

# Βιοτεχνολογικά φάρμακα, θεραπευτική κλωνοποίηση και κυτταρικές θεραπείες

**Αστέριος Σ. Τσιφτσόγλου**

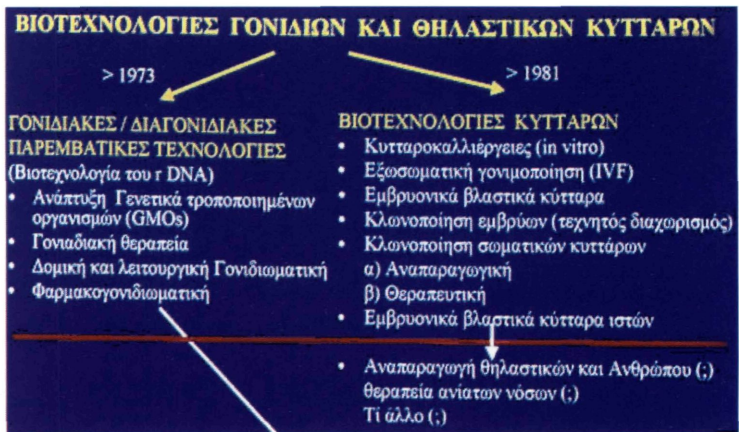
*Καθηγητής Φαρμακολογίας,  
Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, ΑΠΘ*

## **ΕΙΣΑΓΩΓΗ: ΑΠΟ ΤΗ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΣΤΗΝ ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΣΩΜΑΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΙ ΤΙΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ**

**Ο**ι ραγδαίες εξελίξεις που ακολούθησαν την παρασκευή ανασυνδυασμένων μορίων DNA (recombinant DNA) στις αρχές της δεκαετίας 1970-80, έθεσαν τις βάσεις της γενετικής μηχανικής, της απομόνωσης, της κλωνοποίησης και της χαρτογράφησης γονιδίων, της παραγωγής ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών βιολογικού και θεραπευτικού ενδιαφέροντος, καθώς και της χαρτογράφησης του γονιδιώματος του ανθρώπου, αλλά και πολλών άλλων οργανισμών. Αυτές οι εξελίξεις συνέβαλαν στην ανάπτυξη της φαρμακευτικής βιομηχανίας με την παραγωγή, τον ποιοτικό έλεγχο και την εμπορία της πρώτης γενιάς βιοφαρμακευτικών προϊόντων,<sup>1</sup> όπως θεραπευτικές πρωτεΐνες, αντιγόνα, δομικές πρωτεΐνες κ.ά., τα οποία είτε χρησιμοποιούνται ως φάρμακα και εμβόλια, είτε εξυπηρετούν βιοχημικές διεργασίες (π.χ. ένζυμα). Η ανάπτυξη αυτή συνέβη παράλληλα με τις εξελίξεις στην ανάπτυξη κυττα-

ροκαλλιεργειών, οι οποίες επέτρεψαν την παραγωγή ανθρώπινων πρωτεϊνών φαρμακευτικού ενδιαφέροντος καθώς και την εδραίωση των αρχών της μεταφοράς γονιδίων σε κύτταρα θηλαστικών και έμβρυα (γενετική παρεμβατική τεχνολογία).

Το 1998 απομονώθηκαν και καλλιεργήθηκαν, *ex vivo*, τα ανθρώπινα εμβρυονικά βλαστοκύτταρα – αρχέγονα ή σπελειαία κύτταρα.<sup>2</sup> Επιπλέον, το 1996 επιτεύχθηκε η κλωνοποίηση των σωματικών κυττάρων με πυρηνική μεταφορά –somatic cell cloning via nuclear transfer, SCNT η γνωστή ιστορία της Doly–,<sup>3</sup> η οποία επέτρεψε την αναπαραγωγική κλωνοποίηση ανώτερων θηλαστικών και έθεσε τις βάσεις για τη θεραπευτική κλωνοποίηση. Οι μελέτες αυτές ενίσχυσαν την έρευνα σε εμβρυονικά βλαστοκύτταρα και έθεσαν βασικούς βιοηθικούς προβληματισμούς, ενώ παράλληλα διευρυναν τις δυνατότητες χρήσης τους σε θεραπείες ανιάτων εκφυλιστικών νόσων με μεταμοσχεύσεις βλαστοκυττάρων. Οι βιοτεχνολογίες γονιδίων και βλαστοκυττάρων ενδέχεται μελλοντικά να συγκλίνουν για την παραγωγή ιστοσυμβατών ιστών και οργάνων –γενετικά τροποποιημένων– κυρίως για μεταμοσχεύσεις (σχήμα 1).



