

RAZVOJ GENSKEGA ZDRAVLJENJA PRI GLIOBLASTOMU

DEVELOPMENT OF GENE THERAPY FOR GLIOBLASTOMA

AVTOR / AUTHOR:

Peter Panjan, dipl. bioteh. (UN),
mag. inž. str. (UN)
Prof. dr. Borut Štrukelj, mag. farm.

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

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: panjanpeter@gmail.com,
borut.strukelj@ffa.uni-lj.si

1 UVOD

Možgansko tkivo je sestavljeno iz dveh glavnih tipov celic: nevronov, ki opravljajo obdelavo in prenos informacij, ter celic glia, katerih naloga je vzdrževanje in preskrba nevronov. Celice glia delimo na oligodendrocite, ependimske celice, celice mikroglia ter astrocite (1). Astroцитom četrte stopnje – napredni tumor – je klasificiran kot multififormni glioblastom (GBM). Običajno se pojavlja v čelnem in sen-

POVZETEK

Glioblastom je ena najsmrtonosnejših oblik raka s 3,2 novo diagnosticiranimi primeri na 100 000 prebivalcev letno. Uveljavljene oblike zdravljenja vključujejo operativni poseg, kemo- in radioterapijo ter dosega podaljšanje srednje dobe preživetja, ne omogočajo pa ozdravitve. Razvitih je več metod genskega zdravljenja. Kot vektorski sistem za gensko učinkovino se najpogosteje uporabljajo virusni vektorji, strategije pa vključujejo predvsem samomorilne gene, aktivacijo imunskega odziva ter izboljšave dovzetnosti za kemoterapijo. Gensko zdravljenje v teoriji ter predkliničnih testiranjih veliko obeta, v kliničnih študijah pa se praviloma pokažejo težave z difuzijo učinkovine, kar onemogoča učinkovito gensko zdravljenje glioblastoma.

KLJUČNE BESEDE:

gensko zdravljenje, glioblastom, onkologija, rak.

ABSTRACT

Glioblastoma is one of the deadliest types of cancer diagnosed in 3.2 out of 100,000 people annually. Standard of care includes surgical resection, chemo- and radiotherapy. Although it enables longer patients' mean survival, it is not considered a cure. Many diverse methods of gene therapy have been developed in a search for a cure, variants including different vector systems – virus vectors are being used most frequently – and different strategies like suicide genes, immune system activation and chemotherapy enhancements. Gene therapy should work in theory and it achieved promising results in preclinical studies. However, clinical trials brought doubt in its efficacy mostly due to active ingredients' lack of intratumoral diffusivity.

KEYWORDS:

gene therapy, glioblastoma, oncology, cancer

čnem možganskem režnju in predstavlja najpogostejšo obliko malignega možganskega tumorja pri odraslih, njegova pojavnost znaša 3,2 novo diagnosticiranih primerov letno na 100 000 prebivalcev (2, 3, 4).

GBM nastane zaradi inaktivacije tumorskih supresorskih genov in aktivacije onkogeneze, kar povzroči spremenjeno

transkripcijo proteinov, vključenih v celično homeostazo, regulacijo celičnega cikla ter interakcije z ostalimi celicami centralnega živčnega sistema (5). Prevalenca je višja v starostni skupini nad 65 let in narašča (s 5,1 na 100 000 v sedemdesetih letih 20. stoletja na 10,6 na 100 000 v devetdesetih letih). Bolniki z diagnosticiranim glioblastomom se soočajo s slabo prognozo, saj kljub agresivnemu zdravljenju pričakovana življenjska doba znaša med 12 in 15 mesecev, za starejše od 65 let pa redko nad 5 mesecev (2). Več kot pet let po diagnozi glioblastoma preživi zgolj približno 3 % bolnikov (6).

2 UVELJAVLJENE OBLIKE ZDRAVLJENJA

Prva izbira klasičnega zdravljenja GBM je kirurški poseg, ki bi v idealnem primeru lahko bolezensko stanje ozdravil, vendar je le redko tako. Lokacija tumorja v občutljivem možganskem tkivu namreč onemogoča poseg brez poškodb zdravega tkiva, popolno odstranitev pa dodatno otežuje nejasna meja med zdravim in rakastim tkivom. Operaciji običajno sledi radioterapija, ki pa se lahko uporabi tudi kot samostojno zdravljenje v primeru prevelikih histopatoloških ovir za operacijo.

Na tržišču je na voljo kemoterapevtik temozolomid (TMZ), ki je indiciran za zdravljenje glioblastoma ter astrocitomov tretje stopnje (7), njegova učinkovitost pa je primerljiva z radioterapijo (2). TMZ deluje tako, da metilira DNA in s tem onemogoči normalno delovanje dednine (8). Gre za relativno majhno molekulo (194 Da), ki se zato absorbira v gastrointestinalnem traktu in brez večjih težav prehaja krvnomožgansko pregrado (7).

Zaradi omejene učinkovitosti ter težavnih neželenih učinkov (toksičnost lahko presega tretjo stopnjo od petih po splošnih kriterijih toksičnosti (CTC)) klasičnega zdravljenja za ta namen razvijajo inovativne imunološke in genske pristope – bodisi z namenom izboljšanja dovzetnosti za kemoterapijo bodisi kot samostojno zdravljenje. Za namen obravnave opredelimo kot imunološko zdravljenje postopke, ki vključujejo aktivacijo imunskega sistema brez poseganja v dednino, za gensko zdravljenje pa smatramo postopke z vnosom dednine v obolele celice, četudi je cilj imunološke narave. V okviru pričujočega prispevka se osredotočamo na slednjo skupino metod zdravljenja GBM.

3 PRISTOP H GENSKEMU ZDRAVLJENJU GBM

Pojav rakavega obolenja je povezan z različnimi genetskimi okvarami, zato poskusi zdravljenja z gensko terapijo predstavljajo logično izbiro zdravljenja. Za namen genskega zdravljenja so razvili številne strategije, ki vključujejo vnos t.i. samomorilnih genov, aktivacijo imunskega sistema ali onkolize ter popravilo dednine. Metode so različno učinkovite in raziskane, za transfekcijo pa uporabljajo predvsem virusne vektorje, redkeje liposome ali nanodelce, veliko pa obetajo še matične celice. Številne raziskovalne skupine po svetu preizkušajo različne strategije genskega zdravljenja in jih običajno kombinirajo s standardnim zdravljenjem za višjo učinkovitost (9).

