

**UNIVERZITET U BEOGRADU**

**FARMACEUTSKI FAKULTET**



mr Dragica Knežević Ilić

**KOMPARATIVNA ANALIZA PROCESA, SISTEMA  
I REGULATIVA U IZRADI I PRIMENI MATIČNIH  
ĆELIJA I DRUGIH ĆELIJSKIH TERAPIJA**

---

doktorska disertacija

Beograd, 2013.

**UNIVERSITY OF BELGRADE**

**FACULTY OF PHARMACY**

Dragica Knežević Ilić BSc MSc MBA

**COMPARATIVE STUDY OF PROCESSES,  
SYSTEMS AND REGULATIONS IN  
MANUFACTURING AND APPLICATION OF  
STEM CELLS AND OTHER CELL THERAPIES**

---

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2013

**KOMISIJA:**

Mentor

---

Dr Snežana Savić, vanredni profesor  
Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski  
fakultet

Mentor

---

Dr Ljiljana Tasić, redovni profesor  
Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski  
fakultet

---

Datum odbrane

---

Dr Bela Balint, naučni savetnik  
Načelnik Instituta za transfuziologiju i  
hemobiologiju Vojnomedicinske  
akademije u Beogradu

*Ova doktorska disertacija je urađena na Katedri za farmaceutsku tehnologiju i Katedri za socijalnu farmaciju i istraživanja farmaceutske prakse Farmaceutskog fakulteta u Beogradu, u saradnji sa School of Pharmacy, Pharmaceutical Center of Excellence, PACE - University of Queensland, Brisbane, Australia.*

*Pre svega, želim posebno da se zahvalim svojim mentorima prof. dr Ljiljani Tasić i prof. dr Snežani Savić, pod čijim rukovodstvom je izrađena ova disertacija, na nesebičnoj pomoći, razumevanju, savetima i podršci koje su mi pružile kao i prof. dr Beli Balintu na ukazanom poverenju i stručnoj pomoći sa kliničkog aspekta.*

*Zahvalnost dugujem i svojim kolegama sa Univerziteta u Kvinslendu među kojima se nalaze prof. dr Kerry Atkinson, prof. dr Evan Siegel i mnogi drugi.*

*Posebnu zahvalnost dugujem svim učesnicima u istraživanju čija imena, na osnovu etičkih principa istraživanja, nisam u mogućnosti da navedem. Bez njihovog doprinosa ovo istraživanje ne bi imalo isti značaj i sveobuhvatnost.*

*Zahvaljujem se kolegama na Farmaceutskom fakultetu i Vojnomedicinskoj Akademiji u Beogradu kao i rukovodstvu i kolegama sa Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Kvinslendu (School of Pharmacy, University of Queensland, Brisbane) na saradnji i pruženoj podršci tokom izrade doktorske disertacije. Veliku zahvalnost dugujem i administrativnom osoblju na oba fakulteta, tehničkom osoblju i kolegama na poslediplomskim studijama.*

*Inspiraciju i motivaciju, nesebičnu ljubav, kao i sveprisutnu podršku i pomoć za izradu ove disertacije su mi pružili članovi moje porodice na čemu sam im beskrajno zahvalna.*



## IZVOD

Terapije matičnim ćelijama i drugim vrstama ćelija se mogu uvrstiti u grupu novih bioterapeutika za koje se smatra da će u sledećoj dekadi značajno uvećati mogućnost izlečenja mnogih oboljenja. Uz to, ćelijske terapije ili terapije bazirane na upotrebi matičnih i drugih ćelija obuhvataju novo polje u oblasti medicine, farmacije i razvoja bioterapeutskih sredstava. Ove terapije uključuju izradu i primenu različitih tipova ćelija kao nove kategorije bioloških lekova. Ćelijske terapije koje se koriste u terapeutske svrhe moraju da budu okarakterisane, prikupljene, procesovane, čuvane, transportovane i primenjene. Svaki od ovih koraka mora da obuhvati protokole koji će osigurati njihov integritet i kvalitet. Zbog toga se očekuje da se izradi i primeni ovih terapija pridje na isti način kao i proizvodnji drugih terapeutskih sredstava u farmaceutskoj industriji - kako uključujući odgovarajuće fizičko okruženje, tako i neophodne protokole i procedure obuhvaćene složenim sistemima kvaliteta. Ipak, u nizu svojih primena, ćelijske terapije koje se koriste u medicini uglavnom su još uvek okarakterisane kao eksperimentalne terapije.

Transplantacija matičnih ćelija iz periferne krvi (HSC) nakon ablativnih terapija je jedna od retkih ustanovljenih kliničkih procedura koja se već duže vreme koristi sa ciljem da se uspostavi hematopoeza nakon inicijalne faze oporavka krvnih ćelija u cirkulaciji i da se uspostavi njihov fiziološki status i broj neophodan za suzbijanje infekcija, krvavljenja i anemije. Broj indikacija za primenu visokih terapijskih doza u hematološkim i drugim malignitetima je u porastu i u direktnoj je srazmeri sa potrebom za smanjenjem troškova ovakvih terapija, njihovom pristupačnošću i pojednostavljenjem rutinskih laboratorijskih procedura koje podrazumevaju zamrzavanje i čuvanje ćelija. Adultne mezenhimske matične/stromalne ćelije se, za razliku od embrionalnih matičnih ćelija bez većih etičkih dilema tradicionalno dobijaju iz kostne srži i ne formiraju tumore, ali se relativno sporo umnožavaju i sa odredjenim ograničenjima ulaze u proces diferencijacije. Mezenhimske ćelije se relativno lako izoluju i uzgajaju. Zahvaljujući svojoj multipotentnosti, parakrinom efektu, imunomodulatornim svojstvima i migracijskim sposobnostima, ove ćelije su u stanju da obezbede relativno nove pravce u razvoju ćelijskih terapeutika. Dendritične ćelije (DC) su antigen prezentujuće ćelije prisutne u gotovo svim tkivima. Ove ćelije prezentuju antigene na svojoj površini i mogu indukovati imunski sistem aktivirajući CD8+ i CD4+ T ćelije u okviru snažnog anti-tumorskog odgovora. Nove generacije matičnih ćelija, kao što je uspešno reprogramiranje različitih telesnih tj. somatskih ćelija u stanje pluripotentnosti bi moglo da omogući stvaranje pacijent- specifičnih ili oboljenje- specifičnih matičnih ćelija. Shodno svojim karakteristikama i ogromnom interesovanju istraživača, indukovane pluripotentne matične ćelije (iPS) imaju potencijal da dramatično utiču na nove pristupe u razvoju terapeutika pre svega u regenerativnoj medicini. Primena matičnih ćelija nudi ogroman potencijal u lečenju kako naslednih oboljenja tako i stečenih i degenerativnih oboljenja, ali idealan pristup i postupak za dobijanje ove vrste ćelija jos uvek nije otkriven. U poredjenju sa nekim standardnim terapeutskim sredstvima, ćelijske terapije nose drugačije rizike, imaju veoma specifične procese proizvodnje, kontrole kvaliteta i upotrebe, kao i mnoga već aktuelna ali i anticipirana etička razmatranja.

Nakon što su analizirani zakonsko regulatorni modeli i opseg kliničkih istraživanja, prikazane savremene laboratorijske procedure i održivi organizacioni sistemi za njihovu podršku – izvršeno je teorijsko modelovanje, koje može da se koristi u svrhe planiranja i predviđanja; takodje je izveden praktični model evaluacije kliničke procedure u oblasti prikupljanja i obrade ćelijskih terapija. Ovakav pristup do sad nije zabeležen u literaturi, što izdvaja ovo istraživanje uz njegovu multidisciplinarnost i sveobuhvanost.

Razvijena metodologija predstavlja značajan doprinos u daljem razvoju kliničko laboratorijskih modela za izradu novih terapeutskih sredstava baziranih na izradi i primeni ćelijskih terapija, kao i za razvoj novih kliničkih istraživanja u istoj oblasti. Modelovanje karakteristika i procesa u okviru izrade i primene ćelijskih terapija omogućuje dalji razvoj teorijske platforme za unapredjenje novih kliničkih pristupa (upotrebe bioterapeutika), praktično izvođenje ovih skupih i kompleksnih procesa u strogo kontrolisanom okruženju, u najkraćem mogućem roku i uz najmanje moguće troškove - dovodeći time do njihove šire primene i mogućnosti učešća projekata iz naše zemlje u Evropskim fondovima za razvoj srodnih kliničkih istraživanja i inicijativa vezanih za napredne terapije (ATMPs).

**Ključne reči:** matične ćelije, ćelijske terapije, laboratorijski protokoli, klinički pristupi, zakonske regulative.

## ABSTRACT

Cellular therapies, cell and tissue-based therapies incl. tissue engineering encompasses a broad rapidly growing field of medicine, regenerative medicine and (bio)pharmaceutical industry that involves the manipulation and administration of cells for the treatment of disease. This field can be categorized in various ways, based on - the starting cell population, the type of cells generated in the process, the disease or organ targeted, the type of manipulation or the complexity of manipulation (e.g. basic or minimally-manipulated to highly-manipulated). Common features of all cell therapies (used as therapeutics) are requirements that source cells be identified, collected, processed, stored, transported, and administered. Each step must incorporate procedures that ensure that the integrity of the end product is maintained. Hence, approach to the production of a biopharmaceutical drug or advanced therapy medicinal product - including requirements that the entire process occur in appropriate physical environments with protocols and procedures linked to high-level quality systems. In many cases, the manipulation of human cells to produce cellular therapeutic products is, with a few exceptions, still considered an experimental therapy.

Supportive reinfusion of haematopoietic stem and progenitor cells following ablative therapy ultimately aims to re-establish haematopoiesis following an initial recovery of end-stage blood circulating cells to a level necessary for reducing the risk of side-effects, such as infections, bleeding or anaemia. The expanding indications of high-dose therapy in hematologic and non-hematologic malignancies are associated with an increasing request for simplification and cost reduction of routine freezing procedures. Adult mesenchymal stem/stromal cells (MSC) are traditionally derived from bone marrow free of ethical concerns and do not form tumours, but grow more slowly and with limited differentiation potential. MSC are relatively easy to isolate and expand in culture, and due to their multipotency, paracrine effects, immunomodulatory properties and migratory behavior, are likely to provide novel therapeutic alternatives. Dendritic cells (DC) are antigen-presenting cells present in nearly all tissues. Dendritic cells present antigens and can induce immune response by activating both CD8<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> T cells to develop a potent antitumor response. Successful reprogramming of differentiated human somatic cells into a pluripotent state may allow creation of patient- and disease-specific stem cells. The data suggest that induced pluripotent stem cells (iPS) should be considered a unique subtype of pluripotent cells. The iPS have potential to revolutionise new therapeutic approaches and regenerative medicine, as they may be derived into all three germ layers in vitro but since derived from adult cells – the research and downstream applications are not encumbered by ethical objections. Stem cells hold great promise to treat a wide range of unmet medical needs in hereditary, acquired and degenerative human disease but the optimal source remains unclear. In comparison with some standard therapeutics (small molecules or protein-based drugs), cell therapies are not entirely characterised products, often manufactured/tested in “real-time”, have costly and labour-intensive laboratory processes, QA and QC methods. Production process of an effective cell therapy treatment is often long, expensive and individualized or tailored for a particular patient (e.g. autologous cell therapies), it cannot be obtained on a large scale, seldom easily characterised or prepared in advance. These characteristics often bring additional risks and unknowns to the cell therapy application in the clinical area or the clinical research.

Following analysis of regulatory frameworks, range and type of current clinical trials, three different laboratory and clinical protocols were analysed in addition to feasible organisational models supporting development of cell therapies projects and applications. Theoretical models were developed for the purpose of planning and forecasting; a practical model/ method was utilised to assess efficiency and reliability of a clinical procedure used in cell therapy manufacturing. This approach and a range of used methodologies were not previously described in literature, which makes the research unique along with its multidisciplinary and comprehensive features. Methodology used in this research could significantly contribute further advancement of clinical and laboratory protocols for new biotherapeutics through an efficient translational research approach. Proposed theoretical and practical models could be utilized both globally and locally. If implemented, it would enable establishing mechanisms necessary for obtaining EU funding for cell therapy-based and other advanced therapy medicinal products based (ATMPs) projects developed in the country.

**Key words:** stem cells, cell therapies, laboratory protocols, clinical applications, regulatory frameworks.

**Naučna oblast:** Farmacija

**Uža naučna oblast:** Farmaceutska tehnologija / Socijalna farmacija i istraživanje farmaceutske prakse

**UDK broj:** 611.018.1 : 577.2 : 616-85 (043.3)

# SADRŽAJ

Izvod

Abstract

Sadržaj

## I OPŠTI DEO

<b>1.0 Uvod</b>	1
<b>1.1 Matične ćelije i ćelijske terapije: definicija, razvoj, karakterizacija i pregled terminologije (eng. <i>Definitions &amp; Terminology</i>)</b>	
1.1.1 Definicija: matične ćelije i druge ćelijske terapije	4
1.1.2 Istorijski razvoj ćelijskih terapija	5
1.1.3 Karakterizacija i tipovi matičnih ćelija i ćelijskih terapija	7
1.1.3.1 Totipotentne matične ćelije	7
1.1.3.2 Pluripotentne matične ćelije	8
1.1.3.3 Multipotentne matične ćelije	8
1.1.3.3.1 Matične ćelije hematopoeze	9
1.1.3.3.2 Hematopoeza	10
1.1.3.3.3 Matične ćelije iz krvi pupčanika	12
1.1.3.3.4 Mezenhimske matične/stromalne ćelije	13
1.1.4 Terminologija	15
<b>1.2 Metode u izradi i primeni matičnih ćelija i ostalih ćelijskih terapija (eng. <i>Clinical &amp; Lab Science</i>)</b>	17
1.2.1 Klinički pristupi u prikupljanju biološkog materijala za izradu matičnih ćelija i ćelijskih terapija	17
1.2.1.1 Separacija ćelija krvi i drugih krvnih komponenti: afereza	21
1.2.1.2 Aspiracija ćelija kostne srži	22
1.2.1.3 Alternativne metode u prikupljanju biološkog materijala za izradu ćelijskih terapija: upotreba placente	23
1.2.2 Izrada konvencionalnih terapija matičnim ćelijama uz minimalnu manipulaciju (eng. <i>Peripheral Blood Stem Cells, PBSC/Haematopoietic Stem Cells, HPC</i> )	24
1.2.3 Složene metode u izradi ćelijskih terapija: visoko manipulisane ćelije	24
1.2.4 Novi pristupi u izradi matičnih ćelija: indukovane pluripotentne ćelije (iPS)	26
<b>1.3 Kontekst i principi u izradi ćelijskih terapija: farmacija, biotehnologija i regenerativna medicina (eng. <i>Biotechnology, Cell Therapy &amp; Regenerative Medicine</i>)</b>	27
1.3.1 Kontekst	27
1.3.2 Problematika izrade ćelijskih terapija	30
1.3.3 Osnovni principi kvaliteta u farmaceutskoj industriji i u izradi naprednih terapija: dobra proizvodjacka praksa i sistemi kvaliteta	33

1.3.4 Principi regulatorne nauke u farmaciji i naprednim terapijama (eng. <i>Regulatory Science and Advanced Therapies</i> )	34
<b>1.4 Kvalitet, efikasnost i bezbednost: terapije matičnim ćelijama i novi regulatorni principi (eng. <i>Principles of Regulatory Science</i>)</b>	<b>36</b>
1.4.1 Globalni pristup i definicija osnovnih zakonskih regulativa u izradi ćelijskih terapija	38
1.4.1.1 Model zakonskih regulativa u Sjedinjenim Američkim Državama	38
1.4.1.2 Model zakonskih regulativa u Australiji	41
1.4.2 Model zakonskih regulativa u Evropskoj Zajednici	44
1.4.3 Model zakonskih regulativa u Srbiji	48
<b>1.5 Novi pristupi i trendovi u istraživanju</b>	<b>50</b>
1.5.1 Najnoviji pristupi razvoju terapija matičnim ćelijama i drugim ćelijskim terapijama (eng. <i>Stats &amp; Trends</i> )	50
1.5.2 Primena kvalitativne metodologije istraživanja u analizi globalnog i multidisciplinarnog pristupa razvoju ćelijskih terapija (eng. <i>Qualitative research</i> )	52
1.5.3 Doprinos ovog istraživanja	54
<b>2. Ciljevi istraživanja</b>	<b>56</b>

## II EKSPERIMENTALNI DEO

<b>3. Dizajn i metode</b>	<b>58</b>
3.1 Materijali	58
<b>3.1.1 Materijali za komparativnu analizu 1</b>	<b>58</b>
3.1.1.1 Materijali za analizu zakonsko-regulatornih modela	58
3.1.1.2 Materijali za analizu kliničkih istraživanja	60
<b>3.1.2 Materijali za komparativne analize 2 i 3</b>	<b>60</b>
3.1.2.1 Materijali za analizu modela laboratorijsko-kliničkih protokola	60
3.1.2.2 Materijali za analizu laboratorijsko-organizacionih modela	61
<b>3.1.3 Materijali za komparativne analize 4 i 5</b>	<b>62</b>
3.1.3.1 Materijali za analizu percepcije i problematike oblasti	62
3.1.4.1 Materijali za modelovanje pristupa i rešenja	63
3.2 Metode	63
<b>3.2.1 Analiza dokumenata</b>	<b>64</b>
3.2.1.1 Analiza zakonsko regulatornih modela	64
<b>(KOMPARATIVNA ANALIZA 1)</b>	
3.2.1.2 Analiza kliničkih istraživanja	65
<b>(KOMPARATIVNA ANALIZA 1)</b>	
<b>3.2.2 Pojedinačna i uporedna analiza slučaja</b>	<b>66</b>
3.2.2.1 Pojedinačna analiza laboratorijsko-kliničkih protokola	66
<b>(KOMPARATIVNA ANALIZA 2)</b>	

3.2.2.2 Usporedna analiza laboratorijsko-organizacionih modela	66
(KOMPARATIVNA ANALIZA 3)	
<b>3.2.3 Tematska i fenomenološka analiza uz analizu izvodjenja teorije bazirane na podacima iz prakse</b>	66
3.2.3.1 Analiza percepcije i problematike oblasti: praktični pristupi i rešenja	66
(KOMPARATIVNA ANALIZA 4)	
3.2.3.2 Teorijsko modelovanje	67
(KOMPARATIVNA ANALIZA 5)	
3.2.3.3 Evaluacija kliničke metode	68
(KOMPARATIVNA ANALIZA 5)	
<b>4. Rezultati i diskusija</b>	70
<b>4.1 Komparativna analiza 1: Poredjenje sadržaja zakonsko regulatornih odredbi i ispitivanje obima i pravca kliničkih istraživanja</b>	70
4.1.1 Sadržaj reprezentativnih zakonskih regulativa i podzakonskih akata	70
4.1.2 Teme i koncepti reprezentativnih zakonskih regulativa i podzakonskih akata	75
4.1.3 Geografska distribucija kliničkih istraživanja	87
4.1.4 Trendovi u kliničkim istraživanjima prema tipu ćelijskih terapija	90
<b>4.2 Komparativna analiza 2: Karakterizacija laboratorijsko kliničkih protokola</b>	95
4.2.1 Protokol za izradu i primenu matičnih ćelija hematopoeze izolovanih iz periferne krvi	96
4.2.2 Protokol za izradu i primenu mezenhimskih matičnih/stromalnih ćelija izolovanih iz placente	100
4.2.3 Protokol za izradu i primenu anti-tumor vakcina baziranih na primeni antigen prezentujućih dendritičnih ćelija	104
<b>4.3 Komparativna analiza 3: Struktura i primena specifičnih organizacionih modela</b>	108
4.3.1 Karakteristike ne-komercijalnog organizacionog modela	108
4.3.2 Karakteristike komercijalnog organizacionog modela	109
4.3.3 Karakteristike kombinovanog organizacionog modela	111
<b>4.4 Komparativna analiza 4: Procena percepcije i problematike oblasti</b>	114
4.4.1 Segmenti podataka (1):	115
Poslovni i finansijski aspekti uz osnovna razmatranja (eng. <i>Business Models, Funding, Strategic Decision Making &amp; Main Considerations</i> )	
4.4.2 Segmenti podataka (2):	118
Uspostavljanje saradnje sa partnerima i druga razvojna problematika (eng. <i>Partnerships, Main Challenges for the Industry, Science, Technology, Tech Transfer &amp; Up Scaling</i> )	
4.4.3 Segmenti podataka (3):	121
Primena zakonsko regulatornih odredbi i percepcija njihovog razvoja (eng. <i>Regulatory Compliance &amp; Regulatory Landscape</i> )	
4.4.4 Segmenti podataka (4):	122
Osnovne teme i kategorije (eng. <i>Frequent themes and categories</i> )	
4.4.5 Segmenti podataka (5):	124
Utemeljenje rezultata u podacima (eng. <i>“Grounding” the data</i> )	

<b>4.5 Komparativna analiza 5: Modelovanje pristupa i rešenja u svrhu predvidjanja i planiranja</b>	131
4.5.1 Teorijski model 1	131
4.5.2 Teorijski model 2	132
4.5.3 Praktični model: evaluacija kliničke metode	137
<b>4.6 Diskusija</b>	141
<b>5. Zaključci</b>	156
<b>6. Literatura</b>	i-xii
<b>7. Prilozi tezi</b>	
Prilog 1: Lista skraćenica i definicija	
Prilog 2: Rečnik termina i izraza (englesko- srpski)	
Prilog 3: Lista tabela i slika	
Prilog 4: Visoko manipulisane ćelije MSC	
Prilog 5: Visoko manipulisane ćelije DC	
Prilog 6: Regulatorne agencije (FDA, TGA, EMA)	
Prilog 7: Ostali regulatorni standardi, preporuke i pravilnici	
Prilog 8: Mogućnosti primene i kompleksnost ćelijskih terapija	
Prilog 9: Metodološki pregled	
Prilog 10: Methodology Overview ( <i>eng.</i> )	
Prilog 11: Primer standardne operativne procedure za izradu minimalno manipulisanih ćelija	
Prilog 12: Primer standardne operativne procedure za izradu visoko manipulisanih ćelija 1	
Prilog 13: Primer standardne operativne procedure za izradu visoko manipulisanih ćelija 2	
Prilog 14: Pregled najvažnijih GMP elemenata u izradi visoko manipulisanih ćelija za primenu u kliničke svrhe	
Prilog 15: Primer liste za GMP inspekciju	
Prilog 16: Rezultati korelacione analize dokumenata	
Prilog 17: Dodatni rezultati iz analize intervjua	
Prilog 18: Dodatne mape iz pretrage baze podataka	
Prilog 19: Biografija autora	
Prilog 20: Izjava o autorstvu	
Prilog 21: Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorske disertacije	
Prilog 22: Izjava o korišćenju	

# I OPŠTI DEO

## 1.0 Uvod

Ćelijske terapije (eng. *cell or cellular therapies*) i razvoj regenerativne medicine (eng. *regenerative medicine*) obuhvataju novo polje u oblasti medicinskih, (bio)farmaceutskih i bioloških nauka. Bazirane su na upotrebi matičnih (eng. *stem cells*) i drugih vrsta ćelija u terapeutske svrhe. U budućnosti se očekuje njihova ekspanzija i sve šira klinička primena<sup>§</sup>.

Primena ćelijskih terapija uključuje prikupljanje, obradu i čuvanje različitih tipova ćelija kao novih terapeutskih sredstava (Burger, 2003b; Wall, 2003; Prince, 2004) što ih na odredjeni način svrstava ne samo u oblast biofarmaceutskih nauka i izrade bioterapeutika (eng. *biotherapeutics or biopharmaceuticals*) već i srodnih zakonsko regulatornih naučnih oblasti\* (eng. *regulatory science*)<sup>§</sup> (Burger, 2003b; Wall, 2003; Pamphilon, 2004; Dutton, 2007; Marwaha, 2007; Ilic, 2012a; Ilic, 2012b).

U najširem smislu, matične ćelije se mogu razvrstati na embrionalne (eng. *embryonal stem cells*) i adultne\* (eng. *adult stem cells*) dok se ćelijske terapije mogu kategorisati na osnovu nekoliko veoma različitih pristupa - prema početnoj populaciji ćelija koju koriste (npr. adipozne ćelije ili ćelije placente), prema tipu ćelija koji će biti kultivisan tokom procesa njihove izrade (npr. mezenhimske ćelije), na osnovu bolesti ili organa na koji se primenjuju (npr. lečenje neurodegenerativnih, autoimunskih oboljenja ili regeneracija srčanog mišića nakon infarkta miokarda) ili na osnovu nivoa manipulacije koji uključuju (od minimalno do visoko manipulisanih).

U nizu svojih primena, ćelijski bioterapeutici\* koji se koriste u medicini su još uvek uglavnom okarakterisani kao eksperimentalni deo terapije. Izuzetak predstavljaju transplantacije matičnih ćelija iz kostne srži i periferne krvi čiji se

---

<sup>§</sup> 2020: *A New Vision – A Future for Regenerative Medicine*, US Department of Health and Human Services: [www.dhhs.gov/reference/newfuture.shtml](http://www.dhhs.gov/reference/newfuture.shtml)

<sup>^</sup> *Guidance for industry: PAT – A framework for innovative pharmaceutical development, manufacturing, and quality assurance (2004)*: <http://www.fda.gov/cder/guidance/6419>

\* Dalja terminološka razmatranja se nalaze u posebnom poglavlju ove doktorske teze.



protokoli neprekidno usavršavaju (Serke, 1997; Balint, 1999; Hubel, 2001; Sartor, 2005; Hubel, 2006; Parkins, 2006; Rowley, 2009) a koje se već više decenija rutinski primenjuju u lečenju bolesnika sa malignim oboljenjima krvi, autoimunskim poremećajima i nekim tumorskim oboljenjima (Godlman, 1978; Reiffers, 1988; Eaves, 1992; Perseghin, 1997; Haylock, 1997; Roddie, 2002; Mimeault, 2006).

Matične ćelije i druge vrste ćelija, koje se koriste u terapeutske svrhe ili za klinička istraživanja, moraju da budu okarakterisane, prikupljene, procesovane, čuvane, transportovane i primenjene u strogo kontrolisanim uslovima (Wall, 2003; Pamphilon, 2004; Dutton, 2007; Marwaha, 2007; Ilic, 2012a; Ilic 2012b). Svaki od ovih koraka trebalo bi da obuhvati protokole koji će osigurati njihov integritet i kvalitet.

Sa zakonsko regulatornog aspekta, očekuje da se izradi i primeni ćelijskih terapija pristupi na isti način kao i proizvodnji drugih terapeutskih sredstava u farmaceutskoj industriji - kako uključujući odgovarajuće fizičko okruženje, tako i laboratorijske procedure obuhvaćene složenim sistemima kvaliteta u skladu sa propisanim zakonskim regulativama (Burger, 2000; Serke, 2001; Burger, 2003a; FDA, 2004<sup>^</sup>; Halme, 2006; Areman, 2009; Ilic, 2012).

Izrada ćelijskih terapija predstavlja kako tehnološki tako organizacioni i zakonsko regulatorni izazov (Wall, 2003; Areman, 2009). Modeli i modaliteti usmereni na zakonske regulative, koji uključuju jasno definisane i sveobuhvatne složene sisteme kvaliteta, pokazali su se kao održivi pristup i kao preduslov za uspešne projekte u izradi i primeni ćelijskih terapija na globalnom nivou. Da li će ove terapije dopreti do pacijenata, bilo u kliničkoj primeni ili u kliničkom istraživanju, u krajnjoj instanci zavisi od adekvatno kontrolisanih, organizaciono-finansijski isplativih tehnologija za njihovu izradu i aplikaciju (Mansbridge, 2006; Weber, 2006; Kirouac, 2008; Areman, 2009).

Ova doktorska disertacija obuhvata komparativnu studiju procesa, sistema i regulativa u izradi i primeni matičnih ćelija i drugih ćelijskih terapija kao novih terapeutskih sredstava namenjenih za primenu u kliničkim istraživanjima i za rutinsku kliničku primenu. Osnovni cilj istraživanja je da ponudi kako detaljan i sveobuhvatan protokol izrade i primene više vrsta ćelijskih bioterapeutika tako i modelovanje

rezultata uporedne i fenomenološke/ tematske analize u svrhu nastanka novih teorijskih pristupa i praktičnih modela<sup>§§</sup>. Ovo se obezbeđuje na osnovu četiri do pet kvalitativnih analiza, koje u okviru istraživanja uključuju:

- dokumentarnu analizu i pregled zakonsko regulatornih okvira u Evropi, Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) i Australiji;
- pregled baze podataka kliničkih istraživačkih projekata baziranih na primeni matičnih ćelija i drugih ćelijskih terapija u istom geografskom području;
- pojedinačnu analizu laboratorijsko-kliničkih procesa upotrebom *case study* metodologije,
- uporednu analizu različitih laboratorijsko-organizacionih modela (*cross-case study*) i fenomenološku/ tematsku analizu (*thematic analysis*) transkripata intervju sa stručnjacima koji su ili direktno uključeni u izradu ćelijskih terapija za kliničku primenu ili se bave oblastima razvoja bazičnih i kliničko-primenljivih bioloških i medicinskih istraživanja, bioetike i strateškog razvoja ćelijskih terapija za kliničku primenu<sup>§§</sup>.

Obzirom da je izrada efikasnih ćelijskih bioterapeutika često dug, kompleksan i skup proces, visoko prilagodjen svakom pacijentu tj. individualizovana terapija (eng. *individually customized therapy*) - nije uvek moguće obezbediti adekvatne uslove za njihovu pripremu (Tran, 2007; Mooney, 2008; Parson, 2008; Areman, 2009). Pored toga, u procesu izrade ćelijskih terapija uglavnom je teško u potpunosti okarakterisati finalni proizvod ili pripremiti ga unapred za specifičnu svrhu npr. za određeno oboljenje ili određenog pacijenta (Yamanaka, 2007). Složenost zakonsko regulatornih pristupa i modaliteta na globalnom nivou (Ilic, 2013a, 2013b), raznovrsnost naučno-tehnoloških pristupa i rizici u kliničkoj primeni ćelijskih terapija diktiraju visoko definisane laboratorijske procedure za njihovu izradu, obezbeđivanje značajnih novčanih sredstava i angažovanje tima stručnjaka u okviru svakog pojedinačnog projekta. Međutim, ovakva složenost i izvanredno visoka finansijska ulaganja, kao i brojni rizici u kliničkoj upotrebi ćelijskih bioterapeutika, mogli bi se značajno umanjiti primenom standardizovanih procesa i sistema, od kojih su neki ponudjeni u ovoj doktorskoj disertaciji.

---

<sup>§§</sup> Dalja metodološka razmatranja se nalaze u posebnom poglavlju ove doktorske teze.

## **1.1 Matične ćelije i ćelijske terapije: definicija, razvoj, karakterizacija i pregled terminologije (eng. *Definitions & Terminology*)**

### **1.1.1 Definicija: matične ćelije i druge ćelijske terapije**

Matične ćelije imaju potencijal da se razviju u više ćelijskih tipova u organizmu tokom procesa ranog rasta i razvoja. Uz to, služe kao unutrašnji sistem za obnovu jer su sposobne za praktično neograničeni broj deoba pri tome obnavljajući druge ćelije u organizmu tokom života. Kada se matična ćelija podeli, svaka nova ćelija ima potencijal da ostane matična ćelija ili da se diferencira u neki drugi ćelijski tip (uz ostvarivanje specijalizovane funkcije). Matične ćelije se razlikuju od ostalih ćelijskih tipova na osnovu dve osnovne karakteristike. Prvo, one su nespecijalizovane ćelije sposobne da se samoobnavljaju kroz deobu, ponekad i nakon vrlo dugog perioda neaktivnosti. Drugo, u određenim fiziološkim ili eksperimentalnim uslovima, matične ćelije mogu biti usmerene ka razvoju ćelija nekog specijalizovanog tkiva ili organa. U nekim organima, kao što je na primer epitel creva ili kostna srž, matične ćelije se neprestano dele i obnavljaju različite ćelijske tipove u tim tkivima ili organima. U drugim organima, kao što je na primer srce ili pankreas, matične ćelije se dele samo u specifičnim situacijama, uglavnom nakon povrede ili oštećenja.

Do nedavno naučnici su se uglavnom bavili istraživanjem dve vrste matičnih ćelija kod ljudi i na životinjskim modelima – primenjujući tako osnovnu podelu na embrionalne matične ćelije (eng. *embryonic stem cells, ESC*) i matične ćelije ne-embrionalnog porekla ili adultne matične ćelije (eng. *somatic/ adult stem cells, ASC*). Tehnika izolovanja embrionalnih matičnih ćelija iz embriona miša otkrivena je još 1981. godine od strane dve istraživačke grupe. Martin Evans i Matthew Kaufman, (eng. *Department of Genetics, University of Cambridge*), objavili su u julu 1981. godine novu tehniku za kultivisanje ćelija izolovanih iz uterusu miša pri tome uzgajajući embrionalne ćelije izolovane iz embriona. Zatim, u decembru iste godine Gail Martin, (eng. *Department of Anatomy, University of California, San Francisco*), objavljuje svoj rad sa sličnim rezultatima i po prvi put koristi termin embrionalne matične ćelije (eng. *Embryonic Stem Cell, EMS*) (Martin, 1981). Nakon iscrpnih istraživanja, grupa istraživaca pod rukovodstvom James Thomson-a, (eng. *University of Wisconsin-Madison*) 1998. godine uspostavila je prvu tehniku izolacije i kultivacije embrionalnih matičnih ćelija iz ljudskog embriona (Thomson, 1998).

U unutrašnjem sloju embriona starog 3 do 5 dana, koji se naziva blastocist (eng. *blastocyst*), nalaze se ćelije koje svojom deobom grade sve slojeve specijalizovanih ćelija u organima kao što su srce, pluća, koža, reproduktivni organi i sva druga tkiva. Smatra se da su ove, ili veoma slične ćelije, prisutne u kostnoj srži, mišićima, mozgu i drugim delovima odraslog organizma kao izvestan broj adultnih matičnih ćelija koje tokom čitavog života nadoknađuju različite ćelijske tipove u datim organima – usled normalnog obnavljanja ćelijskih populacija ili zbog nastalih povreda i oboljenja.

Embrionalne matične ćelije ljudi su u proteklom periodu intenzivno korišćene u procesima vantelesne oplodnje i u istraživačke svrhe. Pri tome su izazvale ogromnu pažnju naučne i opšte javnosti zbog potencijalnih dilema u okviru etičkih i zakonskih načela njihove primene.

Od 2006. godine pažnja naučnika i javnosti je ponovo usmerena na adultne matične ćelije jer je otkrivena tehnika genetskog “reprogramiranja” diferenciranih ćelija odraslog organizma (npr. fibroblasta kože) pri čemu se već diferencirane ćelije vraćaju u svoje “matično” stanje pri tome izražavajući osobine pluripotentnih matičnih ćelija embriona. Ovaj tip ćelija je nazvan indukovanim pluripotentnim matičnim ćelijama (eng. *induced pluripotent stem cells, iPS/ human-induced pluripotent stem cells, hiPSC*) (Patterson et al., 2012). Danas se iPS ćelije koriste u nizu istraživanja pri tome, do određene mere, zamenjujući kontraverznu upotrebu ljudskih embrionalnih matičnih ćelija.

### **1.1.2 Istorijski razvoj ćelijskih terapija**

Ćelijska teorija predstavlja fundamentalni aspekt moderne biologije, obavezni i implicitni deo našeg razumevanja strukture organizama, mehanizma nasledjivanja, razvoja i diferencijacije, jedinice života od najjednostavnijih do složenih organizama i teorije evolucije. Reći da je ćelija osnovna jedinica živog sveta predstavlja istovremeno izuzetnu generalizaciju koja objedinjuje istraživanje: strukture i funkcije, reprodukcije i nasledjivanja, rasta i diferencijacije. Ipak, predstavljajući osnovu telesne organizacije pomoću ćelija i ćelijskih produkata - ćelijska teorija obezbeđuje samo jedan od mogućih odgovora na pitanje - *šta je organizam?* (Magner, 2002).

