

Lekovi za retke bolesti: primer modifikovane glukocerebrozidaze

Smilja Matijašević¹, Miroslav M. Savić^{2*}

¹ Klinički centar Srbije, Služba za farmaceutsku delatnost i snabdevanje, Pasterova 2, Beograd

² Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za farmakologiju, Vojvode Stepe 450, Beograd

Kratak sadržaj

Do danas je definisano oko 5000 retkih bolesti, od kojih u zbiru boluje približno 6% populacije. Razvoj lekova za retke bolesti suočen je sa ograničenim znanjima o njima i otežanim obezbeđivanjem pacijenata za klinička ispitivanja. Dodatno, farmaceutska industrija nema jasan ekonomski motiv da investira u ova istraživanja. Ipak, podsticajna regulativa, uvedena u SAD 1983. godine, a u Evropskoj uniji 1999. godine, doprinela je da više od 200 retkih bolesti dobije specifično razvijene lekove. Mnogi među njima imaju veliku molekulsku masu i dobijeni su rekombinantnom biotehnologijom. Ovo je i primer modifikovane glukocerebrozidaze, koja obezbeđuje enzimsku supstituciju kod Gaucher-ove bolesti. Naime, u poređenju sa prirodnim enzimom, modifikacija terminalnih ostataka bočnih glikozilovanih lanaca enzima, na način da sadrže manozu, obezbeđuje specifično prepoznavanje enzima od strane makrofaga i kliničku delotvornost kod oblika bolesti bez neuroloških deficita. Nakon algluceraze, koja je dobijana iz placenti i stoga bila teško dostupna, razvijeni su imigluceraza kao standardni lek, a zatim i velagluceraza alfa i taligluceraza alfa, koji uz sigurnije snabdevanja tržišta u uslovima eventualnih proizvodnih akcidenata mogu da obezbede i smanjenje cene terapije.

Ključne reči: lekovi-siročići; Gaucher-ova bolest; imigluceraza; velagluceraza alfa; taligluceraza alfa

* Autor za korespondenciju: Dr Miroslav M. Savić, Tel.:+381-11-3951280
Fax: +381-11-3972840, E-mail adresa: miroslav@pharmacy.bg.ac.rs

Iako ne postoje jedinstveni kriterijumi za proglašavanje neke bolesti retkom, procenjuje se da je u literaturi opisano između 6000 i 8000 bolesti čija pojava u opštoj populaciji nije uobičajena. U oko 80% slučajeva zna se da postoji genetska osnova, odnosno predispozicija za razvoj ovakvih bolesti (1). Na referentnom internet portalu posvećenom retkim bolestima i lekovima za njihovo lečenje, *Orphanet*, nalaze se osnovni podaci za 5954 takve bolesti (podaci iz novembra 2011) (2). Za ove bolesti, zbirno, mogu se primeniti dva osnovna postulata: 1. ne postoji bolest koja je tako retka da ne zaslužuje pažnju i 2. retke bolesti jesu retke, ali pacijenti sa retkim bolestima su brojni (2, 3). Prvi postulat ilustruje činjenica da danas postoji lek odobren za primenu kod deficijencije N-acetilglutamat sintaze, koja ima procenjuenu globalnu prevalenciju od manje od 200 pacijenata (4). Drugi postulat potkrepljuje procena koja se odnosi na populaciju Evropske unije, prema kojoj oko 6% osoba ima bar jednu od retkih bolesti, što iznosi 30 miliona od ukupno 500 miliona stanovnika (1).

