



MONOGRAFIE

GMO, czyli innowacyjne biotechnologie w medycynie XXI w.

Tomasz Twardowski

Instytut Chemii Bioorganicznej, Polska Akademia Nauk, Poznań
i Politechnika Łódzka, Łódź

GMO – innovative biotechnology in 21st century medicine

Summary

Genetically modified organisms are the key step for innovative medicines. The innovative drugs in the 21st century will be in the majority of proteins, nucleic acids and their combinations. The critical issues in case of biopharmaceuticals are quality and reproducibility of production. These aspects are evident in biosimilars (generics) and protection of intellectual property rights.

Key words:

biopharmaceuticals, biosimilars, red biotechnology, personalised medicine.

Genetycznie zmodyfikowane organizmy (GMO) przyciągają powszechną uwagę zarówno producentów, konsumentów, jak i polityków. Innowacyjne technologie „bio” są relatywnie nowym narzędziem, które stało się dostępne dla nas w drugiej połowie XX w. Określenie sekwencji genomów wielu organizmów umożliwiło podjęcie prac nad opracowaniem leków, które są konstruowane na bazie struktury białek chorobotwórczych oraz wiedzy o genomie pacjentów. W konsekwencji opanowania i zastosowania praktycznego zaawansowanych technologii, takich jak bioinformatyka, genomika, transkryptomika, możliwe stało się opracowanie i wyprodukowanie leków różnych klas, z których jako pierwsze opracowano preparaty hormonalne, a także metod diagnostycznych. Zasadniczymi komponentami takich preparatów są białka, czasami zdefiniowane fragmenty kwasów nukleinowych

Adres do korespondencji

Tomasz Twardowski,
Instytut Chemii
Bioorganicznej,
Polska Akademia Nauk,
ul. Noskowskiego 12/14,
61-704 Poznań;
e-mail:
twardows@ibch.poznan.pl

biotechnologia
MONOGRAFIE
5 (2009)

(DNA i/lub RNA), a najczęściej kombinacja białek. Najlepszym przykładem są przeciwciała, których znaczenie i rola w nowoczesnej diagnostyce i terapii jest po pierwsze, nie do przecenienia, a po drugie, coraz większa. Wzmiankowane nowoczesne technologie umożliwiły prace z coraz większymi i bardziej skomplikowanymi makrocząsteczkami. Jeżeli porównamy wielkość i stopień komplikacji makrocząsteczek to należy porównać, np. kwas acetylosalicylowy (znany pod nazwami komercyjnymi aspiryna i polopiryna) z białkami hormonalnymi takimi jak insulina czy też interleukina oraz przeciwciałami. Odzwierciedleniem stopnia złożoności tych molekuł jest ich ciężar cząsteczkowy: cząsteczkę wody charakteryzuje ciężar cząsteczkowy równy 18, dla kwasu acetylosalicylowego wartość ta wynosi 190, a dla białek hormonalnych jak insulina ok. 20 000, a dla przeciwciał nawet ok. pół miliona.

Istota problemu leży w tym, że bardzo niewielu ludzi potrafi podać, wyjaśnić, a jeszcze mniej zastosować wyrafinowane biotechnologie, a przecież produkty tych technologii są stosowane codziennie przez nas wszystkich. Dlatego tak krytyczne znaczenie ma stopień biobezpieczeństwa i zaufania społecznego do tych, którzy są odpowiedzialni za dopuszczenie tych preparatów do ogólnego obrotu komercyjnego i stosowania metod weryfikacyjnych oraz jak najszersze zrozumienie podstaw molekularnych innowacyjnych technologii.