Tridestih godina 19. veka Theodor Schwann (1810-1882) primenjuje ćelijsku teoriju (do tada prihvaćenu samo na biljnim organizmima) na životinjski organizam. Schwann sumira svoj rad i generalizaciju ćelijske teorije kao univerzalnog principa svih delova tela. Osim toga on opisuje *plastičnost* kao mogućnost molekula da formiraju ćeliju, kao i hemijske promene komponenti ćelije (ili njenog okruženja) koji se naziva *metabolizam* (od grčke reči koja opisuje “ono što zavisi od okruženja ili ono što je podložno promeni”) (Magner, 2002).

Moderna ćelijska teorija će kasnije biti izvedena od strane niza naučnika kao što su Karl Nägeli, Hugo Von Mohl i Rudolf Virchow. 1855. godine Virchow objavljuje svoj rad “Ćelijska patologija” u kome ne samo navodi ćeliju kao osnovnu kariku u složenom lancu hijerarhije između tkiva, organa, sistema organa i kompletnog organizma, već postavlja značajno pitanje: gde se u organizmu, na ćelijskom nivou, nalazi bolest? (Magner, 2002). Pri tome Virchow dovodi u vezu osnovne procese patologije i osnovne procese fiziologije kao neodvojive – na primer rad na polju leukemije pokazuje da se kancerske ćelije ne razlikuju od normalnih ćelija toliko po svojoj strukturi koliko po svom ponašanju.

Nemački (pruski) naučnici su još sredinom 19. veka, posmatrajući preseke kostne srži ispod mikroskopa, primetili nekoliko različitih tipova ćelija. Među njima je, bez obzira na njihovu očiglednu različitost, postojala evidentna 'familijarnost' odnosno srodnost. Izgledalo je ne samo da svaka ćelija postaje od iste takve ćelije, već i da grupa ćelija postaje tj. proističe od jedne 'izvorne' ili osnovne (matične) ćelije (eng. '*one cell had stemmed from another*'). Jedan od najistaknutijih pruskih naučnika ovog perioda, Rudolf Ludwig Karl Virchow (1821-1902) postavio je veoma značajnu konstataciju da svaka ćelija proizilazi iz iste takve ćelije (lat. *Omnis cellula e cellula*; eng. *all cells derive from other cells*) koju je objavio 1858. godine (Silver, 1987). Smatra se da termin 'stem' ili matična ćelija vodi poreklo iz ovih istraživanja u 19. veku (Magner, 2002). Naziv 'adultne' matične ili *stem* ćelije nije u potpunosti adekvatan. Adultne matične ćelije postoje kako u organizmu odrasle osobe tako i u fetusu i u organizmu novorođenčeta. Ove ćelije obnavljaju sve ćelijske populacije u

---

<http://stemcells.nih.gov/> National institute of Health, USA.

Patterson M, Chan DN, Ha I et al. Defining the nature of human pluripotent stem cell progeny. Cell Res. 2012 January; 22(1): 178–193.

organizmu, u svim stupnjevima njegovog razvoja i postoje u svakom organu (Bjornson, 1999; Mezey, 2003; Mitalipov & Wolf, 2009; Witkowska-Zimny & Wrobel, 2011). Prvobitno se smatralo da su organ-specifične ali krajem 20. i početkom 21. veka u nizu eksperimenata se pokazalo da populacija matičnih ćelija iz jednog organa može da se razvije u funkcionalne ćelije nekog drugog organa u organizmu (Bjornson, 1999; Mezey, 2003). Danas se smatra da ovde ipak postoje određeni ograničavajući faktori (Fox, 2007; Finkel, 2005) i da su deoba i diferenciranje matičnih ćelija iz jednog organa manje uspešni (ili nepotpuni, uključujući termin fuzija ćelija) pri diferencijaciji u tkiva drugih organa (Mitalipov & Wolf, 2009; Witkowska-Zimny & Wrobel, 2011); ovo pitanje još uvek ostaje delimično nerazjašnjeno<sup>#</sup>.

### 1.1.3 Karakterizacija i tipovi matičnih ćelija i ćelijskih terapija

Matične ćelije su, pre svega, definisane svojom sposobnošću da se samoobnavljaju i da se diferenciraju u progenitorske ćelije (eng. *progeny/daughter cells*) iz jednog ili više germinalnih slojeva (eng. *germ layers*). Matične ćelije se mogu klasifikovati kao a) totipotentne (eng. *totipotent*), b) pluripotentne (eng. *pluripotent*) ili c) multipotentne (eng. *multipotent*).

#### 1.1.3.1 Totipotentne matične ćelije

Najprimitivnije matične ćelije koje poseduju najveći ili praktično neograničeni kapacitet za diferencijaciju, su totipotentne ćelije zigota ili prve blastomere (Mitalipov & Wolf, 2009). Ove ćelije nastaju u prvoj deobi zigota (oplodjene jajne ćelije) i imaju sposobnost da formiraju čitav organizam jedinke. Totipotentne ćelije zigota, na osnovu svoje deobe, formiraju embrion i placentu. Embrion je na nivou od 32 ćelije (morula) sagradjen od ćelija koje su izgubile svoju totipotentnost i koje se

---

Analiza bilo kog naučnog problema automatski vodi ka izučavanju njegove istorije (eng. *an analysis of almost any scientific problem leads automatically to a study of its history*)<sup>\*</sup>. Naučno saznanje samo po sebi, van svog društvenog i kulturološkog konteksta, može u pojedinom slučaju da izgleda pojednostavljeno i banalno. Ukoliko se naučno saznanje posmatra kao ljudski izum i dinamički koncept koji obuhvata niz saznanja, ono postaje način da se sagleda univerzum (Magner, 2002).

<sup>\*</sup> Ernst Walter Mayr (1904 - 2005), jedan od vodećih evolutivnih biologa 20. veka koji je učestvovao u naučnoj sintezi moderne teorije evolucije.

<sup>#</sup> 'No consensus on stem cells' editorial in *Nature* 2004, 428: 587.

smatraju pluripotentnim (Mitalipov & Wolf, 2009, Witkowska-Zimny & Wrobel, 2011). Ovde prisutne pluripotentne ćelije izgrađuju tri germinalna sloja embriona: endoderm, mezoderm i ektoderm (eng. *endoderm, mesoderm & ectoderm*).

#### 1.1.3.2 Pluripotentne matične ćelije

Pluripotentnim ćelijama se smatraju embrionalne matične ćelije (eng. *embryonic stem cells, ESC*) koje se razvijaju iz unutrašnjeg sloja zigota u ranom embrionalnom razvoju (eng. *inner cell mass*). Ove pluripotentne ćelije su sposobne da izgrade sva tri germinalna sloja (endoderm, mezoderm i ektoderm) i da svojom deobom obezbede ćelije za razvoj svih tkiva i organa u organizmu jedinke. Indukovane pluripotentne ćelije (eng. *induced pluripotent stem cells, iPS*) imaju mnogo sličnih karakteristika sa embrionalnim matičnim ćelijama ali su nastale re-programiranjem adultnih ćelija kao što su fibroblasti ili ćelije placente (Mitalipov & Wolf, 2009). Pokazano je da indukovane pluripotentne ćelije imaju mogućnost da se dele u neograničenom broju i da formiraju benigna teratomska tkiva sva tri germinalna sloja, što ih svrstava u pluripotentne ćelije. Diferencirane progenitorske ćelije koje potiču iz embrionalnih matičnih ćelija i indukovanih pluripotentnih ćelija (na primer, neuroni, kardiomiociti i hepatociti) mogu biti odbačene od strane imunskog sistema alogenog primaoca i zahtevaju primenu imunosupresivnih lekova da bi se izbegla ova neželjena reakcija. Uz to postoji niz etičkih dilema koje prate upotrebu embrionalnih matičnih ćelija u kliničke istraživačke svrhe; ovo nije slučaj sa iPS ćelijama koje nastaju re-programiranjem adultnih ćelija. Ipak, klinička istraživanja su već neko vreme u toku uz upotrebu neurona koji su nastali manipulacijom embrionalnih matičnih ćelija, kao i drugih vrsta ćelija<sup>^</sup>.

#### 1.1.3.3 Multipotentne matične ćelije

Matične ćelije sa ograničenom mogućnošću diferencijacije se nazivaju multipotentnim matičnim ćelijama. Smatra se da ove matične ćelije mogu da se diferenciraju samo u određeni broj tkiva koja potiču iz istog germinalnog sloja. Multipotentne matične ćelije su usmerene ka razvoju određenog organa ili tkiva i u tom smislu predstavljaju najzreliji tip matičnih ćelija (Witkowska-Zimny & Wrobel, 2011).

---

<sup>^</sup> [www.geron.com](http://www.geron.com); [www.clintrials.gov](http://www.clintrials.gov)

#### 1.1.3.3.1 Matične ćelije hematopoeze

Najpoznatiji primer multipotentnih matičnih ćelija su matične ćelije hematopoeze (eng. *Hematopoietic Stem Cells, HSC*) koje se mogu izolovati iz kostne srži, krvi pupčanika ili iz periferne krvi. Nešto manje poznata činjenica je da je placenta takodje značajan izvor matičnih ćelija hematopoeze, što je do sada dokazano na nekim životinjskim modelima (samo u određenom stupnju embrionalnog razvoja) (Gekas *et al.*, 2008, Gekas *et al.*, 2010). Matične ćelije hematopoeze predstavljaju izvor svih ćelija krvi i konstantno obnavljaju krvni i imunski sistem tokom života jedinke. Ovo su istovremeno najbolje okarakterisane adultne matične ćelije i jedine matične ili progenitorske ćelije koje se danas koriste u rutinskoj kliničkoj praksi (Appelbaum, 2007; Areman, 2009). Transplantacija matičnih ćelija hematopoeze može da se koristi kao tretman za niz imunodeficientnih oboljenja, malignih oboljenja krvi (leukemije, mijelodisplazije i mijeloma) i za neka od oboljenja kostne srži (aplasticne anemije). Pionirski rad u ovoj oblasti započeo je još pedesetih godina prošlog veka da bi se prva uspešna alogena transplantacija kostne srži izvršila 1968. godine. Danas se putem tehnika afereze (separacijom ćelija krvi) obezbeđuju matične ćelije hematopoeze iz periferne krvi koje su najčešći izvor za transplantaciju. Sve ove tehnike transplantacije iziskuju testiranje na HLA markere (eng. *human leukocyte antigen, HLA*) da bi se izbegle neželjene reakcije kao što je potencijalno fatalna reakcija *graft- versus-host disease, GVHD*, koja nastaje usled imunske reakcije od strane leukocita davaoca koji 'odbacuju' odnosno 'napadaju' tkiva primaoca (Vander Lugt *et al.*, 2013).

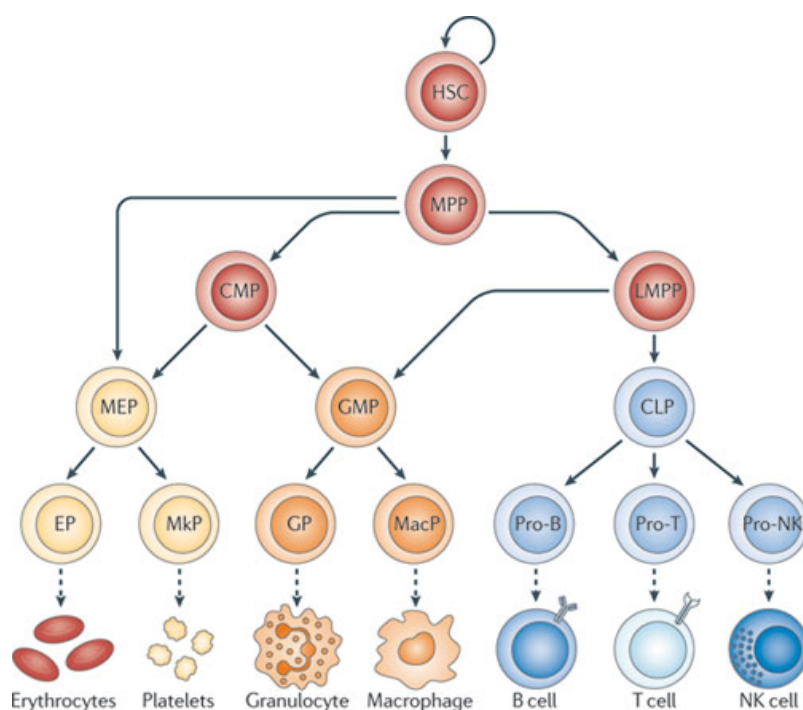
Šezdesetih godina 20. veka, nakon iskustava sa oštećenjima koje ljudskom organizmu nanosi nuklearno zračenje, naučnici su u nastojanjima da leče radijacijska oboljenja spoznali da određene ćelije krvi ne samo mogu svojom deobom da obnove različite populacije krvnih ćelija, već i da se 'samoobnavljaju' tj. obnavljaju svoju sopstvenu ćelijsku populaciju (Becker, 1963). Neke to čine samo u ograničenom, kraćem vremenskom periodu (kasnije nazvane progenitorne krvne ćelije) a neke u neograničeno dugom vremenskom periodu (danas okarakterisane kao matične ćelije krvi) (Becker, 1963; Bradford, 1997; Areman, 2009). Iako se svi naučnici ne slažu da je uopšte moguće izolovati 'apsolutnu matičnu' ćeliju krvi, za sada je opšteprihvaćeno stanovište da se matična ćelija krvi deli u proseku jednom u toku mesec dana dajući dve nove ćelije. Jedna od njih ostaje kao matična ćelija krvi a druga se diferencira u



progenitornu krvnu ćeliju koja se u toku svog života deli još nekih nekih dvadesetak puta obnavljajući pritom sve populacije zrelih diferenciranih krvnih ćelija (Bradford, 1997; Areman, 2009).

### 1.1.3.3.2 Hematopoeza

Hematopoeza je izuzetno kompleksan proces stvaranja uobličanih elemenata krvi, koji bez obzira na njihovu morfolosku i funkcionalnu raznolikost i specijalizovanost, vode poreklo od zajedničke pluripotentne matične ćelije hematopoeze (Petakov, Bela, Bugarski, 2004; Areman, 2009). Heterogena ćelijska populacija matičnih ćelija hematopoeze predstavlja 'razvojni kontinuum' ćelija različitog nivoa zrelosti; opisuje se se kao populacija piramidalne organizacije koju čine tri glavna odeljka: pluripotentne matične ćelije, opredeljene matične ćelije i morfološki prepoznatljive, ali jos uvek nezrele ćelije (slika 1.1).



Legenda: HSC, Hematopoietic Stem Cell; CMP, Common Myeloid Progenitor; LMPP, Lymphoid-primed Multipotential Progenitor; MEP, Megakaryocyte-Erythroid Progenitor; GMP, Granulocyte-Macrophage Progenitor; CLP, Common Lymphoid Progenitor; Other committed cells: EP, MkP, GP, MacP, Pro-B, Pro-T, Pro-NK.

Slika 1.1 Razvoj i hijerarhija matičnih ćelija hematopoeze (preuzeto iz: Nature Review Immunology Vol.6 Feb 2006).

Razvoj brojnih sofisticiranih tehnika izdvajanja ćelija omogućio je neposredan eksperimentalni pristup pojedinim kategorijama ovih ćelija a samim tim i veliki napredak u izučavanju (i terapijskoj primeni) matičnih ćelija hematopoeze. Ove tehnike su zasnovane na različitim pristupima kao što su fizičko/hemijska izolacija matičnih ćelija, imunocitohemijska identifikacija površinskih markera matičnih ćelija i određivanje njihove metaboličke aktivnosti (Petakov, Bela, Bugarski, 2004; Areman, 2009).

Plastičnost je jedna od osnovnih karakteristika matičnih ćelija hematopoeze. Ovo podrazumeva da put njihove diferencijacije nije striktno određen i da samim tim one ispoljavaju neočekivani potencijal transformacije u druga tkiva. Najmanje tri svojstva matičnih ćelija hematopoeze karakterišu njihovu plastičnost: svojstvo održavanja ravnoteže između procesa samoobnove i procesa diferencijacije, svojstvo da mogu da se diferenciraju u najmanje deset različitih zrelih hematopoeznih ćelijskih tipova, i svojstvo regulacije sopstvene proliferativne aktivnosti (Lemischka, 2002).

Smatra se da hematopoetske ćelije ispoljavaju dve vrste plastičnosti – intrahematopoeznu (unutrašnju ili linijsku plastičnost) i intersistemska plastičnost (sposobnost da se diferenciraju u ćelije miokarda, ćelije jetre, epitelne i nervne ćelije) (Lagasse *et al.*, 2000; Orlic *et al.*, 2001). Ova karakteristika je zapažena nakon transplantacije ćelija kostne srži tako da se ne može sa sigurnošću reći da li diferencijacija započinje od hematopoeznih matičnih ćelija ili od mezenhimskih matičnih ćelija (ili od angiogenih prethodnika) prisutnih u kostnoj srži.

Gotovo sve stromalne ćelije hematopoezne mikrosredine (osim makrofaga) su embrionalno-mezenhimalnog porekla (kao i endotelske ćelije, fibroblasti, adipociti, osteoblasti, miociti i adventicijske ćelije retikuluma). Slično hematopoeznim ćelijama, stromalne ćelije hematopoezne mikrosredine nastaju od jedne zajedničke pluripotentne mezenhimske matične ćelije (eng. *Mesenchymal Stem/Stromal Cell, MSC*) (Gamiche *et al.*, 1993). Ovo će biti razmatrano u sledećem poglavlju.

#### 1.1.3.3.3 Matične ćelije iz krvi pupčanika

Matične ćelije iz krvi pupčanika (eng. *Umbilical cord blood stem cells, UCBSC*) se danas sve više koriste kao izvor matičnih ćelija hematopoeze. Izolacija i klinička primena matičnih ćelija hematopoeze iz pupčanika je posebno zanimljiva sa kliničkog stanovišta. Ove matične ćelije su relativno lako dostupne, prikupljaju se neinvazivnom metodom i danas se privatne i javne banke krvi iz pupčanika (eng. *cord blood banks*) nalaze u celom svetu (Bradley & Cairo, 2005). Ono što je najvažnije sa kliničkog stanovišta je da mogu biti korišćene sa manje optimalnom kompatibilnošću HLA-markera, u poredjenju sa matičnim ćelijama iz kostne srži i periferne krvi. Ovo je moguće usled imunološke 'naivnosti' matičnih ćelija hematopoeze izolovanih iz pupčanika i njihove takozvane ontogenetske primitivnosti u poredjenju sa drugim tipovima matičnih ćelija hematopoeze (Haylock & Nilsson, 2007).

Sve matične ćelije hematopoeze, uključujući i one izolovane iz krvi pupčanika, mogu biti okarakterisane prisustvom površinskog glikoproteinskog markera CD34 (Andrews *et al.*, 1992, Okuno *et al.*, 2002, Osawa *et al.*, 1996). Poznato je da se populacija CD34<sup>+</sup> ćelija sastoji od većeg dela već delimično diferenciranih progenitorskih ćelija (eng. *committed progenitor cells*) uz koje se nalazi manje od 1% istinski primitivnih ćelija (Wognum *et al.*, 2003). Zbog toga se u laboratorijskim i transplantacionim esejima CD34 marker često koristi zajedno sa drugim markerima kao što su Lin<sup>-</sup>, CD38<sup>-</sup> i CD90<sup>+</sup> (Park *et al.*, 2008).

Uz upotrebu površinskih markera razvijene su i druge (funkcionalne) tehnike da bi se identifikovala populacija ćelija bogata matičnim ćelijama hematopoeze, kao što je primena fluorescentnih boja (Hoechst-33342, Ho i Rhodamine-123, Rho) (Bertoncello *et al.*, 1988; Bertoncello and Williams, 2004; Goodell *et al.*, 1996; Li & Johnson, 1995; Schroeder, 2010; Wognum *et al.*, 2003). Najpouzdaniji testovi za utvrđivanje kvaliteta matičnih ćelija hematopoeze su ipak oni koji se obavljaju *in vivo*, pri čemu se na životinjskom modelu npr. dugoročno letalno ozračenih miševa (eng. *lethally irradiated, >3 months*) testira sposobnost transplantiranih matičnih ćelija da uspostave razvoj ćelijske populacije hematopoeze.

Jedan od ograničavajućih faktora u upotrebi matičnih ćelija hematopoeze izolovanih iz krvi pupčanika predstavlja njihov ukupan broj, u odnosu na broj ćelija neophodnih za uspešan transplant (broj ćelija/ kg telesne mase primaoca) kao i u

odnosu na prinos ćelija koji se dobija aspiracijom iz kostne srži ili iz periferne krvi. Zbog toga je jedna doza matičnih ćelija hematopoeze izolovane iz krvi jednog pupčanika uglavnom nedovoljna za kliničke potrebe (naročito za odraslog primaoca). U tom smislu se razvijaju tehnike umnožavanja i kultivisanja ovih ćelija u procesu njihove pripreme za čuvanje ili transplant (Areman, 2009).

Prva uspešna transplantacija matičnih ćelija hematopoeze izolovane iz krvi pupčanika izvršena je 1989. godine na šestogodišnjem pacijentu sa Fankonijevom anemijom (Gluckman *et al.*, 1989) i od tada se ova klinička procedura intenzivno razvija i primenjuje kao alternativni izvor matičnih ćelija hematopoeze.

#### 1.1.3.3.4 Mezenhimske matične/stromalne ćelije

Još jedan tip multipotentnih matičnih ćelija je otkriven u kostnoj srži 1976. godine (Friedenstein *et al.*, 1976). Danas su ove ćelije poznate kao mezenhimske matične/stromalne ćelije (eng. *Mesenchymal Stem /Stromal Cells*) i one učestvuju u formiranju tkiva mezodermalnog porekla kao što su kost, hrskavica, mišići, tetive i masno tkivo.

U smislu izolovanja, manipulacije i potencijalne primene u terapeutske svrhe (kao jednog od tipova ćelijskih terapija) mezenhimske matične/stromalne ćelije se odlikuju relativno lakom izolacijom, potencijalom za deobu *in vitro*, stabilnim fenotipskim karakteristikama u procesu deobe kao i mogućnošću transplantacije tj. infuzije primaocu na više različitih načina i u različitim kombinacijama (lokalno, sistemski, u infuzionom rastvoru, uz transplant drugih ćelijskih terapija ili samostalno, kao deo medicinskih pomagala ili u okviru primene *scaffold* tehnika) (Brooke *et al.*, 2007; Ilic *et al.*, 2011; Steiner *et al.*, 2009; Jing *et al.*, 2010; Song *et al.*, 2010; Wagner *et al.*, 2008; Wagner *et al.*, 2007; Wein *et al.*, 2010; Zhang *et al.*; 2006; Heazlewood *et al.*, 2012).

Razumevanje i naučna saznanja u oblasti mikrosredine neophodne za razvoj i funkciju matičnih ćelija hematopoeze napredovali su značajno od prvobitne ideje o specijalizovanom okruženja u kojoj se matične ćelije nalaze *in vivo* (Schofield, 1978). Ovakvo specijalizovano okruženje obezbeđuje homeostazu matičnim ćelijama hematopoeze pri tome osiguravajući optimalne uslove za njihovu funkciju u zdravom

organizmu kao i u procesima njihove deobe usled gubitka različitih ćelija koje nadoknađuju i obnavljaju. Poznato je da u ovom procesu učestvuju brojni citokini, faktori rasta, proteini ekstracelularnog matriksa, adhezioni molekuli kao i same medju-ćelijske interakcije (eng. *cell-cell interactions*). Mnogi od ovih signala obezbedjeni su od strane ćelija u neposrednom okruženju matičnih ćelija hematopoeze, a najvećim brojem su to ćelije mezenhinskog porekla. Stoga se mezenhimske matične/stromalne ćelije koriste kao deo *ex vivo* sistema za kultivaciju matičnih ćelija hematopoeze.

Izolacija mezenhimskih matičnih/stromalnih ćelija, koje se upotrebljavaju kao dodatak i pomoć u ekspanziji matičnih ćelija hematopoeze *ex vivo*, se najčešće vrši iz kostne srži ali je pokazano da su podjednako efektne mezenhimske ćelije izolovane iz drugih tkiva kao sto su placenta (Zhang *et al.*, 2004; Heazlewood *et al.*, 2012), krv pupčanika (Bakhshi *et al.*, 2008; Huang *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2004) i masno tkivo (Nakao *et al.*, 2010).

U proteklih nekoliko godina pokazano je da postoje mnoge specifične medju-ćelijske interakcije izmedju matičnih ćelija hematopoeze i mezenhimskih matičnih/stromalnih ćelija koje su značajne za regulaciju razvoja matičnih ćelija hematopoeze *in vivo* (Steiner *et al.*, 2009) i *in vitro* (Jing *et al.*, 2010; Song *et al.*, 2010; Wagner *et al.*, 2008; Wagner *et al.*, 2007; Wein *et al.*, 2010), kao i da postoji neosporna interakcija veoma primitivnih matičnih ćelija hematopoeze sa mezenhinskim ćelijama u njihovom neposrednom okruženju (Zhang *et al.*, 2006; Song *et al.*, 2010).

Ostale karakteristike mezenhimskih matičnih/stromalnih ćelija, metode za njihovu izolaciju i kultivaciju *ex vivo* su razmatrani u jednom od sledećih poglavlja.

### 1.1.4 Terminologija

Termin *ćelijske terapije* (u smislu aktivnosti\* i dela biofarmaceutske industrije kojoj pripada<sup>^</sup>) koji se koristi u ovoj doktorskoj disertaciji, uključuje široki spektar: tehnoloških pristupa, kliničkih projekata i instituta/organizacija uključenih u bazična istraživanja i kliničke istraživačke aktivnosti (eng. *research & development, R&D*) – baziranih na nizu naučnih otkrića u oblasti biologije, medicine, biohemije, imunologije, transfuziologije i regenerativne medicine (eng. *biology, medicine, biochemistry, immunology, transfusiology & regenerative medicine*)<sup>§§</sup>.

Sveobuhvatan pristup\* koji je usvojen u okviru ovog istraživanja obezbeđuje neophodnu multidisciplinarnost<sup>⌘</sup> i integraciju naučnih saznanja<sup>^</sup> u okviru pomenutih naučnih disciplina, kao i novih naučnih disciplina u koje spada oblast regulatornih nauka (eng. *regulatory science*). Neophodno je naglasiti da se u terminološkom smislu ova doktorska disertacija bavi jednim domenom ćelijske biologije i naprednim terapijama koje njihova primena donosi u oblasti medicine, ali da se pri tome ne bavi njihovom primenom u drugim oblastima (kao što su neke šire industrijske primene).

U skladu sa naučnim disciplinama i naučnim metodama koje koriste (Kirouac & Zandstra, 2008; Halme & Kessler, 2006; Burger, 2003) projekti i organizacije zasnovani na radu sa *ćelijskim terapijama* mogu se svrstati u širu oblast biotehnologije<sup>¶</sup> (Rader, 2008) kao i relativno nove oblasti biofarmaceutske industrije<sup>^</sup>.

---

\* To thwart disease, apply now (Editorial). *Nature*, **453** 7197 (2008).

<sup>^^</sup> <http://dictionary.cambridge.org>

<sup>^</sup> FDA Guidance for industry: PAT - A framework for innovative pharmaceutical development, manufacturing, and quality assurance, 2004.

<sup>⌘</sup> Advancing Regulatory Science at FDA, Strategic Plan: August 2011. Food and Drug Administration U.S. Department of Health and Human Services. & Implementing the European Medicines Agency's Road map to 2015: The Agency's contribution to Science, Medicine, Health – From Vision to Reality. 6 October 2011 EMA/MB/550544/2011.

<sup>§§</sup> Dalja terminoloska razmatranja se nalaze u drugim poglavljima ove doktorske teze kao i u Prilogu 1 i Prilogu 2.

<sup>¶</sup> The financing of biopharmaceutical product development in Europe, Final Report. European Commission, Enterprise and Industry, October 2009.

<sup>\*\*</sup> [http://www.infoport.ca/life/bins/content\\_page.asp?cid=4364](http://www.infoport.ca/life/bins/content_page.asp?cid=4364) <sup>##</sup> <http://www.merriam-webster.com/dictionary>

Termin *biotehnologija* se ipak ovde ne primenjuje u značajnoj meri jer se u literaturi vrlo često koristi za komercijalne organizacije i na taj način označava skup komercijalnih aktivnosti u svrhu kreiranja profita<sup>¶</sup> ili nekog dugoročnog oblika intelektualnog vlasništva koje obezbeđuje profit (eng. *intellectual property, IP based income*).

Isti termin se ovde koristi uglavnom u svojoj primarnoj definiciji “primene bioloških tehnika u istraživanju i razvoju produkata koji koriste žive organizme ili njihove delove” (eng. “*use of biological techniques in research and product development using living organisms or their parts*”)\*\* ili “primene živih organizama, posebno ćelija i bakterija u industrijske svrhe” (eng. “*the use of living things, especially cells and bacteria, in industrial processes*”)<sup>^^</sup>.

Lista skraćenica i definicija nalazi se u Prilogu 1, dok se englesko-srpski rečnik termina i izraza nalazi u Prilogu 2.

---

\* To thwart disease, apply now (Editorial). *Nature*, **453** 7197 (2008).

<sup>^^</sup> <http://dictionary.cambridge.org>

<sup>^</sup> FDA Guidance for industry: PAT - A framework for innovative pharmaceutical development, manufacturing, and quality assurance, 2004.

<sup>⌘</sup> Advancing Regulatory Science at FDA, Strategic Plan: August 2011. Food and Drug Administration U.S. Department of Health and Human Services. & Implementing the European Medicines Agency’s Road map to 2015: The Agency’s contribution to Science, Medicine, Health – From Vision to Reality. 6 October 2011 EMA/MB/550544/2011.

<sup>§§</sup> Dalja terminoloska razmatranja se nalaze u drugim poglavljima ove doktorske teze kao i u Prilogu 1 i Prilogu 2.

<sup>¶</sup> The financing of biopharmaceutical product development in Europe, Final Report. European Commission, Enterprise and Industry, October 2009.

\*\* [http://www.infoport.ca/life/bins/content\\_page.asp?cid=4364](http://www.infoport.ca/life/bins/content_page.asp?cid=4364) <sup>###</sup> <http://www.merriam-webster.com/dictionary>

## 1.2 Metode u izradi i primeni matičnih ćelija i ostalih ćelijskih terapija (eng. *Clinical & Lab Science*)

### 1.2.1 Klinički pristupi u prikupljanju biološkog materijala za izradu matičnih ćelija i ćelijskih terapija

Kao što je već izloženo u prethodnom poglavlju, hematopoeza (eng. *haematopoiesis*) je složen proces nastanka krvnih ćelija putem ćelijske proliferacije (umnožavanja) i diferencijacije (sazrevanja) koji obezbeđuje grupa samoobnavljajućih pluripotentnih matičnih ćelija (eng. *haematopoietic stem cells*, HSC) pod složenim sistemom kontrole citokina. HSC su, kao pluripotentne ćelije (sa ‘nezrelim’ antigenskim fenotipom CD34<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>-</sup>, CD33<sup>-</sup> i CD38<sup>-</sup>), kompletno sposobne za samoobnavljanje (deobu) i dalju diferencijaciju (sazrevanje) u mijeloidne i limfoidne grupe krvnih ćelija (Balint B., Hemomodulatorni mehanizmi i terapijski pristupi 1999, str. 20-25; Areman E.M., Cellular Therapy: Principles, Methods, and Regulations, 2009).

Tabela 1.1: Tipovi transplantacije, bilo da su u pitanju matične ćelije iz kostne srži, matične ćelije izolovane iz pupčanika ili iz periferne krvi.

Tip transplantacije	Šta predstavlja	Svrha
Alogena	·Upotreba hematopoetskih progenitornih ćelija (graft) od neke druge osobe /kao što je član porodice ili dobrovoljni davalac/	·Uspostavlja normalnu hematopoezu i/ili sprečava imunodeficijenciju ·Potpomaže primenu hemoterapije i/ili radijacije /u svrhu lečenja malignog oboljenja/
Autologna	·Upotreba hematopoetskih progenitornih ćelija (graft) od iste osobe	·Potpomaže primenu hemoterapije i/ili radijacije /u svrhu lečenja malignog oboljenja/
Singena	·Upotreba hematopoetskih progenitornih ćelija (graft) od genetski identičnog blizanca	·Potpomaže primenu hemoterapije i/ili radijacije /u svrhu lečenja malignog oboljenja/

Adaptirano iz: *Hematopoietic Stem Cell Transplantation – A Handbook for Clinicians, 2009 AABB (USA)*.



Tabela 1.2: Osnovne komponente transplantacije matičnih ćelija hematopoeze.

Elementi/ komponente	Svrha	
	Autologna transplantacija	Alogena transplantacija
Anti-tumorski tretman (hemoterapija i/ili zračenje)	·Uklanjanje tumorskih ćelija	·Uklanjanje tumorskih ćelija ·Supresovanje imuniteta primaoca
Matične ćelije (graft)	·Uspostavljanje hematopoeze i normalizovanje imuniteta	·Uspostavljanje hematopoeze i normalizovanje imuniteta ·Uklanjanje imunodeficijencije ili metaboličke abnormalnosti /koju izazivaju obolele krvne ćelije usled naslednog poremećaja imunskog sistema ili imunodeficijencije/ ·Obezbeđivanje ‘novog’ imuniteta da bi se uklonile tumorske ćelije
Terapija (uključujući imunosupresivnu terapiju)	·Antibiotici (da bi se sprečile ili lečile infekcije) ·Transfuzija (da bi se kompenzovala aplazija)	·Imunosupresivno dejstvo da bi se izbegla imunološka reakcija primaoca (i odbacivanje transplantiranih ćelija) ·Imunosupresivno dejstvo da bi se izbegla GVHD (eng. <i>graft-vs- host disease</i> ) ·Antibiotici (da bi se sprečile ili lečile infekcije) ·Transfuzija /da bi se kompenzovala aplazija/

Adaptirano iz: *Hematopoietic Stem Cell Transplantation – A Handbook for Clinicians, 2009 AABB (USA)*.  
GVHD = *graft-vs-host disease*.

Pri tome, uz određeni citokinski stimulus, HSC mogu da se diferenciraju u HPC ćelije (eng. *haematopoietic progenitor cells*) koje imaju veoma ograničenu ili nikakvu sposobnost samoobnavljanja (dalje deobe). U kostnoj srži HPC ćelije nastavljaju svoj proces diferencijacije pod kontrolom citokina, pri tome obezbeđujući nastanak grupa ćelija koje daju različite vrste zrelih, funkcionalno sposobnih krvnih ćelija (eritrocita, trombocita i leukocita) (Balint B., Hemomodulatorni mehanizmi i terapijski pristupi 1999, str. 20-25; E.M. Areman, Cellular Therapy: Principles, Methods, and Regulations, 2009; Wingard *et al.*, 2009).

Postoje tri tipa transplantacije matičnih ćelija hematopoeze (eng. *hematopoietic stem cell transplantation*, HSCT) (Tabela 1.1) i tri osnovne komponente procesa transplantacije (Tabela 1.2).