Specifičnosti razvoja lekova za retke bolesti

Farmaceutska industrija nema dovoljan ekonomski podsticaj za razvoj lekova namenjenih za lečenje bolesti koje se retko javljaju u populaciji (eng. orphan drugs – *lekovi siročići*), čiji je očekivani promet mnogostruko manji u poređenju sa konvencionalnim lekovima, sa ciljnom populacijom pacijenata koja se meri milionima. Zbog toga je bilo potrebno da organizacije i udruženja za retke bolesti ostvare pritisak i pruže važan doprinos uspostavljanju posebne regulative koja bi obezbedila uspešnije lečenje ovih pacijenata. Tako je Nacionalna organizacija za retke bolesti u SAD doprinela da se 1983. godine donese Akt o „lekovima-siročićima” (eng. Orphan Drug Act), koji je obezbedio paket fiskalnih i regulatornih podsticaja za kompanije koje razvijaju lekove za retke bolesti. Zahvaljujući ovakvom specijalnom regulisanju, u SAD je do sada podneto više od 2250 zahteva za dodelu statusa leka za retke bolesti, od čega je 361 obezbedilo i dobijanje dozvole za promet. Kao poređenje, u decenijama koje su prethodile ovom Zakonu, za promet je odobreno samo 10 lekova koji bi odgovarali osnovnom kriterijumu koji se primenjuje u SAD, a to je indikacija za bolest koja pogađa manje od 200.000 ljudi u SAD (3). U Evropskoj uniji se neko oboljenje ili poremećaj definiše kao retko kada je učestalost manja od 1 na 2000 (odnosno 5 na 10000) stanovnika, uz uslov da bolest ugrožava život ili je hronično onesposobljavajuća. Odgovarajuća posebna zakonska rešenja u EU doneta su tek 1999. godine, u sklopu *Regulation on Orphan Medicinal Products*. Otuda, ukupna aktivnost u ovoj oblasti bila je manja u EU u poređenju sa SAD i do sada je izdato 911 pozitivnih rešenja o zahtevu za dobijanje statusa leka za retke bolesti, uz 63 registrovana leka, prikazana u

Tabeli I (5). S druge strane, učešće lekova za retke bolesti koji su dobili dozvolu za promet u SAD ustalilo se poslednjih godina na oko 30% ukupnog broja novih lekova, što ukazuje na značaj ove grupe za farmaceutsku industriju (3).

Tabela I Lekovi za retke bolesti registrovani u EU u periodu 2001-2010.

Table I Drugs for rare diseases registered in the EU in the period 2001-2010.

Komercijalni naziv; sponzor	Međunarodno nezaštićeno ime	Indikacija i procenjena prevalencija	Komercijalni naziv; sponzor	Međunarodno nezaštićeno ime	Indikacija i procenjena prevalencija	Komercijalni naziv; sponzor	Međunarodno nezaštićeno ime	Indikacija i procenjena prevalencija
Fabryzyme; Genzyme Europe BV	Agalidaza beta	Fabry-eva bolest; 0,027	Revatio; Pfizer Ltd	Sildenafil citrat	PAH; 1	Tasigna; Novartis Europharm Ltd	Nilotinib	HML; 0,4
Replagal; Shire Human Genetic Therapies AB	Agalidaza alfa	Fabry-eva bolest; 0,027	Naglazyme; BioMarin Europe Ltd	Galsulfaza	Mukopolisaharidoza VI; 0,024	Torisel; Wyeth Europea Ltd	Temsirolimus	KRČ; 3,5
Glivec; Novartis Europharm Ltd	Imatinib mezilat	HML; 0,9	Myozyme; Genzyme Europe BV	Alglukozidaza alfa	Bolest deponovanja glikogena tip II (Pompe-va bolest); 0,317	Thalidomide; Celgene Europe Ltd	Talidomid	Multipli mijelom; 1,2
Tracleer; Actelion Registration Ltd	Bosentan	PAH; 0,95	Evoltra; Bioenvision Ltd	Klofarabin	ALL; 0,4	Volibris; Glaxo Group Ltd	Ambrisentan	PAH i hronična TPH; 2
Trisenox; Cell Therapeutics (UK) Ltd	Arsen-trioksid	Akutna promijelocitna leukemija; 0,8	Nexavar; Bayer Healthcare AG (Germany)	Sorafenib tozilat	Uznapredovali KRČ; 3	Firazy; Jerini AG	Ikatibant acetat	Angioedem; 3
Somavert; Pfizer Ltd	Pegvisomant	Akromegalija; 0,6	Sutent; Pfizer Ltd	Sunitinib	GIST i metastatski KRČ; 0,3 (GIST)	Ceplene; EpiCept GmbH	Histamin dihidrohlorid	AML; 0,7
Zavesca; Actelion Registration Ltd	Miglustat	Gaucher-ova bolest; 0,6	Savene; TopoTarget A/S	Deksrazoksan	Ekstravazacija antraciklina; 0,03	Kuvan; Merck KGaA	Sapropterin dihidrohlorid	Hiperfenilalaninemija; 1,7
Carbaglu; Orphan Europe	Kargluminska kiselina	Hiperamonemija; 0,001	Thelinj; Encysive (UK) Ltd	Sitaksentan-natrijum	Idiopatska PAH; 2	Vidaza; Celgene Europe Ltd	Azacitidin	Tretman mijelodisplastičnih sindroma, HMML i AML; 1,1
Aldurazyme; Genzyme Europe BV	Laronidaza	Mukopolisaharidoza; 0,025	Exjade; Novartis Europharm Ltd	Deferaziroks	Hronična presićenost gvožđem usled transfuzija krvi; 2,7	Nplate; Amgen Europe BV	Romiplostim	Tretman ITP; 1
Busilvex; Pierre Fabre Medicament	Busulfan	HPCT; 0,7	Sprycel; Bristol-Myers Squibb Pharma EEIG	Dasatinib	ALL i HML; 1,1	Mepact; Immuno-Designed-Molecules SA	Mifamurtid	Osteosarkom; 0,5
Ventavis; Schering AG	Iloprost	PAH; 2,2	Diacomit; Biocodex	Stiripentol	Teška mioklonička epilepsija u infanata; 0,4	Nymusa; Chiesi Farmaceutici	Kofein citrat	Primarna apneja u prematurusa; 1,2
Onsenal; Pharmacia-Pfizer EEIG	Celekoksib	familijarna adenomatozna polipoza; 1	Elaprase; TKT UK Ltd	Idursulfaza	Mukopolisaharidoza tip II (Hunter-ov sindrom); 0,02	Afinitor; Novartis Europharm Ltd	Everolimus	KRČ; 3,1
Litak; Lipomed GmbH	Kladribin	Leukemija vlasastih ćelija; 3,65	Inovelon; Eisai Ltd	Rufinamid	Lennox–Gastaut-ov sindrom; 2	Mozobil; Genzyme BV	Pleriksafor	Mobilizacija progenitorskih ćelija pre transplantacije matične ćelije; 1