Inżynier genetyczny charakteryzuje określoną właściwość (cechę), np. białko hormonalne, jako gen, czyli zdefiniowaną cząsteczkę chemiczną, która może być syntetyzowana lub izolowana z materiału biologicznego, a następnie namnażana, jak również modyfikowana i wprowadzana do genomu innego organizmu, który dzięki tej operacji molekularnej nabywa właściwości zaplanowanych przez inżyniera genetyka. W przypadku farmacji i medycyny mamy do czynienia z kwestią akceptacji i zaufania społecznego. Równolegle powszechność stosowania leków i środków diagnostycznych wywołuje produkcję środków w formie generyków i biosimilarów, jak również w pełni świadomie produkowanych fałszywych preparatów. Doskonale ilustruje to zagadnienie przykład powszechnego występowania na rynku preparatów sprzedawanych nagminnie przez internet (np. odpowiedników wiagry). Z technicznego punktu widzenia możliwa jest „chałupnicza” produkcja leków białkowych. Natomiast niemożliwa jest w takich warunkach właściwa kontrola techniczna jakości i właściwości biologicznych. Pozorna prostota produkcji preparatów biologicznych związana jest jednocześnie z bardzo zaawansowaną technologią wymaganą dla pełnego zachowania reproduktywności cyklu produkcyjnego.

Najważniejsze zagadnienia związane z produkcją i charakterystyką dotyczącą biofarmaceutyków są takie same jak były dawniej w odniesieniu do leków niskocząsteczkowych, aczkolwiek doszły nowe aspekty. Może też mieć miejsce szczególne zogniskowanie uwagi na specyficznych kwestiach, charakterystycznych dla preparatów wysokocząsteczkowych; w szczególności:

- charakterystyka molekularna (oznaczenie sekwencji nukleotydów, aminokwasów oraz struktury rentgenograficznej);



Rys. Ilustracja etapów pracy od odkrycia naukowego do rejestracji leku z uwzględnieniem procentowego podziału kosztów na poszczególnych etapach.

- proces wytwarzania i jego reproduktywność;
- (bio)bezpieczeństwo produktu i cyklu produkcyjnego;
- skuteczność i reproduktywność efektu biologicznego.

W odniesieniu do każdej makrocząsteczki wszystkie te zadania godne są ciekawego projektu badawczego, jednakże w odniesieniu do cyklu produkcyjnego konieczna jest pełna reproduktywność wszystkich parametrów. Należy jednocześnie uwzględnić, że produkcja związana jest z żywymi organizmami, których cechą charakterystyczną jest zdolność do samoistnych mutacji.

Nasuwa się naturalne pytanie: jak powstały biofarmaceutyki? Z całą pewnością produkty naturalne stosowaliśmy od dawna, znacznie wcześniej aniżeli opracowaliśmy tę nazwę i zrozumieliśmy sens samego terminu. Jednakże świadome stosowanie związków o dużym ciężarze cząsteczkowym i wykorzystywanie ich właściwości w praktyce to nie to samo. Z pewnością deaktywacja termiczna lub zastosowanie odczynników chemicznych (jak fenol) stosowane do produkcji szczepionek to metody XX w. Pierwotna produkcja szczepionek przeciwko ospie z zastosowaniem deaktywacji preparatu pobieranego z krost była generalnie efektywna, aczkolwiek nie zostały spełnione zasadnicze kryteria, które wymagane są przez współczesny przemysł biotechnologiczny: reproduktywność preparatów, biobezpieczeństwo i zdefiniowanie bioaktywności. Te zasadnicze parametry możemy współcześnie określać dzięki zrozumieniu biologii molekularnej. Nowoczesna koncepcja tworzenia, konstruowania szczepionek lub terapii polega na znalezieniu komponentu lub etapu