Diferencijacija pluripotentnih matičnih ćelija (HSC) u progenitorne (HPC) ćelijske linije manifestuje se kroz promenu antigenškog fenotipa i gubljenje CD34<sup>+</sup> antigenškog profila. *In vitro* studije obezbedile su kvantifikaciju obe vrste ćelija u normalnoj kostnoj srži (koncentracija HSC je približno 0.005%) i u perifernoj krvi zdrave osobe (100 puta niža HSC koncentracija, približno 0.00005%) (Balint B., Transfuziologija 2004; Areman E.M., Cellular Therapy: Principles, Methods, and Regulations, 2009). Nakon kultivacije progenitornih (HPC) ćelija u *in vitro* ćelijskoj kulturi (14 dana, u specifičnoj citokinski pripremljenoj polučvrstoj podlozi) dobijaju se kolonije ćelija (eng. *colony forming units*, CFU ili eng. *bursting forming units*, BFU) iz kojih se razvijaju zrele, funkcionalno sposobne krvne ćelije. Istraživanjima na životinjskim modelima, a kasnije i u okviru kliničkih istraživanja, pokazano je da se primenom agenasa kao što je G-CSF (eng. *granulocyte-colony stimulating factor*) mogu povećati koncentracije obe ćelijske grupe (HSC i HPC) u perifernoj krvi (Balint B., Od hemoterapije do hemomodulacije 2001, str. 259; Areman, 2009). Ovo se koristi kao proces ‘mobilizacije’ matičnih (HSC) i progenitornih (HPC) ćelija u perifernoj krvi, kao priprema za proces odvajanja (filtracije) krvnih ćelija u postupku afereze (eng. *apheresis*) (Balint B., Od hemoterapije do hemomodulacije 2001, str. 255-274; Areman, 2009; Wingard *et al.*, 2009).

Osamdestih godina dvadestog veka razvoj procedura za procesovanje matičnih ćelija dovodi do mogućnosti za njihovo zamrzavanje i čuvanje u dugoročnom periodu. Ovo je omogućilo da matične ćelije mogu biti prikupljene unapred, procesovane i zamrznute a zatim transplantovane nakon visokih doza hemoterapije ili terapijskog zračenja (Wingard J.R. *et al.* (Ed.), 2009, Hematopoietic Stem Cell Transplantation – A Handbook for Clinicians. AABB, USA).

Iako je svrha visokih doza hemoterapije da uklone sve kancerske ćelije (ablativne terapije) pri tome dolazi i do oštećenja normalnih ćelija kostne srži. Transplantacijom matičnih ćelija (ili tačnije, progenitornih ćelija) uspostavlja se normalna hematopoeza. Ćelije namenjene za transplantaciju su se inicijalno prikupljale iz kostne srži, danas sve češće iz periferne krvi (eng. *peripheral blood progenitor cells*, PBPC) zbog manje invazivnosti kliničke procedure kao i većeg broja ćelija koje se mogu prikupiti u toku jedne procedure (Tabela 1.3).

Tabela 1.3: Izvor matičnih ćelija za kliničku upotrebu u svrhe transplantacije.

Izvor matičnih ćelija	Prednosti	Nedostaci	Komentar
Kostna srž	<ul style="list-style-type: none"> <li>·Bogat izvor matičnih ćelija</li> <li>·Manji broj limfocita nego iz periferne krvi /manje GVHD/</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>·Potrebna je generalna anestezija davaoca</li> <li>·Manje progenitorskih ćelija nego iz periferne krvi</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>·Tradicionalno se koristi kao izvor matičnih ćelija, najveće kliničko iskustvo</li> <li>·Ostaje kao najčešći izbor za alogene transplantacije i mnoge transplantacije među srodnim davaocem i primaocem</li> </ul>
Periferna krv	<ul style="list-style-type: none"> <li>·Visok broj matičnih ćelija</li> <li>·Veći broj limfoidnih ćelija /veći anti-tumorski (GVT) efekat/</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>·Davalac mora da prima G-CSF i potrebno je duže vreme za pripremu</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>·Ostaje kao najčešći izbor za autologne transplantacije</li> <li>·Ostaje kao najčešći izbor za:                             <ul style="list-style-type: none"> <li>-autologne transplantacije sa manjim intenzitetom pripremnih terapija/režima (eng. <i>conditioning regimens</i>) /jer obezbeđuje više matičnih ćelija i više limfoidnih ćelija koje suzbijaju imunski odgovor primaoca/;</li> <li>-leukemije u odmaklom stadijumu /zbog većeg anti-tumorskog (GVT) efekta/</li> </ul> </li> </ul>
Krv iz pupčanika	<ul style="list-style-type: none"> <li>·Prikupljanje ćelija se vrši bez rizika za majku ili novorođenče</li> <li>·Manji su rizici prenošenja infektivnih agenasa</li> <li>·Praktično je stalno dostupan izvor ćelija /u poredjenju sa prikupljanjem ćelija od odraslog davaoca/</li> <li>·limfoidne ćelije su imunoloski naivne</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>·Limfoidne ćelije su nezrele tako da je potrebno duže vreme da ispolje svoj anti-tumorski efekat (GVT)</li> <li>·Obično je dovoljan broj ćelija za pedijatrijske pacijente ali ne i za većinu odraslih primaoca</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>·U poslednje vreme postaje sve češći izbor za alogene transplantacije kod pedijatrijskih pacijenata</li> </ul>

Adaptirano iz: *Hematopoietic Stem Cell Transplantation – A Handbook for Clinicians, 2009 AABB (USA)*.  
 GVHD = *graft-vs-host disease*; GVT = *graft-vs-tumor*; G-CSF = *granulocyte colony-stimulating factor*.

Tabela 1.4: Prednosti i nedostaci različitih tipova transplantacije matičnih ćelija.

Tip transplantacije	Prednosti	Nedostaci
Alogena	<ul style="list-style-type: none"> <li>·Obezbeđuje anti-tumorski (GVT) efekat</li> <li>·Progenitorske ćelije su zdrave</li> <li>·Dozvoljava upotrebu manje agresivnih citotoksičnih režima u procesu pripreme (eng. <i>conditioning regimen</i>)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>·Može biti teže da se identifikuje odgovarajući davalac</li> <li>·GVHD</li> <li>·Rizik od odbacivanja</li> </ul>
Autologna	<ul style="list-style-type: none"> <li>·Ne zahteva traženje adekvatnog davaoca</li> <li>·Nema rizika od GVHD</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>·Transplantirane matične ćelije mogu biti kontaminirane tumorskim ćelijama</li> <li>·Transplantirane matične ćelije mogu biti oštećene prethodnim terapijama, proces prikupljanja odgovarajućeg broja ćelija može biti otežan, ili može da doprinese riziku od nastanka mijelodislazije nakon transplantacije</li> <li>·Nema anti-tumorskog (GVT) efekta</li> </ul>
Singena	<ul style="list-style-type: none"> <li>·Nema rizika od GVHD</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>·Nema anti-tumorskog (GVT) efekta</li> </ul>

Adaptirano iz: *Hematopoietic Stem Cell Transplantation – A Handbook for Clinicians, 2009 AABB (USA)*.  
 GVHD = *graft-vs-host disease*; GVT = *graft-vs-tumor*.

Svi tipovi transplantacije imaju određene prednosti i nedostatke (Tabela 1.4). Primena matičnih ćelija u ovom trenutku nudi ogroman potencijal u lečenju kako naslednih oboljenja tako i stečenih i degenerativnih oboljenja, ali idealan pristup i postupak za dobijanje ove vrste ćelija jos uvek nije otkriven (Wingard *et al.* (Ed.), 2009, *Hematopoietic Stem Cell Transplantation – A Handbook for Clinicians*. AABB USA).

### 1.2.1.1 Separacija ćelija krvi i drugih krvnih komponenti - afereza

Afereza predstavlja skup postupaka vezanih za ekshuziju davaočeve ili bolesnikove krvi, njeno razdvajanje na komponente, uz zadržavanje – prikupljanje ili otklanjanje – nekog sastojka i reinfuziju preostalog ili “rekombinovanog” dela krvi (Balint B., *Transfuziologija* 2010, str. 455; Areman, 2009; Wingard, 2009). Pri

izvodjenju nekih afereznih procedura bolesniku se vraća autologna plazma oslobođena određenih komponenti, sopstvene imunokompetentne krvne ćelije nakon *ex vivo* modulacije njihove aktivnosti ili sopstvene multipotentne matične ćelije hematopoeze (nakon njihove krioprezervacije i čuvanja).

Sa aspekta terapijske primene, afereze mogu biti primenjene u svrhu pripremanja pojedinih krvnih konstituenta ili u cilju postizanja određenog terapijskog efekta kao što je uklanjanje određene količine nekog krvnog sastojka (bilo da je u pitanju “patološki supstrat” ili ekscesna količina normalnog ili izmenjenog krvnog sastojka) (Balint, 2010).

Savremena afereza se primenjuje uz upotrebu ćelijskih separatora (eng. *apheresis machine/cell processor*) koje se programiraju za određenu funkciju na osnovu veličine pora na filterima, količine krvi koja će biti filtrirana, težine pacijenta, tipa ćelija i drugih parametara. Izvodjenje savremenih afereznih postupaka nije moguće bez adekvatne osposobljenosti osoblja i savremene opreme. Aferezno prikupljanje krvnih komponenata čine donorske afereze, plazmafereze i citafereze, među kojima se najčešće sreću trombocitafereza i različiti tipovi leukaferaza. U zavisnosti od vrste prikupljenih leukocita, može se govoriti o granulocitaferezi i aferezi mononuklearnih ćelija – uglavnom u svrhu transplantacije matičnih ćelija hematopoeze (Balint, 2010). Pri postupku prikupljanja i transplantacije matičnih ćelija hematopoeze izolovanih iz periferne krvi, izbegava se invazivni postupak aspiracije ćelija iz kostne srži. Pri tome je omogućeno prikupljanje većeg broja ćelija, koje danas mogu da se koriste u različitim rutinskim kliničkim protokolima ili u svrhu kliničkih istraživanja (npr. eksperimentalne procedure uz primenu genskih terapija ili za primenu nepromenjenih ćelija ali u novim kliničkim indikacijama transplantacije i ko-transplantacije).

### **1.2.1.2 Aspiracija ćelija kostne srži**

Osim ćelijske separacije afereznim tehnikama, matične ćelije hematopoeze se prikupljaju višestrukim aspiracijama iz spongioznih delova kostiju, pri čemu ćelije mogu biti transplantirane neposredno nakon pripreme, posle kratkotrajnog čuvanja ili nakon zamrzavanja (Balint B., Transfuziologija 2004; Areman, 2009; Wingard, 2009). Ćelije kostne srži se prikupljaju aspiracijom iz zadnjeg i prednjeg grebena

bedrene kosti ili iz grudne kosti. Procedura je invazivne prirode, izvodi se u operacionoj sali, u aseptičnim uslovima i uključuje primenu lokalne ili opšte anestezije (Balint B., Transfuziologija 2004; Areman, 2009). Ovom metodom se dobija relativno mali broj ćelija po ubodu/aspiratu (volumen jednog aspirata nije veći od 5ml a broj aspirata se obično kreće od 3 do 5 po jednoj lokaciji/kosti) tako da se vremenom razvijaju i druge tehnike manje invazivne prirode – a uz obezbeđivanje većeg broja ćelija i bolje selektivnosti tehnike (Balint B., Transfuziologija 2004; Areman, 2009; Wingard, 2009). U cilju obezbeđivanja dovoljnog broja ćelija sa jedrom, medju kojima su i matične ćelije hematopoeze, smatra se da je neophodno prikupiti  $3 \times 10^8$  ćelija po kg telesne mase primaoca – bilo da je u pitanju autologna ili alogena primena. Nakon aspiracije, ćelije se filtriraju u cilju eliminacije eritrocita, limfocita T i/ili malignih ćelija u aspiratu; a zatim su pripremljene u antiokoagulatnom rastvoru uz dodatak hranljivih sastojaka u cilju očuvanja ćelijske vijabilnosti i bolje efikasnosti terapije (Balint B., Transfuziologija 2004; Areman, 2009). Tehnike u prikupljanju i primeni ćelija kostne srži su se intenzivno razvile u toku šezdesetih i sedamdesetih godina 20. veka, naročito radom E. D. Thomas-a (1920-2012) koji je jos 1981. godine bio jedan od osnivača prvog naučnog časopisa (eng. *Stem Cell*) u oblasti matičnih ćelija i regenerativne medicine (Areman, 2009; Stem Cells Translational Medicine, Editorial, 2013; 2:81-82).

### **1.2.1.3 Alternativne metode u prikupljanju biološkog materijala za izradu ćelijskih terapija: upotreba placente**

Ljudska placenta je organ sagradjen iz tkiva fetusa i majke (eng. *fetomaternal organ*) koji se sastoji iz fetalnog tkiva amniona i horiona (eng. *amnion, chorion*) uz deciduu (eng. *decidua*) koja je poreklom samo iz tkiva majke (Parolini *et al.*, 2008). Ovaj kompleksni organ počinje da se razvija u roku od nekoliko dana nakon fertilizacije jajne ćelije i od presudnog je značaja za razvoj i opstanak fetusa. Placenta štiti fetus od infekcije tokom trudnoće ali istovremeno vrši druge brojne funkcije neophodne za razvoj fetusa preuzimajući ulogu različitih organa kao što su pluća, bubrezi i digestivni trakt (Parolini *et al.*, 2008). Placenta je relativno lako dostupno tkivo bogato matičnim ćelijama i progenitorskim ćelijama tako da njena upotreba predstavlja alternativu konvencionalnim metodama za prikupljanje matičnih ćelija.

### **1.2.2 Izrada konvencionalnih terapija matičnim ćelijama uz minimalnu manipulaciju**

Tranplantacija matičnih i progenitorskih ćelija iz periferne krvi koja se koristi nakon ablativnih terapija predstavlja primer minimalno manipuliranih ćelija za homogenu upotrebu (eng. *homogenous use*), uglavnom ili samo za autologne transplantacije i bez upotrebe kombinovanih produkata, bez sistemskih efekata (zabeleženih do sada).

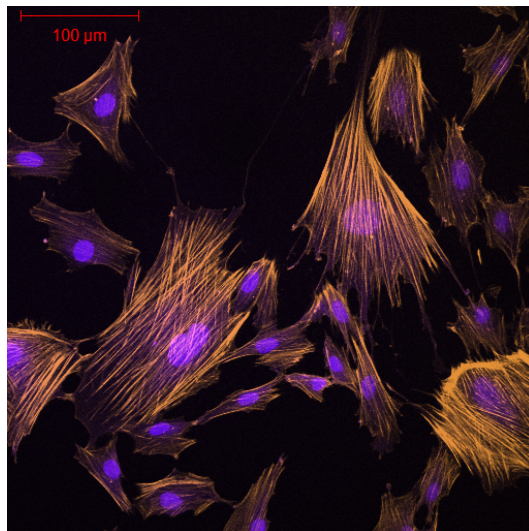
Transplantacija matičnih ćelija iz periferne krvi (eng. *Peripheral Blood Stem Cells, PBSC* ili *Haematopoietic Stem Cells, HPC*) već duže vreme se koristi kao terapija sa ciljem da se uspostavi hematopoeza nakon inicijalne faze oporavka krvnih ćelija u cirkulaciji i da se uspostavi njihov fiziološki status i broj neophodan za suzbijanje infekcija, krvavljenja i anemija (Serke, 2001; Balint B., *Transfuziologija* 2004, str. 530-542; E.M. Areman, *Cellular Therapy: Principles, Methods, and Regulations*, 2009). Broj indikacija za primenu visokih terapijskih doza (eng. *high-dose therapy, HDT*) u hematološkim i drugim malignitetima je u porastu i u direktnoj je srazmeri sa potrebom za smanjenjem troškova ovakvih terapija, njihovom pristupačnošću i pojednostavljenjem rutinskih laboratorijskih procedura koje podrazumevaju zamrzavanje i čuvanje ćelija (Montanari, 2003). Uspeh zabeležen u pripremi i transplantaciji matičnih ćelija iz periferne krvi u proteklih 20 godina praćen je usavršavanjem laboratorijskih procedura kao i zapaženim poboljšanjem kliničkih pokazatelja (npr. smanjenjem broja neuspešnih transplantacija). Ovo se pripisuje uvodjenju efikasnih metoda obezbeđenja kvaliteta (eng. *Quality Assurance, QA*) i kontrole kvaliteta (eng. *Quality Control, QC*) uz upotrebu novih tehnologija, a postignuto je uglavnom velikim naporima na usavršavanju veoma jednostavne tehnologije. Pri tome je omogućeno i sticanje novih znanja u ovoj oblasti i transfer tih znanja na proizvodnju složenijih, visoko manipuliranih ćelijskih terapija i njihovu primenu (Montanari, 2003).

### **1.2.3 Složene metode u izradi ćelijskih terapija: visoko manipulirane ćelije**

Mezenhimske matične/stromalne ćelije (eng. *mesenchymal stem cells, MSC*) kao grupa adultnih matičnih ćelija se, za razliku od embrionalnih matičnih ćelija (eng. *embryonic stem cells, ESC*) bez većih etičkih dilema tradicionalno dobijaju iz kostne

srži i ne formiraju tumore, ali se relativno sporo umnožavaju i sa određenim ograničenjima ulaze u proces diferencijacije.

Mezenhimske ćelije se relativno lako izoluju i uzgajaju. Zahvaljujući svojoj multipotentnosti, parakrinom efektu, imunomodulatornim svojstvima i migracijskim sposobnostima, ove ćelije su u stanju da obezbede relativno nove pravce u razvoju ćelijskih terapeutika (Brooke *et al.*, 2008; Ilic *et al.*, 2011). Izolovane mezenhimske ćelije (MSC) koje su umnožene *ex vivo* zadržavaju svoju pluripotentnost i mogućnost da se diferenciraju u tkiva mezodermalnog porekla. Osim sposobnosti da obnavljaju određene vrste tkiva, mezenhimske ćelije (MSC) (Prilog 4) imaju imunosupresivni efekat na T ćelije i antigen-prezentujuće dendritične ćelije *in vitro* (Prilog 5). Osim toga, čini se da su mezenhimske ćelije (MSC) imunološki privilegovane i mogu biti unakrsno kotransplantirane između dva ili više životinjskih organizama bez potrebe za imunosupresivom istih jedinki (pokazano i na "outbred" životinjskim modelima) (Brooke *et al.*, 2009; Ilic *et al.*, 2011). Ova osobina ima izuzetne implikacije na potencijalnu terapijsku primenu mezenhimskih ćelija (MSC) (Brooke *et al.*, 2009; Ilic *et al.*, 2011; Ilic *et al.*, 2013).



Slika 1.2: Morfologija mezenhimskih ćelija izolovanih iz placente obojenih fluorescentnom bojom Phalloidin-AF546 (Brooke G, Rossetti T, Pelekanos R, Ilic N *et al.*, 2008).



Mezenhimske ćelije (MSC) mogu biti izolovane is različitih tkiva kao što su krv iz pupčane vrpce i fetalna krv, iz fetalne jetre i kostne srži, ali takodje i iz placente (Slika 1.2). U poredjenju sa humanim mezenhimskim ćelijama (MSC) izolovanim iz kostne srži, fetalne mezenhimske ćelije (MSC) (iz prvog trimestra) i mezenhimske ćelije (MSC) izolovane iz placente (nakon porodjaja) pokazuju razliku u markerima pluripotentnosti i brže se razvijaju (Brooke *et al.*, 2009; Ilic *et al.*, 2011). Dalja razmatranja i pregled procesa koji se koriste u svrhu *ex vivo* umnožavanja mezenhimskih matičnih/stromalnih ćelija nalaze se u Prilogu 4.

#### **1.2.4 Novi pristupi u izradi matičnih ćelija: indukovane pluripotentne ćelije (iPS)**

Uspešno reprogramiranje različitih telesnih tj. somatskih ćelija u stanje pluripotentnosti bi moglo da omogući stvaranje pacijent- specifičnih ili oboljenje- specifičnih matičnih ćelija. U ovom trenutku, indukovane pluripotentne matične ćelije (eng. *induced pluripotent stem cells, iPS*) mogu nastati iz humanih fibroblasta, kao i nekih drugih somatskih ćelija. Inicijalno, prva generacija indukovanih pluripotentnih matičnih ćelija, sposobnih za “*germline transmission*“, nastala je iz somatskih ćelija miša upotrebom četiri transkripciona faktora (Oct3/4, Sox2, Klf4, and c-Myc) (Takahashi, 2007). Ista tehnika je kasnije korišćena za nastanak indukovanih pluripotentnih matičnih ćelija iz adultnih humanih fibroblasta uz upotrebu istih faktora (Takahashi, 2007).

Smatra se da su humane indukovane pluripotentne matične ćelije (iPS) slične embrionalnim matičnim ćelijama (eng. *embryonic stem cells, ESC*) po mnogim svojim karakteristikama – morfologiji, ćelijskoj deobi, površinskim antigenima, ekspresiji gena, epigenetskom statusu pluripotentnih ćelija-specifičnih gena i telomeraznoj aktivnosti. Osim toga, indukovane pluripotentne matične ćelije (iPS) mogu se *in vitro* diferencirati u ćelijske tipove sva tri germinalna sloja (endodermalnog, mezodermalnog i ektodermalnog porekla) (Takahashi, 2007). Daljim istraživanjima je naknadno pokazano da se indukovane pluripotentne matične ćelije (iPS) ipak razlikuju od embrionalnih matičnih ćelija (ESC) u ekspresiji svog genoma (Chin, 2005). Uradjena su mnoga istraživanja profila ekspresije gena u embrionalnim (ESC) i indukovanim matičnim ćelijama (iPS) kod miša i čoveka. Pokazano je da, iako

sličan ekspresiji gena u embrionalnim matičnim ćelijama, postoji tipičan profil iPS ekspresije gena – bez obzira na njihov izvor (tip tkiva) ili metod kojim su iPS ćelije indukovane u pluripotentno stanje. Ovi podaci sugerišu da bi indukovane pluripotentne matične ćelije (iPS) trebalo da budu svrstane u jedinstveni podtip pluripotentnih ćelija (Chin, 2005). Shodno svojim karakteristikama i ogromnom interesovanju istraživača, indukovane pluripotentne matične ćelije (iPS) imaju potencijal da dramatično utiču na nove pristupe u razvoju terapeutika pre svega u regenerativnoj medicini; ove ćelije mogu da se diferenciraju u ćelijske tipove sva tri germinalna sloja, ali pošto su nastale manipulacijom somatskih ćelija, njihovo istraživanje, izrada i primena nemaju u toj meri izražene etičke dileme (kao u slučaju upotrebe embrionalnih matičnih ćelija) (Loh, 2009).

### **1.3 Kontekst i principi u izradi ćelijskih terapija: farmacija, biotehnologija i regenerativna medicina (eng. *Biotechnology, Cell Therapy & Regenerative Medicine*)**

#### **1.3.1 Kontekst**

Ćelijske terapije potrebno je razmatrati u specifičnom kontekstu savremenog razvoja biotehnologije, regenerativne medicine i drugih srodnih oblasti nauke (eng. *life science*). Pojednostavljene definicije regenerativne medicine i ćelijskih terapija predstavljaju ćelijske terapije kao deo regenerativne medicine (Buckler, 2009) u funkciji obnove normalne funkcije i/ili zamene ćelija, tkiva ili organa (eng. “*cell therapy is always about the replacement or regeneration of human cells, tissue, or organs, to restore or establish normal function*”) (Mason & Dunnill, 2008).

Na osnovu iste definicije, regenerativna medicina može ali ne mora da koristi ćelije u svrhu zamene tkiva ili organa. Za ovaj proces mogu da se koriste i drugi pristupi, kao što su upotreba malih molekula kao aktivatora, genske terapije (koje nisu bazirane na ćelijskoj manipulaciji) ili drugi biomaterijali (Mason & Dunnill, 2008; Buckler, 2009) (Tabela 1.5). Nešto širi kontekst koji je značajan za ćelijske

terapije, predstavlja polje biotehnologije i razvoja biofarmaceutskih sredstava (Tabela 1.6).

Tabela 1.5: Definicije koje se odnose na značenje pojmova “regenerativna medicina” i “ćelijske terapije” u kontekstu regenerativne medicine.

eng. <i>Regenerative Medicine is typically described as having four primary pillars: cells, devices, biomaterials, and bioactive agents (reagents, drugs, and biologics). Their common goal is to replace, repair, or regenerate human cells, tissues, or organs in such a way as to restore or establish normal functions.</i>
eng. <i>If cell therapy is about delivering cells as therapeutics, [it is often referred] to Regenerative Medicine as being about affecting cells (including whole tissues or organs) whether through their delivery (cell therapy) or their in vivo recruitment and/or manipulation through molecular or other means. Cell therapy fits within the large and even more diverse Regenerative Medicine industry.</i>
eng. <i>Regenerative medicine is already commercially available and entrenched into several types of American and Western European clinical practice: tissue engineering (e.g., skin repair/wound healing), orthopedics (e.g., spinal disc and joint cartilage repair), diabetes (e.g., islet cell transplantation), oncology/hematology (e.g., stem cell transplants), ophthalmics (e.g., limbal stem cell deficiency, corneal disease, and so on), and cosmetic/aesthetic (e.g. body sculpting).</i>

Adaptirano iz: Buckler, L (2009), *Cell Therapies, Opportunities in Regenerative Medicine*, BioProcess International, Vol. 9, No. S1, March 2011.

Biofarmaceutska industrija, slično kao i biotehnologija, se uglavnom definiše na osnovu definicije svojih proizvoda ili na osnovu poslovnih aktivnosti koje su vezane za razvoj biofarmaceutskih (ili biotehnoških) produkata (Buckler, 2009) (Tabela 1.6). Moderna biotehnologija je od strane OECD-a definisana kao “*application of living organisms, as well as parts, products and models thereof, to alter living or nonliving materials for the production of knowledge, goods and services*” (eng. *Organisation for Economic Cooperation and Development, OECD 2005*)\*.

\* The financing of biopharmaceutical product development in Europe, Final Report. European Commission, Enterprise and Industry, October 2009. ISBN 978-92-79-14055-6

Tabela 1.6: Definicije koje se odnose na značenje pojmova “biotehnologija”, “nova biotehnologija” i “biofarmaceutska industrija”.

<p>eng.  <b>Broad Biotechnology</b> - Biopharmaceuticals are defined as pharmaceuticals manufactured by biotechnology methods, with the products obviously having biological sources, usually involving live organisms or their active components (bioprocessing; also usually very obvious; or directly involving surrogates, e.g., protein/gene sequences). This broad view has been adopted by Biopharmaceuticals in the U.S. and European Markets, which includes all recombinant proteins, (monoclonal) antibodies, vaccines, blood/plasma-derived products, nonrecombinant culture-derived proteins, and cultured cells and tissues. This is the view/definition most used/favored by those within the U.S. biopharmaceutical industry, and probably best understood by the public.</p>	<p>eng.  <b>New Biotechnology</b> - This view or definition only includes those products based on platform technologies developed in recent decades, usually only including recombinant proteins and monoclonal antibodies as being biopharmaceuticals, leaving out nonrecombinant cultured proteins, blood/plasma proteins, vaccines and other classes of products. This view/definition is more predominant in Europe, e.g., European Union formal definitions, or is used by those whose primary/sole interest is in recombinant and monoclonal antibody products. Many obvious biopharmaceutical products are classed as as 'old' or simply ignored, including many products developed and approved recently and incorporating more recent/newer technology than many recombinant proteins and monoclonal antibodies (which are based on now 'old' technologies, invented in the 1970s and commercialized in the 1980s).</p>
<p>eng.  <b>Biotechnology Business</b> - This company-centric view or definition simply includes all/everything from biotech-like (smaller, entrepreneurial, R&amp;D-intensive) pharmaceutical and life science companies as being biopharmaceutical; plus obvious biopharmaceuticals from large companies (Big Pharma). All/every non-Big Pharma pharmaceutical or life sciences company is viewed as a biopharmaceutical company. By this view/definition, products, technologies and companies need not have any involvement or use of biotechnology to be called biopharmaceutical. Those using this definition/view include many in the press, stock analysts and, regrettably, the Biotechnology Industry Organization (BIO). Many small drug R&amp;D and service companies also describe themselves as biopharmaceutical companies, including those designing or developing small molecule drugs, even when their products, technologies and companies have absolutely no use or involvement with biotechnology.</p>	<p>eng.  <b>Pharma Business</b> - This view simply includes all pharmaceuticals as biopharmaceuticals, i.e., biopharmaceuticals is used as a synonym for pharmaceuticals; and the pharmaceutical industry is now the biopharmaceutical industry. Biopharmaceuticals are no longer a subset of pharmaceuticals, with biopharmaceuticals now taking in all pharmaceutical and biotechnology companies (with a health care orientation). Various industry analytical reports, including those funded and issued by the Pharmaceutical Research and Manufacturers Association (PhRMA), assert that the pharmaceutical industry (dominated by Big Pharma) has just recently morphed or transformed itself into the biopharmaceutical industry as a result of the "convergence" of biotechnology and pharmaceutical industries/technologies; that the pharmaceutical industry, through adoption of new technologies and close relationships (primarily outsourcing, contracting and licensing) with biotech companies, has undergone a fundamental change; and that 'new' and 'revolutionary' technologies, e.g., high-throughput screening and drug design methodologies, are biotechnologies and have fundamentally changed the industry. [Thus, everything in the pharmaceutical universe is now biopharmaceutical].</p>

Adaptirano iz: Ronald A. Rader, *Biopharmaceuticals in the U.S. and European Markets*, BioExecutive, March 2005 & May 2005.

### 1.3.2 Problematika izrade ćelijskih terapija

Ćelijskim terapijama mogu da se bave klinički projekti, instituti/organizacije uključeni u bazična istraživanja i kliničke istraživačke aktivnosti, komercijalne kompanije (eng. *start-up & spin-off companies*) i srednje ili velike korporacije. Pri tome su uključeni u razvoj naučno-tehnoloških istraživanja, kliničku primenu, komercijalizaciju ili usluge vezane za razvoj ćelijskih terapija (npr. testiranje i logistiku). Mnogi projekti i kompanije/organizacije započinju svoje poslovanje kao univerzitetski projekti, bolničke ili istraživačke laboratorije (Armstrong, 2001). U ovoj oblasti, kao i mnogim drugim “*life-science*” oblastima razvoja, ubrzani proces globalizacije, složeni procesi izrade (Slika 1.3) i sve strožije regulatorne zakonske odredbe (Areman, 2009), kao i različitosti u veku trajanja ovih proizvoda (eng. *life-cycle of products*) – projektuju se, i uz ostale faktore, čine tržište sve više međuzavisnim, dinamičnim i kompetitivnim na lokalnom i globalnom nivou. Stoga su se povezivanje adekvatnih poslovnih principa i naučnih projekata uz regulatorni fokus i sveobuhvatni dizajn kvaliteta – pokazali kao održivi pristup za uspešan razvoj projekata i organizacija koje se bave ćelijskim terapijama (kao razvojnom oblašću biotehnoške ili biofarmaceutске industrije, Tabela 1.6) (Armstrong, 2001; Pisano, 2006).

Tabela 1.7: Praktični aspekti izrade ćelijskih terapija koji često ograničavaju proces razvoja novih bioloških lekova u toj oblasti.

Početni materijali i reagensi (eng. <i>Key materials</i> )	Proces izrade (eng. <i>Manufacturing</i> )	Parametri kvaliteta i standardizovane analitičke metode (eng. <i>Product quality/ analytical methods</i> )
Kliničke metode i logistika za primenu novih terapija (eng. <i>Clinical site logistics</i> )	Transport i primo-predaja (eng. <i>Delivery</i> )	Ostali klinički aspekti (eng. <i>Other clinical considerations</i> )

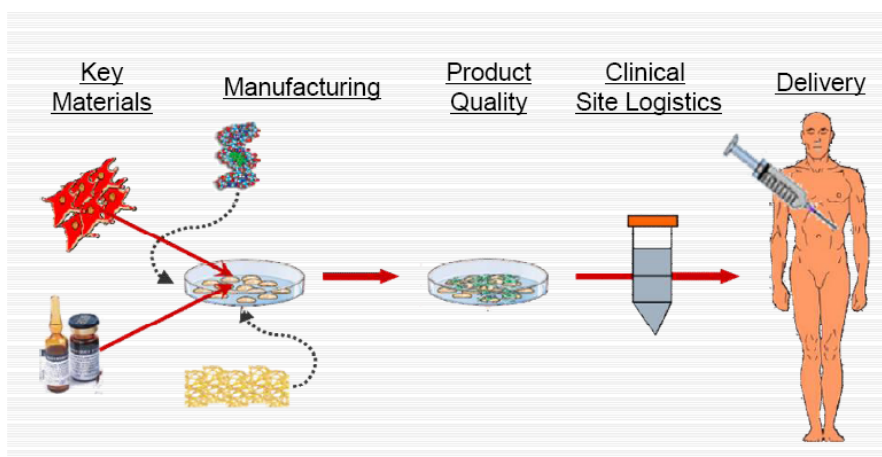
U nekim industrijama broj novih proizvoda prisutnih na tržištu može se smatrati adekvatnim pokazateljem poslovnog rasta i razvoja. U oblasti razvoja ćelijskih terapija, možda više nego u bilo kojoj drugoj grani industrije, osnovni

parametar uspešnosti leži u uravnoteženom pristupu naučno-istraživačkom, poslovnom (Armstrong, 2001; Pisano, 2006) i regulatornom (Burger, 2003; Areman, 2009) aspektu – u mnogo većoj meri nego prosto obezbeđivanje novih naučnih ili tehnoloških pristupa (eng. “*know-how*”).

Procesi izrade efikasnih ćelijskih terapija često su dugi, skupi i bazirani na individualnom pristupu odredjenom pacijentu (eng. *individualised/ autologous cell therapies*). Za razliku od principa izrade vakcina, monoklonalnih antitela ili hormonskih preparata, ovi proizvodi ne mogu biti izradjeni u velikoj količini, retko su u potpunosti okarakterisani (zbog visoke biološke promenljivosti) ili unapred pripremljeni. Činjenica da su u pitanju nepotpuno okarakterisani proizvodi, ponekad izradjeni i testirani tačno u trenutku kada je neophodno ili neposredno pred upotrebu (eng. *in real-time*) kao i da se izradjuju u dugim i skupim procedurama (Tabela 1.7) – izdvaja ćelijske terapije od svih drugih kategorija bioloških lekova ili biotehnoških proizvoda (Burger, 2003; Areman, 2009). Osim toga, svi biološki lekovi (medju kojima i ćelijske terapije) moraju biti osmišljeni i izradjeni u strogo kontrolisanim uslovima<sup>\*\*</sup>. Ovo se zahteva i kada nije moguće pridržavati se svih tradicionalnih principa farmaceutske tehnologije (iako je to krajnji cilj u ovom procesu), posebno za urgentne terapije (eng. *life-saving therapies*) i nove modalitete lečenja koji se primenjuju u kliničkim istraživanjima<sup>Ⓢ</sup>. Stoga se na ove procese izrade ćelijskih terapija primenjuju strategije procene rizika u datom kontekstu (eng. *risk-benefit ratios*) kao i transparentni mehanizmi za finalno odobrenje upotrebe proizvoda (eng. *transparent and accountable release of products*) (Burger, 2003; Areman, 2009).

Smatra se da je tzv. *science-business*, posmatrano na globalnom nivou i od svog nastanka, do sada izgubio više sredstava nego što je zaradio (eng. *failing to deliver return on investment, ROI*) kao i da nije obezbedio dovoljno novih terapeutskih sredstava (na nivou koji je bio očekivan ili koji je obećavao). Takodje je poznato da, u celini gledano, ovaj projekat (eng. *science-business*) nije zadovoljio očekivanja i da se jedan od glavnih razloga nalazi u kontradiktornim ciljevima i zahtevima naučno-tehnoloških i poslovnih aspekata (eng. *conflicting objectives and requirements between science and business*) (Pisano, 2006). Deo problema, smatra se, može se naći i u nedostatku mehanizama za obezbeđivanje postojanosti kvaliteta, adekvatnih ispitivanja da bi se obezbedila bezbednost korisnicima (pacijentima),

uključujući testiranje *in vitro* i *in vivo* (Pisano, 2006). Osim toga, značajan broj projekata i kompanija u ovoj oblasti započinje svoje poslovanje pre nego što imaju oformljene naučno-tehnološke procedure, ulaze u partnerstva bez odgovarajuće podrške a zatim su suočeni sa nekim od konfliktnih prioriteta koje postavljaju naučni i poslovni aspekt njihovog poslovanja<sup>^</sup> (Armstrong, 2001; Pisano, 2006). Neki autori smatraju da “*investment and R&D decisions you make today are not easily quantifiable and not coming to fruition for fifteen to twenty years, special intuition and judgment are required*”<sup>^</sup>. Oni takodje predlažu da je neophodan razvoj nove generacije stručnjaka koji će da vode ovakve projekte i organizacije – posebno kada se uzme u obzir dugoročnost ovih projekata. Tako se dolazi do zaključka da su u industriji razvoja ćelijskih terapija neophodne nove poslovne sposobnosti upravljanja, kao i novi poslovni sistemi bazirani na poštovanju regulative i strogih zakonskih odredbi<sup>^</sup>. Grafički prikaz složenosti i mogućnosti za primene ćelijskih terapija nalazi se u Prilogu 8.