Lysodren; Laboratoire HRA Pharma	Mitotan	Adrenokortikalni karcinom; 0,1	Cystadane; Orphan Europe	Betain anhidrovani	Homocistinurija; 0,165	Cayston; Gilead Sciences International Ltd	Aztreonam lizinat	Gram-negativne bakterijske infekcije pluća kod cistične fibroze; 1,3
Pedea; Orphan Europe	Ibuprofen	Otvoreni ductus arteriosus; 2,13	Revlimid; Celgene Europe Ltd	Lenalidomid	Multipli mijelom; 1,3	Rilonacept Regeneron; Regeneron UK Ltd	Rilonacept	KAPS, uključujući FASH i MWS; 0,05
Photobarr; Axcan Pharma International BV	Porfimer natrijum (uz fotodinamsku terapiju)	Barrett-ov ezofagus; 3,6	Soliris; Alexion Europe SAS	Ekulizumab	Paroksizmalna noćna hemoglobinurija; 0,1	Ilaris; Novartis Europharm Ltd	Canakinumab	KAPS; 0,05
Wilzin; Orphan Europe	Zink-acetat dihidrat	Wilson-ova bolest; 0,6	Siklos; OTL Pharma	Hidroksikarbamid	Sindrom srpsaste ćelije; 0,5	Firdapse; EUSA PHARMA SAS	Amifampridin	Tretman Lambert–Eaton-ovog mijasteničnog sindroma; 0,1
Xagrid; Shire Pharmaceuticals Contracts Ltd	Anagrelid hidroklorid	Trombocitemija; 3	Atriance; Glaxo Group Ltd	Nelarabin	ALL; 1,1	Revolade; GlaxoSmithKline Trading Services Ltd	Eltrombopag olamin	Tretman hronične ITP; ≤5
Orfadin; Swedish Orphan International AB	Nitizinon	Nasledna tirozinemija tip 1; 0,1	Increlex; Tercia Europe Ltd	Mekasermin	Primarna deficijencija IGF1 usled molekuskog ili genetskog defekta; 2,2	Tepadina; Adienne Srl	Tiotepa	Kondicionirajući tretman pre konvencionalne HPCT; 0,5
Prialt; Elan Pharma International Ltd	Zikonotid	Hronični bol koji zahteva intratekalnu analgeziju; 1,55	Gliolan; Medac GmbH	Aminolevulinska kiselina hidroklorid	Intraoperativna fotodinamska dijagnoza rezidualnog glioma; 1	Arzerra; Glaxo Group Ltd	Ofatumumab	Tretman HLL u pacijenata refrakternih na fludarabin i alemtuzumab; 3,5
Xyrem; UCB Pharma Ltd	Natrijum-oksibat	Katapleksija u pacijenata sa narkolepsijom; ≤5	Yondelis; PharmaMar SA	Trabectedin	Sarkom mekog tkiva; 0,6	Vpriv; Shire Pharmaceuticals Ltd	Velagluceraza alfa	Gaucher-ova bolest tip 1; 0,3