**Σχήμα 1.**  
Βιοτεχνολογίες γονιδίων και θηλαστικών κυττάρων

## **ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΑ ΠΕΠΤΙΔΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ ΚΑΙ ΛΟΙΠΑ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΑ**

Η αντίληψη ότι αρκετά νοσήματα μεταβολισμού οφείλονται σε έλλειψη ή δυσλειτουργία πρωτεϊνών ορμονικού τύπου (π.χ. ινσουλίνη, αναπτυξιακοί παράγοντες) αναπτύχθηκε αρκετά νωρίς και οδήγησε στην απομόνωση τέτοιων μορίων με εκχύλιση από μεγάλες μάζες ιστών. Δυστυχώς, μια τέτοια χρονοβόρα και πολύ δαπανηρή διεργασία δεν εξυπηρετούσε τις υψηλές ανάγκες για τη χρήση τέτοιων μορίων. Η ανάπτυξη της βιοτεχνολογίας του rDNA στα μέσα της δεκαετίας του '70, έδωσε τη δυνατότητα της μαζικής παραγωγής πεπτιδικών ορμονών και αναπτυξιακών παραγόντων ή άλλων πρωτεϊνών, η οποία επιτεύχθηκε σε μικρόβια ή άλλους γενετικά τροποποιημένους οργανισμούς (GMOs), με την εμφύτευση – μεταφορά γονιδίων σε κατάλληλους φορείς. Τριάντα χρόνια αργότερα, δηλαδή σήμερα, η παγκόσμια φαρμακευτική βιομηχανία παράγει το 10-12% των φαρμάκων με γενετική μηχανική. Στα βιοτεχνολογικά φάρμακα και θεραπευτικά γενικότερα ανήκουν διάφορες ομάδες τέτοιων προϊόντων (σχήμα 2), καθώς και τα βιοτεχνολογικά εμβόλια και γενετικά τροποποιημένα αντιγόνα. Η έκπτωση των δικαιωμάτων βιομηχανικής ιδιοκτησίας (patents), οδηγεί σταδιακά στην ανάπτυξη βιοομοειδών προϊόντων (biosimilars) ή βιογενόσημων (biogenerics) φαρμακευτικών προϊόντων.<sup>4</sup>

### **ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ**

1. Αναπτυξιακοί Παράγοντες
2. Πεπτιδικές Ορμόνες
3. Εμβόλια (Αντιγόνα)
4. Μονοκλωνικά Αντισώματα
5. Ένζυμα
6. Γονιδιακά Φάρμακα

**A. Βιοφαρμακευτικά Προϊόντα Πρώτης Γενιάς**  
**B. Βιο-ομοειδή (Biosimilars) – Βιογενόσημα (Biogenerics)**

---

#### **Σχήμα 2.**

*Ομάδες βιοφαρμακευτικών  
θεραπευτικών προϊόντων*

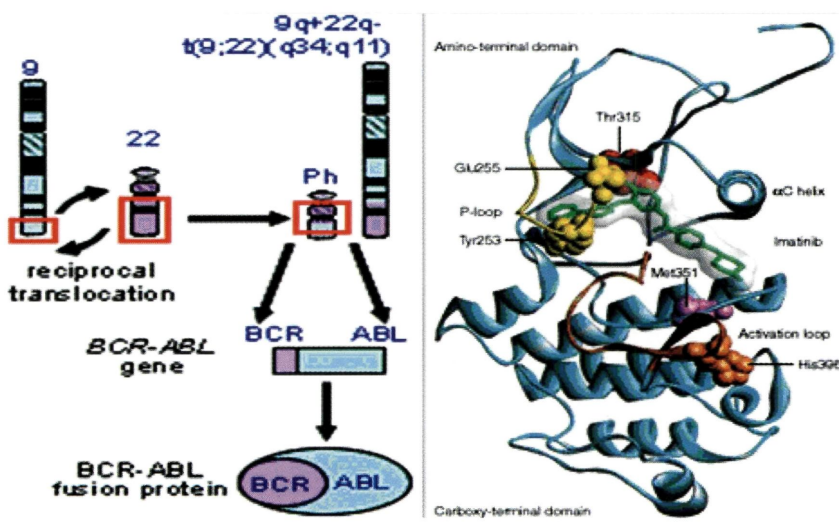
## **ΜΟΡΙΑΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΣΤΟΧΕΥΜΕΝΗ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ: ΟΙ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΗΣ ΧΑΡΤΟΓΡΑΦΗΣΗΣ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΩΝ**