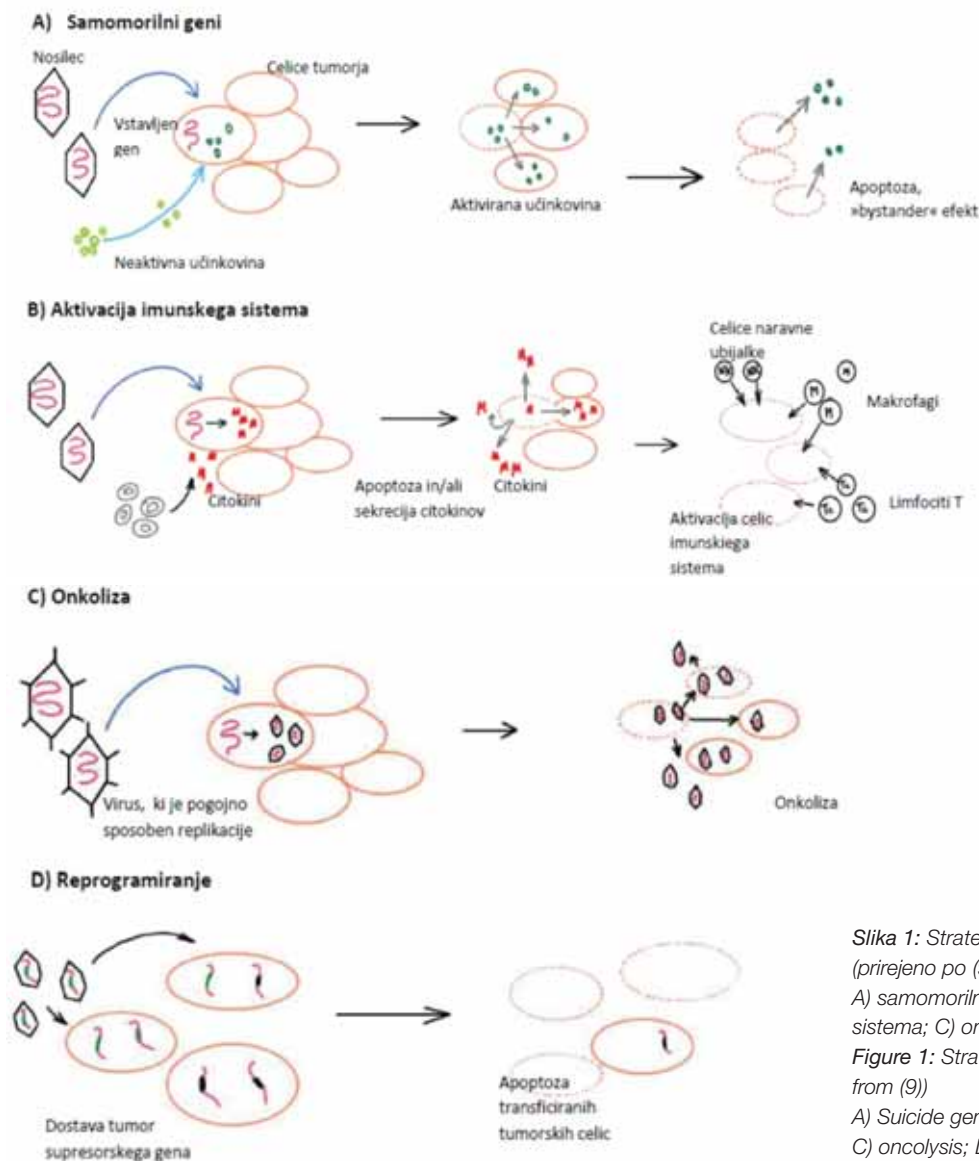
3.1 VEKTORSKI SISTEMI

Osnovni korak pri genskem zdravljenju je ciljan vnos genskega materiala (DNA) v tumorsko celico. Idealni vektorji za gensko zdravljenje naj bi bili visoko učinkoviti pri vnosu dednine v celice, so specifični, nepatogeni, replikacijsko onesposobljeni ter ne povzročajo takojšnjega imunskega odgovora (10).

Najpogosteje uporabljeni vektorski sistemi za gensko zdravljenje GBM so različni virusi. Divji tip virusa za vektorske namene replikacijsko onesposobimo in del dednine zamenjamo s terapevtskimi geni. Prva možnost je uporaba retrovirusnih vektorjev (RV), ki imajo ovojnico, enoverižno molekulo RNA in encim reverzno transkriptazo, ki gensko informacijo iz RNA pretvori v DNA in jo nespecifično vstavi v genom gostitelja. Adenovirusi (AV) so virusi brez ovojnice in vsebujejo dvoverižno DNA, transfekcija AV pa za razliko od RV ni stabilna – s celičnimi delitvami se dednina izgubi. Zanimivo možnost predstavljajo tudi adenoasociacijski virusi, ki so replikacijsko sposobni le ob koinfekciji s kompatibilnim AV, dednino pa vstavljajo na stalno mesto v človeškemu genomu. Za zdravljenje GBM pogosto uporabljajo tudi viruse *Herpes simplex* (HSV), ki se obnašajo podobno kot adenovirusi (10).

Poleg virusnih poznamo še liposomske vektorske sisteme, ki so enostavnejši za izdelavo vendar manj učinkoviti za transfekcijo, v primeru genskega zdravljenja GBM pa je potrebno injiciranje v tumor. Veliko obetajo tudi matične celice, ki so sicer izjemno zahtevne za izdelavo, vendar so spos-





Slika 1: Strategije genskega zdravljenja (prirejeno po (9))
 A) samomorilni geni; B) aktivacija imunskega sistema; C) onkoliza; D) reprogramiranje.
 Figure 1: Strategies of gene therapy (adapted from (9))
 A) Suicide genes; B) immune activation; C) oncolysis; D) reprogramming.

obne specifično dostavljati dednino do rakavih celic preko krvnomožganske pregrade (9).