ALL – akutna limfoblastna leukemija;
 AML – akutna mijeloidna leukemija;
 GIST – gastrointestinalni stromalni tumor;
 HML - hronična mijeloidna leukemija;
 HMML - hronična mijelomonocitna leukemija;
 ITP – idiopatska trombocitopenijska purpura;
 PAH – plućna arterijska hipertenzija;

FASH – familijarni autoinflamatorni sindrom na hladnoću;
 HPCT – transplantacija hematopoezne progenitorske ćelije;
 IGF1 – insulinu-sličan faktor rasta 1;
 KAPS – periodični sindromi povezani sa kriopirinom;
 KRĆ – karcinom renalne ćelije;
 MWS – Muckle-Wells-ov sindrom;
 TPH – tromboembolijska plućna hipertenzija

Prema stanju u SAD, više od 200 retkih bolesti ima specifično dizajnirane lekove, s time da postoje situacije kada je jedan lek namenjen za lečenje više retkih bolesti. Najviše odobrenih lekova ima za deficijenciju hormona rasta (9), AIDS (8), akutnu limfoblastnu leukemiju, hemofiliju A, hemofiliju B, multipli mijelom i respiratorni distres sindrom u infanata (po 6), akutnu mijeloidnu leukemiju, Kaposi-ev sarkom, multiplu sklerozu i *Pneumocystis carinii* pneumoniju (po 5). U nekim situacijama, kao kod AIDS-a, bolest je tokom vremena prestala da bude retka, s time da retroaktivno menjanje načina registrovanja nije predviđeno (3). Treba uočiti da je moguće dobijanje statusa leka za lečenje retke bolesti i u situaciji kada se dokaže da u okviru određene relativno česte bolesti postoji medicinski uverljiva podgrupa pacijenata male prevalencije kod kojih je uže indikovana primena tog leka. Kao primer, lek koji bi bio namenjen za lečenje refrakternog oblika inače relativno čestog karcinoma bubrežnih ćelija sa velikom verovatnoćom bi bio delotvoran kod svih pacijenata sa ovim oblikom kancera i stoga ne bio mogao da ima status *leka-siročića*. Međutim, ukoliko bi odnos između koristi i rizika bio takav da se lek smatra suviše toksičnim za tretman bolesti, izuzev kod refrakternih pacijenata, bilo bi moguće da takav citostatik dobije status leka za lečenje retke bolesti, odnosno jedne podgrupe refrakternih pacijenata u okviru bolesti koja nije retka (6). Analogno, prevalencija melanoma prevazilazi kriterijume za retke bolesti, ali je uznapredovali melanom (stadijuma 2b ili više) mnogo ređi i terapijski složeniji i stoga zahteva agresivniji tretman, što predstavlja osnovu za razvoj lekova po proceduri za *lekove-siročiće*, koja je povoljnija za farmaceutsku industriju (6, 7).

Dobar lek za pacijenta sa retkom bolešću jeste lek koji je dostupan u zemlji u kojoj živi i koji je pristupačan po ceni. Ako jedan od ova dva činioca nedostaje, lek je od male koristi. Finalna cena leka zavisi od troškova razvoja i planiranog profita. Razvojni proces leka koji se koristi za retke bolesti suštinski je istovetan onom kod standardnih lekova. Međutim, klinički deo razvoja često otežavaju nepotpuni podaci o prirodnoj istoriji bolesti, teško ili kasno dijagnostikovanje, izostanak validiranih kliničkih parametara koje treba pratiti, teškoće u obezbeđivanju ispitanika i slabija upoznatost zdravstvenih stručnjaka sa ispitivanom bolešću. Konačno, ako se postignu klinički dokazi koncepta kod potencijalnog leka koji nema terapijsku alternativu, proizvođač postaje izložen velikim pritiscima od strane pacijenata, lekara i/ili zdravstvenih fondova da se besplatno obezbedi lek u razvoju za što veći broj pacijenata, posebno dece. S obzirom da su često u pitanju lekovi koji se dobijaju metodima rekombinantne tehnologije, proizvođač ima dodatne troškove za gradnju posebnih proizvodnih kapaciteta. Konačno, kod takvih lekova, javlja se i vrlo zahtevan zadatak dokazivanja biološke ekvivalentnosti prilikom prebacivanja tehnologije