Η ανάπτυξη της Μοριακής Βιολογίας, της Γενετικής και της Βιοτεχνολογίας, επέφερε και άλλες ραγδαίες εξελίξεις στην κατανόηση της δομής και της λειτουργίας του γονιδιώματος του ανθρώπου<sup>5</sup> και άλλων οργανισμών. Αυτό προκάλεσε στη συνέχεια συσσώρευση γνώσης της δομής του DNA και συνέβαλε στη χαρτογράφηση των χρωμοσωμάτων, τον χαρακτηρισμό άγνωστων γονιδίων αλλά και την εμπλοκή τους σε γενετικά/μεταβολικά νοσήματα, των οποίων τόσο η αιτιολογία όσο και η παθογένεια ήταν τελείως άγνωστες. Η ανάπτυξη της μοριακής διαγνωστικής τεχνολογίας που εφαρμόζεται σήμερα στην ανίχνευση γενετικών νόσων, στην ταυτοποίηση μικροοργανισμών και μολυσματικών ιών, συνέβαλε και στην αναγνώριση μοριακών στόχων για την ανάπτυξη φαρμάκων εκλεκτικής δράσης (targeted therapy). Η σημασία αυτών των ανακαλύψεων και της ανάπτυξης της μοριακής διαγνωστικής τεχνολογίας, κυρίως με την εφαρμογή της PCR τεχνολογίας και τον μοριακό υβριδισμό DNA/RNA ή DNA/DNA, ενίσχυσε ακόμη περισσότερο τη δυνατότητα της ταυτόχρονης έκφρασης χιλιάδων γονιδίων σε έναν ιστό ή σε κύτταρα (microarrays – DNA chip technology).<sup>6</sup> Οι εξελίξεις αυτές παρέχουν τη δυνατότητα της μοριακής αξιολόγησης της πορείας μιας θεραπείας (π.χ. αντικαρκινικής συνδυασμένης θεραπείας) επί της έκφρασης σειράς ογκογονιδίων, κάτι που μπορεί να εφαρμοστεί μελλοντικά και σε άλλα νοσήματα.

## **ΚΑΘΟΡΙΣΜΟΣ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΣΤΟΧΩΝ ΚΑΙ ΕΞΥΠΝΑ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ**

Η λεπτομερής ανάλυση γενετικών μεταλλάξεων σε διάφορα γονίδια οδήγησε στην κατανόηση των μηχανισμών, με τους οποίους τέτοια γονίδια συμβάλλουν στην παθογένεια διάφορων νόσων. Η γνώση αυτή έφερε στην επιφάνεια μοριακούς στόχους για την ανάπτυξη εκλεκτικών φαρμάκων. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν θεραπευτικά αντισώματα που αναγνωρίζουν

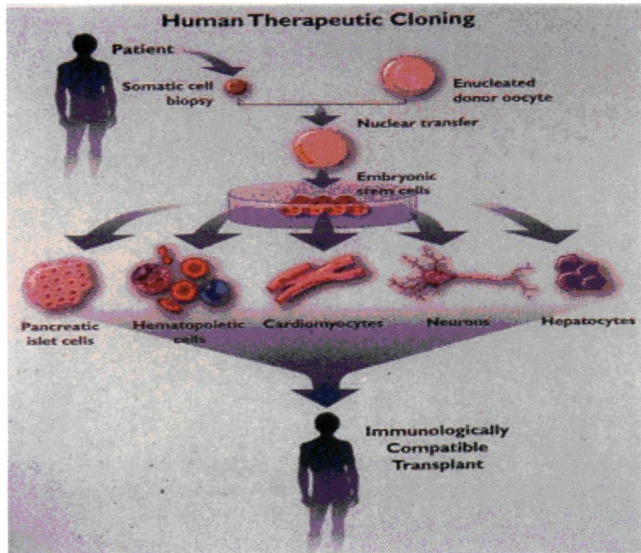
υποδοχείς στην επιφάνεια κυττάρων καρκίνου του μαστού (π.χ. το γονίδιο Her), αλλά και υβριδικές πρωτεΐνες ενζυμικού τύπου (χιμαϊρικές κινάσες) που εκφράζονται εκλεκτικά σε κύτταρα χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας (CML). Εξετάζοντας το ενεργό κέντρο της Bcr-Abl κινάσης της τυροσίνης που εκφράζεται εκλεκτικά από το χρωμόσωμα της Φιλαδέλφειας (t9;22), αναπτύχθηκαν εκλεκτικοί αναστολείς, όπως το Imatinib (Gleevec) και το Nilotinib (AMN-107) της εταιρείας Novartis, με εξαιρετικά αποτελέσματα (σχήμα 3). Τα φάρμακα δρουν επιλεκτικά επί της χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας αναστέλλοντας τη δράση του ενζύμου και προκαλώντας τον θάνατο των λευχαιμικών κυττάρων.<sup>7</sup>