Slika 1.3: Praktični aspekti izrade ćelijskih terapija koji često ograničavaju proces razvoja novih bioloških lekova u toj oblasti / Adaptirano iz: *ISCT presentations Sept 2008, Biologics Consulting Group, by D Weber* /.

\*\* Business Process Management: Global Trends to 2013 (Strategic Focus), September 2008, *Datamonitor*  
 BIO. (2001) Editor's and Reporter's Guide to Cell therapy, *A report by the Cell Therapy Industry Organization*, USA.

### 1.3.3 Osnovni principi kvaliteta u farmaceutskoj industriji i u izradi naprednih terapija: dobra proizvodjačka praksa i sistemi kvaliteta

Koncept kvaliteta u farmaciji kroz implementaciju osnovnih načela Dobre proizvodjačke prakse, DPP (eng. *Good Manufacturing Practice, GMP*) prvo je zaživio u farmaceutskoj industriji. Kvalitet proizvedenih lekova je posebno značajan za bezbednost korisnika lekova tako da je oblast proizvodnje i prometa farmaceutskih proizvoda, u najvećem broju zemalja, najuredjenija oblast privrede koju čine brojne i veoma stroge zakonske odredbe, tehnički propisi, podzakonska akta, uredbе, pravilnici i preporuke kao i složeni, visoko uređeni poslovni sistemi (Pisano G., *Science Business-The Promise, The Reality and The Future of Biotech* 2006; Tasić Lj., *Farmaceutski menadžment i marketing*, 2007; Handfield R., *Biopharmaceutical Supply Chains* 2012; *Pharmaceutical Biotechnology-Drug Discovery and Clinical Applications* 2012; Tasić Lj., Marinković V., *Kvalitet u farmaciji* 2012). U ovom procesu primenjuju su različite “Dobre prakse” koje obuhvataju opšte i široko prihvaćene principe. Bilo da su upitanju razvoj, proizvodnja ili plasiranje na tržište (eng. *marketing*) u integrisanom polju privrede i zdravstva, naročito farmaceutske industrije – izrazito je prisutna filozofija “Dobre prakse”. Dobre prakse se zasnivaju na filozofiji sistema upravljanja kvalitetom (eng. *Quality Management System, QMS*), principima obezbeđivanja kvaliteta (eng. *Quality Assurance, QA*), kontrole kvaliteta (eng. *Quality Control, QC*) a danas sve više na principima upravljanja “totalnog kvaliteta” (eng. *Total Quality Management, TQM*) (Tasić, 2007; Handfield, 2012; Tasić & Marinković, 2012) i sve šire primene najnovijih, regulatornih nauka, koje se razmatraju u nekoliko sledećih poglavlja.

Globalizacija tržišta i nastojanje farmaceutskih kompanija da ostvare što veći profit plasirajući svoje proizvode na što veći broj tržišta – doveli su do inicijativa za harmonizaciju i uskladjivanje različitih aspekata razvoja, proizvodnje, ispitivanja i prodaje lekova. Na ovaj način se osigurava uniformnost kvaliteta proizvoda i bezbednost korisnika lekova, ali se u isto vreme ulazi u kompleksne procese harmonizacije i uskladjivanja zakonskih regulativa u farmaceutskoj industriji na globanom nivou (Pisano, 2006; Tasić, 2007; Handfield, 2012; Tasić & Marinković, 2012). Osim standardnih i opšte prihvaćenih principa “Dobre prakse” i primene složenih sistema kvaliteta u konvencionalnoj farmaceutskoj industriji i njoj bliskim oblastima zdravstva, slični principi i procesi harmonizacije i uskladjivanja razvili su



se u oblasti izrade biofarmaceutskih proizvoda (eng. *biopharmaceuticals*) ili farmaceutske biotehnologije (eng. *pharmaceutical biotechnology*) (Kayser O. & Warzecha H., *Pharmaceutical Biotechnology - Drug Discovery and Clinical Applications* 2012; Ilic *et al.*, 2012a; Ilic *et al.*, 2012b). Medju biofarmaceutskim proizvodima se, u okviru širokog dijapazona biotehnoloških produkata (eng. *biotech products*), nalaze: monoklonalna antitela (eng. *monoclonal antibodies*), insulin/insulin analogni lekovi, eritropoetin i drugi lekovi na bazi proteina – a od nedavno i ćelijske terapije (eng. *cell therapies*) koje vrlo često koriste neke od tipova matičnih ćelija (eng. *stem cells*) kao osnovu za nove biofarmaceutske lekove ili bioterapeutike (eng. *biotherapeutics*) (Kayser & Warzecha, 2012; Ilic *et al.*, 2012a; Ilic *et al.*, 2012b). Smatra se da danas postoji preko 400 biofarmaceutskih proizvoda (lekova i vakcina) koji su u procesu kliničkih ispitivanja a namenjeni su primeni u terapiji preko 200 različitih oboljenja (Kayser & Warzecha, 2012).

#### **1.3.4 Principi regulatorne nauke u farmaciji i naprednim terapijama (eng. *Regulatory Science and Advanced Therapies*)**

U poredjenju sa nekim standardnim terapijskim sredstvima, kao što su na primer proteini i peptidi koji su bili od ogromnog interesa za farmaceutsku industriju (zbog svoje bioreaktivnosti, specifičnosti, bezbedne upotrebe i uspešnosti na tržištu), ćelijske terapije nose drugačije rizike, imaju veoma specifične procese proizvodnje, kontrole kvaliteta i upotrebe, kao i mnoga već aktuelna ali i anticipirana etička razmatranja<sup>#</sup>. Za razliku od proteina i peptida koji se koriste u terapijske svrhe (posebno visoko-specifičnih antitela sa relativno niskom toksičnošću) – ćelijske terapije nisu dovoljno okarakterisane kao gotov terapijski sistem.

Rezultati biomedicinskih istraživanja mogu biti preneti u kliničku praksu uz dugotrajan, kompleksan i često veoma skup proces. Ovo je definisano kao translatorno istraživanje (eng. *translational research*) (Lowes, 2010; Sukkar, 2011, Ilic *et al.*, 2012a; Ilic *et al.*, 2012b). Na sličnom principu se razvijaju napredne terapije (eng. *advanced therapies*) u obliku biofarmaceutskih lekova, koje se još nazivaju biološkim lekovima (eng. *biologic drugs/ biologics/ biologicals*).

---

<sup>#</sup> Harvard Business School: <http://hbswk.hbs.edu/cgi-bin/print?id=5987>

Regulatorne agencije širom sveta suočene su sa novim, visoko dinamičnim poljem naučnih otkrića koji pokušavaju, manje ili više uspešno, da prate i da pri tome garantuju bezbednost pacijentima kao krajnjim korisnicima. Nezavisnost regulatornih agencija i specifični regionalni/ nacionalni uslovi koji su uticali na njihov razvoj doveli su do razlika u pristupu koji su danas vidljivi u radu tih agencija, na primer u zemljama kao što su SAD, Australija i zemlje Evropske zajednice.

Globalnost tržišta i procesi uskladjivanja postojećih i novih regulativa u farmaceutskoj industriji i srodnim granama – kao što je razvoj naprednih terapija (eng. *advanced therapies*) ili bioloških lekova (eng. *biologic drugs*) – doveli su do harmonizacije različitih zakonskih okvira između regulatornih agencija. Ovo je posebno vidljivo u razvijenim zemljama kao što su SAD, Australija i zemlje Evropske zajednice, čije regulatorne agencije (Američka agencija za hranu i lekove - FDA, Australijska agencija za terapijska sredstva - TGA, Evropska agencija za lekove - EMA)\* aktivno učestvuju u tom procesu a čiji su regulatorni principi i zakonske regulative veoma razvijene u oblasti naprednih terapija. U procesu razvoja i harmonizacije^ između tri pomenute agencije postoje određene sličnosti i zajednički principi koji mogu dalje da se koriste i usavršavaju od strane regulatornih eksperata kao izvor znanja i veština u okviru domena regulatornih nauka# (eng. *regulatory science*), između ostalog, omogućujući translatorskim istraživanjima da se brže i uspešnije odvijaju (Lowes, 2010; Sukkar, 2011, Ilic, 2012a; Ilic, 2012b).

Američka agencija FDA je pre nekoliko godina izdala saopštenje\* u kome je naglašeno da je “nedovoljno investiranje u regulatorne nauke jedan od osnovnih razloga što manji broj novih terapeutika dospeva na tržište”. Tako se FDA agencija 2010. godine obavezala da uvede svoje regulatorne nauke u 21. vek, a sredinom 2011. godine ista agencija je izdala svoj strateški plan\* za razvoj regulatornih nauka nazvan ‘*Advancing Regulatory Science in FDA*’. Osim toga, ubrzo je objavljeno partnerstvo/program\*\* “*Common Fund’s Regulatory Science*” između Nacionalnog Instituta za Zdravlje SAD-a (eng. *USA National Institute of Health, NIH*) i agencije FDA.

---

\* Food and Drug Administration, FDA: <http://www.fda.gov> ; Therapeutic Goods Administration, TGA: <http://www.tga.gov.au>  
European Medicines Agency, EMA: <http://www.ema.europa.eu>

^ The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH), Available from URL: <http://www.ich.org>

# What is Regulatory Science? The Institute for Regulatory Science, USA: [www.nars.org/whatis](http://www.nars.org/whatis)

Krajem 2010. godine evropska regulatorna agencija EMA takodje je objavila<sup>^^</sup> da je ona “glavni lider u razvoju i primeni regulatornih nauka”. Kao jedan od dokaza njihove inicijative u tom smislu, navedeni su rezultati konferencije koja je održana pod pokroviteljstvom EMA agencije u to vreme i nakon koje je objavljen izveštaj<sup>##</sup> pod nazivom “*Regulatory science: are regulators leaders or followers?*”. Svi ovi programi i inicijative se odnose kako na primenu novog domena regulatornih nauka<sup>#</sup> (eng. *regulatory science*) u farmaceutskoj industriji tako i na primenu u translatorskim istraživanjima u oblasti naprednih terapija.

#### **1.4 Kvalitet, efikasnost i bezbednost: terapije matičnim ćelijama i novi regulatorni principi (eng. *Principles of Regulatory Science*)**

Uz razmatranje regulativa vezanih za medicinska sredstva (npr. lekove) koja su proizvedena u tradicionalnim okvirima farmaceutske industrije, uspostavljanje i primena novih regulativa vezanih za ćelijske terapije (uopšte, napredne terapije) je neizbežno vezano za oblasti zaštite javnog zdravlja i obezbeđivanja fondova za njihov razvoj – kao i razvoj novih disciplina (što je diskutovano u prethodnom poglavlju). Ovo postavlja regulatorno telo ili regulatornu agenciju u veoma delikatnu poziciju i nameće joj neke nove uloge. Pri tome se očekuje da se u okviru zakonsko regulatornih okvira ‘pomire’ uloge agencije kao nezavisnog ekspertskog tela za ispitivanje bioterapeutika sa ulogom iste agencije u zaštiti javnog zdravlja i formiranju percepcije o bezbednosti i upotrebnoj vrednosti naprednih terapija u stručnoj i opštoj javnosti.

Poreklo termina ‘regulatorne nauke’ nije sasvim jasno ali se smatra da je nastao jos sedamdesetih godina 20. veka kada je jedna od američkih agencija za zaštitu životne sredine (eng. *USA Environmental Protection Agency*) morala da donese određene odluke bez dovoljno adekvatnih informacija, pri tome uzimajući u obzir niz kompleksnosti. Definicija regulatornih nauka koju trenutno koristi agencija FDA je: “nauka koja razvija nove metode, standarde i pristupe za ispitivanje bezbednosti, efikasnosti, kvaliteta i uspešnosti svih produkata (regulisanih od strane agencije)” (eng. “*the science of developing new tools, standards, and approaches to assess safety, efficacy, quality, and performance of all (FDA) regulated products*”)\*.

Još uvek postoji neslaganje sa tim terminom jer mnogi stručnjaci smatraju da “je nauka već nauka bez obzira kako se primenjuje”<sup>#</sup>. Usled pomenute složenosti, postoji mnoštvo dokumenata i raznovrsnih informacija u okviru regulatornih propisa svake od pomenutih agencija – a njihov broj svakodnevno raste u skladu sa razvojem naučnih metoda i propratnih regulativa. Za istraživače, proizvođače biofarmaceutskih sredstava, lekare, pacijente i njihove zakonske predstavnike, kao i za investitore, vladine agencije i opštu javnost, neki od osnovnih problema u primeni i razumevanju regulativa u ovom obilju informacija predstavljaju:

- upotreba različitih termina kao što su biološki lekovi (eng. *biologic drugs*), napredne terapije (eng. *advanced therapies*) i drugi (eng. *engineered tissues and somatic cells vs. biologics vs. biologicals*),
- različiti nivoi na kojima su regulative zastupljene (eng. *different levels of scrutiny, i.e. manufacturing facility vs. manufacturing process*),
- razlike u pristupu agencija koje mogu da se kreću od veoma detaljnih do veoma uopštenih u smislu preporuka i zahteva koje propisuju (eng. *differences in availability of specific formal written procedures: prescriptive vs. overly generic*),
- veoma različiti kriterijumi kvaliteta u odnosu na propisane testove koje zahtevaju (eng. *different testing requirements: all inclusive demonstrated biologic effects vs. infectious disease markers*).

U sledećim poglavljima biće, u glavnim crtama, razmatrani principi regulatornih nauka odnosno zakonsko regulatorni okviri koje u oblasti naprednih terapija i srodnih disciplina primenjuju agencije u SAD-u, Australiji, u zemljama Evropske zajednice i u našoj zemlji.

---

\* FDA News Release: Regulatory science plan positions agency to foster innovation through better science, 2011: [www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm268293](http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm268293)

\*\* The Common Fund’s Regulatory Science program between NIH and FDA: [www.commonfund.nih.gov/regulatoryscience/overview](http://www.commonfund.nih.gov/regulatoryscience/overview)

^^ European Medicines Agency, Special Topics, Regulatory science: [www.ema.europa.eu/ema](http://www.ema.europa.eu/ema)

## EMA Report. Regulatory science: are regulators leaders or followers? [www.ema.europa.eu/ema](http://www.ema.europa.eu/ema)

# What is Regulatory Science? The Institute for Regulatory Science, USA: [www.nars.org/whatis](http://www.nars.org/whatis)

### 1.4.1 Globalni pristup i definicija osnovnih zakonskih regulativa u izradi ćelijskih terapija

Iako su neki od bioloških lekova (npr. monoklonalna antitela) bili prethodno regulisani od strane regulatornih agencija, biološki produkti koji se baziraju na transplantaciji ćelija i tkiva bili su, istorijski gledano i iz više razloga, isključeni iz okvira ovih regulativa (Burger, 2003b; Halme, 2006; Ilic *et al.*, 2012a; Ilic *et al.*, 2012b). Danas se, ipak, smatra, da je neophodno da se grupa bioloških terapeutika baziranih na transplantaciji ćelija i tkiva takodje reguliše. Istovremeno, poznato je da tradicionalni sistemi kvaliteta usvojeni iz farmaceutske industrije nisu najpogodniji za ovu svrhu; budući da su ovi bioterapeutici složeniji i teži za identifikaciju kao i da podležu specifičnim, veoma složenim procesima prikupljanja, izrade i primene (Burger, 2003a; Halme, 2006; Kirouac & Zandstra, 2008; Ilic *et al.*, 2012a; Ilic *et al.*, 2012b). Ova nova razmatranja uslovljena rapidnim razvojem naučnih istraživanja, kao i višeznačna uloga regulatornih agencija (razmatrana u prethodnom poglavlju), doveli su do formiranja novih, složenih regulatornih okvira koji se primenjuju u sferi razvoja bioloških lekova baziranih na transplantaciji ćelija i tkiva. Pri tome se formira inovativni sektor biofarmaceutskih proizvoda ‘koji postaje jedan od najintenzivnijih istraživačkih sektora sa ogromnim potencijalom da obezbedi nove lekove i napredak medicine u budućnosti’ (eng. “*has become one of the most research-intensive sectors with a great potential for delivering innovative human medicines in the future*”)<sup>§</sup>.

#### 1.4.1.1 Model\* zakonskih regulativa u Sjedinjenim Američkim Državama (SAD)

Nakon svog osnivanja 1930. godine, kome je prethodio prvi zakon u SAD-u o hrani i lekovima ustanovljen još 1906. godine (eng. *Food and Drug Act*) kao i niz drugih mnogobrojnih zakonskih regulativa i pravilnika u toj oblasti – američka agencija FDA je 1993. godine objavila svoj prvi interim pravilnik koji je zahtevao adekvatno testiranje tkiva na infektivne bolesti (pre svega HIV, hepatitis B i C), prikupljanje informacije o davaocu tkiva i čuvanje podataka vezanih za transplantaciju (nakon incidenta i upotrebe HIV zaraženog tkiva za transplantaciju zabeleženog u SAD-u u ranim devedesetim). Zbog sveobuhvatnosti svog pristupa koji se bazira na proceni rizika (eng. *risk-based approach*) kao i zbog ekspertize koju danas poseduju stručnjaci u ovoj agenciji, FDA se smatra jednom od najznačajnijih

\* Model podrazumeva principe i infrastrukturu regulatornih tela.

svetskih regulatornih agencija u ovoj oblasti. Agencija FDA je 1997. godine objavila dva bitna dokumenta<sup>§§</sup> time označavajući planove za dalje regulisanje primene ćelija, ćelijskih produkata i produkata baziranih na primeni humanih tkiva. Zatim je 2001. godine formiran pristup za registraciju laboratorija koje se bave ovom delatnošću, a u maju 2004. godine FDA je započela aktivnu kampanju baziranu na regulativama koje su zahtevale da svi davaoci ćelija i tkiva budu podvrgnuti testovima na infektivne bolesti (eng. *donor-eligibility final rule, 69 FR 29786*). Agencija je krajem 2004. godine donela novu zakonsku regulativu kojom se zahteva da sve laboratorije koje se bave izradom produkata baziranih na ljudskim ćelijama i tkivima (eng. *human cell and tissue based products, HCT/P*) moraju da se pridržavaju Dobre prakse u toj oblasti (eng. *Current Good Tissue Practices, CGTP*) koja, između ostalog, zahteva primenu procedura za adekvatno rukovanje, procesovanje, obeležavanje i čuvanje podataka (eng. *handling, processing, labelling, and record-keeping procedure*).

Važan datum u pristupu i primeni novih zakonskih regulativa agencije FDA u ovoj oblasti je 25. maj 2005. godine kada je objavljeno novo interim pravilo (eng. *interim final rule*) da se izvrši revizija do tada postojećih regulativa za testiranje i odabir HCT/P donora kao i pravila za njihovo obeležavanje (eng. *70 FR29949*). Agencija je ovim odgovorila na značajne komentare eksperata u ovoj oblasti koji su se odnosili na neke nepraktičnosti HCT/P regulativa koje su prethodno bile na snazi. Danas su najznačajnije CGTP i druge HCT/P regulative koje primenjuje agencija FDA sadržane u federalnom zakonu SAD-a tzv. kodu/ dokumentu *21 CFR Part 1271* (eng. *21 Code of Federal Regulations Part 1271*) koji obuhvata i odredbe za registraciju laboratorija koje se bave ovom delatnošću. Uz to postoji mnoštvo podzakonskih akata, odredbi i preporuka koje agencija FDA primenjuje u ovoj oblasti. Federalni zakonski dokument *21 CFR Part 1271* ima šest osnovnih delova (eng. *General provisions pertaining to the scope and purpose of Part 1271, as well as definitions; Registration and listing procedures; Provisions for the screening and testing of donors to determine their eligibility; Current Good Tissue Practice (CGTP) requirements; Certain labelling and reporting requirements; and Inspection and enforcement provisions*).

<sup>§</sup>FDA News Release: Regulatory science plan positions agency to foster innovation through better science, 2011: [www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm268293](http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm268293)  
What is Regulatory Science? The Institute for Regulatory Science, USA: [www.nars.org/whatis](http://www.nars.org/whatis)

<sup>§</sup>The financing of biopharmaceutical product development in Europe, Final Report. European Commission, Enterprise and Industry, October 2009. ISBN 978-92-79-14055-6.

Tabela 1.8: Kategorije HCT/P proizvoda koje ne zadovoljavaju sve kriterijume propisane u regulativi 21 CFR 1271.10(a).

<p>Krv i krvni produkti:</p> <p>eng. <i>Blood and Blood Products are covered under CP 7342.001 "Inspection of Licensed and Unlicensed Blood Banks, Brokers, Reference Laboratories, and Contractors"; and CP 7342.002 "Inspection of Source Plasma Establishments"</i></p>	<p>Medicinske naprave:</p> <p>eng. <i>HCT/Ps that do not meet all 21 CFR 1271.10(a) criteria, and are regulated as Medical Devices are covered under CP 7382.845 "Inspection of Medical Device Manufacturers"</i></p>
<p>Visoko manipulirane ćelijske i genske terapije:</p> <p>eng. <i>HCT/Ps that do not meet all 21 CFR 1271.10(a) criteria, i.e. Autologous, Allogeneic, or Xenogeneic Cells whose biological characteristics have been altered (propagate, pharmacologically treated, etc.); Ex Vivo and Gene Therapy products are regulated as biological drugs and are covered under CP 7345.848 "Inspection of Biological Drug Products"</i></p>	<p>Proizvodi bazirani na ćelijama i tkivu koje je prikupljeno pre 25. maja 2005. godine:</p> <p>eng. <i>HCT/Ps recovered before May 25, 2005 and regulated under 21 CFR 1270 and subparts A and B of Part 1271 are covered under CP 7341.002A "Inspection of Tissue Establishments".</i></p>

Uz to postoje njegove specifične odredbe (eng. *21 CFR Part 1271 subparts A, B, C, F, 21 CFR 1271.150(c), and 21 CFR 1271.155 of subpart D apply to reproductive HCT/Ps*) od kojih se neke odnose na reproduktivna tkiva. Ovaj dokument se smatra “novim” i sve njegove zakonske odredbe se odnose na HCT/P produkte prikupljene nakon 25. maja 2005. godine. HCT/P produkti prikupljeni i/ili izradjeni pre tog datuma su regulisani primenom prethodnog federalnog zakonskog koda/dokumenta 21 CFR 1270 kao i delova A i B “novih” dokumenata u specifičnim domenima (eng. *subparts A and B of Part 1271, as appropriate*). Oni HCT/P proizvodi koji ne zadovoljavaju sve kriterijume propisane u regulativi 21 CFR 1271.10(a) regulisani su kao lekovi (eng. *drugs*), medicinske naprave (eng. *devices*) ili biološki proizvodi (eng. *biological products*), a samim tim se uklapaju u neke druge zakonsko regulatorne FDA okvire (Tabela 1.8).

Dalja razmatranja o regulatornom okviru koji primenjuje agencija FDA kao i pregled nekih drugih FDA regulativa nalaze se u Prilogu 6.

\* Food and Drug Administration (FDA) <http://www.fda.gov>  
The Center for Biologics Evaluation and Research (CBER)  
<http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/DevelopmentApprovalProcess/default.htm>  
The Center for Drugs Evaluation and Research (CDER) <http://www.fda.gov/cder/guidance/959fnl.pdf>  
The Center for Biologics Evaluation and Research (CBER)  
<http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/DevelopmentApprovalProcess/NewDrugApplicationNDAProcess/default.htm>  
§§ "A Proposed Approach to the Regulation of Cellular and Tissue-Based Products" (62 FR 9721, March 4, 1997) and "Reinventing the Regulation of Human Tissue".

#### 1.4.1.2 Model\* zakonskih regulativa u Australiji

Regulatorna agencija za terapijska sredstva u Australiji (eng. *Therapeutic Goods Administration, TGA*) osnovana je 1990. godine kao deo federalne vladine agencije za zdravlje (eng. *Commonwealth Department of Health and Aged Care*). Njen rad se zasniva na najvišem zakonskom aktu uspostavljenom od strane federalne vlade (eng. *Therapeutic Goods Act of 1989*)<sup>^</sup>.

Agencija TGA kontroliše promet terapijskih sredstava u Australiji na tri različita načina (eng. *pre-market evaluation and approval, licensing of manufacturers and post market surveillance*). Lekovita sredstva koja su uvezena ili proizvedena u Australiji moraju biti registrovana u okviru nacionalnog registra lekova (eng. *Australian Register of Therapeutic Goods, ARTG*), ukoliko nisu izuzeta. Pristup lekovitim sredstvima koja su izuzeta obezbeđuje se kroz nekoliko mehanizama/shema (eng. *Special Access Scheme Cat. A and B, Clinical Trials - CTN and CTX Schemes, authorized prescriber/s, and importation for personal use*)<sup>^</sup>. U smislu naprednih terapija, koje se u novom regulatornom okviru agencije TGA<sup>#</sup> nazivaju biološkim produktima (eng. *biologicals*), zakonske regulative između ostalog, uključuje kontrolu ćelija i tkiva namenjenih za transplantaciju koji su: proizvedeni, uvezeni u Australiju ili namenjeni izvozu iz zemlje<sup>#</sup>.

Pre nego što je novi regulatorni okvir<sup>#</sup> (eng. *Biologicals Regulatory Framework*) stupio na snagu 31. maja 2011. godine, ćelije i tkiva namenjeni za transplantaciju nisu bili regulisani kroz visoke zakonske odredbe u Australiji (eng. *Therapeutic Goods [Excluded Goods] Order*). Ovi proizvodi su bili uglavnom regulisani kao medicinska sredstva ili kao medicinske naprave (eng. *medicines or medical devices*) i bili su izuzeti iz primene odgovarajuće zakonske odredbe kojom se uređivao ulazak terapijskih sredstava u registar (eng. *specific parts of the Therapeutic Goods Act 1989*). Pri tome su se na ove proizvode primenjivali neki drugi delovi istog zakonskog akta kao što je npr. obavezno poštovanje principa Dobre proizvođačke prakse (eng. *compliance with Good Manufacturing Principles*) čija je najnovija verzija u ovoj oblasti (eng. *Australian Code of Good Manufacturing Practice for human blood and blood components, human tissues and human cellular therapy products*) stupila na snagu u avgustu 2013. godine<sup>^^</sup>.

---

\* Model podrazumeva principe i infrastrukturu regulatornih tela.



Konferencija ministara zdravlja u Australiji (eng. *Australian Health Ministers' Conference*) je 2006. godine preporučila da se ćelijske terapije i terapije na bazi transplantacije tkiva, kao i nove generacije bioloških lekova (uz izuzetak organa i reproduktivnih tkiva) regulišu kao deo terapijskih sredstava pod ingerencijom TGA. U tom smislu je novi zakonski okvir, koji se bazira na proceni rizika i shodno tome primenjuje na različitim nivoima (tzv. klase proizvoda), stupio na snagu 31. maja 2011 godine; isti zakonski okvir je predviđen da obezbedi podršku razvoju inovativnih terapija koje bi tek trebalo da budu razvijene u budućnosti. Postavljen je trogodišnji period tranzicije za već registrovane produkte a svi novi proizvodi u datoj oblasti odmah podležu zakonskim regulativama pri čemu ulaze u nacionalni registar terapijskih sredstava (eng. *ARTG*). Na osnovu najvišeg zakonskog akta (eng. *Therapeutic Goods Act 1989*) i njegovih amandmana, agencija TGA u biološke produkte (eng. *biologicals*) ubraja “sve što sadrži ili je naravljeno od ljudskih ćelija ili tkiva i što se koristi za navedene funkcije” (Tabela 1.9).

Tabela 1.9: Biološki proizvodi koji zadovoljavaju ili ne zadovoljavaju kriterijume propisane u novom zakonskom okviru (eng. *Biologicals Regulatory Framework*)<sup>#</sup>.

Proizvodi koji zadovoljavaju kriterijume novog zakonskog okvira	Izuzeti proizvodi koji ne zadovoljavaju kriterijume novog zakonskog okvira
eng. - <i>treat or prevent disease, ailment, defect or injury,</i> - <i>diagnose a condition of a person,</i> - <i>alter the physiological processes of a person,</i> - <i>test the susceptibility of a person to disease,</i> - <i>replace or modify a person's body parts.</i>	eng. - <i>assisted reproductive technologies (in vitro fertilisation),</i> - <i>fresh viable organs,</i> - <i>fresh haematopoietic progenitor cells (bone marrow transplants),</i> - <i>cells and tissues made by a medical practitioner for a single patient under the care of that medical practitioner.</i>
Proizvodi koji se smatraju biološkim proizvodima (eng. <i>biologics</i> )	Proizvodi koji se ne smatraju biološkim proizvodima (eng. <i>non-biologics</i> )
eng. - <i>human stem cells,</i> - <i>tissue-based products (skin, bone, ocular, cardiovascular),</i> - <i>cell-based products (genetically modified, in vitro cell expansion or depletion),</i> - <i>combined cell and tissue products (collagen matrices for localised cell delivery).</i>	eng. - <i>biological prescription medicines (vaccines, plasma derivatives, recombinant products),</i> - <i>labile blood and blood components,</i> - <i>haematopoietic progenitor cells used for haematopoietic reconstitution (non-fresh transplants).</i>

Biološki proizvodi u okviru “kombinovanih produkata” npr. u kombinaciji sa medicinskim napravama/pomagalima (eng. *integrated with the medical device*), kao što su metalni stentovi obloženi matriksom i endotelijalnim ćelijama (eng. *metal stent coated with a matrix and endothelial cells*) – regulisani su od strane novog zakonskog okvira i moraju biti registrovani kao biološki produkt (eng. *biological*); dok je sâm metalni stent nezavisno naveden u registru medicinskih naprava/pomagala.

Sredstva koja su izuzeta iz regulative kao terapijska sredstva, nalaze se u okviru posebnog zakonskog akta (eng. *Therapeutic Goods /Excluded/ Order*) i nisu regulisana od strane agencije TGA. Postoje proizvodi koji su poreklom iz ljudskog tkiva, koji spadaju u terapijska sredstva iako nisu svrstani u biološke produkte (eng. *things that are not biologicals, Determination No.1 of 2011*), tako da su oni regulisani od strane TGA agencije (Tabela 1.9), ali u okviru drugih zakonskih regulativa. U svakom slučaju, zakonski okvir obezbeđuje diskreciono pravo zakonodavcu da proglasi da li postojeći ili novi terapijski proizvodi koji su ćelijski-bazirani (eng. *cell-based therapeutic goods*) spadaju u kategoriju “*biologicals*” ili ne (Tabela 1.9).

Dalja razmatranja i detaljan pregled TGA zakonskih regulativa nalaze se u Prilogu 6. Pregled ostalih regulatornih standarda, preporuka i pravilnika koji se koriste na globalnom nivou kao i u Australiji predstavljen je u Prilogu 7.

---

Therapeutic Goods Administration:

<sup>^</sup><http://www.tga.gov.au/docs/html/clintrials.htm> ; <http://www.tga.gov.au/docs/pdf/euguide/ich/ich13595.pdf>

<sup>#</sup><http://www.tga.gov.au/industry/biologicals-argb.htm> ; <http://www.tga.gov.au/industry/biologicals-standards.htm>

<sup>^^</sup><http://www.tga.gov.au/industry/manuf-cgmp-human-blood-tissues-revised.htm>

Therapeutic Goods Administration:

<sup>#</sup><http://www.tga.gov.au/industry/biologicals-argb.htm> ; <http://www.tga.gov.au/industry/biologicals-standards.htm>

<sup>^^</sup><http://www.tga.gov.au/industry/manuf-cgmp-human-blood-tissues-revised.htm>

### 1.4.2 Model\* zakonskih regulativa u Evropskoj Zajednici

Osnove moderne regulative o oblasti kontrole lekova u Evropi postavljene su 1968. godine kada je uspostavljena regulatorna agencija u Velikoj Britaniji, (eng. *Medicines Control Authority, MCA*) koja se danas skraćeno naziva MHRA (eng. *Medicines and Healthcare products Regulatory Agency*).

Evropska agencija za kontrolu medicinskih sredstava, kao decentralizovano telo Evropske zajednice (eng. *decentralised body of the European Union, EU*) sa sedištem u Londonu, započela je svoju aktivnost 1995. godine, prvo kao EMEA a potom kao EMA (eng. *European Medicines Agency*)<sup>§</sup>.

Prevažodna uloga evropske regulatorne agencije EMA je da obezbedi autorizaciju medicinskih proizvoda što obezbedjuje centralizovanu proceduru i uzajamno prihvatanje ove procedure u evropskim zemljama (eng. *a centralised and a mutual recognition procedure*). Agencija EMA je podeljena u pet osnovnih delova, svaki sastavljen od više sektora; ima Upravni odbor i šest komiteta a u svom radu obuhvata ekspertsko znanje iz 30 zemalja (eng. *EU and EEA-EFTA*) countries. Od kraja 2012. godine se planira restrukturiranje nekih delova agencije koje će verovatno biti obavljeno u toku ove ili sledeće godine<sup>§§</sup>. Osnovna odgovornost agencije je zaštita i unapredjenje javnog zdravlja u regionu a time pokriva lekove i druga terapijska sredstva koji se koriste u medicini i veterinarskoj nauci.

Istorijski gledano, nedostatak centralizovanog zakonskog okvira u Evropskoj zajednici je, u određenoj meri, onemogućio da se prevaziđu razlike između nacionalnih zakonskih regulativa u oblasti razvoja novih medicinskih sredstava. U svom nastojanju da obezbedi adekvatan okvir za novonastala naučna dostignuća u oblasti biofarmaceutskih lekova i novih terapijskih pristupa, agencija EMA je uspostavila zakonske odredbe za napredne terapije (eng. *regulatory framework for ATMPs*). Regulativa 1394 (eng. *Regulation (EC) No 1394/2007*) zvanično je usvojena od strane Ministarskog saveta Evropske zajednice (eng. *Council of Ministers, EU*) u oktobru 2007. godine. Napredne terapije (eng. *Advanced-therapy medicinal products, ATMP*) su u okviru nove regulative tada definisane kao lekovi bazirani na genskim

---

\* Model podrazumeva principe i infrastrukturu regulatornih tela.

terapijama, adultnim matičnim ćelijama ili inženjeringu tkiva (eng. *medicines for human use that are based on gene therapy, somatic-cell therapy or tissue engineering, TE*). Period tranzicije za proizvode bazirane na ćelijskim terapijama bio je do 30. decembra 2011. godine a za TE proizvode do 30. decembra 2012. godine. Ovo se odnosilo na sve medicinske proizvode koji su bili na tržištu zahvaljujući nacionalnim regulativama u pojedinim zemljama Evropske zajednice – ili usled nedostatka istih (što se ponekad baziralo samo na sporadičnim istraživanjima ili minimalnoj količini podataka). U toku i nakon perioda tranzicije, centralna procedura agencije EMA zahteva da svaki ATMP proizvod bude pojedinačno odobren i u potpunosti okarakterisan na osnovu novih zakonskih odredbi kao što je ne samo Reg.1394/2007 već i druge regulative (eng. *Regulations*) i direktive (eng. *Directives*) i njihovi brojni amandmani.