proizvodnje sa manjih na veće proizvodne kapacitete (eng. scaling up). Što se tiče podsticaja i olakšica obezbeđenih regulatornim rešenjima u svetu za ovu grupu lekova, oni obuhvataju finansijsku i stručnu komponentu. Sponzori istraživanja, odnosno potencijalni proizvođači novog leka, nemaju troškove koje inače regulatorne agencije naplaćuju za obradu zahteva, a u slučaju odobravanja stavljanja leka u promet imaju ekskluzivno pravo prodaje 10 godina (u EU), odnosno 7 godina (u SAD) nakon dobijanja dozvole. Tokom ovog perioda slični proizvodi, koji su kompetitivni, ne mogu se naći na tržištu (1, 7).

Gaucher-ova bolest

Odličan primer uspešnog razvoja leka za retke bolesti jeste modifikovana glukocerebrozidaza. Glukocerebrozid je jedan od cerebrozida čija je glavna monosaharidna grupa glukoza. Mutacija gena za β -glukocerebrozidazu nasleđuje se autozomno recesivno i uzrokuje nakupljanje glukocerebrozida u lizozomima fagocitnih ćelija retikuloendotelnog sistema, u kojima se fiziološki razlažu membranski lipidi koji potiču iz katabolizma ćelija krvi. Stanje se manifestuje kao Gaucher-ova bolest, koja je sa prevalencijom 1: 40-60 000 najčešća bolest u grupi bolesti koje se karakterišu nakupljanjem lipida u lizozomima. U Srbiji je registrovano 37 pacijenata, od toga 9 dece. Bolest se jednostavno dijagnostikuje merenjem aktivnosti enzima u leukocitima ili fibroblastima, ali je klinički izrazito heterogena, što se može povezati sa činjenicom da je do sada na genu za glukocerebrozidazu, lociranom na 1q21 hromozomu, prepoznato preko 300 mutacija. Tri osnovna tipa Gaucher-ove bolesti se diferenciraju klinički, bazirano na odsustvu (tip I) ili prisustvu neuroloških simptoma (tipovi II i III) (Tabela II). Tip I, ili tzv. ne-neuropatski oblik, najčešći je u Evropi, dok su tzv. neuropatski oblici, tipa II sa akutnim i tipa III sa hroničnim manifestacijama, mnogo ređi (5-10%). Dok je tip I često asimptomatski, tipovi II i tip III se dijagnostikuju još kod odojčadi. Bolest se manifestuje promenama na različitim organima, a najčešće su zahvaćeni slezina, jetra, kosti, koštana srž, pluća i mozak. U uznapredovalom stadijumu, Gaucher-ova bolest je izrazito teška i može dovesti do invaliditeta, a u nekim slučajevima se završava letalno, ukoliko se ne započne sa pravovremenim lečenjem (8, 9).

Današnji zlatni standard terapije Gaucher-ove bolesti jeste doživotna supstitucija enzima. Simptomatski tretman krvnih diskrazija i hirurška zamena zglobova imaju važnu ulogu u kontroli bolesti. Bez obzira na veličinu slezine, splenektomija se više ne preporučuje kao terapijski pristup. Transplantacija hematopoetskih matičnih ćelija može povoljno da utiče na neuropatski oblik bolesti. Kod odraslih pacijenata može da bude od koristi i adjuvantni tretman

bisfosfonatima koji povećavaju gustinu kostiju. Odrasli pacijenti sa tipom I bolesti koji ne podnose dobro enzimsku supstituciju mogu da primaju inhibitore stvaranja sfingolipida koji se akumuliraju u toku bolesti. Ovakav pristup predstavlja terapiju redukcije supstrata, za koju nije pokazano da ima prednosti sa aspekta efikasnosti ili bezbednosti u odnosu na supstituciju enzima. Takav lek je miglustat, koji inhibira glukozilceramid sintazu, enzim odgovoran za prvi korak u sintezi većine glikolipida (9, 10).