3.2 STRATEGIJE GENSKEGA ZDRAVLJENJA

Gensko zdravljenje lahko razdelimo po strategijah uničevanja tumorskih celic oziroma funkciji vstavljenega terapevtskega gena. Možnosti je veliko, idealna strategija pa naj bi bila visoko učinkovita in selektivna. Učinkovito naj bi odstranjevala tumorske celice, medtem ko na zdrave ne bi vplivala (9).

Prva in v primeru genskega zdravljenja GBM najpogosteje uporabljena strategija je uporaba t.i. samomorilnih genov. Glavno omejitev kemoterapije namreč predstavlja toksičnost, torej neželen vpliv na zdrave deleče se celice. Gensko zdravljenje s samomorilnimi geni potencialno rešuje to težavo. Temelji na sistemskem sprejemanju neaktivne učinkovine ter selektivni transfekciji tumorskih celic, ki tako začnejo izražati specifičen encim, ki aktivira prej neaktivno učinkovino. Ta inducira celično smrt transficirane ter okoliških celic (t.i. »bystander« efekt – učinek na okoliške celice, slika 1a) (9).

Strategija aktivacije imunskega sistema (slika 1b) zajema vstavev genov, ki kodirajo citokine, v tumorske celice. Tako transfecirane celice s citokini privabljajo celice imunskega sistema, ki odstranijo tumorske celice. Strategijo aktivacije imunskega sistema pogosto uporabljajo v raziskavah genskega zdravljenja GBM, onkolitične viruse pa redkeje. Gre za modificirane naravne viruse, ki preferenčno inficirajo tumorske celice, v katerih se razmnožujejo in povzročajo njihov razpad. Ob razpadu se sprosti veliko število novonastalih onkolitičnih virusov, kar omogoča nadaljnje odstranjevanje tumorskih celic (slika 1c) (9).

Zadnjo strategijo predstavlja reprogramiranje (slika 1d). Ključni element propagacije tumorja je utišanje tumor-supresorskega gena. Ideja strategije genskega zdravljenja temelji na vnosu aktivnega tumorskega supresorskega gena, ki povzroči apoptozo celice ali pa ustavi celičnega cikla (9).

4 PRIMERI RAZISKAV GENSKEGA ZDRAVLJENJA GLIOBLASTOMA

4.1 IZBOLJŠAVA DOVZETNOSTI ZA KEMOTERAPIJO

Učinkovitost kemoterapije s TMZ je tesno povezana z metilacijo promotornega O⁶-metilgvanin-DNA metiltransferaze (MGMT) bolnikovega genoma. MGMT odstranjuje metilne skupine z gvaninov na podlagi kovalentne vezave metilnih in alkilnih skupin na cistein na aktivnem mestu MGMT, zaradi česar ni mogoča regeneracija encima (11). Delovanje popravljalnega mehanizma je zato neposredno odvisno od sinteze *de novo* MGMT.

Delovanje MGMT nasprotuje funkciji TMZ, katerega učinek se zato izničuje. TMZ namreč DNA metilira, MGMT pa kot popravljalni mehanizem metilne skupine odstranjuje. Učinkovitost kemoterapije s TMZ je tako bistveno boljša pri bolnikih, ki imajo promotor gena MGMT metilirani in zato proteina popravljalnega mehanizma ni (2).

Če je mogoče, pri bolniku pred kemoterapijo preverimo stanje metilacije promotornega MGMT, saj TMZ pri bolnikih z nemetiliranim promotorjem MGMT povzroča zgolj neželene učinke in ga zato ne uporabljamo. Genska terapija ponuja možnost izboljšanja dovzetnosti za kemoterapijo s TMZ bolnikov z nemetiliranim promotorjem MGMT (12).

Vidnejša raziskava izboljšanja dovzetnosti za kemoterapijo je temeljila na tehnologiji interferenčne RNA (RNAi), ki inhibira ekspresijo tarčnega gena, na primer MGMT. Študija se je delila na preizkuse *in vitro* na človeškem GBM ter na modelu *in vivo* na laboratorijskih miškah, ki so subkutano nosile človeške GBM-tumorje. Za transfekcijo so uporabili reprodukcijsko onesposobljene lentiviruse – v njihovi plazmidni DNA so bili ohranjeni elementi za pakiranje, reverzno transkripcijo in integracijo, na mesto elementov za produkcijo kapside in proteinov ovojnice pa so bila vstavljena terapevtska zaporedja. Za intratumorsko aplikacijo so vstavili še gen za luciferazo z namenom enostavnejšega spremljanja pozicije tumorjev in transfekcij (12).

Celične linije, ki so izražale MGMT, so transfecirali s tremi različnimi plazmidi (kontrolni ter dva terapevtska, ki kodirata posebne RNAi – »small hairpin« RNA molekuli). Po transfekciji so spremljali njihovo občutljivost na TMZ in ugotovili, da je bilo tovrstno gensko posredovanje uspešno, saj so opazili znižanje izražanja MGMT (12).

Sledil je preizkus *in vivo*, kjer so spremljali vpliv genskega posredovanja na velikost GBM-tumorjev v ksenograftih. Opažene razlike med kontrolno in testno skupino so v primerjavi s testi *in vitro* bistveno manjše. Učinkovitost genskega posredovanja je tako omejena z zmožnostjo transfekcije tumorskih celic, ki pa je slabša zaradi težavne difuzivnosti učinkovine v realnem tumorju (12).