krytycznego dla rozwoju danego procesu chorobowego, przykładowo dla rozwoju wielu wirusów RNA takim enzymem jest odwrotna transkryptaza, a zatem czynnik blokujący mechanizm działania winien zablokować rozwój całego wirusa traktowanego jako makrocząsteczka. Można to uzyskać wieloma sposobami, ale szczególnie ciekawe są te, które bazują na zrozumieniu jego mechanizmu. Przykładem takiego podejścia jest metoda SELEX. W ramach tej metody realizujemy stopniowe dopasowywanie cząsteczki oligonukleotydu do struktury białka: w momencie rozpoczęcia eksperymentu mamy mieszaninę wszystkich możliwych struktur (tzw. synteza random). Poprzez wielokrotne wiązanie i odmywanie uzyskujemy stopniową eliminację cząsteczek, które nie są dopasowane do celowego białka. W ten sposób możemy dokonać selekcji bardzo specyficznym wybranej molekule, określanej w tej procedurze terminem „aptamer”. Jest to z pewnością celowa, adresowana metoda selekcji cząsteczek lub nawet jednej konkretnej molekule o zaplanowanych właściwościach, dostosowanej do indywidualnych potrzeb i metod terapii.

Prezentowana procedura umożliwia jednocześnie określenie podstawowej różnicy pomiędzy lekami stosowanymi do tej pory a biofarmaceutykami. W odniesieniu do standardowych leków powszechnie stosowanych współcześnie mamy do czynienia z cząsteczką o cechach, które możemy określić jako uniwersalne. Przykładowo antybiotyk jest selektywnie toksyczny dla określonych lub (prawie) wszystkich bakterii, przy czym współczynnik jego specyficzności jest relatywnie niski. W przeciwieństwie do antybiotyków wyselekcjonowane aptamery są specyficznym dopasowane do żądanej struktury cząsteczki bezpośrednio związanej z określoną jednostką chorobotwórczą. Oczywiście, nie jest to metoda uniwersalna, łatwa i niezawodna. Natomiast otwiera zupełnie nowe możliwości, perspektywy i stwarza warunki techniczne pozyskiwania nowych preparatów do tej pory nieosiągalnych dla naukowców. Przede wszystkim istnieje możliwość opracowania metod zindywidualizowanych i precyzyjnie dopasowanych do konkretnej jednostki. Niestety, współczesne metody są kosztowne i wiążą się z bardzo wysokimi kwalifikacjami personelu wykonującego określone procedury. Niezbędne jest zaplecze laboratoryjne jak i bioinformatyczne, ogólnie formułując szerokie i technicznie zaawansowane zaplecze logistyczne.

Kompleks omawianych zagadnień określany jest często nowym terminem: farmakogenomika, a zatem obejmujący połączenie szeregu nowoczesnych dziedzin biologii na potrzeby farmacji i medycyny: bioinformatyki, genomiki, proteomiki, krystalografii i wielu innych. Równolegle można sformułować tezę, że współczesna medycyna i farmacja nie oferują lepszej albo innej alternatywy rozwoju aniżeli oparcie przyszłej produkcji leków na dogłębnej znajomości mechanizmów molekularnych. W przeszłości postęp opierał się na wykorzystywaniu wiedzy zakumulowanej przez minione pokolenia, na tradycji i kojarzeniu faktów naukowych, zasadniczo nie związanych z daną jednostką chorobową. Obecnie stawiane są pytania w zupełnie odwrotnej kolejności, a mianowicie gdy stwierdzona jest dana jednostka chorobowa szukamy jej podłoża molekularnego: w mechanizmie dziedziczenia, w struktu-

rze wirusa lub bakterii czy też toksycznych właściwościach związków obecnych w środowisku wokół nas. Po zidentyfikowaniu przyczyny szukamy elementów i/lub etapów krytycznych dla rozwoju procesu chorobowego, a następnie czynników (cząstek) będących potencjalnymi regulatorami tego mechanizmu. Wykrycie, wydzielenie i identyfikacja takiego czynnika umożliwia przejście do kolejnego etapu, czyli optymalizacji działania tego specyfiku, a następnie jego wytwarzania i produkcji. Uwzględnienie specyficznych parametrów chorego, znajomość genomu pacjenta czy też charakterystyka molekularna specyficznego czynnika chorobotwórczego, prowadzi do celu jakim jest medycyna personalizowana. Zasadnicze znaczenie ma również uwzględnienie parametrów demograficznych czy też środowiskowych. W każdym jednak przypadku realizacja zadania jest związana z uwzględnieniem jednostkowo określanych warunków molekularnych.