Tabela II Klinički oblici Gaucher-ove bolesti

Table II Common clinical subtypes of Gaucher disease

	TIP I	TIP II	TIP III
Pacijenti	Odrasli i deca	Odojčad	Deca i adolescenti
Uzrast pacijenata u momentu postavljanja dijagnoze	Od adolescencije do odrasle osobe	Do 4. ili 5. meseca	Varijabilna, ali najčešće predškolsko doba
Zahvaćeni organi	Slezina, jetra, kosti	Mozak, slezina, jetra	Mozak, slezina, jetra, kosti
Neurološki simptomi	Odsutni	Teški epileptički napadi, hipertenzija	Mioklonus, epilepsija, demencija, promene u okulomotornim nervima
Brzina progresije bolesti	Izrazito varijabilna, od spore do brze progresije bolesti	Izrazito progresivna bolest	Srednje progresivna bolest
Životni vek	Kraći nego zdrava populacija	Smrtni ishod unutar dve godine života	20-30 godina
Etnička učestalost	100 puta češće kod Jevreja Aškenazija	Nema predilekcije	Nema predilekcije

Modifikovana glukocerebrozidaza

Glukocerebrozidaza je monomerni glikoprotein od 497 aminokiselina koji na atomima azota sadrži četiri mesta glikozilacije. Još 1970-ih činjeni su pokušaji supstitucije prirodnim enzimom, ali su znatniji rezultati, neočekivano, izostajali. Ključan prodor obezbedilo je otkriće da modifikacija terminalnih rezidua bočnih lanaca enzima, na način da umesto glukoze sadrže manozu, obezbeđuje specifično prepoznavanje enzima od strane karbohidratnih receptora na makrofagima u slezini, jetri i kosnom tkivu. Povod za ovakav pokušaj modifikacije bila je činjenica da je manozna šećer široko zastupljen na površini brojnih mikroorganizama, koje makrofagi delom prepoznaju upravo preko

receptora za manozu. Najpre je 1991. godine uveden na ovaj način modifikovani enzim poreklom od placente, **algluceraza** (Ceredase™, Genzyme Therapeutics, SAD), za koji je pokazano da ga uspešno prepoznaju makrofagi (9). Enormne potrebe za placentom (samo za godišnju terapiju jednog pacijenta bilo je potrebno preko 20.000 placenti) i razvoj tehnike rekombinantne DNK usloveli su da već 1994. godine isti proizvođač registruje rekombinantni oblik enzima dobijen u kulturi ovarijalnih ćelija kineskog hrčka, čije je međunarodno nezaštićeno ime **imigluceraza** (Cerezyme™, Genzyme Therapeutics, SAD). Kao i algluceraza, imigluceraza se sastoji od 497 aminokiselina i poseduje modifikaciju terminalnog šećera bočnih lanaca, ali ima i jednu razliku u strukturi, uslovljenu tačkastom mutacijom: na poziciji 495 se nalazi histidin umesto arginina. Prema dosadašnjim rezultatima primena imigluceraze dovodi do smanjenja slezine i jetre, kao i do normalizacije broja trombocita i eritrocita i smanjenja bolnih koštanih kriza. Primena leka ne dovodi do poboljšanja koštanih promena, ali sprečava njihovu dalju progresiju. S obzirom da su enzimi veliki molekuli, oni ne mogu da prolaze krvno-moždanu barijeru i zbog toga ne utiču na neurološke probleme kod pacijenata sa tipom II i III ove bolesti. Zbog svega ovoga, osnovno je stanovište da se sa lečenjem Gaucher-ove bolesti mora početi što pre, odnosno odmah nakon postavljanja dijagnoze, kako bi se sprečile ireverzibilne promene na organima. Terapija imiglucerazom je bezbedna; reakcije preosetljivosti se javljaju u 6,5% pacijenata, dok su slučajevi anafilaktičke reakcije vrlo retki. Ipak, do 15% pacijenata može da razvije antitela. Zbog ovakvog bezbednosnog profila, mnogi pacijenti primaju terapiju kod kuće, dok žene mogu da nastave terapiju i u trudnoći i za vreme laktacije. Jedan od neželjenih efekata supstitucione terapije imiglucerazom je i moguć razvoj insulinske rezistencije, koja može dovesti do razvoja dijabetesa ili metaboličkog sindroma. Druga dva važna nedostatka imigluceraze su doživotna zavisnost od primene intravenske infuzije i izuzetno visoka cena (9, 10).