4.2 CILJANJE DEJAVNIKOV ANGIOGENEZE

Angiogeneza je proces razširjanja ožilja, vaskulogeneza pa pomeni nastajanje ožilja na novo (13). Proces sta ključnega pomena za rast in razvoj novega tkiva (14), saj so celice v človeškem telesu odvisne od krvožilnega sistema, ki jim dovaja vse za rast in razvoj potrebne snovi ter odvaja odpadne metabolite. V krvi transportirane snovi lahko v tkivu prosto difundirajo le na kratkih razdaljah, zato je razvejanje krvožilnega sistema ključnega pomena pri rasti tkiva, vključno z rakom. Angiogenezo pogojujejo dejavniki, ki se izražajo na celicah GBM, zato so primerna tarča za zdravljenje na primer s protitelesi (npr. bevacizumab (15)). Pomembnejši dejavniki angiogeneze so: vaskularni endoteljski rastni dejavnik (VEGF), ki deluje na dva receptorja (VEGFR1 preprečuje vključitev hemangioblasta in VEGFR2, ki omogoča diferenciacijo angioblasta), fibroblastni rastni dejavnik (FGF, receptor FGFR); velik pomen ima transkripcijski dejavnik STAT3, signalni prenosnik ter aktivator tran-



skripcije 3 (16). Z zaviranjem angiogeneze onemogočamo rast tumorja, dejavniki angiogeneze pa so tudi obetavne tarče različnih genskih učinkovin, saj omogočajo visoko specifično transfekcijo. Četudi zaviranje angiogeneze ni osnovni mehanizem delovanja genske učinkovine, je poznavanje visoko izraženih dejavnikov pomembno pri načrtovanju ciljanja transfekcije.

4.3 UTIŠANJE ONKOGENIH MIKRO RNA

Mikro RNA (miRNA) so kratke nekodirajoče molekule RNA, ki na podlagi interakcij s kodirajočimi RNA (mRNA) onemogočajo izražanje specifičnih tarčnih genov. Znotraj GBM-tumorskih celic so identificirali več povišano izraženih miRNA molekul, katerih tarča so tumor-supresorski geni. Takšne miRNA tako omogočajo nastajanje tumorjev, njihovo utišanje pa je eden od pristopov genskega zdravljenja. Najenostavnejši način onemogočanja delovanja miRNA je transfekcija z gensko učinkovino, ki kodira protismiselno zaporedje tarčne miRNA in jo onesposobi s kompetitivno vezavo (20).

Primer takšne molekule je miRNA-566, za katero so ugotovili, da aktivira signalno pot epidermalnega rastnega dejavnika (EGFR-signalna pot) pot in s tem pripomore k rasti GBM. Raziskavo možnosti inhibicije proliferacije GBM na podlagi utišanja miRNA-566 so izvedli *in vitro* s celičnimi linijama ter *in vivo* z intrakranialnim človeškim tumorjem GBM v živalskem modelu. Za transfekcijo so uporabili lenti-virus. Rezultati preizkusa *in vitro* so bili obetavni – zmožnost celic GBM za tvorbo kolonij se zniža po utišanju miRNA z Lenti-AS-566, pristop pa je nekoliko manj uspešen v *in vivo* modelu. Čeprav je opazen učinek posega, se doba preživetja testnih živali ne podaljša bistveno (20).

4.4 SAMOMORILNI GENI

Gensko zdravljenje s samomorilnimi geni je najpogosteje raziskovana strategija genskega zdravljenja (21). Raziskali so večje število parov učinkovin ter aktivirajočih encimov in le nekatere so se uveljavile v kliničnih kombinacijah, kot npr. citozinska deaminaza/5-fluorocitozin sistem (CD/5-FC) (22). Takšna kombinacija je zelo učinkovita že pri nizkih odstotkih transfeciranih celic (22). Najbolje raziskana je kombinacija virusa *Herpes simplex* in timidinske kinaze (HSV-TK) (21). HSV transfecira celice, ki nato pričnejo izražati timidinsko kinazo (TK), bolnikom pa sistemsko apliciramo ganciklovir (GCV), ki ga TK v tumorju pretvori v toksični metabolit GCV-trifosfat (22). Posledica toksičnega metabolita je celična smrt, metoda pa obeta učinkovito

možnost genskega zdravljenja GBM.

4.5 SITIMAGENE CERADENOVEC

Prevalenca GBM znaša približno 10 bolnikov na 100 000 (2), zato zdravljenja za zdravljenje GBM ustrezajo pogojem za prijavo zdravila sirote (do 5 primerov na 10 000) (23). Za namene zdravljenja GBM so opravili veliko študij, v okviru genskega zdravljenja pa tako po številu kot napredku izstopajo študije uporabe HSV-TK sistema. Učinkovina sitimagene ceradenovec (HSV-TK) je edina genska učinkovina indicirana za zdravljenje GBM, ki je uspešno prestala tretjo stopnjo kliničnih testiranj (21, 24).

Stopnjo naprednosti rakavega obolenja ocenimo po lestvici stanja zmogljivosti po Karnofskem (»Karnofsky performance status«, KPS). Ocena KPS 100 pomeni aktivnega bolnika brez znakov bolezni, s povišanjem izraznosti znakov bolezni se številčna ocena znižuje do 0, ko nastopi smrt (25). Za namen klinične študije učinkovine sitimagene ceradenovec četrte stopnje so 250 bolnikov z oceno KPS nad 70 iz celotne Evrope z GBM naključno razdelili v kontrolno in testno skupino. Prvo so zdravili z intratumoralno transfekcijo z učinkovino sitimagene ceradenovec (enkratna transfekcija s serijo 30 do 70 injekcij), druga pa s standardnimi postopki zdravljenja GBM (majhna odstopanja med vključenimi državami in klinikami). Bolniki obeh skupin so bili ob ugodni metilaciji MGMT tretirani tudi s kemoterapevtikom TMZ. V okviru študije so spremljali napredek bolezni pri bolnikih, neželene učinke, čas do smrti in tudi koncentracijo protiteles proti adenovirusu v serumu. Takšna nevtralizirajoča protitelesa namreč onemogočajo delovanje učinkovine in transfekcijo celic ter posledično kritično vplivajo na uspešnost postopka genskega zdravljenja (24).