Cechą charakterystyczną nowoczesnej biopreparatyki jest unikatowość warunków. Z jednej strony mamy tzw. łagodne warunki (jak przykładowo niska temperatura, pH), a z drugiej podstawowy komponent, czyli zazwyczaj genetycznie zmodyfikowany mikroorganizm, co wymaga bardzo jednoznacznie zdefiniowanych warunków do reprodukcji i namnażania, a przez to do wytwarzania pożądanego komponentu. Nawet niewielkie lub krótkotrwałe modyfikacje warunków mogą prowadzić do zasadniczych zmian właściwości, np. poprzez mutacje. Dlatego bardzo surowy reżim produkcyjny ma podstawowe znaczenie dla zachowania niezmiennych cech oryginalnego produktu. W tym kontekście zasadnicza kwestia to produkcja leku **oryginalnego**, który podlega pełnej i surowej kontroli w trzech etapach badań klinicznych, a następnie podlega nadzorowi porejestracyjnemu. Aczkolwiek od 2007 r. Komisja Europejska wymaga badań klinicznych w odniesieniu do preparatów biopodobnych, jednakże testy dotyczące leków generycznych nadal są bardziej tolerancyjne i znacznie mniej kosztowne, aniżeli badania leków oryginalnych. Leki generyczne i biopodobne są równocześnie bardzo ważne dla naszej gospodarki, a zwłaszcza dla chorych i budżetu szpitali.

Biotechnologia w medycynie XXI w. związana jest z rozwojem wielu innowacyjnych technik bioanalitycznych, jak przykładowo: bioanaliza, bioinformatyka, biofarmaceutyki, biobezpieczeństwo, a suma tych metod prowadzi do biotechnologii i bioprodukcji, a zatem nowoczesnych biofarmaceutyków. Lepsze zrozumienie mechanizmów molekularnych choroby prowadzi do rozwoju medycyny personalizowanej, który determinowany jest postępem wiedzy o molekularnym podłożu chorób. Poznajemy coraz więcej genów odpowiedzialnych za rozwój poszczególnych chorób, których identyfikacja prowadzi do optymalnych celów terapeutycznych. Identyfikacja biomarkerów prognostycznych i predykcyjnych stwarza możliwości nowoczesnych, celowanych terapii. Patogeneza chorób na poziomie molekularnym prowadzi do celu medycyny personalizowanej: leczenia chorego, a nie choroby, jak to obecnie ma miejsce. Doskonałą ilustracją tego postępowania jest zrozumienie mechanizmów molekularnych powstawania nowotworu. Diagnostyka onkologiczna umożliwia detekcję, stratyfikację grup ryzyka i racjonalizację terapii. W odniesieniu

do chorób zakaźnych określenie właściwości subpopulacji w korelacji z charakterystyką molekularną wirusa ma podstawowe znaczenie medyczne jak i ekonomiczne. Bioinformatyka stwarza realną szansę bezpiecznego, specyficznego i efektywnego leku dla wielu milionów ludzi. Skomplikowany proces opracowania, produkcji i analityki wymaga zaawansowanej logistyki producentów.

Podsumowując można i należy stwierdzić, że postęp nauk podstawowych umożliwił powstanie zupełnie nowych perspektyw rozwoju w produkcji leków, w szczególności w medycynie ukierunkowanej i personalizowanej, czy też w odniesieniu do konkretnych wirusów lub bakterii. Skutki tego stanu rzeczy mają podstawowe znaczenie zarówno dla postępu nauki i rozwoju medycyny, jak również wymagają bardzo dużego zaangażowania intelektualnego aby osiągnąć maksymalne efekty i korzyści. Jednocześnie można z dużym przekonaniem stwierdzić, że nie ma obecnie innej drogi rozwoju, która oferowałaby równie wspaniałe perspektywy rozwoju i niekonwencjonalne możliwości postępu.