Samo izgradnja proizvodnog pogona za imiglucerazu proizvođača je koštala 200 miliona američkih dolara, što delom objašnjava i visoku cenu jednogodišnje terapije za jednog pacijenta, koja iznosi između 150 i 200 hiljada evra. U Srbiji, ovaj lek je dostupan pacijentima, zahvaljujući donaciji od strane proizvođača, dok je jedna grupa pacijenata uključena u kliničko ispitivanje biološki sličnog leka u razvoju i na taj način uspešno podvrgnuta terapiji (11). Naime, u toku 2009. godine javili su se veliki problemi u snabdevanju svetskog tržišta imiglucerazom, povezani sa virusnom kontaminacijom u proizvodnom pogonu, koji su doprineli da se sagleda značaj mogućnosti alternativnog snabdevanja u oblasti u kojoj regulativa favorizuje ekskluzivnost prava proizvodnje u jednom dužem periodu. Tokom iste, 2009. godine, završene su faze 3 klinička ispitivanja dva nova oblika β -glukocerebrosidaze, koji takođe

imaju modifikacije na bočnom ugljeno-hidratnom lancu, koje omogućuju specifično prepoznavanje od strane makrofaga. Prvi od ova dva enzima, **velagluceraza alfa** (VPRIV™, Shire HGT, SAD), dobio je odobrenje FDA za stavljanje u promet u SAD u februaru 2010. Prednost ovog proizvoda je što se dobija rekombinantnom tehnologijom iz humanih fibroblasta i ima istu sekvencu aminokiselina kao humana glukocerebrozidaza (9, 12). S druge strane, **taligluceraza alfa** (UPLYSO™, Protalix Therapeutics, Izrael) predstavlja rekombinantnu glukocerebrozidazu dobijenu transdukcijom ćelija šargarepe humanom genetskom sekvencom za ovaj enzim. Taligluceraza se dobija u visokim prinosima iz biljnih ćelija, kojima se jednostavnije rukuje u raspoloživim bioreaktorima i oslobođene su od bilo kakve izloženosti tkivu sisara. Nakon traženja dodatnih podataka, očekuje se da će FDA doneti konačnu odluku o registraciji ovog trećeg oblika modifikovane glukocerebrozidaze u februaru 2012. godine (9, 11).

Na primeru modifikovane glukocerebrozidaze može se uočiti značaj farmaceutске biotehnologije i razvoja lekova velike molekulske mase u supstitucionoj terapiji bolesti koje imaju jasno definisani genetski supstrat. Istovremeno, akcident u proizvodnom procesu prvobitno uvedene imigluceraze ukazao je na vrednost razvoja alternativnih, biološki sličnih lekova, od kojih se dodatno može očekivati konkurentski uticaj na cenu terapije. Ipak, na primeru ovog leka za retke bolesti mogu se uočiti i nesavršenosti koncepta: zbog nemogućnosti prolaska krvno-moždane barijere, modifikovana glukocerebrozidaza nije delotvorna kod Gaucher-ove bolesti sa neurološkim oštećenjima. Kod takvih pacijenata se vrše pokušaji pojačavanja postojeće enzimske aktivnosti lekovima male molekulske mase, za koje su najpre *in vitro* ispitivanja pokazala da mogu da povećaju enzimsku aktivnost; u takve supstance spadaju i pojedini široko korišćeni lekovi, kao što su ambroksol ili diltiazem. Prema tome, uprkos izuzetnom napretku, terapijski ciljevi nisu u potpunosti ostvareni, što se još uvek očekuje od genske terapije u budućnosti (9).