Rezultati študije kažejo, da zdravljenje s sitimagene ceradenovec izboljša dobo preživetja do ponovnega posega ali smrti v primerjavi s kontrolno skupino – ne glede na uporabo TMZ. Testi titra nevtralizirajočih protiteles izkazujejo porast v eksperimentalni skupini, medtem ko so titri takšnih protiteles v serumih bolnikov kontrolne skupine bistveno manjši. Porast titra protiteles proti adenovirusom je posledica vnosa adenovirusnega vektorja – učinkovine sitimagene ceradenovec, saj se titer v roku enega leta po transfekciji v eksperimentalni skupini zmanjša, slednje pa ne velja za kontrolno skupino. Znotraj eksperimentalne skupine so opravili analizo bolnikov s povišanim titrom nevtralizirajočih protiteles in tistih brez povišanja. Izkazalo se

je, da je učinek sitimagene ceradenovec višji pri bolnikih s povišanim titrom protiteles (24).

Rezultati klinične študije ne kažejo bistvenega izboljšanja splošnega preživetja bolnikov, zdravljenih s sitimagene ceradenovec v primerjavi s klasičnimi pristopi zdravljenja, hkrati pa so zabeležili rahel porast neželenih učinkov. Vseeno so rezultati vsodbudni, saj proučevana učinkovina izboljša čas do ponovnega posega ali smrti (24).

Ob začetku raziskav v letu 2002 je Odbor za medicinske izdelke za človeško uporabo (CHMP) pri Evropski agenciji za zdravila (EMA) odredil postopek pridobitve dovoljenja za promet sitimagene ceradenovec kot zdravila sirote. Družba Ark Therapeutics je opravila vse potrebne študije in predstavila rezultate ter zaprosila za dovoljenje za promet. EMA je prošnjo zavrnila na podlagi zaključka, da sitimagene ceradenovec ne izkazuje učinkovitosti, vpliva pa na hude stranske učinke. Te ugotovitve so vodile do umika prošnje za dovoljenje za promet z zdravilom sitimagene ceradenovec (26).

5 KOMENTAR IN ZAKLJUČEK

GBM predstavlja eno najsmrtonosnejših oblik raka, saj se nahaja v zelo občutljivem možganskem tkivu, ki ni sposobno samostojnega obnavljanja (3). Prva možnost zdravljenja tumorja je kirurški poseg, ki pa se v primeru glioblastoma pogosto izkaže za težko izvedljiv korak. Razlog za to je omejena dostopnost – bodisi zaradi zaščite in predvsem zaradi občutljivosti možganskega tkiva. Manjša nepravilnost v kirurškem posegu lahko povzroči težke nevrološke zaplete, možganska kap v primeru poškodbe žile je le eden od možnih scenarijev. V primeru, da je operacija možna, ta v najboljšem primeru zgolj podaljša dobo preživetja bolnika in ne botruje ozdravitvi, za katero bi bila potrebna popolna odstranitev vseh rakavih celic. Histopatološke značilnosti GBM popolno odstranitev vseh rakavih celic onemogočajo, saj so meje tkiva glioblastoma težko razločljive in zahajajo globoko v zdravo tkivo.

Za zdravljenje GBM intenzivno raziskujejo najrazličnejše metode in učinkovine, velik del raziskav predstavlja gensko zdravljenje. Poznavanje genetskih sprememb, ki vodijo do nastanka GBM, značilnih metabolnih poti ter molekularnih

tarč GBM je pripeljalo do razvoja vektorjev, ki specifično transfecirajo tumorske celice. Uporabljajo najrazličnejše strategije zdravljenja, predvsem samomorilne gene ali pa aktivacijo imunskega odziva. Vse metode v teoriji delujejo brez večjih zadržkov in veliko obetajo, preizkusi *in vitro* pogosto dokazujejo njihovo verodostojnost, prve težave pa se ponekod pojavijo že v okviru predkliničnih testiranj na živalih. Kljub temu da rezultati na ksenograftih ne dokazujejo možnosti ozdravitve, pa nakazujejo na podaljšano dobo preživetja. Na podlagi teh dognanj so številne genske zdravilne učinkovine v postopkih kliničnih preizkusov.

Dokazi o učinkovitosti genskega zdravljenja so v okviru kliničnih preizkusov še bolj izmuzljivi kot v predhodnih fazah. Učinkovine, ki so prestale drugo fazo kliničnih testiranj, so redkost. Glavne težave predstavlja vprašljiva in neznačilna učinkovitost, ki ne odtehta občasnih hudih neželenih učinkov.

Razlogi za skromen uspeh genskega zdravljenja GBM so enaki kot pri kirurških posegih, kemo- in radioterapiji. Učinkovina namreč – običajno zaradi težav z difuzijo – ne omogoča popolne odstranitve vseh celic, zato se iz ostanka vedno znova razvije nov tumor (9).

Najperspektivnejša smer raziskav genskega zdravljenja GBM je uporaba matičnih celic kot prenosnih vektorjev, za vse ostale strategije pa obvelja pomislek o nepopolni odstranitvi tumorskih celic. GBM bo postal ozdravljiv z učinkovino, ki bo omogočala popolno in selektivno odstranitev vseh celic tumorja.

6 VIRI

1. Meschner LM. *Junqueira's Basic Histology*. McGraw Hill 2010.
2. Arvold ND, Reardon DA. *Treatment options and outcomes for glioblastoma in the elderly patient*. *Clin Interv Aging* 2014; 9: 357-367.
3. Neal AJ, Hoskin PJ. *Clinical Oncology, Basic Principles and Practice*. Arnold 2003.
4. Louis DN, Ohgaki H, Kleihues P. *The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system*. *Acta Neuropathol* 2007; 114 (2): 97-109.
5. Goldlust SA, Turner GM, Goren JF et al. *Glioblastoma multiforme: multidisciplinary care and advances in therapy*. *Hospital Physician* 2008; 6: 9-39.
6. Tobias A, Ahmed A, Moon KS et al. *The art of gene therapy for glioma: a review of the challenging road to the bedside*. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2012; 84 (2): 213-222.