Kompleksnost zakonskog pristupa Evropske zajednice koji se odnosi na napredne terapije (ATMP) proizilazi u određenoj meri od mnoštva drugih direktiva (eng. *a directive is the minimum legal standard issued by the European Parliament requiring adoption by the member states*)<sup>§</sup> i regulativa (eng. *a regulation completely by passes all member state laws and takes precedence*)<sup>§§</sup> (Tabela 1.11).

Slika 1.4: Definicija naprednih terapija prema Reg. 1394/2007 Evropskog parlamenta.

eng.  
*The European Parliament Regulation 1394/2007 (amending directive 2001/83/EC and Regulation 726/2004) identifies an **advanced therapy medicinal product (ATMP)** as:*  
*“... a medicinal product as defined in Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community code relating to medicinal products for human use (the Directive), as amended to reflect new innovative therapeutic products. Specifically, an ATMP is a biological medicinal product which is either:*  
*- a gene therapy medicinal product as defined in Part IV of Annex I to Directive 2001/83/EC;*  
*- a somatic cell therapy medicinal product as defined in Part IV of Annex I to Directive 2001/83/EC; or*  
*- a tissue engineered product as defined in Article 2 1 (b) of the ATMP Regulation (1394/2007/EC)”*

<sup>§</sup>European Medicines Agency: <http://www.ema.europa.eu/ema/>

<sup>§</sup>European Medicines Agency: <http://www.ema.europa.eu/ema/>

<sup>§§</sup>[http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/news\\_and\\_events/news/2013/08/news\\_detail\\_001868.jsp&mid=WC0b01ac058004d5c1](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/news_and_events/news/2013/08/news_detail_001868.jsp&mid=WC0b01ac058004d5c1)

<sup>¶</sup>The European Medicines Agency (EMA)

[http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/about\\_us/general/general\\_content\\_000235.jsp&murl=menus/about\\_us/about\\_us.jsp&mid](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/about_us/general/general_content_000235.jsp&murl=menus/about_us/about_us.jsp&mid)

Tabela 1.10: Podrška koju agencija EMA nudi individualnim i organizacionim projektima za napredne terapije u ranom stadijumu razvoja kao dodatak inicijativi eng. *Innovation Task Force, ITF* i uloga Komiteta za napredne terapije (eng. *Committee for Advanced Therapies, CAT*).

Informacije	Dokumenta
<p>eng.                      -the classification of ATMP marketing-                      authorisation applications;                      -certification of the quality of ATMPs;                      -non-clinical data submitted by small and medium-                      sized enterprises (SMEs) developing ATMPs.</p>	<p>eng.                      -European Union regulation on advanced                      therapies;                      -ATMP classification;                      -Certification procedure for small- and medium-                      sized enterprises;                      -Marketing-authorisation application submission;                      -Scientific guidelines;                      -Risk management;                      -Interested parties; and                      -Guidance.</p>
Proces za sticanje odobrenja od strane CAT i EMA	Ostale uloge CAT
<p>eng.                      The Agency's Committee for Advanced Therapies                      (CAT) plays a central role in the scientific                      assessment of advanced-therapy medicines. It                      provides the expertise that is needed to evaluate                      advanced-therapy medicines. During the                      assessment procedure, the CAT prepares a draft                      opinion on the quality, safety and efficacy of an                      advanced-therapy medicine. It sends this to the                      Committee for Medicinal Products for Human Use                      (CHMP). Based on the CAT opinion, the CHMP                      adopts a recommendation for the European                      Commission. The European Commission may                      grant or refuse a marketing authorisation on the                      basis of the Agency's recommendation.</p>	<p>eng.                      -gives recommendations on the classification of                      advanced-therapy medicines;                      -reviews data on the manufacture and testing of                      medicines developed by small companies;                      -contributes towards giving scientific advice on                      advanced-therapy medicines;                      -contributes towards an environment that                      encourages the development of advanced-therapy                      medicines;                      -provides scientific expertise and advice for any                      initiatives related to the development of innovative                      medicines and therapies, at the request of the                      European Commission.                      -engages with its stakeholders through regular                      interaction with its interested parties.</p>

Tabela 1.11: Kompleksnost zakonskih propisa u Evropskoj zajednici koji se odnose na napredne terapije (eng. *ATMP*), a sastoje se iz više regulativa i direktiva.

Directive 2001/83		
Regulation 726	Reg. 668 (Certification)	
Regulation 1394/2007		
Directive 2003/63	Directive 2003/94	Directive 2005/28

Regulativa 726 je takozvana centralna procedura (čiji su amandmani odslkali promene nastale usled donošenja novog zakonskog okvira vezanog za napredne terapije) i ona definiše koji produkti moraju da budu autorizovani kroz centralnu proceduru jer ne mogu više biti odobreni kroz pojedinačne nacionalne regulative. Medjutim, promene regulative ne obavezuju zemlje članice da menjaju svoje zakone

na isti način kao kada se uskladjuju sa novim direktivama<sup>⌘</sup>. Regulativa 1394/2007 (eng. *Regulation 1394/2007*) koju je doneo Evropski parlament, je dopunila direktivu 2001/83/EC i regulativu 726/2004 (eng. *directive 2001/83/EC & Regulation 726/2004*) novom definicijom naprednih terapija (eng. *advanced therapy medicinal product, ATMP*) (Slika 1.4).

Aneks I direktive 2001/83 (eng. *Annex I, Directive 2001/83/EC*) je u junu 2003. godine bio zamenjen aneksom I direktivi 2003/63 (eng. *Annex I, Directive 2003/63/EC*). Ovaj aneks opisuje naučnotehničke kriterijume koji su neophodni u dozieru (eng. *dossier*) za marketinšku autorizaciju svih klasa medicinskih produkata\* i na svim nivoima (eng. *national, decentralised & centralised procedure*) a prema novoobjavljenoj verziji Zajedničkog tehničkog dokumenta (eng. *Common Technical Document, CTD*), koji propisuje novi, harmonizovan format i terminologiju. Nova direktiva 2003/63 sa aneksom I je stupila na snagu 1. jula 2003. godine a zemlje članice su bile u obavezi da usklade svoje neophodne zakonske regulative najkasnije do 31. oktobra 2003. godine. Shodno složenosti zakonskih okvira Evropske zajednice, mnogobrojni zakonski propisi (medju kojima je grupa pravilnika i zakonskih propisa za regulisanje medicinskih produkata i naprednih terapija) nalaze se na Eudralex-u (eng. *EU Legislation/ Eudralex*<sup>¶</sup>) kao i na web sajtu Direktorata evropske komisije (eng. *European Commission's Directorate*)<sup>^^</sup>. Dalja razmatranja regulativa EMA agencije u oblasti naprednih terapija nalaze se u Prilogu 6.

---

<sup>⌘</sup>There are three bodies in Europe: elected European Parliament (meets at Strasburg); they vote and discuss/ negotiate laws but cannot propose a law; non-elected European Commission in Brussels decides what draft laws should be put before the Parliament; after the Parliament has decided something, it has to be adopted by the Council of Minsters. If we talk about the Health, all of the Ministers of Health of member states, as a Council, has to endorse the new law.

<sup>¶</sup>The European Medicines Agency (EMA)

[http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/about\\_us/general/general\\_content\\_000235.jsp&murl=menus/about\\_us/about\\_us.jsp&mid](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/about_us/general/general_content_000235.jsp&murl=menus/about_us/about_us.jsp&mid)

\* Neki određeni medicinski produkti moraju da ispune i dodatne zahteve koji su doneti drugim zakonskim propisima, ukoliko tome podlezu.

<sup>¶¶</sup>[http://ec.europa.eu/health/documents/eudralex/index\\_en.htm](http://ec.europa.eu/health/documents/eudralex/index_en.htm)

<sup>^^</sup>[http://ec.europa.eu/health/human-use/index\\_en.htm](http://ec.europa.eu/health/human-use/index_en.htm)

### 1.4.3 Model\* zakonskih regulativa u Srbiji

Zakon o transplantaciji ćelija i tkiva stupio je na snagu prvi put u Republici Srbiji nakon objavljivanja u Službenom Glasniku broj 72 iz 2009. godine a primenjen je od 1. januara 2010. godine. Danom početka primene ovog zakona prestala je da važi odredba člana 48. stav 3. Zakona o zdravstvenoj zaštiti (Sl. glasnik RS br. 107 iz 2005. godine).

Zakonom o transplantaciji ćelija i tkiva (u daljem tekstu: Zakon) uređeno je “dobijanje, doniranje, testiranje, obrada, očuvanje, skladištenje i distribucija ljudskih ćelija i tkiva namenjenih za primenu kod ljudi; osnivanje banaka ćelija i tkiva; nadzor nad sprovođenjem ovog zakona i obavljanje određenih poslova državne uprave u oblasti transplantacije ćelija i tkiva, kao i druga pitanja od značaja za organizaciju i sprovođenje transplantacije ćelija i tkiva.” (Zakon o transplantaciji ćelija i tkiva, Sl. glasnik RS br. 72/2009). Primenom Zakona je uređen “postupak dobijanja, doniranja, testiranja, obrade, očuvanja, skladištenja i distribuciju krvotvornih ćelija i matičnih ćelija hematopoeze iz periferne krvi, krvi iz placente i koštane srži, reproduktivnih ćelija, tkiva i ćelija fetusa i matičnih ćelija odraslih organizama i embriona primenjuju se odredbe ovog zakona, osim ako ovim zakonom nije drukčije uređeno. Upotreba ćelija i tkiva kao autolognih transplantata u istom hirurškom postupku, kao i krvi i komponenata krvi, obavlja se u skladu sa zakonom.” (Zakon o transplantaciji ćelija i tkiva, Sl. glasnik RS br. 72/2009). U okviru Zakona naglašeno je da se, za potrebe transplantacije ćelija, u zdravstvenim ustanovama organizuju timovi za transplantaciju. Takođe, uređeno je da se postupak akreditacije zdravstvenih ustanova, za potrebe transplantacije ćelija, obavlja u skladu sa zakonom kojim se uređuje zdravstvena zaštita, a na osnovu standarda za akreditaciju zdravstvenih ustanova koje obavljaju poslove transplantacije ćelija, odnosno tkiva, koje propisuje Ministar zdravlja Republike Srbije. Novi zakonski principi odredili su da zdravstvene ustanove mogu podneti zahtev za osnivanje banke ćelija i tkiva u roku od 12 meseci od dana početka rada Uprave za biomedicinu Ministarstva zdravlja Republike Srbije; a zdravstvene ustanove, odnosno delovi zdravstvenih ustanova koji su već obavljali određene poslove banaka ćelija i tkiva u Republici Srbiji bili su dužni da usklade svoj rad sa odredbama ovog zakona u roku od 12 meseci od dana početka rada Uprave za biomedicinu.

Tabela 1.12: Domeni u procesu transplantacije ćelija i tkiva koji su regulisani Zakonom (Zakon o transplantaciji ćelija i tkiva, Sl. glasnik RS br. 72/2009).

<p>I OSNOVNE ODREDBE</p> <p>II NACELA POSTUPKA TRANSPLANTACIJE ĆELIJA I TKIVA</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Načelo solidarnosti, Načelo medicinske opravdanosti transplantacije; Načelo zaštite interesa i dostojanstva; Načelo dostupnosti i zabrane diskriminacije; Načelo bezbednosti.</li> </ul> <p>III ORGANIZACIJA OBAVLJANJA POSLOVA TRANSPLANTACIJE ĆELIJA I TKIVA</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Zdravstvena ustanova koja obavlja poslove transplantacije ćelija, odnosno tkiva; Izdavanje, obnova i oduzimanje dozvole; Uloga koordinatora i etičkog odbora u ovlašćenoj zdravstvenoj ustanovi.</li> </ul> <p>IV POSTUPAK TRANSPLANTACIJE ĆELIJA I TKIVA</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Dobrovoljnost davanja ćelija i tkiva; Medicinska opravdanost postupka transplantacije; Pismeni pristanak punoletnog primaoca; Pismeni pristanak maloletnog primaoca, odnosno primaoca kome je oduzeta poslovna sposobnost; Republička lista čekanja za transplantaciju; Jedinствeni republički registar davalaca ćelija, odnosno tkiva; Razmena ćelija i tkiva radi lečenja; Sledivost ćelija i tkiva; Postupak transplantacije; Sprečavanje rizika prenošenja bolesti, kao i očuvanje kvaliteta ćelija, odnosno tkiva; Finansiranje postupka transplantacije; Praćenje ozbiljnih neželjenih reakcija i ozbiljnih neželjenih pojava; Mogućnost korišćenja podataka; Prikupljanje, obrada, vođenje i korišćenje podataka o davaocu, odnosno primaocu i medicinska dokumentacija; Obaveštavanje Uprave za biomedicinu; Standardne operativne procedure i vodiči dobre prakse.</li> </ul>
<p>V UZIMANJE ĆELIJA I TKIVA OD ŽIVOG DAVAOCA</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Uslovi za uzimanje ćelija i tkiva od živog davaoca; Procena rizika po zdravlje davaoca; Pismeni pristanak i povlačenje pristanka davaoca; Lica koja mogu biti davaoci ćelija i tkiva; Pravo na nepristrasno informisanje davaoca ćelija, odnosno tkiva radi davanja pismenog pristanka.</li> </ul> <p>VI UZIMANJE TKIVA OD UMRLOG LICA</p> <p>VII BANKE ĆELIJA I TKIVA</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Osnivanje banke ćelija i tkiva; Izdavanje, obnova i oduzimanje dozvole za banku ćelija i tkiva; Inspekcijski nadzor nad bankom ćelija i tkiva; Evidencije koje vodi banka ćelija i tkiva i obaveza izveštavanja; Registar banki, ćelija i tkiva; Upravljanje sistemom kvaliteta; Obrada i uslovi skladistenja ćelija i tkiva; Obeležavanje, dokumentovanje i ambalaža; Identifikacija ćelija, odnosno tkiva; Distribucija; Odnos između banke ćelija i tkiva i trećih lica.</li> </ul> <p>VIII NAUČNOISTRAŽIVAČKI RAD</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Dozvola za sprovođenje naučnoistraživačkog rada; Dozvola za uvođenje novih zdravstvenih tehnologija u postupku lečenja primenom ćelija, odnosno tkiva.</li> </ul>
<p>IX NADLEŽNOST UPRAVE ZA BIOMEDICINU</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Poslovi Uprave za biomedicinu koji se odnose na transplantaciju ćelija i tkiva; Nadzor koji sprovodi Uprava za biomedicinu u vezi sa poslovima transplantacije ćelija i tkiva.</li> </ul> <p>X NADZOR</p> <p>XI OBAVLJANJE POSLOVA TRANSPLANTACIJE ĆELIJA I TKIVA U USTANOVAMA KOJE NISU U PLANU MREŽE</p> <p>XII KAZNENE ODREDBE</p> <p>XIII PRELAZNE I ZAVRŠNE ODREDBE</p>

Istim zakonskim pristupom, od 1. januara 2010. godine regulisan je uvoz i izvoz ćelija i tkiva koji vrši ovlašćena zdravstvena ustanova ili banka ćelija i tkiva preko ovlašćenog distributera (koji mora da ispunjava uslove propisane Zakonom i drugim propisima donetim za sprovođenje ovog zakona). Na predlog Uprave za biomedicinu, Ministar daje dozvolu za svaki pojedinačni slučaj uvoza, odnosno izvoza ćelija i tkiva pri tome ocenjujući opravdanost izvoza ili uvoza. Domeni u procesu transplantacije ćelija i tkiva koji su regulisani Zakonom obuhvataju niz osnovnih i specifičnih odredbi (Tabela 1.12). Smatra se da će dalje regulisanje ovog zakonskog pristupa biti uspostavljeno kroz niz pratećih propisa i podzakonskih akata.



## 1.5 Novi pristupi i trendovi u istraživanju

### 1.5.1 Najnoviji pristupi razvoju terapija matičnim ćelijama i drugim ćelijskim terapijama (eng. *Stats & Trends*)

Regenerativna medicina, kao i njen deo koji se zasniva na ćelijskim terapijama, se smatra novim poglavljem u medicinskim naukama jer u praktičnom smislu objedinjuje znanja iz skoro svih naučnih disciplina do sada<sup>1</sup>. Osim očiglednih razloga u medicinskom smislu, regenerativna medicina ima ogroman ekonomski značaj. Na primer, u proteklih nekoliko godina SAD na godišnjem nivou troši oko 13% ukupnog domaćeg proizvoda (eng. *Gross Domestic Product, GDP*) na zdravstvo<sup>1</sup>. Do 2040. godine se očekuje da će populacija osoba preko 65 godina života u SAD-u dostići 70 miliona<sup>1</sup>. Na taj način će, smatra se, potrošnja na zdravstvo u SAD-u dostići 25% ukupnog domaćeg proizvoda<sup>1</sup>.

U proteklih nekoliko godina zemlje kao Japan, Evropska zajednica, Kina i Australija su započele različite zasebne inicijative za unapredjenje razvoja regenerativne medicine<sup>1</sup>. Ovo je postalo jedno od osnovnih postavki strateškog razvoja u mnogim državama koje dugoročno planiraju svoja ulaganja i time obezbedju budući razvoj ove važne oblasti<sup>1</sup>. Globalno tržište za farmaceutska sredstva je poraslo sa \$693,7 milijardi USD u 2007. godini na očekivanih blizu \$1 trilion USD<sup>1</sup>. Ipak, velike farmaceutske kompanije trenutno imaju problem sa razvojem novih terapijskih sredstava širom sveta<sup>1</sup>.

U ovom trenutku 50% svih novih medicinskih sredstava koja su u procesu razvoja zasniva se na biotehnologiji<sup>1</sup>. U Evropskoj zajednici se ovaj deo biotehnološkog razvoja zasniva na malim kompanijama koje se suočavaju sa veoma složenim regulatornim i finansijskim sistemima (70% ovih kompanija u Evropskoj zajednici ima ispod 50 zaposlenih)<sup>1</sup>. Japan ulaže u private kompanije i uspostavlja izvoz ćelijskih terapija na tržište Bliskog istoka već od 2015. godine<sup>1</sup>. U smislu novih pravaca tehnološkog razvoja, dominira razvoj kombinovanih produkata baziranih na ćelijskim terapijama uz primenu nosača (eng. *scaffolds*) (Saif *et al.*, 2010) i medicinskih naprava/pomagala (eng. *medical devices*) kao i primena biorobotike, automatizacije i 3-D bioreaktora (Dos Santos *et al.*, 2013). Takodje se razvijaju nove tehnologije u istraživanju i proizvodnji (eng. *upstream processing*)<sup>1</sup> uz

tehnologije za prpratne sisteme i testiranja, analitičke metode, karakterizaciju i kvantifikaciju u procesu proizvodnje bioloških lekova (eng. *downstream processing*)<sup>^</sup>.

Tabela 1.13: Realnost i očekivanja u razvoju ćelijskih terapeutika: Najnoviji trendovi u primeni neuralnih matičnih ćelija (eng. *Neural Stem Cells, NSC*) u kliničkim istraživanjima u SAD-u, Velikoj Britaniji i Švajcarskoj i pluripotentnih matičnih ćelija (eng. *pluripotent stem cells*) u SAD-u.

<b>NSC Clinical Trials</b>		
<b>Regenerative, Cell Replacement</b>		
StemCells Inc., CA	HuCNS-SC* (fetal derived human NSCs)	
Phase I – completed	Batten's Disease (NCL)	USA
Phase Ib	Discontinued for lack of enrollment	
Phase I	Pelizaeus-Merzbacher Disease (PMD)	USA
Phase I/II	Chronic Spinal Cord Injury	Switzerland
NeuroGeneration, CA	Autologous NSC-derived Neurons	
Phase I – completed	Advanced Parkinson's Disease	USA
Phase II – clinical hold		
Neuralstem Inc., MD	Fetal derived hu spinal cord SCs	
Phase I	ALS (Lou Gehrig's Disease)	USA
ReNeuron, UK	ReN001 Immortalized huNSCs	
Phase I	Stroke	UK
<b>Targeted Delivery of Therapeutics</b>		
City of Hope, CA	HB1.F3.CD Immortalized hu NSCS	
Phase I	Recurrent High Grade Glioma	USA
<b>Trial sponsor</b>	<b>Disease target</b>	<b>Cell therapy</b>
Geron Inc. Phase I: 10 patients enrolled 2010-12	Complete subacute thoracic spinal cord injuries. T3 to T10 segments between seven and 14 days after injury	Human embryonic stem cell derived Oligodendrocyte progenitor cells (GRNOPC1)
Advanced Cell Technologies (ACT) Phase I/II: 12 patients enrolled 2011	Stargardt's Macular Dystrophy (juvenile macular degeneration)	Retinal Pigment Epithelium derived from human embryonic stem cells
Advanced Cell Technologies (ACT) Phase I/II: 12 patients enrolled 2011-12	Age-related Macular Degeneration	Retinal Pigment Epithelium derived from human embryonic stem cells
California Stem Cell (CSC) Phase I: Currently on hold 2011	Spinal muscular atrophy (SMA) Type 1	Human motor neuron progenitor cells derived from human embryonic stem cells

Adaptirano iz: Trounson *et al.*, 2011.

Veliki deo populacije u razvijenim zemljama, medju kojima su i zdrave osobe, u poslednjih nekoliko godina počinje da ispituje mogućnost prikupljanja i čuvanja matičnih ćelija za sopstvenu upotrebu ili za buduće primene u alogenoj transplantaciji (za potrebe porodice).

<sup>¶</sup> [www.dhhs.gov/reference/newfuture.shtml](http://www.dhhs.gov/reference/newfuture.shtml)

<sup>¶</sup> [www.ey.com](http://www.ey.com)

<sup>^</sup> [www.biopharminternational.com](http://www.biopharminternational.com)

Svi oni 'investiraju' očekujući da će u bližoj budućnosti potencijal razvoja ovih tehnologija (i kliničkih primena) da dovede do realnih mogućnosti za upotrebu ćelija koje su skladištene (ukoliko im se za to ukaže potreba). Sektor čuvanja i skladištenja matičnih ćelija je u porastu (eng. *cell banking*) u javnim i privatnim bankama ćelija. Ovo prati adekvatan razvoj tehnologije i servisa koje druge delatnosti pružaju ćelijskim bankama (oprema, reagenti, IT podrška). Uz to se razvijaju biorobotika, nove tehnologije za ćelijsko sortiranje, skeniranje (eng. *high speed throughput array*), mikroskopija – što sve zajedno postaje *de rigueur* infrastruktura za istraživačke laboratorije, razvojne projekte i njihovu primenu u bankama ćelija (eng. *research and development, R&D*).

Medjutim, još uvek ostaje otvoreno pitanje za naučnu i širu javnost, za medije i regulatorno zakonska tela - koliko su realna očekivanja vezana za sadašnji i budući razvoj ćelijskih terapeutika i u kojim oblastima (Tabela 1.13).

### **1.5.2 Primena kvalitativne metodologije istraživanja u analizi globalnog i multidisciplinarnog pristupa razvoju ćelijskih terapija (eng. *Qualitative research*)**

Kvalitativne metodologije istraživanja uglavnom omogućuju iscrpnu, preciznu i detaljnu analizu uz adekvatno prepoznavanje kompleksnosti analiziranog fenomena na više nivoa (Miles & Huberman, 1994; Patton, 2002), između ostalog i na nivou terminologije (Weber, 1990).

*Analiza dokumenata* je jedna od kvalitativnih metodologija istraživanja koja omogućuje sveobuhvatan pristup u prikupljanju informacija kako u smislu koncepcionalne i tematske analize, tako i terminološke analize (Cabré Castellví, 2003; Meyer, *et al.*, 1997; Felber, 1984; Kageura, 2002; Thomas, 2008). Proces čitanja, razumevanja, izbora i poredjenja dokumenata dodaje novu dimenziju kroz analizu 'konstruišući' i reflektujući tekst kroz poimanje čitaoca odnosno istraživača (eng. "...*Textual analysis involves the mediation between the frames of reference of the researcher and those who produced the text. ... The researcher's own frame of reference becomes the springboard from which the circle is entered, and so the circle reaches back to encompass the dialogue between the researcher and the text*" (Scott, 1990).

*Pojedinačna analiza* (eng. *Case Study Analysis*) i *uporedna analiza* (eng. *Cross-Case Study Analysis*) kao metode analize projekata, programa, organizacija ili kliničkih zapažanja zahtevaju od istraživača da oformi adekvatne teorijske koncepte ili osnovni konceptualni okvir (eng. *conceptual framework*) (Anderson & Aydin, 1994; Miles & Huberman, 1994; Yin, 1999; Eisenhardt, 1989; Van de Ven & Poole, 1995). Primarno, ovo omogućava da se pojedinačan slučaj ili više njih pažljivo pozicioniraju i da istraživanje ovom metodom bude fokusirano na odgovarajuću tematiku ili cilj (Yin, 1994). Osim toga, time se jasno definiše jedinica analize (eng. *unit of analysis; what is the case?*) kao i odgovarajući parametri i kriterijumi značajni za datu analizu (Anderson & Aydin, 1994; Miles & Huberman, 1994; Yin, 1999; Eisenhardt, 1989; Van de Ven & Poole, 1995).

U obe analize - pojedinačnoj i uporednoj, selekcija “slučaja” je od izuzetnog značaja (Eisenhardt, 1989; Lee, 1989; Yin, 1994). Smatra se da bi u uporednoj analizi selekcija trebalo da se zasniva na sličnostima (eng. *literal replication*) ili na kontrastnom pristupu tj. različitosti koja se očekuje (eng. *theoretical replication*) (Eisenhardt, 1989; Lee, 1989; Yin, 1994). Ukoliko se radi o eksploratornom istraživanju (pojedinačnom ili uporednom), važno je da se definiše hipoteza (šta se istražuje) (eng. *what is being explored?*) ili da se unapred formiraju postupci analize (kako se vrši analiza) (Eisenhardt, 1989; Miles & Huberman, 1994). Eksploratorno istraživanje takodje može da posmatra uzročno-posledične veze i odnose uz to objašnjavajući kako se nešto odigralo, dok deskriptivne studije nude opis događaja, procesa ili fenomena na zadatom nivou. U svakoj od pomenutih analiza je značajno da se ponudi generalizacija i/ili ekstrapolacija na širi koncept odnosno na slične fenomene, situacije, događaje, pojave ili procese.

*Tematska analiza i analiza sadržaja* (eng. *Thematic and Content Analysis*) uz *izvodjenja teorije bazirane na podacima iz prakse* (eng. *Grounded Theory*) nude obilje podataka i iscrpnu analizu kompleksnih fenomena, pojava ili teksta. Metodologija izvodjenja teorije bazirane na podacima iz prakse (eng. *Grounded Theory*) je ustanovljena još šezdesetih godina prošlog veka (Glaser & Strauss, 1967) ali se još uvek uspešno koristi od strane istraživača (Strauss & Corbin, 1998; Glaser, 2002). Ova metoda identifikuje i objašnjava (procesom indukcije) analitičke kategorije koje se izdvajaju iz prikupljenih podataka - razvijajući tako teoriju iz bazičnog tj.

praktičnog dela istraživanja (eng. *from the ground research*) – pre nego je definišući unapred. U ovom procesu se iz prikupljenih podataka (sistematičnom analizom) identifikuju teme, kategorije ili pod-kategorije koje mogu da se zasnivaju na različitim osnovama – na frazama, događajima, pojavama, incidentima, tipu ponašanja, određenoj shemi, pravilu ili principu (Pope, 2000).

Kvalitativna istraživanja u osnovi produkuju velike količine podataka koje je teško analizirati, kodirati, razvrstati ili redukovati uz pomoć automatskih ili jednostavnih metoda (Yin, 1994). U tom smislu, osnovni cilj kvalitativne analize je razumevanje tj. potraga za uspostavljanjem određene zakonitosti ili reda (eng. *coherence and order*) (Kaplan & Maxwell, 1994). U većini kvalitativnih analiza podaci su sačuvani u svojoj tekstualnoj formi ili su obeleženi u procesu kategorizacije (eng. *indexed*) da bi se tako organizovali u analitičke kategorije i teoretska objašnjenja (Pope, 2000). Analiza ovakvih podataka nije jednostavan ili brz postupak. Ukoliko se obavlja na sistematičan, rigorozan način – predstavlja naporan i dugotrajan proces (Pope, 2000). Različite metodologije kvalitativnih istraživanja se u poslednjih petnaest do dvadest godina značajno koriste u društvenim naukama, u medicinskim istraživanjima, istraživanjima u zdravstvu i ostalim srodnim disciplinama (Green & Britten, 1998; Fairhurst & Huby, 1998; Jain & Ogden, 1999, Marshall, 1999; Maxwell, Streetly & Bevan, 1999; Salmon, Peters & Stanley, 1999; Tomlin, Humphrey & Rogers, 1999; Paré, 2002; Dixon-Woods, 2007; Baxter & Jack, 2008; Hughes *at al.*, 2009).

### **1.5.3 Dorpinos ovog istraživanja**

Metodologija naučnog istraživanja u ovoj disertaciji se zasniva na primeni kvalitativnih metoda. Pregled metodologije na srpskom jeziku nalazi se u Prilogu 9 a pregled na engleskom jeziku u Prilogu 10. Istraživanje je eksploratorno (eng. *explorative*), istražuje veze između elemenata i detaljno analizira mali broj uzoraka, sa namerom da doprinese nastanku novih teorijskih pristupa (eng. *theory generating*). U okviru istraživanja je prikupljena velika količina podataka (upotrebom metode “*desk analysis*”) koji se nalaze u tekstu kao i u okviru 18 priloga ovoj doktorskoj disertaciji.

Ekspanzija kliničkih istraživanja na nova geografska područja (uglavnom manje razvijenih zemalja ili zemalja sa nepotpuno definisanim zakonskim regulativama u ovoj oblasti) omogućuje velikim biofarmaceutskim kompanijama da uz manje troškove obave inicijalna klinička istraživanja (faze I i II) u oblasti ćelijskih terapija<sup>‡</sup>. Ukupan broj svih kliničkih istraživanja obavljenih u severnoj Americi i zapadnoj Evropi opao je za 50% u korist Azije, Bliskog istoka, srednje i istočne Evrope (McDonnell, 2008). Pri tome je veoma značajno unapred obezbediti teorijske i praktične pristupe primenljive za razvoj ovakvih istraživanja, kao i centralizovanu bazu podataka za našu zemlju i usvojiti neki od postojećih akreditacijskih sistema priznatih u svetu. Na ovaj način bi se u izvesnoj meri zaštitili interesi istraživača i medicinskih istraživačkih institucija u Srbiji, pacijenata koji učestvuju u ovim istraživanjima, i pacijenata kojima su ovakve eksperimentalne terapije neophodne (eng. *life-saving therapies*). Postoji mogućnost da bi se, istovremeno, na ovaj način otvorio put za:

- ulazak novčanih sredstava od stranih partnera i evropskih fondova za razvoj naprednih terapija – kao neophodni deo budućeg razvoja terapeutika u ovoj oblasti.
- protok informacija o broju, ishodima i finansiranju kliničkih i bazičnih istraživanja u Srbiji koja se bave primenom ćelijskih terapija.
- adekvatnu zakonsko regulatornu i etičku kontrolu.
- mogućnost publikacija u svetski renomiranim naučnim časopisima – koji ne prihvataju rezultate kliničkih istraživanja ako nisu sprovedena na svetski priznatim etičkim principima ili nisu ostvarila formalno odobrenje etičkih komiteta ili nisu u skladu sa principima propisanim od strane Medjunarodne Konferencije za Harmonizaciju (eng. *ICH*) i Evropske Medicinske Agencije (eng. *European Medicines Agency, EMA*) u svrhu sprovođenja Dobre kliničke prakse (eng. *Good Clinical Practice, GCP*) i Helsinki deklaracije o pravima čoveka (eng. *Declaration of Helsinki*)<sup>††</sup>.

---

<sup>‡</sup> Business Process Management: Global Trends to 2013 (Strategic Focus), September 2008, Datamonitor.

<sup>†</sup> BIO. (2001) Editor's and Reporter's Guide to Cell therapy, A report by the Cell Therapy Industry Organization, USA.

<sup>††</sup> ICH Topic E6 (R1), Guideline for Clinical Practice, Note for Guidance on Good Clinical Practice CPMP/ICH/135/95 version July 2002.

## 2. Ciljevi istraživanja

Uz sveobuhvatnu analizu procesa, sistema i zakonskih regulativa vezanih za izradu ćelijskih terapija kao novih biofarmaceutskih preparata, cilj ove doktorske disertacije je karakterizacija teorijskih i praktičnih modela u laboratorijskoj izradi i kliničkoj primeni matičnih ćelija i drugih vrsta ćelija u terapeutske svrhe.

Ciljevi prvog dela istraživanja (Komparativna analiza 1) su *analiza dokumenata i uporedni pregled* (eng. *documentary analysis*):

- *zakonsko regulatornih modela*<sup>\*</sup> koji se odnose na primenu matičnih ćelija i drugih vrsta ćelija u terapeutske svrhe:
  - u Evropi propisane od strane Evropske Medicinske agencije EMA (eng. *European Medicines Agency*),
  - u Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) propisane od strane FDA (eng. *Food and Drug Administration*),
  - u Australiji propisane od strane TGA (eng. *Therapeutic Goods Administration*).
- *globalne baze podataka kliničko istraživačkih projekata* baziranih na primeni matičnih ćelija i drugih vrsta ćelija u terapeutske svrhe, uključujući pregled podataka dostupnih na internetu, tip i analizu istih podataka i pregled projekata prema kategorijama, geografskom regionu i tipu ćelijskih terapija.

Cilj drugog dela istraživanja (Komparativna analiza 2) je *pojedinačna analiza* (eng. *case study*) postojećih *laboratorijsko kliničkih projekata* u rasponu od veoma jednostavnih do veoma složenih procedura:

- za *rutinsku kliničku primenu* - izrada i primena minimalno manipulisanih ćelija: umnožavanje i klinička primena hematopoetskih ćelija iz periferne krvi;

---

<sup>\*</sup> Model podrazumeva principe i infrastrukturu regulatornih tela.

-za istraživačke svrhe i za širu kliničku primenu (eng. 'off-the-shelf') - izrada i primena visoko manipulisanih ćelija: umnožavanje i primena mezenhimskih ćelija za različite kliničke primene i klinička istraživanja;

-za primenu u istraživačke svrhe - izrada i primena visoko manipulisanih ćelija: umnožavanje i klinička primena antigen-prezentujućih dendritičnih ćelija u anti-tumor terapiji.

Cilj trećeg dela istraživanja (Komparativna analiza 3) je *uporedna analiza* (eng. *cross-case study*) postojećih *laboratorijsko-organizacionih modela* koji su finansijski i zakonski prihvatljivi, a koji se odnose na izradu matičnih ćelija i drugih vrsta ćelija u terapeutske svrhe.

Cilj četvrtog dela istraživanja (Komparativna analiza 4) je *tematska i fenomenološka analiza* transkripta intervjua sa stručnjacima u datoj oblasti (eng. *thematic analysis/ phenomenology*) uz *izvodjenje teorije bazirane na podacima iz prakse* (eng. *grounded theory*).

Cilj petog dela istraživanja (Komparativna analiza 5) je *teorijsko i praktično modelovanje pristupa i rešenja*.



## II EKSPERIMENTALNI DEO

### 3. Dizajn i metode

Ova doktorska disertacija je dizajnirana kao skup pet komparativnih studija koje koriste sledeće materijale i metode.

#### 3.1 Materijali

##### 3.1.1 Materijali za komparativnu analizu 1

###### 3.1.1.1 Materijali za analizu zakonsko-regulatornih modela\*

Dokumenti i tekst zakonsko regulatornih propisa analizirani u ovoj studiji nalaze se na zvaničnom web sajtu (eng. *web site*) svake od regulatornih agencija (FDA, TGA, EMA) kao kompletan, dobro strukturiran i kvalitetno prezentovan materijal.