Literatura:

1. Tambuyzer E. Rare diseases, orphan drugs and their regulation: questions and misconceptions. *Nat Rev Drug Discov* 2010; 9: 921-9.
2. <http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/index.php>

3. Braun MM, Farag-El-Massah S, Xu K, Coté TR. Emergence of orphan drugs in the United States: a quantitative assessment of the first 25 years. *Nat Rev Drug Discov* 2010; 9: 519-22.
4. Bashaw ED, Huang SM, Coté TR, Pariser AR, Garnett CE, Burckart G, Zhang L, Men AY, Le CD, Charlab R, Gobburu JV, Lesko LJ. Clinical pharmacology as a cornerstone of orphan drug development. *Nat Rev Drug Discov* 2011; 10: 795-6.
5. Committee for Orphan Medicinal Products and the European Medicines, Westermark K, Holm BB, Söderholm M, Llinares-Garcia J, Rivière F, Aarum S, Butlen-Ducuing F, Tsigkos S, Wilk-Kachlicka A, N'Diamoi C, Borvendég J, Lyons D, Sepodes B, Bloechl-Daum B, Lhoir A, Todorova M, Kkolos I, Kubáčková K, Bosch-Traberg H, Tillmann V, Saano V, Héron E, Elbers R, Siouti M, Eggenhofer J, Salmon P, Clementi M, Krieviņš D, Matulevičiene A, Metz H, Vincenti AC, Voordouw A, Dembowska-Bagińska B, Nunes AC, Saleh FM, Foltánová T, Možina M, Torrent i Farnell J, Beerman B, Mariz S, Evers MP, Greene L, Thorsteinsson S, Gramstad L, Mavris M, Bignami F, Lorence A, Belorgey C. European regulation on orphan medicinal products: 10 years of experience and future perspectives. *Nat Rev Drug Discov* 2011; 10: 341-9.
6. Coté TR, Xu K, Pariser AR. Accelerating orphan drug development. *Nat Rev Drug Discov* 2010; 9: 901-2.
7. Philippidis A. Orphan drugs, big pharma. *Hum Gene Ther* 2011; 22: 1035-8.
8. Jmoudiak M, Futerman AH. Gaucher disease: pathological mechanisms and modern management. *Br J Haematol* 2005; 129: 178-88.
9. Elstein D. Recent advances in treatment approaches to Gaucher disease. *Curr Pharm Biotechnol* 2011; 12: 854-60.
10. Weinreb NJ. Imiglucerase and its use for the treatment of Gaucher's disease. *Expert Opin Pharmacother* 2008; 9: 1987-2000.
11. Zimran A, Brill-Almon E, Chertkoff R, Petakov M, Blanco-Favela F, Terreros Muñoz E, Solorio-Meza SE, Amato D, Duran G, Giona F, Heitner R, Rosenbaum H, Giraldo P, Mehta A, Park G, Phillips M, Elstein D, Altarescu G, Szleifer M, Hashmueli S, Aviezer D. Pivotal trial with plant-cell-expressed recombinant glucocerebrosidase, taliglucerase alfa, a novel enzyme replacement therapy for Gaucher disease. *Blood* 2011; 118: 5767-73..
12. Pastores GM. Velaglucerase alfa, a human recombinant glucocerebrosidase enzyme replacement therapy for type 1 Gaucher disease. *Curr Opin Investig Drugs* 2010; 11: 472-8.

Drugs for rare diseases: an example of modified glucocerebrosidase

Smilja Matijašević¹, Miroslav M. Savić²

¹ Clinical Center of Serbia, Belgrade

² University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacology, Vojvode Stepe 450, Belgrade, Serbia

Summary

To date, circa 5000 rare diseases have been defined, which in sum affect approximately 6% of total population. The development of drugs for rare diseases is hampered by the limitation of specific knowledge availability and difficulties in patient recruiting for clinical trials. Moreover, pharmaceutical industry does not have a clear economic incentive for investment in these studies. However, a stimulating regulation enacted in USA in 1983 and in the European Union in 1999 has helped that the targeted drugs were introduced for more than 200 rare diseases in the meantime. Among them, many are characterized by high molecular masses and are produced by recombinant technology. This is also true for the modified glucocerebrosidase, aimed at an enzymatic substitution in Gaucher disease. Namely, in comparison with the natural enzyme, the modification of terminal residues of the glycosylated enzyme, in a manner to incorporate mannose, obtains a specific recognition between enzyme and macrophages and clinical efficacy in the forms of disease devoid of neurological affections. Alglucerase, the first modified glucocerebrosidase, was extracted from placentae and hence was hardly available. Imiglucerase, as a standard drug, was developed secondly, and then ensued velaglucerase alpha and taliglucerase alpha, which may assure more reliable market supply in the settings of potential accidents in production and also diminish the costs of the therapy.

Keywords: orphan drugs; Gaucher disease; imiglucerase; velaglucerase alpha; taliglucerase alpha