7. The Internet Drug Index. Temodar. <http://www.rxlist.com/temodar-drug/indications-dosage.htm>. Dostop: 11-4-2014.
8. Chu E, Sartorelli AC. Cancer Chemotherapy. V: Basic & Clinical Pharmacology. Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ (ur.) 2012; 949-975.
9. Kwiatkowska A, Nadhu MS, Behera P et al. Strategies in gene therapy for glioblastoma. Cancers 2013; 5: 1271-1305.
10. Kreft S, Doljak B, Obermajer N. Osnove genskega zdravljenja. V: Biološka zdravila: od gena do učinkovine. Štrukelj B, Kos J (ur.) 2007; 592-625.
11. Silber JR, Bobola MS, Blank A et al. O6-methylguanine-DNA methyltransferase in glioma therapy: Promise and problems. Biochim Biophys Acta 2013; 1826 (1): 71-82.
12. Viel T, Monfared P, Schelhaas S et al. Optimizing glioblastoma temozolomide chemotherapy employing lentiviral-based anti-MGMT shRNA technology. Mol Ther 2013; 3: 570-579.
13. Risau W, Flamme I. Vasculogenesis. Annu Rev Cell Dev Biol 1995; 11: 73-91.
14. Sheppard D. Endothelial integrins and angiogenesis: not so simple anymore. J Clin Invest 2002; 110: 913-914.
15. Soffiotti R, Trevisan E, Bertero L et al. Bevacizumab and fotemustine for recurrent glioblastoma: a phase II study of AINO. J Neurooncol 2013; 116 (3): 533-554.
16. Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. Nat Med 2000; 3: 389-395.
17. Kim JE, Lee Y, Cho HJ et al. NTRK1 Fusion in Glioblastoma Multiforme. PLoS One 2014; 9, 3: e91940, doi: 10.1371/9 str.

18. Fuh B, Sobo M, Cen L et al. LLL-3 inhibits STAT3 activity, suppresses glioblastoma cell growth and prolongs survival in a mouse glioblastoma model. Br J Cancer 2009; 100 (1): 106-112.
19. Yan M, Parker BA, Schwab R et al. HER2 aberrations in cancer: Implications for therapy. Cancer Treat Rev 2014; 14: 43-47.
20. Zhang KL, Zhou X, Han L et al. MicroRNA-566 activates EGFR signaling and its inhibition sensitizes glioblastoma cells to nimotuzumab. Mol Cancer 2014; 13: 63-74.
21. Iwami KI, Natsume A, Wakabayashi T. Gene therapy for high-grade glioma. Neurol Med Chir 2010; 50 (9): 727-736.
22. Tobias A, Ahmed A, Moon KS et al. The art of gene therapy for glioma: a review of the challenging road to the bedside. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2012; 84 (2): 213-222.
23. European Commision. Orphan medical products. http://ec.europa.eu/health/human-use/orphan-medicines/index_en.htm. Dostop: 1-5-2014.
24. Westphal M, Ylä-Herttävaka S, Martin J et al. Adenovirus-mediated gene therapy with sitimagene ceradenovec followed by intravenous ganciclovir for patients with operable high-grade glioma (ASPECT): a randomised, open-label, phase 3 trial. Lancet Oncol 2013; 14: 823-833.
25. Hotujec S, Urankar M, Zwitter M. Lestvice ocenjevanja stanja zmogljivosti. Onkologija 2007; 1: 55.
26. European Medicines Agency. Cerepro. http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicine/human/medicines/001103/wapp/Initial_authorisation/human_wapp_000083.jsp&mid=WC0b01ac058001d128. Dostop: 1-5-2014.

Kontracepcijske tabletko nisem vzela že 2 leti, 3 mesece in 4 dni in ves ta čas sem bila več kot 99% zaščitena

Skrajšan povzetek glavnih značilnosti zdravila



▼ Za to zdravilo se izvaja dodatno spremljanje varnosti. Tako bodo hitre na voljo nove informacije o njegovi varnosti. Zdravstvene delavce naprošamo, da poročajo o katerem koli domnevnem neželenem učinku zdravila.