Tabela 3.1: Kriterijumi za izbor analiziranih dokumenata. Preuzeto iz: Ilic *et al.*, 2012a.

Parametri	Kriterijumi za uključenje dokumenata u proces analize	Kriterijumi za isključenje dokumenata iz procesa analize
<i>Parameters</i>	<i>Inclusion criteria</i>	<i>Exclusion criteria</i>
Location	EU USA Australia	Regions other than EU, USA, and Australia
Language	English	Documents not written in English
Type of the document	High-tier legal and regulatory domain	Documents other than high-tier legal and regulatory domain
Purpose of the document	Legal requirements for manufacture and use of biologic drugs for human use, including definitions and scope Good Manufacturing Practice (GMP) for manufacture of medicinal products and biologic drugs for human use Good Clinical Practice (GCP) for use of medicinal products and biologic drugs in clinical trials involving humans	Documents concerned with issues other than legal requirements for manufacture, GMP and GCP applicable to medicinal products and biologic drugs for human use
Scope of the document	Medicinal Products, Biologics, Biologicals and Advanced Therapy Medicinal Products (ATMP) for human use	Documents concerned with other than medicinal products, Biologics, Biologicals and Advanced Therapy Medicinal Products (ATMP) for human use
Time frame	Most recent documents published from 2000 (inclusive)	Documents published prior to 2000 <sup>^</sup>

<sup>^</sup>Only one document was exempt as it was originally published in 1996.

Tabela 3.2: Lista analiziranih dokumenata. Preuzeto iz: Ilic *et al.*, 2012a.

Grupa dokumenata	Naslov (ime dokumenta)	Verzija	Godina izdanja/ revizije	Da li je dokument vazeci	
<i>Group of documents</i>	<i>Title</i>	<i>Version</i>	<i>Published</i>	<i>Current</i>	
<i>Cohort 1</i>					
European Medicines Agency (EMA)					
Document Code	EMA DOC1	Directive 2001/83/EC	n/a	2001	Yes*
	EMA DOC2	Regulation 726 /2004	n/a	2004	Yes*
	EMA DOC3	Regulation 1394/2007	n/a	2007	Yes
Food and Drug Administration (FDA)**					
Document Code	FDA DOC1	21CFR312	n/a	2011	Yes
	FDA DOC2	21CFR600 Biological Products: General	n/a	2011	Yes
	FDA DOC3	21CFR1271 Human Cells, Tissues, and Cellular and Tissue-based Products	n/a	2011	Yes
Therapeutic Goods Administration (TGA)					
Document Code	TGA DOC1	Australian Regulatory Guidelines for Biologicals Part 1	1.0	2011	Yes
	TGA DOC2	Australian Regulatory Guidelines for Biologicals Part 2	1.0	2011	Yes
	TGA DOC3	Australian Regulatory Guidelines for Biologicals Part 3	1.0	2011	Yes
<i>Cohort 2</i>					
Good Manufacturing Practice (1)					
Document Code	GMP DOC1	Directive 2003/94/EC (EMA)	n/a	2003	Yes
	GMP DOC2	Australian Code of Good Manufacturing Practice – Human Blood and Tissues (TGA)	n/a	2000	Yes**
	GMP DOC3	Australian Code of Good Manufacturing Practice for Medicinal Products (TGA)	n/a	2002	Yes
Good Manufacturing Practice (2)					
Document Code	GMP DOC4	21CFR211 Current Good Manufacturing Practice for Finished Pharmaceuticals	n/a	2011	Yes
	GMP DOC5	Guide to Good Manufacturing Practice for medicinal Products -Part I (PIC/S <sup>#</sup> )	n/a	2009	Yes
	GMP DOC6	Guide to Good Manufacturing Practice for medicinal Products - Part II (PIC/S <sup>#</sup> )	n/a	2009	Yes
Good Clinical Practice					
Document Code:	GCP DOC1	Directive 2003/20/EC (EMA)	n/a	2001	Yes
	GCP DOC2	Guidance for Industry E6 Good Clinical Practice (FDA)	n/a	1996 <sup>^</sup>	Yes
	GCP DOC3	Note for Guidance on Good Clinical Practice (CPMP/ICH/135/95) Annotated (TGA)	n/a	2000	Yes

\*Subsequently amended. \*\*In process of being amended. <sup>^</sup>Document was exempt from the timeframe.

<sup>#</sup>Pharmaceutical Inspection Convention / Cooperation Scheme. n/a - not applicable.

<sup>\*\*</sup>Disclaimer: Major, specific, and updated FDA guidances relating to key subsets of biologics were not included in Cohort 1 and 2 documents. Although the basic FDA regulations have not been changed much since the expansion of biologic drugs, including vaccines, the guidances have really become more like regulations in the interim. Due to the research sampling criteria, guidances (including the key manufacturing guidances for biologics that the FDA really does enforce in a way similar to that for regulations) have not been analyzed here. These documents can be found on the following link:

<http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/default.htm>.

\* Model podrazumeva principe i infrastrukturu regulatornih tela.

Odabrani materijal obuhvata preko 700 strana teksta. Korišćen je teorijski ili takozvani svrsishodan uzorak zakonsko-regulatornih propisa na najvišem nivou, koji je uzet kao adekvatna prezentacija zakonsko-regulatornih modela\* iz kojih potiče. Pristup analizi i kriterijumi za uzorkovanje predstavljeni su u Tabeli 3.1, dok je iscrpna lista analiziranih dokumenata prikazana u Tabeli 3.2. Osnovni ciljeve ove analize je, pre svega, da se u procesu selekcije od ogromne količine dostupnog materijala izvrši odabir adekvatnih, reprezentativnih i srodnih zakonsko regulatornih propisa; a zatim da se izvrši analiza konceptualnog pristupa i terminologije.

#### 3.1.1.2 Materijali za analizu kliničkih istraživanja

Pretraživanjem globalne baze podataka [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov) u januaru 2011. i u avgustu 2013. godine izvršena je analiza tipa, broja i opsega kliničko istraživačkih projekata baziranih na izradi i primeni matičnih ćelija i drugih ćelijskih terapija na svetskom nivou. Pretraživanje globalne baze podataka izvršeno je prema geografskom regionu i prema tipu ćelijskih terapija. Dodatna razmatranja koja se odnose na jedinicu analize (eng. *unit of analysis*) nalaze se u Metodološkom pregledu (Prilozi 9 i 10).

### **3.1.2 Materijali za komparativne analize 2 i 3**

#### 3.1.2.1 Materijali za analizu modela laboratorijsko-kliničkih protokola

U ovoj analizi korišćeni su protokoli i laboratorijski modeli izrade ćelijskih terapija za kliničku upotrebu i klinička istraživanja (Tabela 3.3). Tri specifična modela protokola laboratorijske izrade (P1, P2, P3) su odabrana na osnovu nivoa manipulacije koji koriste, od minimalno manipulisanih do visoko manipulisanih procedura. Modeli protokola analizirani u ovoj komparativnoj studiji obuhvataju laboratorijsku izradu i kliničke parametre; izbor je baziran na teorijskom odabiru (ne prema statističkom) da bi se opisale njihove sličnosti i razlike.

---

\* Model podrazumeva principe i infrastrukturu regulatornih tela.

Pregled opštih proceduralnih razmatranja predstavljen je u Prilozima 9 i 10. Primeri standardnih operativnih procedura za izradu ćelijskih terapija, razmatranih u okviru ove analize, nalaze se u Prilozima 11, 12 i 13.

Tabela 3.3: Odabir analiziranih protokola i laboratorijskih modela izrade ćelijskih terapija za kliničku upotrebu i klinička istraživanja.

<b>P1: LABORATORIJSKO-KLINIČKI PROTOKOL 1</b>	<b>P2: LABORATORIJSKO-KLINIČKI PROTOKOL 2</b>	<b>P3: LABORATORIJSKO-KLINIČKI PROTOKOL 3</b>
ANALIZA KLINIČKOG I LABORATORIJSKOG MODELA IZRADE ĆELIJSKIH TERAPIJA ZA RUTINSKU KLINIČKU PRIMENU	ANALIZA KLINIČKOG I LABORATORIJSKOG MODELA IZRADE ĆELIJSKIH TERAPIJA ZA ISTRAŽIVAČKE SVRHE I ZA ŠIRU KLINIČKU PRIMENU (eng. 'OFF-THE-SHELF')	ANALIZA KLINIČKOG I LABORATORIJSKOG MODELA IZRADE ĆELIJSKIH TERAPIJA ZA PRIMENU U ISTRAŽIVAČKE SVRHE
Izrada i primena <i>minimalno manipulisanih ćelija</i> : Krioprezervacija i klinička primena hematopoetskih ćelija iz periferne krvi (eng. <i>Haematopoietic Stem Cells Processing</i> )	Izrada i primena <i>visoko manipulisanih ćelija</i> : Umnožavanje i klinička primena mezenhimskih matičnih/stromalnih ćelija za različite kliničke primene (eng. <i>Mesenchymal Stem Cell Processing by ex vivo expansion</i> )	Izrada i primena <i>visoko manipulisanih ćelija</i> : Umnožavanje i klinička primena antigen-prezentujućih dendritičnih ćelija u anti-tumor terapiji (eng. <i>Dendritic Cells Processing by ex vivo expansion and cell loading</i> )

### 3.1.2.2 Materijali za analizu laboratorijsko-organizacionih modela

U svrhu sagledavanja osnovnih karakteristika postojećih laboratorijsko-organizacionih modela u izradi ćelijskih terapija izvršena je uporedna analiza praktičnih, finansijski i zakonski prihvatljivih, modela M1, M2 i M3 (Tabela 3.4). Prema svojoj strukturi i izvoru finansiranja izabrane su tri različite organizacione jedinice.

Dodatna razmatranja koja se odnose na jedinicu analize (eng. *unit of analysis*) nalaze se u Metodološkom pregledu (Prilozi 9 i 10).

Tabela 3.4: Odabir analiziranih laboratorijsko-organizacionih modela.

<b>M1: LABORATORIJSKO-ORGANIZACIONI MODEL 1</b>	<b>M2: LABORATORIJSKO-ORGANIZACIONI MODEL 2</b>	<b>M3: LABORATORIJSKO-ORGANIZACIONI MODEL 3</b>
NE-KOMERCIJALNI MODEL (eng. <i>Non-for-profit model</i> )	KOMERCIJALNI MODEL (eng. <i>Commercial model</i> )	KOMBINOVANI MODEL (eng. <i>Hybrid model</i> )
ISTRAŽIVAČKA GRUPA ZA RAZVOJ ČELIJSKIH TERAPIJA U OKVIRU NE-KOMERCIJALNE KLINIČKO-BOLNIČKE INSTITUCIJE I/ILI ISTRAŽIVAČKOG INSTITUTA	NEZAVISNA KOMERCIJALNA KOMPANIJA ZA IZRADU ILI SERVIS NAMENJEN PROCESU IZRADU ČELIJSKIH TERAPIJA	KOMPANIJA BAZIRANA NA KOMERCIJALNIM PRINCIPIMA - FORMIRANA U OKVIRU SLOŽENOG SPECIJALISTIČKOG KLINIČKO-BOLNIČKOG KOMPLEKSA/ INSTITUCIJE
Izvor: <a href="http://www.qimr.edu.au/page/Lab/Translational_Leukaemia_Research/">http://www.qimr.edu.au/page/Lab/Translational_Leukaemia_Research/</a> <a href="http://www.griffith.edu.au/science-aviation/eskitis-institute/research/st-john-group">http://www.griffith.edu.au/science-aviation/eskitis-institute/research/st-john-group</a>	Izvor: <a href="http://www.dendreon.com/">http://www.dendreon.com/</a> <a href="http://www.mesoblast.com/">http://www.mesoblast.com/</a>	Izvor: <a href="http://www.celltherapies.com.au/">http://www.celltherapies.com.au/</a>

### 3.1.3 Materijali za komparativne analize 4 i 5

#### 3.1.3.1 Materijali za analizu percepcije i problematike oblasti

Tematska i fenomenološka analiza percepcije i problematike oblasti izvršena je uz upotrebu transkripta 24 intervju sa stručnjacima (četiri žene i 20 muškaraca) od čega je šest učesnika bilo iz Evrope (25%), šest iz SAD-a (25%) i 12 iz Australije (50%). Kriterijumi za izbor učesnika u ovoj studiji, osim stručno-naučnog zvanja i rukovodeće pozicije u organizaciji/ kompaniji, bili su:

- direktno učešće u projektu izrade ćelijskih terapija za kliničku primenu (eng. *adult stem cells, embryonic stem cells and other cell types used for various research and clinical applications*),

ili

- direktno učešće u oblasti razvoja bazičnih i kliničko-primenljivih bioloških i medicinskih istraživanja, bioetike i strateškog razvoja ćelijskih terapija za kliničku primenu (eng. *immunotherapy for cancer patients, treatment of hematological and solid tumors, orthopedic, use, cardiovascular applications, and cell banking*).

Svi učesnici u ovoj studiji bili su preporučeni od strane kolega koji su već prethodno bili uključeni u studiju (eng. *snow-ball sampling method*). Svako od učesnika potpisao je obrazac za dobrovoljni pristanak za učešće u studiji. Obavljena je serija delimično struktuiranih (eng. *semi-structured*) intervjuja u trajanju od 60 minuta koji su snimljeni. Preko 18 sati (1090 minuta) snimljenog materijala je inicijalno obradjeno pri čemu su uklonjeni uvodni i zaključni delovi snimaka. U tom procesu je snimljeni materijal redukovan na 15 sati i pripremljeni su transkripti snimaka (obeleženi kodovima od CTE01 do CTE24).

### 3.1.3.2 Materijali za modelovanje pristupa i rešenja

U teorijskom modelovanju pristupa i rešenja korišćeni su rezultati iz prethodnih komparativnih studija (1- 4) kao i empirijski podaci.

U evaluaciji kliničke procedure, kao primeru praktičnog modelovanja u svrhu predviđanja i planiranja, korišćeni su istorijski empirijski podaci prikupljeni u datoj kliničkoj proceduri za period od dve godine. Dodatna razmatranja koja se odnose na jedinicu analize (eng. *unit of analysis*) nalaze se u Metodološkom pregledu (Prilozi 9 i 10).

## 3.2 Metode

Konceptualni okvir istraživanja (eng. *conceptual framework*) služi da identifikuje šta (ili ko) će biti ili neće biti deo analize/ istraživačke studije, opisuje pristup i logiku istraživačkog procesa, teorijski pristup (metode i aparate) kao i praktične aspekte istraživanja (Bailey, 1982; Scott, 1990; Weber, 1990; Miles & Huberman, 1994; Mason, 2002; Patton, 2002; Robson, 2002; Maxwell, 2005; Creswell, 2007; Thomas & Harden, 2008). Osim toga, konceptualni okvir istraživanja daje priliku istraživaču da prikupi i organizuje svoje misaone postavke (eng. *constructs*) u odgovarajuće celine i grupiše ih (eng. *intellectual "bins"*). Takodje, služi kao osnova istraživačkog procesa obezbeđujući izvor informacija tokom čitave

studije, posebno u procesu analize prikupljenih podataka. Ukoliko je vizuelno predstavljen npr. kao shema ili dijagram, konceptualni okvir istraživanja ne mora da prikaže sve odnose između postavki u okviru tog istraživanja. Trebalo bi da se razvija tokom istraživačkog procesa i tada će se verovatno oformiti i definisati odnosi između postavki, pri čemu će se finalna verzija konceptualnog okvira oformiti – do kraja prikazujući teme i/ili koncepte nastale iz podataka. Vraćajući se na polazne postavke istraživanja, konceptualni okvir istraživanja će obezbediti da se analiza obavlja u zadatim okvirima iako u nekim situacijama može, u određenoj meri, da ograniči istraživanje.

Konceptualni okvir ovog istraživanja, koji obuhvata metode i aparate opisane u ovom poglavlju, predstavljen je u vidu metodološkog pregleda svih studija u Prilozima 9 i 10.

### ***3.2.1 Analiza dokumenata***

Upotreba dokumenata ili teksta kao izvora podataka zahteva da se njihova analiza izvrši uz sposobnost kontekstualizacije, procene i interpretacije teksta (Bailey, 1982; Robson, 2002).

#### **3.2.1.1 Analiza zakonsko regulatornih modela \*** (KOMPARATIVNA ANALIZA 1)

Analiza reprezentativnih zakonskih regulativa i podzakonskih akata izvršena je manuelnom pretragom dokumenata i uz pomoć softverskog paketa. Pre toga, izvršena je kontekstualna analiza bazirana na kompleksnosti i istorijskoj perspektivi za svaku grupu dokumenata; izvršena je priprema za analizu i selekciju dokumenata; zatim su odabrani dokumenti analizirani u procesu koji posmatra tekst u doslovnom smislu i terminologiju kao reprezentaciju fokusa i namene dokumenta, putem manuelne metode (Tabela 3.5).

Manuelna analiza dokumenata je izvršena na osnovu opšte terminologije koju koriste kao i frekvencije tj. učestalosti termina i fraza u njima. Rezultati su zabeleženi u tabelarnom i grafičkom prikazu.

Analiza dokumenata uz pomoc softvera je bila sledeći korak u ovom procesu, pri čemu je korišćen softverski paket za tekstualnu analizu *Leximancer v3.1* (eng. *Leximancer Pty Ltd, Jindalee, Queensland, Australia*) (Smith, 2010). Identifikovani su koncepti i teme i u određenoj meri je izvršena njihova korelaciona analiza.

Tabela 3.5: Proces manuelne analize dokumenata.

<b>Manuelna analiza dokumenata</b>	<b>Razmatranja</b>	<b>Osnovno pitanje</b>	<b>Rezultat ove faze</b>
<i>Manual Document Analysis</i>	<i>Considerations</i>	<i>Question Raised</i>	<i>Stage Result</i>
Stage 1: Selection of Documents (incl. Comparison with Other Frameworks/ Areas)	- Regulatory frameworks (by region) - Areas of regulatory frameworks	What to analyze	- List of documents to be analyzed
Stage 2: Reading and 'Interpretation'	- Purpose and aim of documents - Understanding of the content	How to analyze	- Thorough understanding of aim, scope and depth of documents - List of terms and phrases to search
Stage 3: Search by Key Word and/or by Phrase	- Generalizability of terms - Terminology specific to a regional regulations	Common (shared) features	- Frequencies of specific terminology and/or phrases
Stage 4: Recording and Reconciliation of Findings (incl. Tabulation of Results)	- Consistency and quality assurance - Presenting results in an adequate manner	Reliability of results	- Tables and diagrams outlining results of the manual analysis

### 3.2.1.2 Analiza kliničkih istraživanja (KOMPARATIVNA ANALIZA 1)

Analiza tipa, broja i opsega kliničkih istraživanja u oblasti ćelijskih terapija izvršena je nizom upita u globalnu bazu podataka čiji su rezultati zabeleženi u tabelarnom i grafičkom prikazu.

\* Model podrazumeva principe i infrastrukturu regulatornih tela.



### **3.2.2 Pojedinačna i uporedna analiza slučaja**

#### 3.2.2.1 Pojedinačna analiza laboratorijsko-kliničkih protokola (KOMPARATIVNA ANALIZA 2)

U ovoj analizi su odabrana tri reprezentativna modela laboratorijskih protokola koji se baziraju na različitom nivou manipulacije ćelija (P1, P2, P3) pri čemu je svaki zasebno opisan i okarakterisan. Primeri odgovarajućih standardnih operativnih procedura za izradu ćelijskih terapija čiji su protokoli analizirani, nalaze se u Prilozima 11, 12 i 13.

#### 3.2.2.2 Uporedna analiza laboratorijsko-organizacionih modela (KOMPARATIVNA ANALIZA 3)

U procesu uporedne analize odabrana su tri reprezentativna organizaciona modela (M1, M2, M3) pri čemu su uporedno opisani i okarakterisani u cilju da se identifikuju njihove sličnosti i razlike.

### **3.2.3 Tematska i fenomenološka analiza uz analizu izvodjenja teorije bazirane na podacima iz prakse**

#### 3.2.3.1 Analiza percepcije i problematike oblasti: praktični pristupi i rešenja (KOMPARATIVNA ANALIZA 4)

Intervjui koji su obavljani kao deo ove analize bili su bazirani na seriji ustanovljenih pitanja (eng. *standardized interview protocol*). Nakon dobijanja pismenog pristanka učesnika, intervjui su snimljeni. Svaki snimak je bio u trajanju od 22 do 64 minuta, za koje je izvršena transkripcija.

Transkripti intervjuja su dalje obradjeni tematskom analizom uz detaljnu analizu sadržaja (eng. *thematic & content analysed*), a nakon toga su identifikovani reprezentativni delovi za fenomenološku analizu - koji su bili bazirani na doslovnim citatima/ izvodima iz intervjuja (eng. *narrative analysis*).

Dva segmenta podataka koja su identifikovana u ovoj analizi bila su uglavnom bazirana oko – poznavanja oblasti, stečenog kao deo ekspertskih znanja, prakse i iskustva (eng. *knowledge, practice & experience*); ili mišljenja oformljenog kroz posmatranje i percepciju oblasti (eng. *view, perception & opinion*) (Tabela 3.6). Svaki segment podataka je bio tematski i fenomenološki analiziran, pri čemu su ustanovljene teme i kategorije (eng. *themes & categories*) koje su nakon toga grupisane u osnovne teme i kategorije (eng. *principal themes & categories*). Za svaku od osnovnih tema je ustanovljena serija citata (eng. *narratives*) iz transkripta intervjua pri čemu je izvršeno utemeljenje svake od glavnih tema u samom tekstu (eng. *grounding in the data*).

Tabela 3.6: Pristup analizi podataka prikupljenih kroz intervjue.

<b><i>Segmenti podataka</i></b>	Poznavanje oblasti kroz znanje, praksu i iskustvo	Mišljenje formirano kroz posmatranje i percepciju oblasti
<i>Segment of data</i>	<i>Knowledge, practice &amp; experience</i>	<i>View, perception &amp; opinion</i>
<b><i>Main questions</i></b>	What is your approach to ... ? *** How do you attain ... ?	What do you think about ... ? *** How do you perceive ... ?
<b><i>Topics discussed</i></b>	Business Model, Funding & Strategic Decision Making; Partnerships; Science, Technology, Tech Transfer & Up Scaling. *** Regulatory Compliance; Learning & Access to new people, new technologies and new ideas; Risk Management.	Main challenges posed to an organisation, a project or an entity; Main challenges posed to the industry/field. *** Industry/ Field, Regulatory Landscape, Important Lessons Learned; Other Considerations.

### 3.2.3.2 Teorijsko modelovanje (KOMPARATIVNA ANALIZA 5)

Nakon obavljenih analiza u okviru četiri komparativne studije (1- 4), na osnovu dobijenih rezultata i empirijskih saznanja su oformljena dva teorijska modela koja su predstavljena u vidu shema i dijagrama. Objasnjene su njihove karakteristike, ocenjena je njihova primenljiva vrednost u aproksimaciji proizvodnih procesa bioterapeutskih sredstava a zatim su izvršena dodatna razmatranja bazirana na principima dinamičkih sistema.

### 3.2.3.3 Evaluacija kliničke metode (KOMPARATIVNA ANALIZA 5)

Evaluacija kliničke metode prikupljanja matičnih/progenitorskih ćelija hematopoeze aferezom (eng. *HPC-A*) uz pomoć ćelijskog separatora (eng. *COBE Spectra Mononuclear Cell (MNC)/AutoPBSC*) je izvršena za na osnovu praktičnog modelovanja. Kriterijumi korišćeni u ovom procesu obuhvataju nekoliko parametara (Tabela 3.7).

Tabela 3.7. Kriterijumi za evaluaciju kliničke metode prikupljanja matičnih/progenitorskih ćelija hematopoeze aferezom.

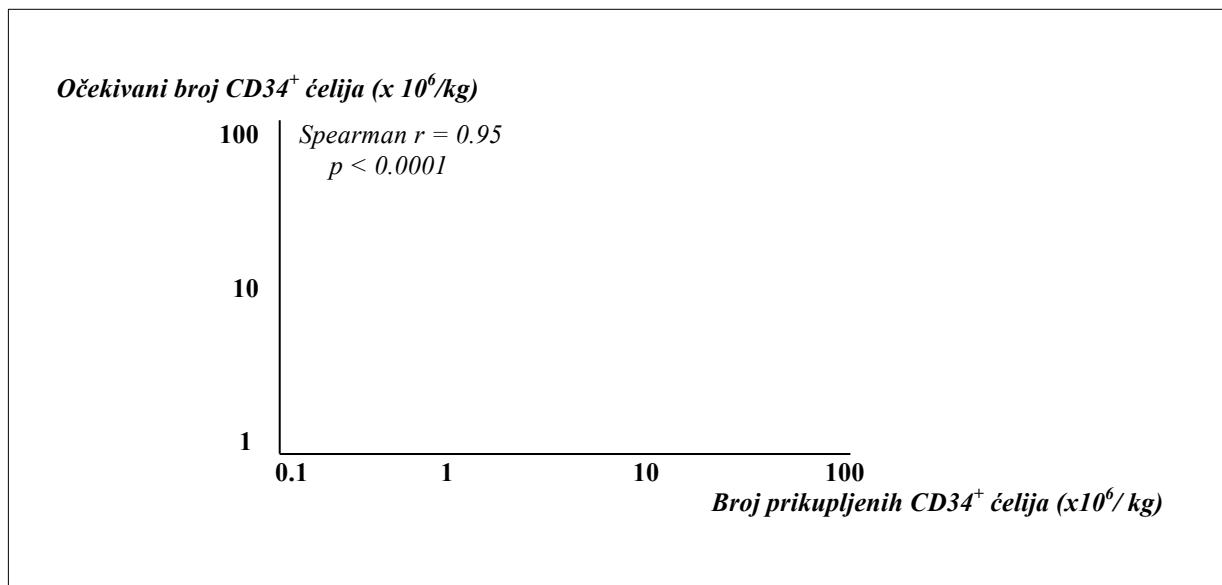
Broj prikupljenih CD34 <sup>+</sup> ćelija/ kg		Efikasnost procedure	Slaganje sa publikovanim podacima
$\geq 2 \times 10^6$ CD34 <sup>+</sup> ćelija/ kg prikupljeno u više od 50% kliničkih procedura	Broj prikupljenih CD34 <sup>+</sup> ćelija/ kg (eng. <i>actual number</i> ) stoji u određenoj statističkoj korelaciji sa brojem ćelija koje su očekivane (eng. <i>predicted number</i> )	Srednja aritmetička vrednost efikasnosti kliničke procedure $\geq 50\%$	Rezultati evaluacije su u skladu sa publikovanim podacima (po izboru)

U procesu evaluacije procedure (modelovanja) izvršeno je prikupljanje podataka a zatim njihova statistička obrada:

- težina pacijenta/donora (*kg*),
- broj CD34<sup>+</sup> ćelija u krvi pacijenta/davaoca 24 sata pre procedure,
- zapremina krvi koja je procesovana u toku procedure (*l*),
- broj CD34<sup>+</sup> ćelija/kg prikupljenih u toku procedure.

Dobijeni rezultati upoređeni su sa podacima iz literature po izboru.

Slika 3.1: Statistička metoda obrade podataka (eng. *Spearman rank correlation*) za uspostavljanje korelacije između broja prikupljenih ćelija i očekivanog broja ćelija.



### Izračunavanje broja očekivanih ćelija i efikasnosti metode

Očekivani broj\* CD34<sup>+</sup> =  $\frac{\text{Broj CD34}^+ \text{ ćelija u krvi } (\mu\text{l}) \times \text{Zapremina krvi koja je procesovana } (l)}{\text{Težina } (kg)}$

Efikasnost procedure (%) =  $\frac{\text{Broj prikupljenih* CD34}^+ \text{ ćelija} \times 100}{\text{Očekivani broj* CD34}^+ \text{ ćelija}} \quad *(x10^6)$

### Statistička obrada podataka

Izvršen je grafički prikaz broja prikupljenih CD34<sup>+</sup> ćelija (x osa) u odnosu na očekivani broj ćelija (y osa) i utvrđena je korelacija na osnovu statističke metode (eng. *Spearman rank correlation*) (Slika 3.1).

## 4. Rezultati i diskusija

### 4.1 Komparativna analiza 1:

#### Poredjenje sadržaja zakonsko regulatornih odredbi i ispitivanje obima i pravca kliničkih istraživanja

##### 4.1.1 Sadržaj reprezentativnih zakonskih regulativa i podzakonskih akata

Pregled regionalnih zakonsko-regulatornih principa koji se odnose na primenu matičnih ćelija i drugih ćelijskih terapija u Evropi, SAD-u i Australiji obuhvata sledeće rezultate dobijene analizom reprezentativnih zakonskih regulativa i podzakonskih akata. Rezultati dobijeni manuelnom analizom dokumenata iz grupe 1 (eng. *cohort 1*) predstavljeni su u Tabeli 3.2, uključuju vrstu i frekvenciju 10 termina (Tabela 4.1) i 16 fraza (Tabela 4.2).

Frekvencije termina predstavljenih u Tabeli 4.1 pokazuju relativnu uskladenost u upotrebi ‘*manufacturing*’ (termin koji se pojavljuje 58, 71 i 113 puta u EMA, FDA i TGA dokumentima) kao i ‘*human*’ (sa relativno visokom učestalošću od 137, 55 i 89 puta u istim dokumentima) (Slika 4.1).

Tabela 4.1: Rezultat manuelne analize dokumenata iz grupe 1: učestalost termina.

Pretraga termina (eng.)	Učestalost termina u dokumentima agencije EMA			Učestalost termina u dokumentima agencije FDA			Učestalost termina u dokumentima agencije TGA		
	<i>Frequency in the EMA Documents</i>			<i>Frequency in the FDA Documents</i>			<i>Frequency in the TGA Documents</i>		
	DOC1	DOC2	DOC3	DOC1	DOC2	DOC3	DOC1	DOC2	DOC3
	2001/83	726/2004	1394/2007	21CFR 312	21CFR 600	21CFR 1271	ARGB P1	ARGB P2	ARGB P3
approve(d)/approval(s)	16	5	0	14	9	15	24*	30	55*
biologic/biological(s)	0	2	2	6	89	17	377	219	67
cell(s)	1	2	46	1	5	78	100	6	1
drug(s)	1	0	0	84	34	36	1	3	0
human	0	84	53	11	6	38	83	1	5
manufacturing	41	8	9	2	48	21	56	57	0
medicinal	615	329	148	0	0	0	2	0	0
product(s)	727	350	227	14	197	49	144	21	6
pharmaceutical	54	8	4	1	1	0	3	0	1
therapy(ies)	4	7	141	0	0	0	13	0	0

\*Uključuje termin (eng.): ‘*unapproved*’.

Preuzeto iz: Ilic *et al.*, 2012a.

Tabela 4.2: Rezultat manuelne analize dokumenata iz grupe 1: učestalost fraza.

Pretraga fraza (eng.)	Učestalost fraza u dokumentima agencije EMA			Učestalost fraza u dokumentima agencije FDA			Učestalost fraza u dokumentima agencije TGA		
	Frequency in the EMA Documents			Frequency in the FDA Documents			Frequency in the TGA Documents		
	DOC1	DOC2	DOC3	DOC1	DOC2	DOC3	DOC1	DOC2	DOC3
	2001/83	726/2004	1394/2007	21CFR312	21CFR600	21CFR1271	ARGB P1	ARGB P2	ARGB P3
access to ...	4	7	0	5	0	1	8	0	6
clinical investigation	0	0	0	13	1	0	0	0	0
clinical trial	21	8	4	10	2	0	11	2	41
class/classification of ...	7	0	0	0	0	0	5	16	0
human cell(s) and tissue(s)	0	0	1	0	0	1	0	0	0
human cells	0	0	8	0	0	11	12	0	0
investigational new drug(s)	0	0	0	16	2	0	0	0	0
investigational drug(s)	0	0	0	14	0	0	0	0	0
marketing authorisation(s)	110	115	32	0	0	0	0	0	0
marketing approval(s)	0	0	0	5	0	0	0	0	1
medicinal product(s)	599	329	148	0	0	0	2	0	0
product deviation(s)	0	0	0	0	11	0	0	0	0
regulatory process	0	0	0	0	0	0	0	5	0
quality of ...	8	1	0	0	1	0	1	4(7*)	0
quality, safety and efficacy	7	10	4	0	0	0	2	2	2
risk(s) management	1	0	7	0	2	0	23	2	2

\*Frekvencija termina (eng.): 'manufacturing quality'.

Preuzeto iz: Ilic *et al.*, 2012a.

Termini kao što su 'drug(s)', 'cell(s)' i 'biologic/biological(s)' se do određene mere koriste u svim analiziranim zakonskim regulativama. Nešto je učestalija upotreba 'medicinal' u regulatornim dokumentima agencije EMA (upotrebljen je ukupno 1092 puta u tri dokumenta) dok je termin 'pharmaceutical' samo sporadično u upotrebi u svim EMA dokumentima osim EMA DOC1 (gde se koristi 54 puta).

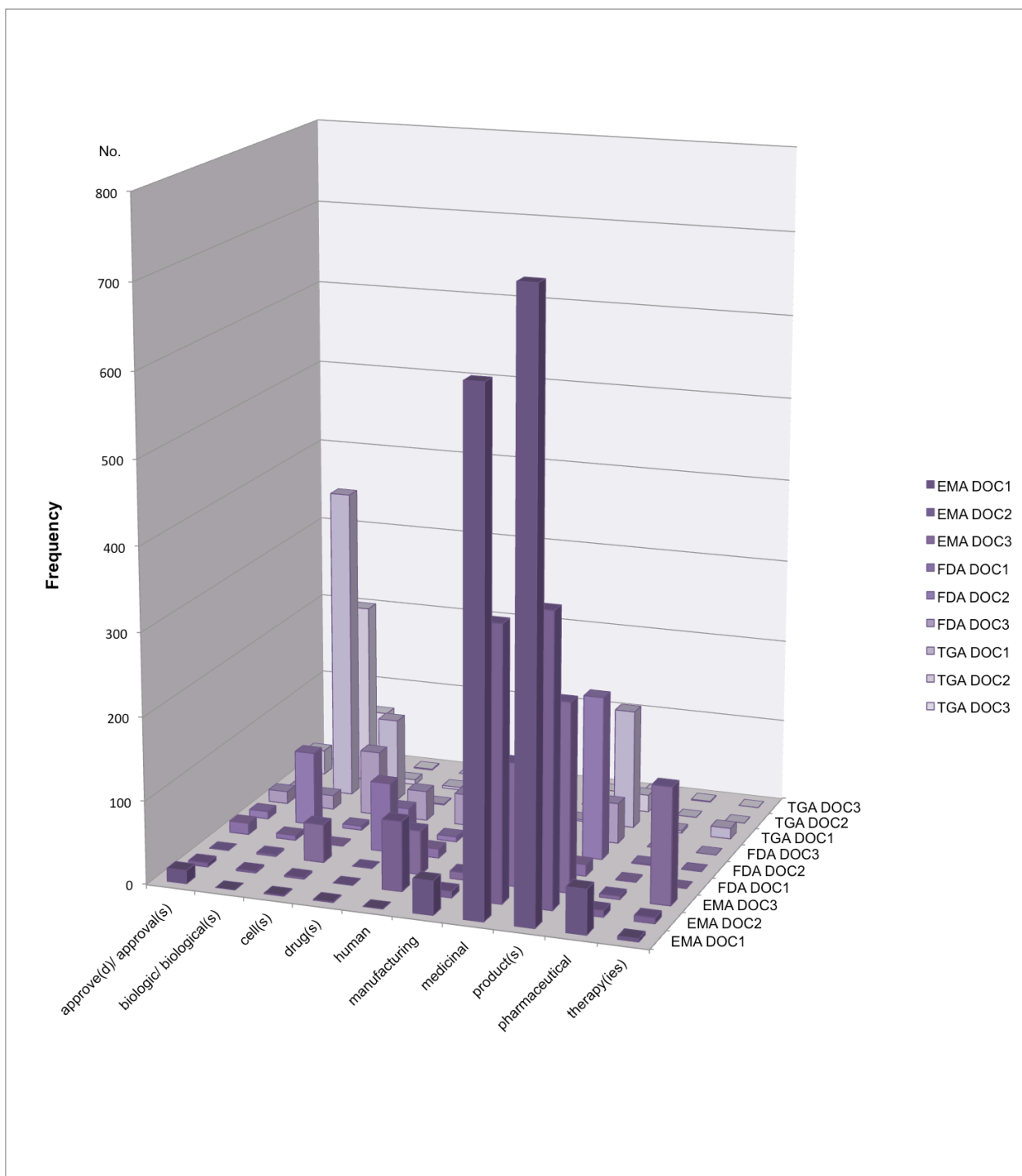
Termin 'therapy(ies)' nije pomenut ni u jednom od regulatornih dokumenata agencije FDA a vrlo retko je upotrebljen u TGA regulativama (samo 13 puta), dok se pominje 141 put u EMA DOC3. Dok je najčešće upotrebljen termin u EMA

regulativama ‘*product(s)*’ zajedno sa ‘*medicinal*’, ‘*drug(s)*’ se konstantno pominje u svim regulatornim dokumentima agencije FDA (84, 34 i 36 puta) ali se praktično jedva pojavljuje u dokumentima iz druga dva regulatorna okvira (samo na 5 mesta).

