivnih lekova i hemoterapeutika. Međutim, za registraciju antikancerskih lekova regulatorne agencije insistiraju na neophodnosti prospektivnih postmarketinških studija da bi se dokazalo postojanje korelacije surogatnih parametara sa kliničkom koristi od primenjenog tretmana.

L I T E R A T U R A

1. *Biomarkers Definitions Working Group*. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69(3): 89–95.
2. *Verbagen RA*. Biomarkers improve clinical trial development. *Pharmaceutical Industry* 70-80. *Pharmaceutical Technology Outsourcing Resources* 2004. Available from: <http://www.pharmtech.com/pharmtech>
3. *Haberman AB*. Can biomarkers increase R & D Productivity. *Drug Discovery and Design A Decision Resources Publication* 2005. Available from: <http://www.decisionresources>
4. *LaBaer J*. So, you want to look for biomarkers (introduction to the special biomarkers issue). *J Proteome Res* 2005 4(4): 1053–9.
5. *Nielsen HJ*. The serologic markers TIMP-1, PAI-1, MASP-2 and CRP are independent predictors of colorectal cancer-specific death. *Annual Meeting of the American Association for Cancer Research* 2006. Available from: <http://www.docguide.com/news/content.nsf/news>
6. *Wagner JA*. Overview of biomarkers and surrogate endpoints in drug development. *Dis Markers* 2002; 18(2): 41–6.
7. FDA. Innovation or stagnation? Challenge and opportunity on the critical path to new medical products 2004. Rockville: FDA; 2004. Available from: <http://www.fda.gov/oc/initiatives/criticalpath/whitepaper.html>
8. *Jadhav PR, Mehta MU, Gobburu JVS*. How biomarkers can improve clinical drug development? The critical path from concept to consumer. 11th Annual FDA Science Forum, 27-28 April, 2005. Available from: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/oc/scienceforum/sf2005>
9. *Fleming TR, DeMets DL*. Surrogate end points in clinical trials: are we being misled? *Ann Intern Med* 1996; 125(7): 605–13.
10. *Colburn WA*. Biomarkers in drug discovery and development: from target identification through drug marketing. *J Clin Pharmacol* 2003; 43(4): 329–41.
11. *Atkinson AJ*. Physiological and laboratory markers of drug effect. In: *Atkinson AJ, Abernethy DR, Daniels CE, Dedrick RL, Markey SP*, editors. *Principles of Clinical Pharmacology*. San Diego: Academic Press, 2001. p. 225–34.
12. *Fleming TR*. Surrogate endpoints in clinical trials: Are we being misled? *Ann Int med* 1996; 125: 605–13.
13. *De Gruttola VG, Clax P, DeMets DL, Downing GJ, Ellenberg SS, Friedman L*, et al. Considerations in the evaluation of surrogate endpoints in clinical trials. summary of a National Institutes of Health workshop. *Control Clin Trials* 2001; 22(5): 485–502.
14. *Sterling TR, Vlahov D, Astemborski J, Hoover DR, Margolick JB, Quinn TC*. Initial plasma HIV-1 RNA levels and progression to AIDS in women and men. *N Engl J Med* 2001; 344(10): 720–5.
15. *Sankob AJ, Huque MF, Dubey SD*. Some comments on frequently used multiple endpoint adjustment methods in clinical trials. *Stat Med* 1997; 16(22): 2529–42.
16. *Wittes J, Lakatos E, Probstfeld J*. Surrogate endpoints in clinical trials: cardiovascular diseases. *Stat Med* 1989; 8(4): 415–25.
17. *Ellenberg S, Hamilton JM*. Surrogate endpoints in clinical trials: cancer. *Stat Med* 1989; 8(4): 405–13.
18. *Hillis A, Seigel D*. Surrogate endpoints in clinical trials: ophthalmologic disorders. *Stat Med* 1989; 8(4): 427–30.
19. Surrogate endpoints. Available from: <http://www.healthyskepticizm.org/HMIHC/mislead/surrogat.htm>
20. *Lyles RH, Munoz A, Yamashita TE, Bazmi H, Detels R, Rinaldo CR*, et al. Natural history of human immunodeficiency virus type 1 viremia after seroconversion and proximal to AIDS in a large cohort of homosexual men. Multicenter AIDS Cohort Study. *J Infect Dis* 2000; 181(3): 872–80.
21. FDA. Guidance for industry: Antiretroviral drugs using plasma HIV RNA measurements – clinical considerations for accelerated and traditional approval. Rockville: FDA; 2002. Available from: <http://www.fda.gov/cder/guidance/3674fml.pdf>
22. FDA. Guidance for industry. Clinical trial endpoints for the approval of cancer drugs and biologics. Federal register 2005. Available from: <http://www.fda.gov/cder/guidance/6592dft.pdf>
23. New drug, antibiotic, and biological drug product regulations; accelerated approval – FDA. Final rule. *Fed Regist* 1992; 57(239): 58942–60.
24. *Chatterjee SK, Zetter BR*. Cancer biomarkers: knowing the present and predicting the future. *Future Oncol* 2005; 1(1): 37–50.
25. *Locker GY, Hamilton S, Harris J, Jessup JM, Kemeny N, Macdonald JS*, et al. ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24(33): 5313–27.
26. *Reichert JM*. Trends in development and approval times for new therapeutics in the United States. *Nat Rev Drug Discov* 2003; 2(9): 695–702.
27. Subpart H of the NDA regulations (21 CFR 314 subpart H) and subpart E of the BLA regulations (21 CFR 6001 subpart E). Available from: www.fda.gov/CDER/GUIDANCE/4332/al.htm
28. FDA. Guidance for industry. Providing clinical evidence of effectiveness for human drug and biological products. Available from: <http://www.fda.gov/cder/guidance/1397fml.pdf>
29. *Johnson JR, Temple R*. Food and Drug Administration requirements for approval of new anticancer drugs. *Cancer Treat Rep* 1985; 69(10): 1155–9.

Rad je primljen 27. IV 2007.