IME ZDRAVILA
 Zdravilo Jaydess® je intrauterin dostavni sistem KAKOVOSTNA IN KOLIČINSKA SESTAVA
 Intrauterin dostavni sistem Jaydess® vsebuje levonorgestrel. Pomolne snovi, polidimetilsiloksilanski elastomer, brezvodni koloidni silicijev dioksid, polietilen, barjarski sulfat (za delovanje) in 100 mg levonorgestrela.
TERAPEVTSKE INDIKACIJE
 Zdravilo Jaydess® je namenjeno za kontracepcijo.
FARMACEVTSKA OBLIKA
 Intrauterin dostavni sistem (IUS). Velikost zdravila Jaydess: 25 mm x 30 mm x 1,55 mm.
ODMERJANJE IN NAČIN UPORABE
Odmerjanje • Zdravilo Jaydess se vstavi v maternično votlino in učinkuje do tri leta.
Vstavitev in odstranitev/zamrjavila • Priporočljivo je, da zdravilo Jaydess vstavljajo le zdravniki (zdravnice) usposobljeni in usposabljeni s strani proizvajalca IUS ali s toliko usposobljeni za vstavljanje zdravila Jaydess. Zdravilo Jaydess se vstavi v maternično votlino v sedmi dan po začetku menstruacije. Zdravilo Jaydess se lahko zamenja s novim sistemom kadar koli med ciklusi. Zdravilo Jaydess se lahko vstavi tudi takoj po sestavi v prvem trimesečju nosečnosti. Po porodu je treba vstavljati počakati, dokler se maternica ne zmanjša na normalno velikost, vendar se zdravila ne sme vstavljati prej kot šest tednov po porodu. Če je zmanjšanje maternice zelo upočasnjeno, se lahko počaka do 12 tednov po porodu. Če pride med vstavitvijo do težav in/ali se med vstavitvijo ali po njej pojavijo hude bolečine ali krvavitve, je treba takoj opraviti klinični pregled ter pregled s ultrazvokom in na ta način ugotoviti priložnost. Zdravilo Jaydess se od drugih IUS razlikuje po tem, da je na ultrazvoku viden svetel obroček. Ker T-nosilec zdravila Jaydess vsebuje barjarski sulfat, je viden na rentgenskih slikah.
Sistem je treba odstraniti najpozneje do konca tretjega leta. Če želi ženska še naprej uporabljati isto metodo, se lahko takoj po odstranitvi prvega sistema vstavi nov sistem.
Starejše bolnice • Zdravilo Jaydess niso preučevali pri ženskah, starejših od 65 let. Uporaba zdravila Jaydess ni priporočena pri ženskah v obdobju po menopavzi.
Bolnice z jetrno okvaro • Zdravilo Jaydess niso preučevali pri ženskah z jetrno okvaro. Zdravilo Jaydess je kontraindicirano pri ženskah z akutno jetrno boleznijo ali jetrnim tumorjem.
Bolnice z ledvično okvaro • Zdravilo Jaydess niso preučevali pri ženskah z ledvično boleznijo.
Pediatrska populacija • Varnosti in učinkovitosti zdravila Jaydess pri ženskah, mlajših od 18 let, niso preučevali. Uporaba tega zdravila pred prvo mesečno krvavitvijo ni indicirana.
Način uporabe • Vse tri zdravila z uporabo aseptične tehnike.
KONTRAINDIKACIJE
 • nosečnost;
 • akutni ali ponavljajoči medenični vnetni bolezni ali stanja, povezana s povečanim tveganjem za medenično okužbo;
 • akutni cervicitis ali vaginitis;
 • nepopolni endometrijski ali okužbo po splavu v zadnjih treh mesecih;
 • cervikalna intraepiteljska neoplazija, dokler se ne popravi;
 • maligna maternica ali materničnega vratu;
 • na prognozi pomembni občutljivi tumorji, npr. rak dojke;
 • maternična krvavica ali izcedek iz materničnega vratu;
 • prisotnost ali prisotnost nepravilnosti v maternici, vključno z materničnimi miomi, ki bi ovirali vstavljanje in/ali delovanje intrauterinoga sistema (t.j. če deformirajo maternično votlino);
 • akutna jetrna bolezen ali jetrni tumorji;
 • akutna jetrna bolezen ali jetrni tumorji, ali kateri koli pomembno znani.
POSEBNA OPOZORILO IN PREVIDNOSTNI UKREPI
 Zdravilo Jaydess je treba uporabljati previdno in po navesti specialista oz. je treba zmanjšati ali odstraniti sistem, če obstaja ali se prvič pojavi katero od naslednjih stvari:
 • migrena, migrena z žardnimi nevrolitičnimi simptomi, ki so nesimetrična izguba vida ali drugi simptomi predhodne nepravilnosti v maternici, vključno z migrenami, ki bi ovirali vstavljanje in/ali delovanje intrauterinoga sistema (t.j. če deformirajo maternično votlino);
 • zlatenica;
 • izrazito zvišanje krvnega tlaka;
 • huda arterijska bolezen, kot sta možganska kap ali srčni infarkt.
 Neobčutilna levonorgestrel lahko vpliva na toleranco za glukozo, zato je treba pri ženskah, ki imajo sladkorno bolezen in uporabljajo zdravilo Jaydess, spremljati koncentracije glukoze v krvi. Pri ženskah s sladkorno boleznijo, ki uporabljajo IUS z levonorgestrelom, redno zdravljenja praviloma ni treba spreminjati.
Primerne predložitve • Med vstavitvijo je treba žensko seznaniti s koristmi in tveganji povzročeni pri uporabi zdravila Jaydess, vključno s tveganjem za zunjamaternično nosečnost (glejte spodaj). Opravi je treba klinični pregled, vključno z ginekološkim pregledom, pregledom dojk in z krvnim materničnega vratu. Izključiti je treba nosečnost in spolno prenosljivo bolezen. Genitalne okužbe je treba pred vstavitvijo pozdraviti. Dolžni je treba postopaj maternice in velikost materničnega vratu. Pomembno je, da je zdravilo Jaydess vstavljeno v fundus maternice, kar zagotavlja najbolj učinkovito in zmanjša tveganje za njegov izpis. Pri vstavljanju je treba natančno upoštevati navodila za vstavljanje.
 Zdravilo Jaydess ni primarno za postitofornno kontracepcijo.
 Primerne uporabe zdravila Jaydess za zdravljenje močnih menstrualnih krvavitve ali preprečevanje endometrijske hiperplazije med estrogenskim nadomestnim zdravljenjem ni odobrena. Uporaba zdravila Jaydess je tudi primerna za preprečevanje.
Zunjamaternična nosečnost • V kliničnih preskušanjih z zdravilom Jaydess je bila spolna incidenca zunjamaternične nosečnosti približno 0,11 na 100 žensk-let. Približno polovica nosečnosti, do katerih pride med uporabo zdravila Jaydess, je zunjamaternična.