**Σχήμα 3.** Σχηματική παράσταση της χρωμοσωμικής μετατόπισης 9;22 [Χρωμόσωμα της Φιλαδέλφειας το οποίο παρατηρείται σε κύτταρα ασθενών με χρόνια μυελογενή λευχαιμία CML (αριστερά). Διαμόρφωση του μορίου της Bcr-Abl κινάσης της τυροσίνης. Απεικονίζεται το ενεργό κέντρο στο οποίο δρα ανασταλικά το imatinib –gleevec– (δεξιά)].

### ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ: ΕΙΝΑΙ ΕΦΙΚΤΗ, ΑΠΟΔΕΚΤΗ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΣΙΜΗ;

Η κλωνοποίηση σωματικών κυττάρων με πυρηνική μεταφορά, που επιτεύχθηκε από τον I. Wilmut και τους συνεργάτες του, έθεσε τις βάσεις για τη θεραπευτική κλωνοποίηση. Πρόκειται, δηλαδή, για τη διεργασία ανάπτυξης



**Σχήμα 4.**  
Σχηματική απεικόνιση της θεραπευτικής κλωνοποίησης σωματικών κυττάρων.

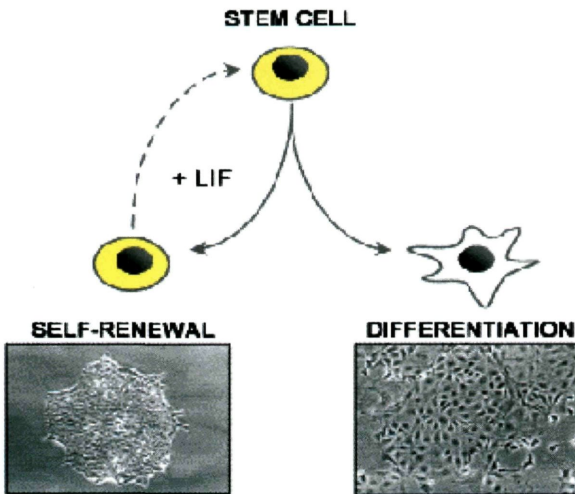
εμβρύων με στόχο την περαιτέρω ανάπτυξη ιστοσυμβατών ιστών και οργάνων για καθαρά θεραπευτικούς λόγους, μέσω μεταμοσχεύσεων (σχήμα 4).<sup>3,8</sup> Η δυνατότητα αυτή αποδίδεται στην ικανότητα των εμβρυονικών βλαστοκυττάρων να διαφοροποιούνται σε διάφορα είδη κυττάρων και ιστών.

Παρά τις κατά καιρούς αντιδράσεις βιοηθικού προβληματισμού, φαίνεται ότι αυτή η μεθοδολογία μπορεί να αποδειχθεί πρακτικά χρήσιμη, αποδεκτή και εφαρμόσιμη σε ορισμένες δύσκολες περιπτώσεις στις οποίες επιβάλλεται ριζική θεραπεία και δεν υπάρχουν εναλλακτικές λύσεις. Απομένει να βελτιωθεί η συγκεκριμένη τεχνολογία ώστε να εφαρμοστεί χωρίς δισταγμούς, με ασφάλεια, για τη θεραπεία εκφυλιστικών παθήσεων.