Regulative agencije TGA koriste uglavnom ‘*biologic/biological(s)*’ dok je termin ‘*cell(s)*’ najviše upotrebljen u regulatornom okviru agencije FDA (78 puta u FDA DOC 3) kao i u TGA regulativama (100 puta samo u TGA DOC1). Rezultati pretrage fraza u Tabeli 4.2 pokazuju da je ‘*access to*’ bila najuniformnije upotrebljena fraza u svim dokumentima iz tri različita regulatorna okvira iako, ukupno gledano, nije bila jedna od učestalijih fraza (upotrebljena je ukupno 31 put u okviru svih analiziranih dokumenata) (Slika 4.2). Fraze ‘*clinical investigation*’ i ‘*clinical trial*’ su se smenjivale u FDA dokumentima dok su EMA i TGA regulative koristile samo ‘*clinical trial*’. ‘*Human cell(s) and tissue(s)*’ i ‘*human cells*’ su pomenuti samo u jednom dokumentu u svakom od analiziranih regulatornih okvira (9 puta u EMA DOC3, 12 puta u FDA DOC3 i 12 puta u TGA DOC1) dok se ‘*investigational new drug*’ pominje samo u dva FDA dokumenta (ukupno 32 puta u FDA DOC 1 i FDA DOC 2). ‘*Marketing authorisation*’ je fraza koju u svojim regulatornim odredbama ekskluzivno koristi samo agencija EMA kao i ‘*medicinal products*’. Ni jedna od ove dve fraze nije upotrebljena u bilo kom dokumentu agencija FDA ili TGA (Slika 4.2). ‘*Quality, safety and efficacy*’ se sporadično pojavljuje u EMA i TGA regulativama a praktično se ne pominje u bilo kom od FDA dokumenata. Ovo se odnosi i na ‘*quality of*’ ili ‘*manufacturing quality*’. ‘*Class*’ ili ‘*classification of*’ nisu upotrebljeni ni u jednom od FDA dokumenata, minimalno se koriste u dokumentima agencije EMA (samo 7 puta) a nešto učestalije u TGA dokumentima (ukupno 54 puta).

Posmatrano sa generalnog stanovišta, regulative agencije EMA koriste u svom razmatranju uglavnom ‘*medicinal products*’ i ‘*marketing authorisation(s)*’ – dok FDA regulative razmatraju ‘*drug(s)*’ ili ‘*biologic(s)*’ a TGA uglavnom ‘*biological(s)*’. Regulatorna dokumenta agencije TGA često koriste ‘*manufacturing*’ za razliku od druge dve agencije kao i ‘*approved/unapproved*’, dok pominju termin ‘*cell(s)*’ preko 100 puta u samo jednom od dokumenata (TGA DOC1). Osim toga, agencija TGA se u svojim regulativama oslanja na upotrebu termina ‘*product(s)*’ (koji je upotrebljen 171 put) i ‘*risk management*’ (koristi se na 27 mesta). ‘*Risk management*’ se pominje

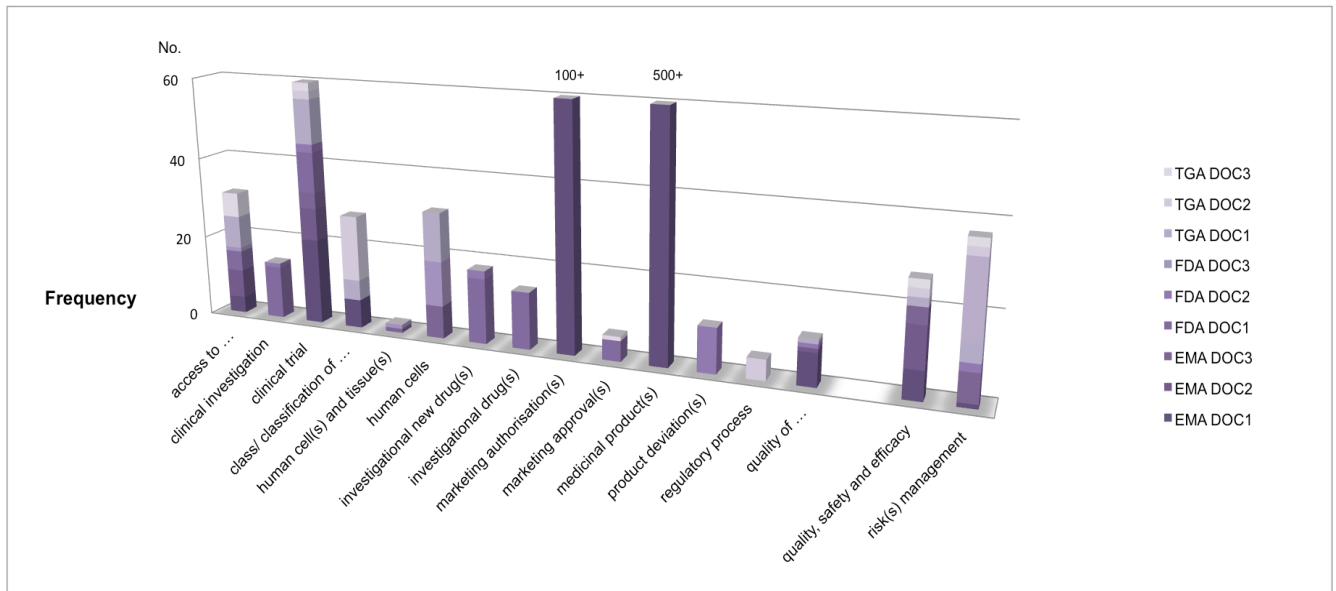
vrlo sporadično u EMA dokumentima a samo dva puta od strane agencije FDA (Slika 4.2).



Preuzeto iz: Ilic *et al.*, 2012a.

Slika 4.1: Manualna analiza dokumenata: frekvencija upotrebe termina u dokumentima iz grupe 1 (eng. cohort I).





Preuzeto iz: Ilic *et al.*, 2012a.

Slika 4.2: Manuelna analiza dokumenata: frekvencija upotrebe fraza u dokumentima iz grupe 1 (eng. cohort I).

Cilj ove analize bio je da se uspostavi korelacija izmedju dokumenata i da se doprinese generalizaciji postavki zakonsko regulatornih odredbi, ne samo u smislu razvoja projekata baziranih na primeni ćelijskih terapija i drugih bioterapeutika – već i u daljem razvoju naučne discipline regulatornih principa (eng. *regulatory science*).

Anticipirano je da se sagledavanjem sličnosti i razlika u ovoj analizi, može u određenoj meri unaprediti proces harmonizacije zakonskih regulativa, da se može doprineti njegovom razvoju u zemljama koje takav zakonski okvir tek formiraju kao i da se može proširiti teorijski skup saznanja u novonastaloj disciplini regulatornih nauka. U toku analize posebna pažnja je posvećena selektivnosti uzorka i fokusu celokupnog istraživanja. Zbog toga su oformljeni kriterijumi za odabir dokumenata kao i precizna metodologija za postupak analize, što se nadovezuje na osnovna pitanja ontološke (pojednostavljeno – šta se istražuje?) i epistemološke prirode (pojednostavljeno – kako se istražuje?). U nastojanju da se odgovori na ova pitanja, očuvana je selektivnost u procesu odabira i analize dokumenata.

#### **4.1.2 Teme i koncepti reprezentativnih zakonskih regulativa i podzakonskih akata**

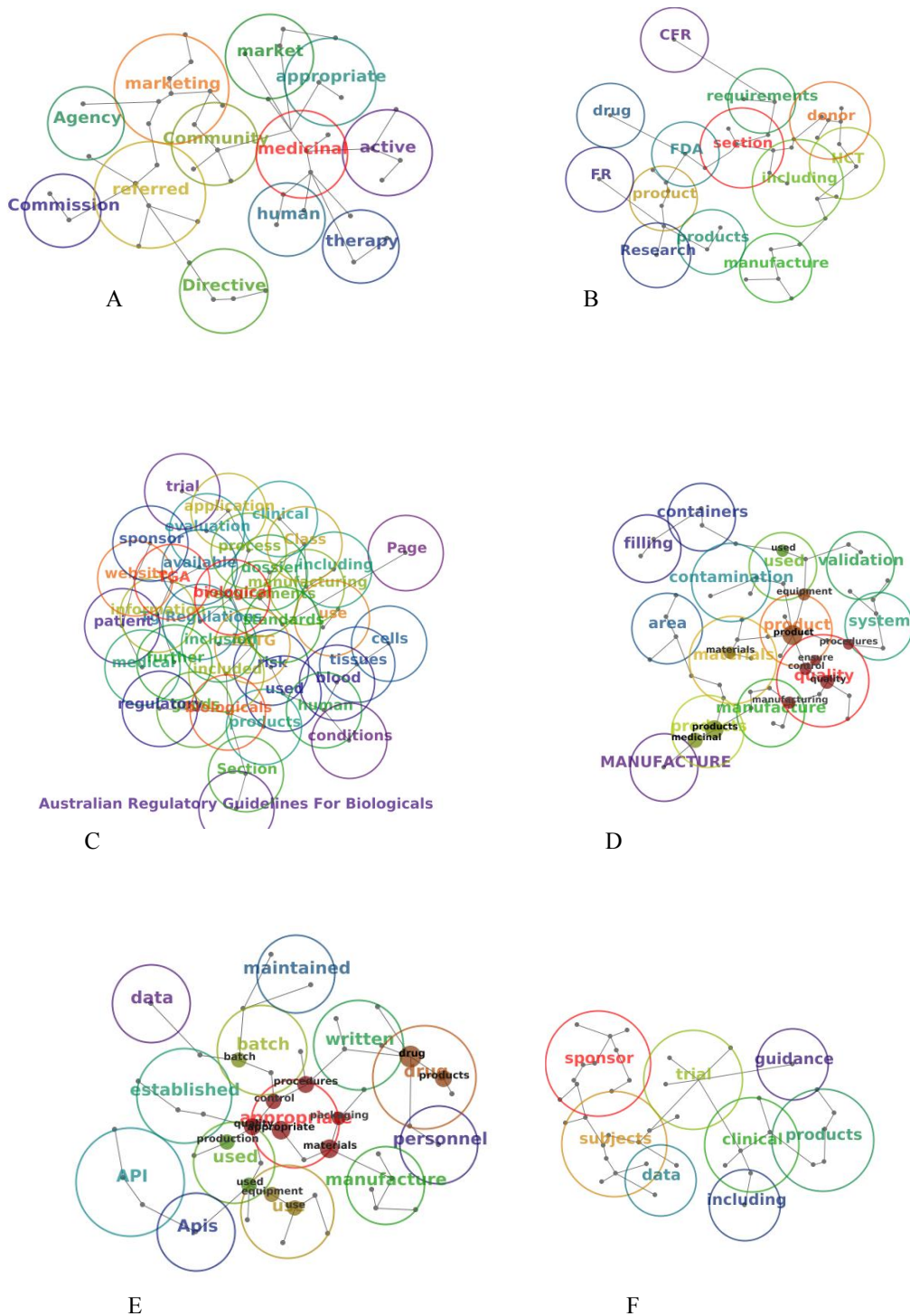
Analiza uz pomoć softverskog programa je uključila dokumenta iz grupe 1 i 2 (eng. *cohort 1 & cohort 2*) predstavljenih u Tabeli 3.2 koji su procesovani uz pomoć *Leximancer v3.1* programa za analizu teksta (Smith, 2005; Smith, 2010). Rezultati analize prikazani su u Tabeli 4.3, Tabeli 4.4, na Slikama 4.3, 4.4, 4.6 kao i na Slici 4.5 koja se nalazi u Prilogu 16. Za potrebe softverske analize koncepti su definisani kao grupe reči koje se u kontinuitetu zajedno pojavljuju u tekstu (eng. *collections of words that generally travel together throughout the text*) (Smith, 2005; Smith, 2010). Softverski program obavlja konceptualnu i korelacionu analizu (Smith, 2005; Smith, 2010) pri tome uzimajući u obzir *koji koncepti* su prisutni u tekstu i *kako su povezani* tj. u kakvoj su korelaciji (Slika 4.3 i 4.4). Pored grafičkog prikaza rezultata, obezbeđeni su podaci o učestalosti, kao što je i) lista najučestalijih koncepata prikazana u Tabeli 4.3 i ii) frekvencija učestalosti koncepata koji se zajedno pojavljuju kroz tekst (eng. *frequency of concept co-occurrence*) koja je predstavljena u obliku 3D grafičkih prikaza na Slici 4.5 koja se nalazi u Prilogu 16.

#### *Koncepti*

Nakon procesovanja dokumenata, program generiše primarne konceptualne mape (eng. *concept maps*) (Slika 4.3) i konceptualne oblake (eng. *concept clouds*) (Slika 4.4). Konceptualne mape imaju različitu kompleksnost i strukturu (eng. *complexity, number of concepts or size of circles around each concept*) pri tome prikazujući neke od osnovnih informacija o tekstu (Smith, 2005; Smith, 2010):

- Osnovne tj. najučestalije koncepte koji se pojavljuju u analiziranom tekstu (dokumentu) ili grupi dokumenata (eng. *document set*) (Tabela 4.3).
- Centralnost tj. značaj svakog koncepta (Slika 4.4 i Slika 4.6).
- Frekvenciju tj. učestalost koncepata koji se zajedno pojavljuju kroz tekst (Slika 4.5, Prilog 16).
- Sličnost u kontekstu gde se konceptualne grupe pojavljuju zajedno kao teme (eng. *themes*) i relativnu učestalost koncepata (Tabela 4.4).

Kao primer funkcionalnosti softverske analize, prikazana je konceptualna mapa dokumenata agencije TGA koji se bave veoma različitim aspektima regulative – što se manifestuje velikim brojem koncepata koji se medjusobno preklapaju (Slika 4.3C).

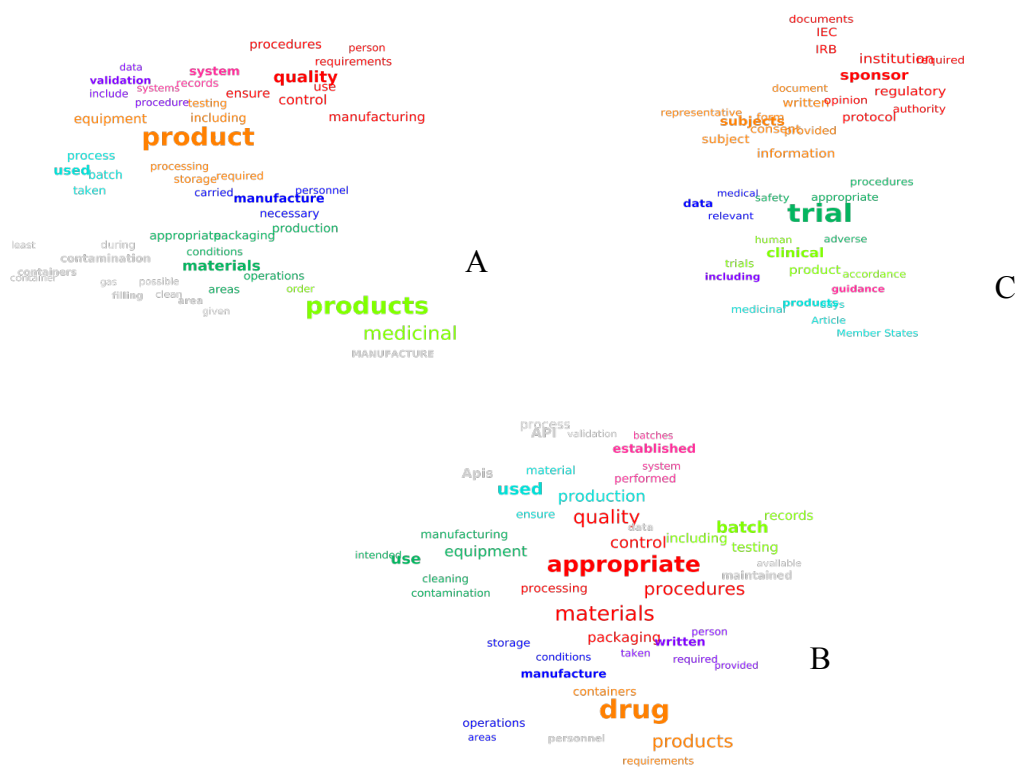


Preuzeto iz: Ilic *et al.*, 2012b.

Slika 4.3: Konceptualne mape i koncepti identifikovani u sledećim dokumentima: dokumenta agencije EMA (A), dokumenta agencije FDA (B), dokumenta agencije TGA (C). GMP(1) dokumenta (D), GMP(2) dokumenta (E), GCP dokumenta (F). Lista svih dokumenata je prikazana u Tabeli 3.2 u poglavlju *Materijali*.

Konceptualni oblaci (eng. *concept clouds*) (Slika 4.4) po svojoj strukturi i funkciji služe kao ilustracija razlika između dokumenata u smislu sadržaja (Smith, 2005; Smith, 2010). Na primer, sadržaj dokumenata agencija EMA (Slika 4.4D) i TGA (Slika 4.4E) mogu se uporediti vizuelno na osnovu konfiguracije njihovih konceptualnih oblaka. Konceptualni oblak dokumenata agencije EMA ima drugačiju strukturu (uzak, izdužen skup koncepata) u odnosu na druge konceptualne oblake npr. agencije TGA (Slika 4.4E) – sa centralno postavljenim primarnim konceptima ‘*medicinal*’ i ‘*products*’ kao i sa nekoliko sekundarnih konceptualnih postavki kao što su ‘*marketing*’, ‘*authorisation*’, ‘*holder*’ and ‘*referred*’ (Slika 4.4D). Konceptualni oblak agencije TGA prikazuje centralnost dva koncepta, ‘*biological*’ i ‘*class*’, okruženih sa jedne strane konceptima ‘*human*’ i ‘*products*’, a sa druge strane ‘*information*’ i ‘*application*’ (Slika 4.4E). Takođe, ukoliko se uporede konceptualni oblaci dokumenata koji pripadaju različitim grupama regulatornih principa GMP i GCP – mogu se zapaziti sličnosti i razlike koje odlikavaju njihovu strukturu i sadržaj. Konceptualni oblak grupe dokumenata GMP(1) (grupa koja obuhvata raznorodna dokumenta agencija EMA i TGA) (Slika 4.4A) je širi, sa više različitih koncepata koji okružuju centralno postavljen koncept ‘*product*’ ukazujući na široki spektar ne naročito srodnih konceptualnih postavki.

Konceptualni oblak grupe dokumenata GMP(2) (Slika 4.4B) je, za razliku od prethodnog primera, znatno uredjeniji sa konceptima ‘*procedures*’, ‘*processing*’, ‘*quality*’ i ‘*control*’ koji na manjoj razdaljini okružuju centralno postavljen koncept ‘*appropriate*’; dok se u širem okruženju na jednoj strani nalaze ‘*intended*’ i ‘*use*’ a na drugoj strani ‘*batch*’ i ‘*records*’. Ovakav oblik i struktura konceptualnog oblaka ukazuje na veću koherentnost dokumenata koji su zajedno analizirani, u ovom slučaju radi se o dve GMP regulative koje pokrivaju proizvodnju medicinskih produkata i jednom GMP dokumentu koji se odnosi na dovršene farmaceutске proizvode. Ipak, najizraženiji po svojoj koherentnosti je konceptualni oblak GCP dokumenata (Slika 4.4C) koji obuhvata relativno uzak konceptualni opseg oko centralno postavljenih ‘*sponsor*’ i ‘*trial*’, time ukazujući na fokus i nameru ovih dokumenata da ukažu na jednu osnovnu konceptualnu postavku. Nasuprot tome, konceptualni oblaci agencije EMA (Slika 4.4D) i TGA (Slika 4.4E) su orijentisani oko svoje vertikalne ili horizontalne ose – ukazujući na raznolikost i razudjenost konceptualnih postavki kojima se bave.



Konceptualni oblaci identifikovani u GMP(1) dokumentima (A), GMP(2) dokumentima (B), GCP dokumentima (C).

Preuzeto iz: Ilic *et al.*, 2012b.

Slika 4.4 A-C: Konceptualni oblaci i teme (konceptualne grupe) identifikovani u dokumentima softverskom analizom. Lista svih dokumenata je prikazana u Tabeli 3.2 u poglavlju *Materijali*.

U daljoj analizi softver je identifikovao najosnovnije (najčešće upotrebljene) koncepte kao što je prikazano u Tabeli 4.3 – za agenciju TGA to je bio koncept ‘*biological*’, za FDA ‘*product*’ a za agenciju EMA, ‘*medicinal*’. Ovo je bilo u skladu sa rezultatima manuelne analize dokumenata (Tabele 4.1 i 4.2) ali što je još značajnije, takodje ukazuje na činjenicu da **sve tri regulatorne agencije kao osnovnu konceptualnu postavku svojih zakonskih regulativa u ovoj oblasti imaju – produkt, odnosno terapeutsko sredstvo** koje se dobija u procesu izrade ćelijskih tj. naprednih terapija (iako koriste različitu terminologiju: *biological vs. product vs. medicinal*). Ovo je pronadjeno kao jedna od osnovnih, ali retkih sličnosti medju agencijama FDA, TGA i EMA u datoj regulatornoj oblasti.



### *Teme (tematski klasteri)*

Različite boje kružnica na grafičkim prikazima koje generiše softver, označavaju različite teme tj. tematske grupe (Smith, 2005; Smith, 2010). Krugovi se formiraju oko povezanih tj. bliskijih koncepata na taj način formirajući tematske klasterne (eng. *thematic clusters*). Rezultat tematske analize predstavlja i tematski pregled za grupu dokumenata 1 i 2 koji je prikazan u Tabeli 4.4.

Konceptualna mapa (Slika 4.4F) prikazuje analizu GCP dokumenata iz različitih regulatornih okvira, koji ipak imaju sličnu udaljenost konceptualnih postavki kao i stepen njihove konektivnosti – predstavljen ne samo bojom već i razmakom na mapi. U ovoj analizi su GCP dokumenta iz različitih regulatornih okvira pokazala viši stepen koherentnosti i slaganja u svom sadržaju od drugih (npr. GMP). Centralna tema ‘*trial*’ je bila okružena bliskim temama: ‘*sponsor*’, ‘*subjects*’, ‘*data*’, ‘*clinical*’, ‘*accordance*’ i ‘*adverse*’ (Slika 4.4F). Teme kao što su ‘*written*’, ‘*including*’ i ‘*days*’ bile su u određenoj meri udaljenije ali još uvek dovoljno blizu centralne teme ‘*trial*’.

Tema ‘*sponsor*’ je u sebi sadržala koncepte ‘*sponsor*’, ‘*regulatory*’, ‘*protocol*’ i ‘*opinion*’, dok je tema ‘*subjects*’ sadržala koncepte kao što su ‘*provided*’, ‘*information*’ i ‘*consent*’ veoma blizu teme ‘*data*’ (kao i koncepta ‘*data*’) (Slika 4.4F). Teme ‘*clinical*’ and ‘*products*’ su takodje predstavljene na maloj udaljenosti, što predstavlja njihovu povezanost u tekstu, ali nešto više udaljene od tema ‘*sponsor*’, ‘*written*’ ili ‘*data*’, koje se nisu zajedno sa njima pojavljivale u tekstu.

### *Učestalost koncepata koji se zajedno pojavljuju*

Učestalost koncepata koji se zajedno pojavljuju (eng. *co-occurrence between concepts*) je važan aspekt analize kojim se utvrđuje bliskost tj. povezanost konceptualnih postavki u tekstu (Smith, 2005; Smith, 2010). Grafički prikaz (3D) na Slici 4.5 u Prilogu 16 ilustruje rezultate dobijene analizom dokumenata u grupi 1 i 2, uzimajući u obzir bliskost konceptualnih postavki koje se pojavljuju zajedno kroz tekst (eng. *a window, based on a length of words or sentences, is specified and moved sequentially through the text, taking note of the concepts that occurred together*).

U dokumentima agencije EMA, maksimalna učestalost parova koncepata koji se zajedno pojavljuju je u opsegu od 7000 do 8000 (Slika 4.5C, Prilog 16) dok je ovaj

opseg za dokumenta druge dve agencije najviše do 1000 (Slika 4.5A,B, Prilog 16). Ova mera ne zavisi samo od broja ponavljanja parova koncepata već i od njihove povezanosti u smislu konteksta (Smith, 2005; Smith, 2010). Individualna učestalost termina ‘*medicinal*’ je nešto preko 1000 u tri manuelno analizirana EMA dokumenta. Ipak, zbog sličnosti konteksta u kojem se pojavljuje sa nekim drugim konceptima (eng. *co-occurrence*) frekvencija njihovog zajedničkog pojavljivanja je od strane softvera rangirana u opsegu od 7000 do 8000 (Slika 4.5C, Prilog 16). U ovoj analizi nije bilo dovoljno podataka da bi se zabeležilo bilo kakvo značajno zajedničko pojavljivanje (eng. *co-occurrence*) kao osnova da se uspostave zajedničke ili slične konceptualne postavke između različitih regulatornih okvira ili između GMP dokumenata koje različite agencije propisuju u ovoj oblasti. Nedostatak sličnosti koji je očigledan u manualnoj i softverskoj analizi (npr. različita terminologija, upotreba različitih fraza i razlike u učestalosti njihove upotrebe) – potvrđuje deo hipoteze da se regulatorne agencije razlikuju u svojim konceptualnim postavkama. Takođe, pokazano je da razlike u formalnom smislu postoje kroz njihove najviše zakonsko regulatorne odredbe koje u ovoj analizi reprezentuju dati zakonski okvir za svaku agenciju.

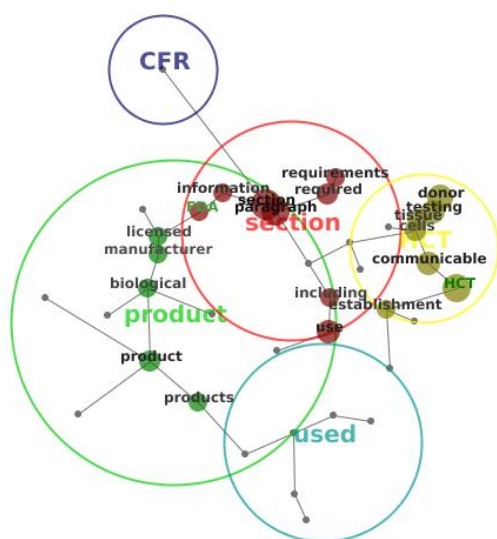
Završni deo informacije o tekstu, koji je vidljiv na mapi, predstavlja kontekstualna sličnost između konceptualnih postavki (eng. *contextual similarity between concepts*). U procesu formiranja mape, koncepti su slučajnim redosledom postavljeni na ivice mape. U sledećoj fazi analize koncepti međusobno demonstriraju svoj uticaj jedan na drugi koji se bazira na prisustvu ili odsustvu zajedničkog konteksta kao i na njegovu učestalost (eng. *exert a pull on each other concept with a strength related to their co-occurrence value*). Ovo može figurativno da se predstavi kao fizička veza između konceptima (npr. opruga) koja ‘povlači’ koncepte jedan ka drugom ili obrnuto (Smith, 2005; Smith, 2010). Naravno, zbog mnogo međusobnih veza između konceptima, kao i ‘sila’ privlačenja/odbijanja baziranih na meri njihovog zajedničkog konteksta i frekvencije, teško je očekivati da se ovo prikaže u apsolutnoj meri. Tako se koncepti u stvari grupišu na osnovu svih ovih korelacija.

Grupe konceptualnih postavki koje su bliske u tekstu, biće identifikovane kao deo iste teme. Najcentralnije teme i njihovi koncepti predstavljeni su na Slici 4.6. Primer kontekstualne sličnosti nalazi se na Slici 4.6C gde su prikazani rezultati



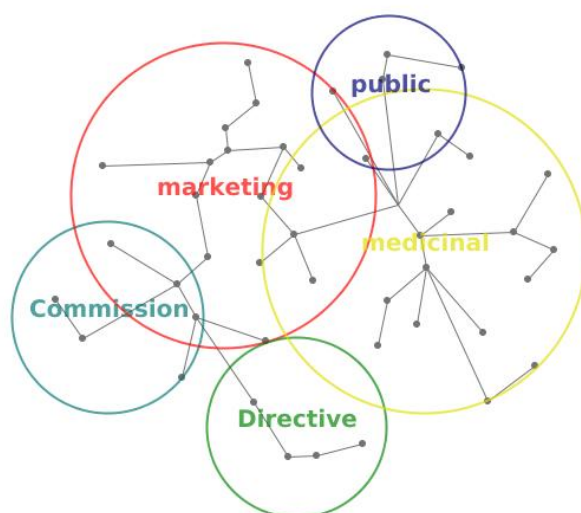
analize TGA dokumenata koji pripadaju istoj grupaciji (eng. *Biologicals Framework*). Iako koncepti ‘*application*’ i ‘*information*’ nemaju direktnu vezu u tekstu (ne pojavljuju se zajedno), oni izgledaju bliski na mapi zbog sličnosti konteksta (teme) u kojem se pojavljuju.

Osim toga, ovi koncepti se pojavljuju zajedno u grupi sa nekim važnim konceptima kao što su ‘*dossier*’, ‘*processing*’ i ‘*goods*’ koji se nalaze u istim takvim kontekstima u dokumentu. Bazirano na sličnosti u kontekstu, na istoj slici se izdvaja i grupa koju čine koncepti ‘*blood*’, ‘*human*’, ‘*cells*’ i ‘*product*’/‘*products*’ koja ne pokazuje direktnu vezu sa već pomenutim konceptima ‘*application*’ i ‘*information*’, ‘*sponsor*’ ili ‘*trial*’ u drugom delu mape.



A.

Najučestalije teme identifikovane u dokumentima agencije FDA. Preklapanje konceptualnih okvira reprezentuje njihovu blisku povezanost.



B.

Najučestalije teme identifikovane u dokumentima agencije EMA.

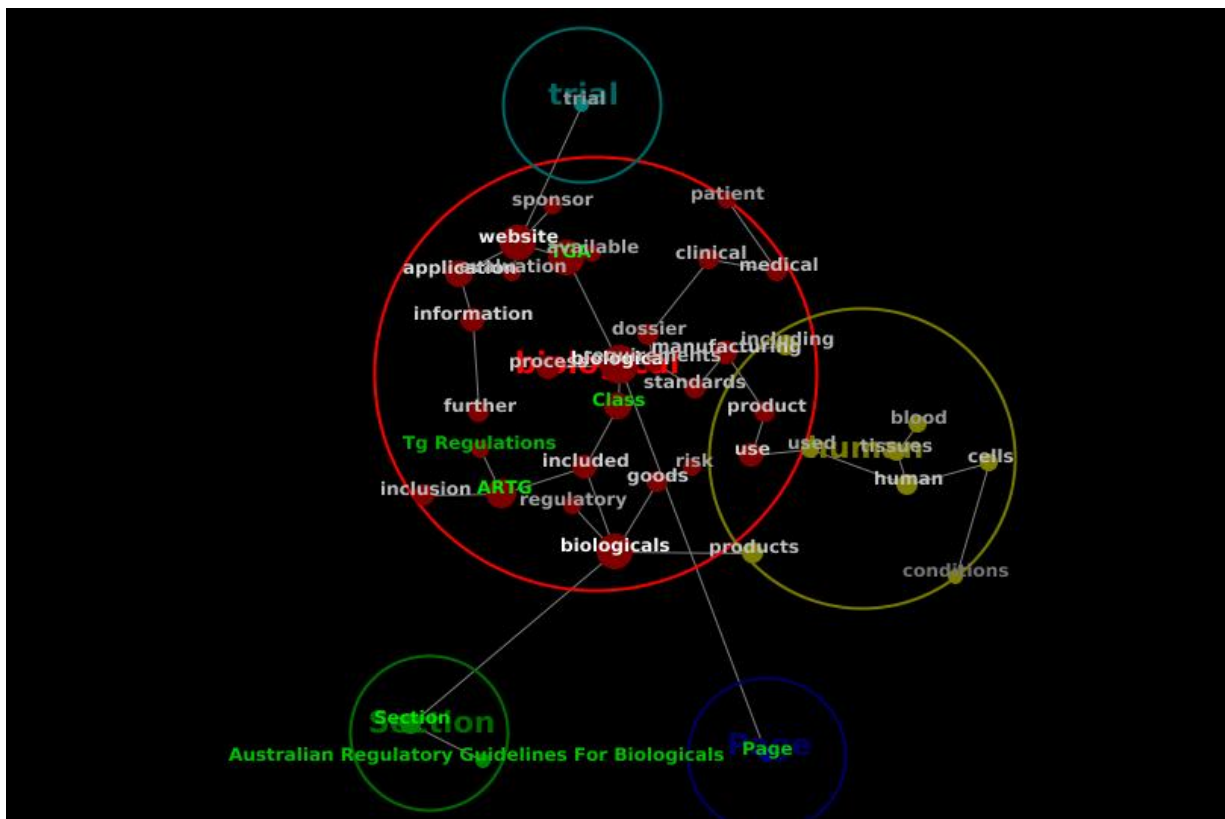
Preuzeto iz: Ilic *et al.*, 2012b.

Slika 4.6: Najučestalije teme i koncepti (A, B).

Tabela 4.3: Rezultat softverske analize dokumenata iz grupe 1 i 2: najučestaliji koncepti u pojedinačnim regulatornim okvirima i u okviru regulatornih principa (GMP(1), GMP(2), GCP).

<b>Najučestaliji koncepti</b>	1	2	3	4	5
<i>Concepts in Order of Frequency</i>					
U okviru pojedinačnih regulatornih okvira (eng. <i>in individual regulatory frameworks</i> )					
TGA	Biological	Human	Section	Trial	-
FDA	Product	Section	Used	HCT	CFR
EMA	Medicinal	Marketing	Commission	Directive	Public
U okviru regulatornih principa (eng. <i>across regulatory frameworks</i> )					
GMP(1)	Quality	Materials	Product	Contamination	Manufacture
GMP(2)	Appropriate	Drug	Records	API	-
GCP	Clinical	Trial	Subjects	Sponsor	Data

Preuzeto iz: Ilic *et al.*, 2012b.



### C.

Najučestalije teme identifikovane u dokumentima agencije TGA. Primer veoma izražene kontekstualne sličnosti između dokumenata (identifikovane od strane softvera).

Preuzeto iz: Ilic *et al.*, 2012b.

Slika 4.6: Najučestalije teme i koncepti (C).

Tabela 4.4: Rezultati softverske analize dokumenata iz grupe 1 i 2: Tematski pregled u pojedinačnim regulatornim okvirima i u okviru regulatornih principa (GMP(1), GMP(2), GCP).