Uporaba pri ženskah, ki še niso nikoli rodile • Zdravilo Jaydess ni kontraceptiv prvga izbora pri ženskah, ki še niso nikoli rodile, saj so klinične izkušnje pri njih maloštevilne.
Vplivi na vzorec menstrualne krvavitve • Vplivi na vzorec menstrualne krvavitve so pričakovani pri uporabi zdravila Jaydess. Da odločitev o uporabi zdravila Jaydess ne povzroča neželene posledice, je treba pred vstavitvijo zdravila Jaydess slišati lažje krvavitve ali bolečine. Vendar pa lahko pride do bolečine ali poplavljanja krvi, ne da bi ženska to opazila, kar povzroči zmanjšanje ali izgubo kontracepcijske zaščite. Ker zdravilo Jaydess sčasoma navadno zmanjša plodnost menstrualne krvavitve, lahko pogosto krvavitve katoli na izpis. Delno izbrineno zdravilo Jaydess je treba odstraniti. Če je bila nosečnost odključena, se lahko hitro vstavi nov sistem.
Nositev je treba pozvati, kako naj prevesta preskusno izvedbeni niz zdravila Jaydess. Če jih ne more zbrati, se mora posvetovati s svojim zdravnikom.
Perforacija • Intrauterin kontracepcijski sredstvo lahko perforira ali penetrira v maternično telo ali maternični vrat, vendar se to zgodi redko, najpogosteje med vstavljanjem. S tem se lahko zmanjša učinkovitost zdravila Jaydess. Če so pri vstavitvi težave in/ali se med ali po vstavitvi pojavijo hude bolečine ali krvavitve, je treba takoj opraviti klinični pregled ter pregled s ultrazvokom in na ta način ugotoviti priložnost. V takem primeru je treba sistem odstraniti. Tveganje za perforacijo je večje pri doječih ženskah in se lahko poveča po vstavitvi kakoli po porodu in pri ženskah s fiksnano retrovertirano maternico.
Izgonne ni • Če na kontraceptivni pregledih ob materničnem vratu in videti ni za odstranitev, je treba izvesti nepopolni izpis IUS in nosečnost.
Operativni cikel/povečan ovajski folikel • Ker zdravilo Jaydess deluje kontraceptivno predvsem lokalno znotraj maternice, pri ženskah v rodni dobi obstaja in sprememba med delovanjem, vključno z neprijetnim razvojem foliklov, sproščanjem oocitov in atrezijo foliklov.
Izgonne ni • Če na kontraceptivni pregledih ob materničnem vratu in videti ni za odstranitev, je treba izvesti nepopolni izpis IUS in nosečnost.
Operativni cikel/povečan ovajski folikel • Ker zdravilo Jaydess deluje kontraceptivno predvsem lokalno znotraj maternice, pri ženskah v rodni dobi obstaja in sprememba med delovanjem, vključno z neprijetnim razvojem foliklov, sproščanjem oocitov in atrezijo foliklov.
Plodnost/nosečnost/rojstvo • Uporaba intrauterinoga dostavnega sistema, ki sardica levonorgestrel, ne vpliva na kasnejšo plodnost. Po odstranitvi intrauterinoga dostavnega sistema se plodnost pri ženskah povrne na normalno.
Vstavitev zdravila Jaydess pri nosečnicah je kontraindicirana. Zaradi znotrajmaternične uporabe in lokalne izpostavitve levonorgestrelu, je treba upoštevati možnost pojavnosti prirojenih malformacij pri otrocih, ki so bili izpostavljeni levonorgestrelu, ki sproščajo zdravilo levonorgestrel, ne vpliva na količino ali kakovost materničnega mlika. Pri doječih materah v majni količini sproščajo majhno količino progestinov (približno 0,1 % odmerka levonorgestrela).
NEDEJAVNO DELOVANJE Z DRUGIMI ZDRAVILI IN DRUGE OBLIKE INTE-RAKCIJE
 Interakcije se lahko pojavijo z zdravili, ki inducirajo jetrne mikrosomalne encime, predvsem encimski sistem citokrom P450, in lahko zato povečajo sproščanje levonorgestrela, kar povzroča občutek spolnih hormonov (npr. fantazije, karbuhurji, karbamazepin, rifamicin, rifabutin, ciklosporin, bosentan in morda tudi ciklosporin, topiramid, felbamat, griseofulvin in zdravila, ki vsebujejo fenitoin). Po drugi strani pa lahko inducirajo, da katere je znani da zavirajo encime, ki preobdelajo zdravila (npr. klaritromicin, ketokonazol), povečajo levonorgestrelno koncentracijo. Vpiv teh zdravil na učinkovitost zdravila Jaydess ni znani, vendar pa glede na lokalni mehanizem delovanja zdravila nima večjega pomena.
Magnetonosonno slikanje (MRI - magnetično resonančno slikanje) • Približno tri četrtine je postavljeni, da v klinični študiji, ima vpliv na slikanje zdravila Jaydess, lahko varno opraviti MRI pod naslednjimi pogoji: statično magnetno polje 3 Tesla ali manj, največje prostorske gradientno magnetno polje 720 Gauss/cm ali manj. Pod temi pogoji je pri uporabi zdravila Jaydess, ki vsebujejo magnetno kovino, varno opraviti MRI. Če obstaja možnost pojava silničnih artefaktov (se povežbe) se je magnetnosonno slikanje pri uporabi zdravila Jaydess, ki vsebujejo magnetno kovino, le tega.
NEŽELENE UČINKI
 Pri vstavitvi zdravila Jaydess pogosto spremembe v vzorcu menstrualne krvavitve. Sčasoma se pogostost amenoreje in nerednih krvavitve povečata, zmanjša pa se pogostost poplavljanj in poplavljanj. **Zelo pogosti**: glavoboli, bolečine v trebuh/abdominalne bolečine, migrena, bolečine v sklepih, vnetje, vključno s povečanjem in zmanjšanjem menstrualnih krvavitve, krvavitvam izcedkom, nerednim krvavitvam in amenorejo, ovajski cikel, slabost, glavobol, depresivno razpoloženje/depresija, migrena, navzea, alopecija, okužba zgornjih dihal, dismenoreja, bolečina/irritacija, Redki: perforacija maternice.
 • V kliničnih preskušanjih so morali o ovajskih ciklih poročati kot o neželenih učinkih, če se da z nenormalno, nenormalno, ali ovajski cikel ali ovajski s premerom 33 cm pri pregledu s ultrazvokom.
IMETNIK DOVOLJENJA ZA PROMET Z ZDRAVILOM
 Datum pridobitve/podajanja dovoljenja za promet z zdravilom: 03.04.2014
DATUM ZADNJEJNE DOVOLJENJA
 03.04.2014
Datum pridobitve/podajanja dovoljenja za promet z zdravilom:
 03.04.2014
Datum zadnjene dovoljenja:
 03.04.2014
Pred predpisovanjem, prosimo, preberite celoten Povzetek glavnih značilnosti zdravila.



Nova možnost kontracepcije, ki omogoča do 3 leta brezkrvnosti.

- brez dnevne, tedenske ali mesečne rutine¹
- klinično preskušena pri ženskah, ki so ali še niso rodile^{2,3}
- visoka učinkovitost ob nizkem odmerku hormona^{1,2}
- preprosta vstavitev²
- hitra povrnitev plodnosti po odstranitvi¹