### **ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ ΜΕ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΑ: ΜΠΟΡΟΥΝ ΝΑ ΕΦΑΡΜΟΣΤΟΥΝ ΚΑΙ ΠΩΣ;**

Κατά τη διάρκεια των τελευταίων ετών παρατηρήθηκε ότι όχι μόνο τα έμβρυα, αλλά και ο μυελός των οστών καθώς και άλλοι ιστοί (π.χ. κεντρικό νευ-

ρικό σύστημα) περιέχουν αρχέγονα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα ή άλλως στελεχιαία κύτταρα (adult multipotent stem cells), τα οποία παρουσιάζουν αξιόλογη πλαστικότητα και δυναμικό διαφοροποίησης σε διάφορους τύπους κυττάρων, διατηρώντας παράλληλα την ικανότητά τους να αναγεννιούνται (σχήματα 4 και 5). Η κατάλληλη χρήση τέτοιων κυττάρων για μεταμόσχευση ανασωπύρωσε το ενδιαφέρον για τη θεραπεία ανιάτων εκφυλιστικών παθήσεων (νεοπλάσματα, εκφυλιστικά και μεταβολικά νοσήματα κ.ά.) τα οποία δεν επιδέχονται καμιά θεραπευτική αγωγή. Αδρανοποιημένοι κυτταρικοί πληθυσμοί θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την παροδική έστω διάσωση ιστών (π.χ. νέκρωση ηπατικού παρεγχύματος από οξείες δηλητηριάσεις) ή την ανάπτυξη ανοσίας (cellular vaccines). Σε αυτό το πλαίσιο, διερευνάται η χρήση ανθρωποποιημένων κυττάρων από γενετικά τροποποιημένα ανώτερα θηλαστικά (humanized xenogenic transplants) για τη θεραπεία στον άνθρωπο. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η χρήση αιμοποιητικών κυττάρων του μυελού των οστών για αυτόλογη η ετερόλογη μεταμόσχευση σε πάσχοντες από έμφραγμα του μυοκαρδίου, στο οποίο τα κύτταρα επιφέρουν επουλώση και βελτιώνουν τις αιμοδυναμικές λειτουργίες του μυοκαρδίου. Βεβαίως, ισοσυμβατά κύτταρα του μυελού των οστών χρησιμοποιούνται για μεταμόσχευση σε περιπτώσεις αιματολογικών νεοπλασιών

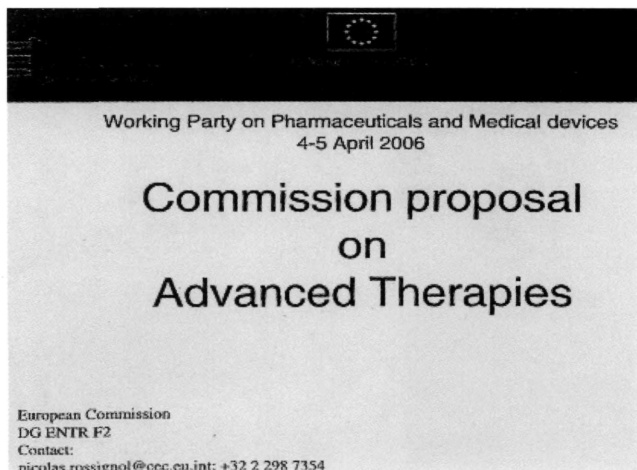


**Σχήμα 5.** Αρχέγονα βλαστικά κύτταρα σε ασύμμετρη κυτταρική διαίρεση [www.eurostemcell.org](http://www.eurostemcell.org).

(λευχαιμίες, λεμφώματα, μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα). Από τα μέχρι σήμερα δεδομένα προκύπτει ότι οι κυτταρικές θεραπείες μπορεί να εφαρμοστούν για την αναγέννηση των ιστών και τη ριζική θεραπεία σοβαρών παθήσεων.

### ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ: ΑΝΑΓΚΗ ΘΕΣΠΙΣΗΣ ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟΥ ΠΛΑΙΣΙΟΥ

Είναι πλέον σαφές ότι η ανάπτυξη και οι εφαρμογές της χρήσης κυτάρων για θεραπευτικούς κυρίως σκοπούς, ανεξάρτητα από την πηγή προέλευσης, απαιτούν τη θέσπιση ενός ρυθμιστικού πλαισίου που θα διέπει τους κανόνες εφαρμογής αυτής της τεχνολογίας προς αποφυγή τυχών ανεπιθύμητων προβλημάτων, κερδοσκοπίας αλλά και αλόγιστης εμπορίας και χρήσης με τρόπους που να προσβάλλουν την αξιοπρέπεια, την κοινωνική συνοχή και που επιφέρουν ανυπολόγιστες συνέπειες. Η Ευρωπαϊκή Ένωση, μέσω της Κομισιόν και του Ευρωκοινοβουλίου, προχώρησε στη θέσπιση ενός ρυθμιστικού πλαισίου για τη διασφάλιση της ποιότητας των φαρμακευτικών/θεραπευτικών προϊόντων και υπηρεσιών που ενδέχεται να αναπτυχθούν στο πλαίσιο των κυτταρικών θεραπειών. Ήδη έχει συνταχθεί το πρώτο κείμενο (*Guidelines for cell based medicinal products*) από ομάδα εμπειρογνομώνων του Ευρωπαϊκού Οργανισμού Φαρμάκων, ΕΜΕΑ (σχήμα 6).



**Σχήμα 6.**  
Πρόταση της Ευρωπαϊκής Επιτροπής για τη θέσπιση ρυθμιστικού πλαισίου, το οποίο αφορά τις κυτταρικές θεραπείες.



## ΣΚΕΨΕΙΣ ΓΙΑ ΤΟ ΜΕΛΛΟΝ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ: ΒΙΟΗΘΙΚΟΙ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΙΣΜΟΙ

Από όσα περιγράφηκαν μέχρι τώρα φαίνεται ότι τα νέα βιοτεχνολογικά φάρμακα (δεύτερης γενιάς), η θεραπευτική κλωνοποίηση και οι κυτταρικές θεραπείες ανοίγουν ένα νέο κεφάλαιο στον χώρο της μοντέρνας θεραπευτικής και της αναγεννητικής ιατρικής (Regenerative Medicine). Οι εξελίξεις που αναφέρθηκαν τροφοδοτούνται από τη ραγδαία ανάπτυξη της μοριακής διαγνωστικής τεχνολογίας η οποία εμπλουτίζει την κατανόηση της μοριακής βάσης της παθογένειας των νόσων και την αναγνώριση μοριακών στόχων για ανάπτυξη καινοτόμων φαρμάκων. Παράλληλα με αυτή την ανάπτυξη ανακύπτουν βιοηθικοί προβληματισμοί που χρειάζεται να συζητηθούν ευρύτερα έτσι ώστε να γίνουν κατανοητά τα κοινωνικά οφέλη αυτών των ανακαλύψεων έξω από προκαταλήψεις και ιδεολογικές αγκυλώσεις. Η θέσπιση ενός πλαισίου θα αποτρέψει τυχόν αλόγιστη χρήση των εμβρύων και των εμβρυονικών βλαστοκυττάρων (totipotent embryonic stem cells) εξασφαλίζοντας έτσι την ανθρώπινη αξιοπρέπεια και τους κανόνες του οικογενειακού αστικού δικαίου. Ελπίζω ότι οι τεχνολογίες των βλαστικών κυττάρων και οι κυτταρικές θεραπείες θα εφαρμοστούν με σύνεση και ορθολογισμό για τη βελτίωση της ποιότητας ζωής των ασθενών.

### ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Rodney J.Y. and Gibaldi M., *Biotechnology and Biopharmaceuticals*, Wiley InterScience, John Wiley and Sons, 2003, N. York, USA.
2. Thomson J.A., *et al.*, Embryonic stem cell lines derived from humans blastocysts, *Science*, 282:1145-1147 (1998).
3. Campbell K.H., McWhir J., Ritchie W.A. and Wilmut I., Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line, *Nature* 380: 64-66 (1996).
4. EMEA, *Guideline on Similar Biological Medicinal Products*, CHMP/437/04, London, 2005.
5. Venter J.C. *et al.*, The sequence of the human genome, *Science*, 291:1304-1351 (2001).

6. Schema M., *et al.*, Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray *Science*, 270: 467-450 (1995).
7. Weisberg E., Manley P.W., *et al.*, Second generation inhibitors of BCR-ABL treatment of imatinib-resistant chronic myeloid leukemia, *Nature Rev. Cancer*, 7:345-356 (2007).
8. Gurdon J.B., Byrne J.A., Simonsson S., Nuclear reprogramming and stem cell creation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100:suppl.1:11819-11822 (2003).