Tema	Stepen konektivnosti <sup>^</sup>	Tema	Stepen konektivnosti <sup>^</sup>	Tema	Stepen konektivnosti <sup>^</sup>
<i>Theme</i>	<i>Connectivity</i>	<i>Theme</i>	<i>Connectivity</i>	<i>Theme</i>	<i>Connectivity</i>
<b>TGA</b>		<b>FDA</b>		<b>EMA</b>	
<a href="#">biological</a>	100%	<a href="#">section</a>	100%	<a href="#">medicinal</a>	100%
<a href="#">Class</a>	46%	<a href="#">donor</a>	82%	<a href="#">marketing</a>	88%
<a href="#">Use</a>	44%	<a href="#">product</a>	53%	<a href="#">referred</a>	59%
<a href="#">biologicals</a>	42%	<a href="#">HCT</a>	49%	<a href="#">Community</a>	29%
<a href="#">ARTG</a>	34%	<a href="#">including</a>	46%	<a href="#">Directive</a>	28%
<a href="#">Human</a>	20%	<a href="#">manufacture</a>	39%	<a href="#">market</a>	15%
<a href="#">medical</a>	15%	<a href="#">products</a>	21%	<a href="#">Agency</a>	12%
<a href="#">Section</a>	10%	<a href="#">requirements</a>	19%	<a href="#">appropriate</a>	10%
<a href="#">Trial</a>	02%	<a href="#">FDA</a>	11%	<a href="#">human</a>	10%
<a href="#">Page</a>	01%	<a href="#">drug</a>	05%	<a href="#">therapy</a>	09%
				<a href="#">Commission</a>	09%
<b>GMP(1)</b>		<b>GMP(2)</b>		<b>GCP</b>	
<a href="#">Quality</a>	100%	<a href="#">appropriate</a>	100%	<a href="#">sponsor</a>	100%
<a href="#">Product</a>	91%	<a href="#">drug</a>	50%	<a href="#">subjects</a>	66%
<a href="#">Materials</a>	73%	<a href="#">use</a>	45%	<a href="#">trial</a>	56%
<a href="#">Products</a>	63%	<a href="#">batch</a>	40%	<a href="#">written</a>	34%
<a href="#">Used</a>	46%	<a href="#">used</a>	39%	<a href="#">clinical</a>	28%
<a href="#">Manufacture</a>	36%	<a href="#">manufacture</a>	28%	<a href="#">products</a>	18%
<a href="#">Validation</a>	26%	<a href="#">written</a>	25%	<a href="#">product</a>	15%
<a href="#">System</a>	26%	<a href="#">established</a>	23%	<a href="#">adverse</a>	03%
<a href="#">Contamination</a>	19%	<a href="#">API</a>	22%		
<a href="#">Area</a>	18%	<a href="#">maintained</a>	09%		
<a href="#">Containers</a>	08%	<a href="#">Apis</a>	08%		
<a href="#">Filling</a>	06%	<a href="#">personnel</a>	04%		
<a href="#">MANUFACTURE</a>	03%	<a href="#">data</a>	03%		

<sup>^</sup> Stepen konektivnosti (eng. *connectivity*) je mera korelacije izmedju koncepata i mera stepena njihove srodnosti/medjuzavisnosti. Lista učestalosti za svaki pojedinačni koncept je deo rezultata koji su izloženi ispod njihovog grafičkog prikaza/mape za dati tekst. Preuzeto iz: Ilic *et al.*, 2012b.

Rečenice za koje se smatra da sadrže koncept su obeležene od strane softverskog programa samo ako je akumulirano dovoljno podataka za to (npr. u vidu ponavljanja određenih grupa reči) (Smith, 2005; Smith, 2010). Prisustvo svake obeležene reči donosi određenu vrednost tako da će grupa reči ili rečenica u tekstu biti klasifikovana od strane softvera kao concept samo ako se akumulira dovoljno reči koje nose određenu vrednost tj. ako vrednost svih obeleženih reči zajedno doprinese prelasku u opseg koncepta (Smith, 2005; Smith, 2010). *Konceptualna analiza* kao deo funkcionalnosti programa, omogućava da se tekst jednog ili vise dokumenata

podeli u celine čije međusobne relacije mogu da se kvantifikuju i analiziraju (Smith, 2005; Smith, 2010). U konceptualnoj analizi tekst dokumenata se ispituje na prisustvo i frekvenciju konceptualnih postavki/ koncepata. Nasuprot tome, u *korelacionoj analizi* meri se kako su tako identifikovani koncepti međusobno povezani u tekstu (Smith, 2005; Smith, 2010).

Tabela 4.5: Frekvencije (eng. *high, medium & low*) i stepen konektivnosti (%) između tema koje su identifikovane u dokumentima grupe 1 i 2 (eng. *cohorts 1 and 2*).

THEMES CONNECTIVITY <sup>^</sup>		THEMES IDENTIFIED BY THE SOFTWARE						THEMES OVERALL FREQUENCY
MIN (%)	MAX (%)	TGA Documents	FDA Documents	EMA Documents	GMP(1) Documents	GMP(2) Documents	GCP Documents	
91	100	biological	section	medicinal	quality product	appropriate	sponsor	HIGH ( 9/65 )
81	90	-	donor	marketing	-	-	-	
51	80	-	product	referred	materials products	-	subjects trial	MEDIUM ( 41/65 )
11	50	class use biologicals ARTG human medical	HCT including manufacture products requirements FDA	community directive market agency	used manufacture validation system contamination area	drug use batch used manufacture written established API	written clinical products product adverse	
≤10	-	section trial page	drug	appropriate human therapy commission	containers filling manufacture	maintained Apis personnel data	-	LOW ( 15/65 )

<sup>^</sup> Stepen konektivnosti (eng. *connectivity*) je mera korelacije između koncepata i mera stepena njihove srodnosti/ međuzavisnosti. Lista učestalosti za svaki pojedinačni koncept je deo rezultata koji su izloženi ispod njihovog grafičkog prikaza/mape za dati tekst. Preuzeto iz: Ilic et al., 2012b.

Ova analiza je značajan doprinos uporednoj kvalitativnoj analizi zakonsko regulatornih odredbi, koja do sada nije bila zastupljena u literaturi. Takođe doprinosi harmonizaciji i razumevanju sličnosti i razlika između osnovnih postavki različitih zakonsko regulatornih okvira formiranih u ovoj oblasti. Kao što je napomenuo jedan od stručnjaka u svom intervjuu – nije u pitanju razlika u terminologiji već razlika u onome što se tom terminologijom podrazumeva (CTE022, Tabela 4.25).

Primenjena metodologija koristi prednosti kvalitativne analize – omogućujući kontekstualizaciju podataka i detaljnu analizu uzorka. Neka od značajnih metodoloških razmatranja u ovom tipu analize uključuju nereaktivnost metodologije (eng. *non-reactivity*) kao što navode neki autori “*the data selection method itself generally does not change the data being collected*” (Bailey, 1982) i dug proces pripreme koji prethodi analizi (zbog toga što je dokument u tekstualnoj formi) (Mason, 2002). U obzir se takodje uzimaju određena merila kao što su: ponovljivost (eng. *stability of a measure*) (Weber, 1990; Creswell, 2007), pouzdanost i preciznost metodologije (Creswell, 2007; Maxwell, 2005; Scott, 1990; Weber, 1990; Maxwell, 2005), adekvatnost i reprezentativnost uzorka (Robson, 2002); kao i validnost interpretacije (Mason, 2002), mogućnost generalizacije rezultata (Robson, 2002) (empirijska, koja predstavlja primenljivost u odnosu na širi ‘univerzum’ i teoretska) (Mason, 2002), transparentnost odnosno standardizacija pristupa (Maxwell, 2005) i validnost konstrukcije odnosno teorijske postavke (eng. *construct validity*) (Thomas & Harden, 2008).

Budući da su prvenstveno analizirane sličnosti i razlike između zakonsko regulatornih pristupa, bilo je sasvim uputno koristiti dokumenta koja sadrže regulatorne odredbe na najvišem nivou – za koje se smatra da adekvatno reprezentuju osnovne karakteristike tih pristupa.

Dok je manuelna analiza dokumenata obezbedila terminološki osvrt na dati tekstualni materijal, upotreba softverskog programa obezbedila je da se, uz primenu grafičkih prikaza, izvedu određeni koncepti, sagleda njihov kontekst i korelacijske odrednice među njima (Scott, 1990). Pri tome je usvojen stav da se očekuju određene razlike u zakonsko regulatornim postavkama, koje su bazirane na kulturološkim, istorijskim i drugim faktorima kao i regionalnoj dinamici razvoja bioloških lekova. Ipak je, kao što se moglo očekivati, fokus svih analiziranih zakonskih okvira bio na zaštiti javnog zdravlja, zdravlja pojedinca i obezbedjenju kvaliteta terapijskog produkta baziranog na savremenim naučnim saznanjima.

### 4.1.3 Geografska distribucija kliničkih istraživanja

Naučna oblast koja se bavi matičnim ćelijama i drugim ćelijskim terapijama, ranije je bila deo bazičnih istraživanja a danas sazreva kao novo polje u domenu translatornih kliničkih istraživanja (Atala, 2013). Ove terapije, kao deo regenerativne medicine, imaju praktično neograničen potencijal (Atala, 2013). Regenerativna medicina koristi nekoliko mehanizama kao što su matične ćelije, inženjering tkiva, biomaterijali i slični pristupi u zameni obolelih tkiva i organa (*Quick Facts on Regenerative Medicine, Canada, 2011*). Globalno tržište regenerativne medicine trenutno se procenjuje na \$3,6 milijarde dolara i očekuje se da premaši \$11 milijardi dolara do 2020. godine, ukoliko se nastavi predviđeni razvoj po godišnjoj stopi rasta od 30% (*Quick Facts on Regenerative Medicine, Canada, 2011*). U periodu između 2000. i 2005. godine broj kliničkih istraživanja sa primenom 'biološke intervencije' (eng. 'biological intervention') bio je oko 1200 da bi ubrzo dostigao nivo od oko 6000 istraživačkih projekata (Bourgoin, 2011). Ipak, samo jedan mali procenat ovih projekata će da nastavi svoj put kroz istraživački proces/ translaciju u kasnije faze kliničkih istraživanja a još manji broj će biti odobren od strane regulatornih agencija za svoju dalju primenu. Zaključno sa novembrom 2010. godine, samo je 3% kliničkih istraživanja u trećoj fazi (eng. *Phase III clinical trials*) bilo registrovano sa primenom 'biološke intervencije' iako je 15% istraživanja u prvoj fazi (eng. *Phase I*) bilo registrovano u istoj kategoriji (Bourgoin, 2011).

Da bi postao isplativ terapijski proizvod u regenerativnoj medicini, kompleksni biološki lek (bilo da je baziran na primeni ćelija ili tkiva) mora da bude razvijen, ispitan i primenjen u strogo kontrolisanim uslovima. U ovom procesu postoje brojna naučna, tehnološka, regulatorna, etička, finansijska i druga razmatranja i izazovi (Burger, 2003; Dutton, 2007; Prince *et al.*, 2004; *Nature Editorial*, 2008; Kirouac & Zandstra, 2008; Atala, 2012). Uprkos tome, nastojanja da se to ostvari mogu da budu uspešna kao što je pokazano na primeru najprodavanijih 12 bioloških lekova u SAD-u koji su u 2010. godini u svom kumulativnom prihodu dostigli \$30 milijardi dolara (Bourgoin, 2011). Shodno tome, klinička istraživanja u ovoj oblasti se nastavljaju i pored ogromne neizvesnosti i količine ulaganja koja iziskuju. Pregled globalne baze podataka koja sadrži kliničke istraživačke projekte (eng. *clinical trials*) na svetskom nivou [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov) prikazao je sledeću geografsku distribuciju ukupnih kliničkih istraživanja kojih je u januaru 2011. godine bilo preko 100.000 a

preko 150.000 u avgustu 2013. godine (Tabela 4.6). U istom periodu, bilo je registrovano preko 18.000 kliničkih istraživanja (u januaru 2011. godine) odnosno blizu 25.000 (u avgustu 2013. godine) koja su dobijena pretragom uz kjučne reči ‘*cell therapies*’ (Tabela 4.7).

Tabela 4.6: Broj kliničkih istraživanja na svetskom nivou u januaru 2011. i u avgustu 2013. godine.

*Celokupna klinička istraživanja\* u januaru 2011. godine*

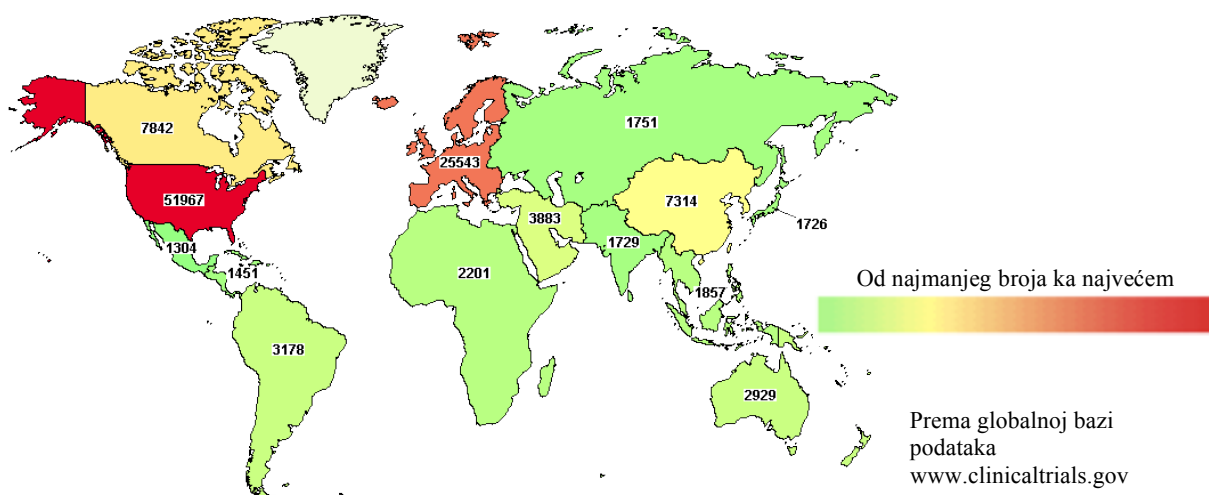
Geografski region	Broj kliničkih istraživanja <sup>^</sup>
<b>World</b>	<b>101792</b>
Africa	2201
Central America	1451
East Asia	7314
Japan	1726
Europe	25543
Middle East	3883
North America	56557
Canada	7842
Mexico	1304
United States	51967
North Asia	1751
Pacifica* (incl. Australia)	2929
Australia	2764
South America	3178
South Asia	1729
Southeast Asia	1857

*Celokupna klinička istraživanja\* u avgustu 2013. godine*

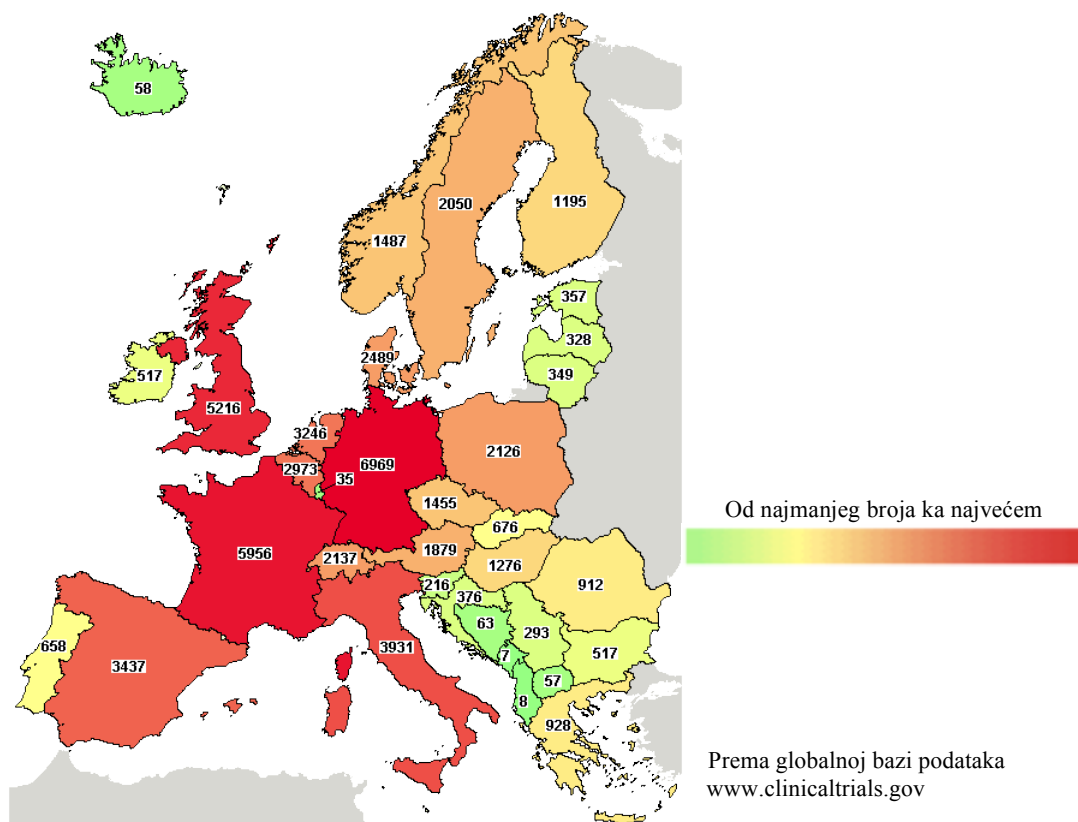
Geografski region	Broj kliničkih istraživanja <sup>^</sup>
<b>World</b>	<b>150905</b>
Africa	3428
Central America	1884
East Asia	13477
Japan	2844
Europe	41103
Middle East	6237
North America	78019
Canada	11282
Mexico	1936
United States	71010
North Asia	2820
Pacifica* (incl. Australia)	4099
Australia	5139
South America	2655
South Asia	3050
Southeast Asia	2820

\* Klinička istraživanja koja nemaju preciziranu lokaciju ili imaju više naznačenih lokacija nisu ušla u ovaj broj.

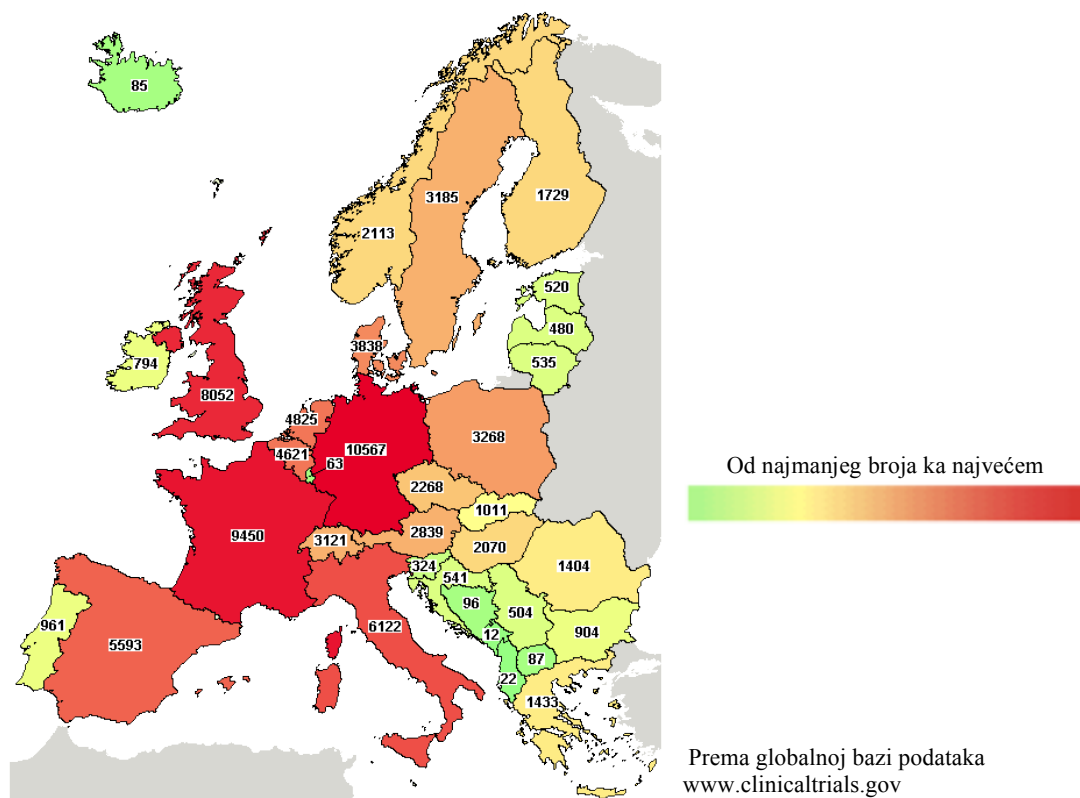
<sup>^</sup>Prema globalnoj bazi podataka [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov)



Slika 4.7: Mapa kliničkih istraživanja na svetskom nivou u januaru 2011. godine.



Slika 4.8: Mapa kliničkih istraživanja u Evropi u januaru 2011. godine.



Slika 4.9: Mapa kliničkih istraživanja u Evropi u avgustu 2013. godine.



#### 4.1.4 Trendovi u kliničkim istraživanjima prema tipu ćelijskih terapija

Rezultati pretrage na osnovu ključne reči "cell therapies" (Tabela 4.7) pokazali su da je opseg kliničkih istraživanja u toj kategoriji porastao za trećinu u

Tabela 4.7: Broj kliničkih istraživanja na svetskom nivou u januaru 2011. i u avgustu 2013. godine na osnovu ključnih reči 'cell therapies'.

<i>Broj kliničkih istraživanja na osnovu ključnih reči: 'cell therapies' u januaru 2011. godine</i>	
Geografski region	Broj kliničkih istraživanja <sup>^</sup>
<b>World</b>	<b>18833</b>
Africa	295
Central America	363
East Asia	990
Japan	214
Europe	4123
Middle East	499
North America	13037
Canada	1581
Mexico	138
United States	12512
North Asia	247
Pacifica	683
South America	376
South Asia	208
Southeast Asia	254

<i>Broj kliničkih istraživanja na osnovu ključnih reči: 'cell therapies' u avgustu 2013. godine</i>	
Geografski region	Broj kliničkih istraživanja <sup>^</sup>
<b>World</b>	<b>24909</b>
Africa	445
Central America	406
East Asia	1808
Japan	346
Europe	5968
Middle East	763
North America	16367
Canada	1952
Mexico	232
United States	15648
North Asia	437
Pacifica	893
South America	589
South Asia	309
Southeast Asia	403

\*Klinička istraživanja koja nemaju preciziranu lokaciju ili imaju više naznačenih lokacija nisu ušla u ovaj broj.

<sup>^</sup>Prema globalnoj bazi podataka [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov)

periodu od januara 2011. do avgusta 2013. godine. Porast broja ovih istraživanja je zabeležen u svim svetskim regionima (Tabela 4.7).

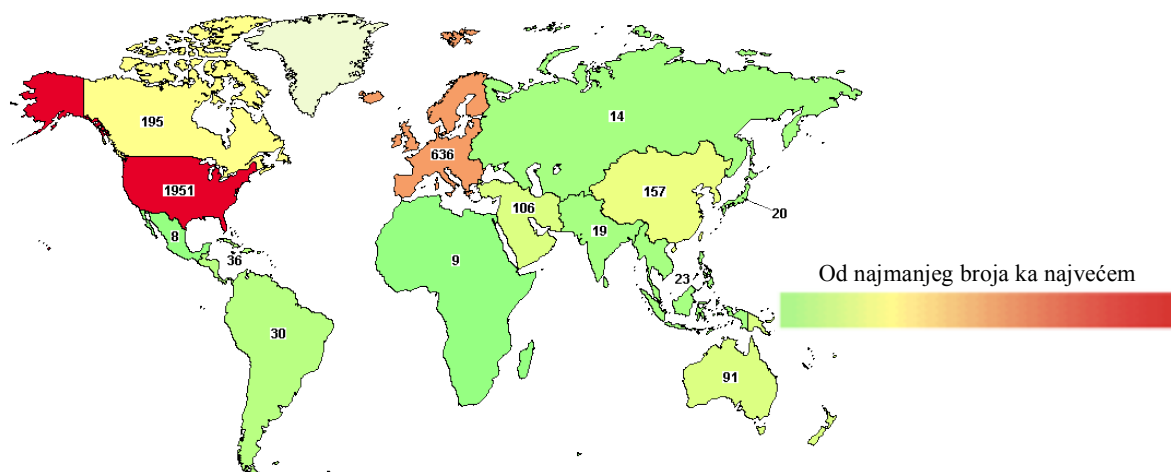
Pretragom baze podataka na osnovu ključnih reči "cell therapies AND stem cell" dobijeni su rezultati predstavljeni u Tabeli 4.8 i na mapi (Slika 4.10) gde je prikazano da je na svetskom nivou početkom 2011. godine bilo registrovano 3.076 kliničkih istraživanja u ovoj oblasti – 668 u Evropi, 2.015 u SAD-u i 106 u Australiji. Približno jedna trećina ovih istraživanja bila je finansirana od strane Nacionalnog instituta za zdravlje u SAD-u (National Institutes of Health, NIH), oko 17% od strane industrije (privatnih kompanija) a iz fondova univerziteta oko 40%.

Tabela 4.8: Broj kliničkih istraživanja na svetskom nivou u januaru 2011. i u avgustu 2013. godine na osnovu ključnih reči ‘cell therapies AND stem cell’.

Broj kliničkih istraživanja* na osnovu ključnih reči: ‘cell therapies AND stem cell’ u januaru 2011. godine		Broj kliničkih istraživanja* na osnovu ključnih reči: ‘cell therapies AND stem cell’ u avgustu 2013. godine	
Geografski region	Broj kliničkih istraživanja^	Geografski region	Broj kliničkih istraživanja^
<b>World</b>	<b>3076</b>	<b>World</b>	<b>4311</b>
Africa	9	Africa	16
Central America	41	Central America	41
East Asia	164	East Asia	344
Japan	21	Japan	35
Europe	668	Europe	975
Middle East	111	Middle East	162
North America	2071	North America	2694
Canada	216	Canada	252
Mexico	10	Mexico	24
United States	2015	United States	2606
North Asia	14	North Asia	31
Pacifica	106	Pacifica	126
South America	32	South America	54
South Asia	19	South Asia	52
Southeast Asia	23	Southeast Asia	38

\* Klinička istraživanja koja nemaju preciziranu lokaciju ili imaju više naznačenih lokacija nisu ušla u ovaj broj.

^Prema globalnoj bazi podataka [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov)

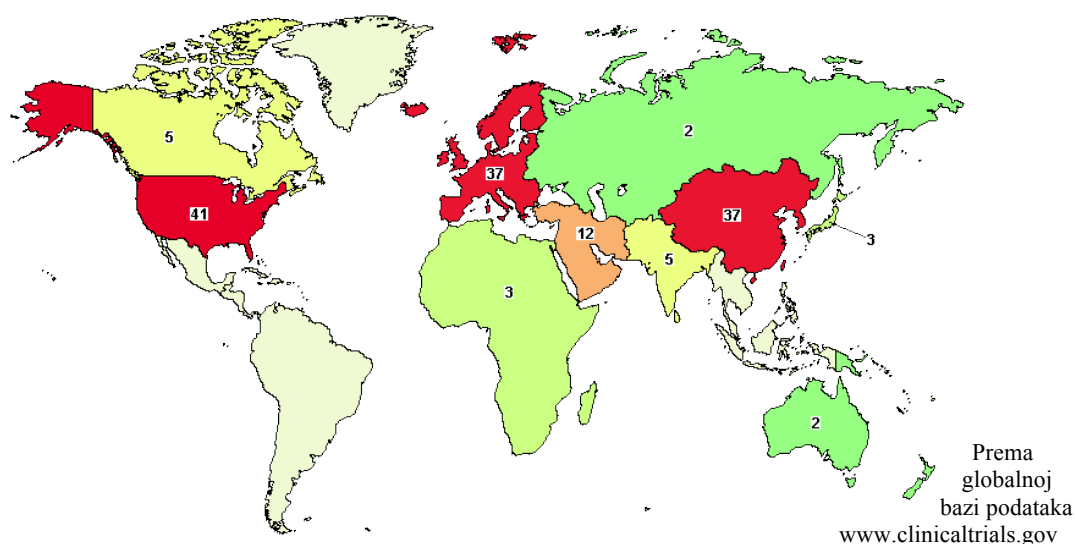


Prema globalnoj bazi podataka  
[www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov)

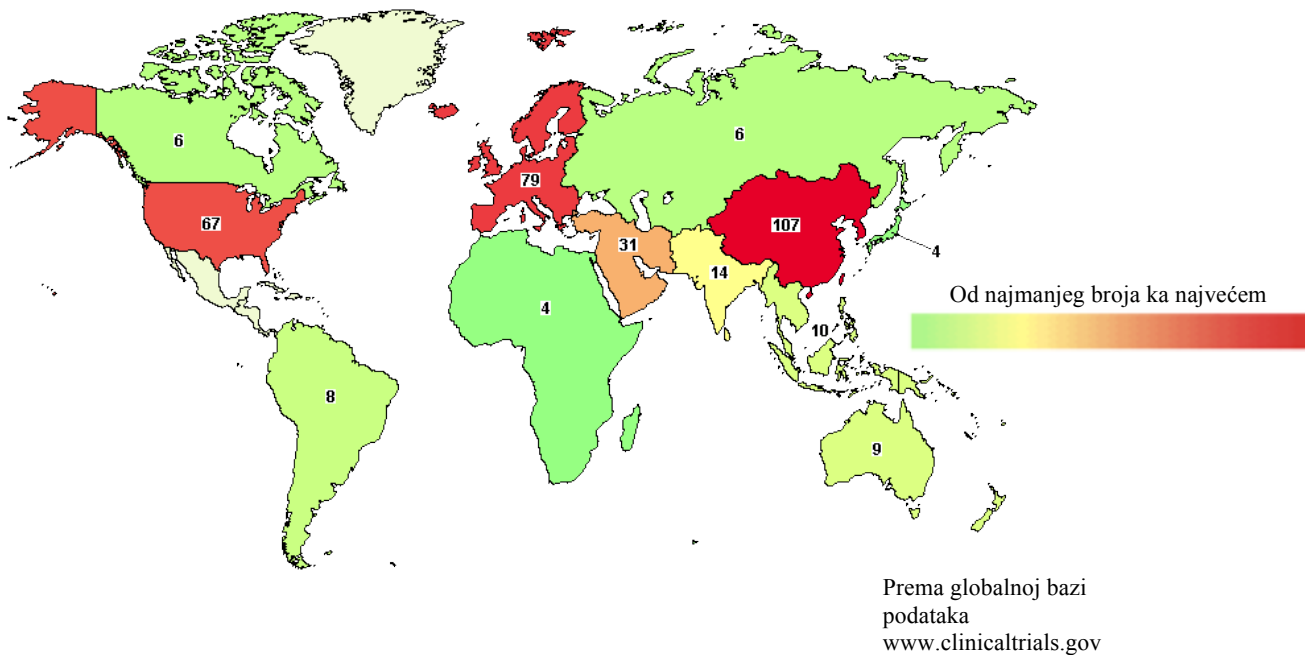
Slika 4.10: Mapa kliničkih istraživanja na osnovu pretrage ključnih reči ‘cell therapies AND adult stem cell’ u januaru 2011. godine.

Od ukupno 41.103 registrovanih kliničkih istraživanja Evropi (Slika 4.9) 9.450 je registrovano u Francuskoj, 10.567 u Nemačkoj, 6.122 u Italiji, 8.052 u Velikoj Britaniji, a nešto više od 500 kliničkih istraživanja je registrovano u našoj zemlji, slično kao u Litvaniji i Latviji. Na osnovu pretrage ključnih reči “*cell therapies AND adult stem cell*” mapa (Slika 4.10) prikazuje ukupno 2.972 kliničkih istraživanja, od čega je 636 kliničkih projekata registrovano u Evropi, 1.951 u SAD-u i 91 u Australiji.

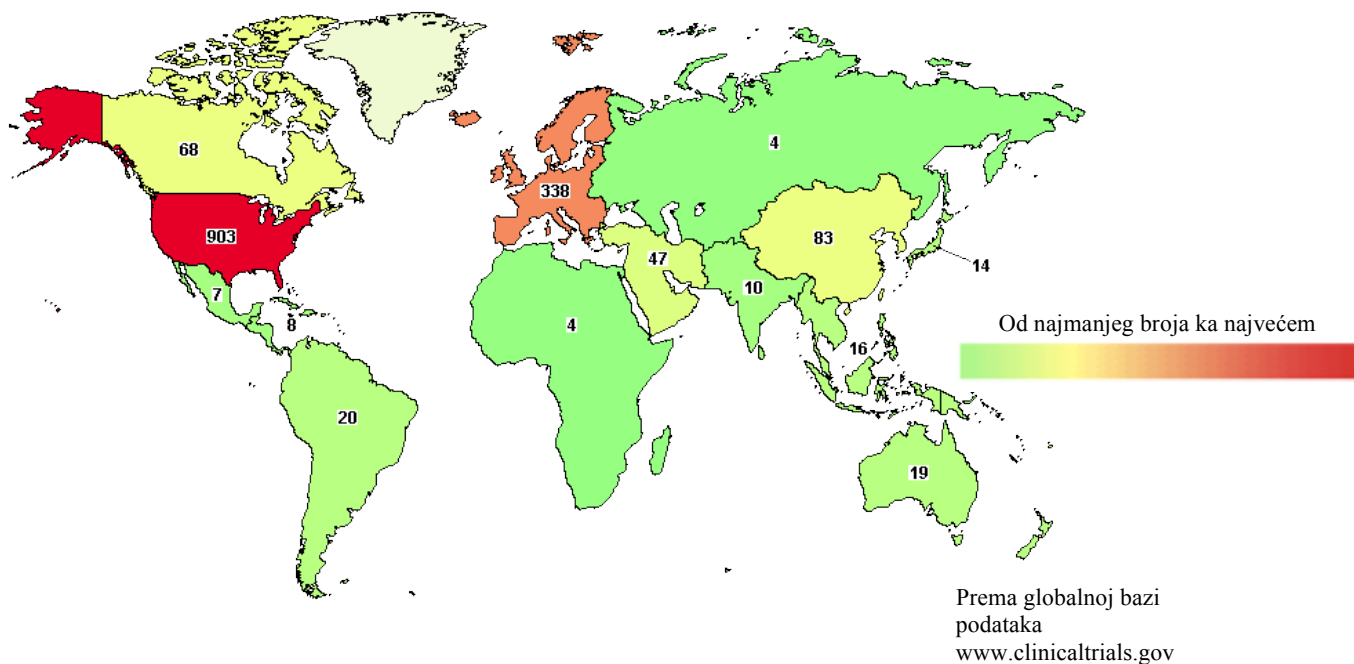
Značajno manji broj kliničkih istraživanja, ukupno 140, registrovan je na svetskom nivou u kategoriji mezenhimskih matičnih ćelija (pretraga uz ključne reči “*cell therapies AND mesenchymal stem cells*”) sa po približno 40 registrovanih kliničkih projekata u SAD-u i Evropi i 2 u Australiji (Slika 4.11 i 4.12). Mora se uzeti u obzir činjenica da slična istraživanja mogu biti registrovana pod nekim od drugih kategorija. U isto vreme pretraga bazirana na ključnim rečima “*cell therapies AND dendritic cell therapy*” (Slika 18.3 u Prilogu 18) oznacila je 319 kliničkih istraživanja od kojih je 229 registrovano u SAD-u, 59 u Evropi i 2 u Australiji. Mapa 1.496 kliničkih istraživanja koja navode upotrebu autolognih ćelijskih terapija, prikazana je na Slici 4.13, od kojih su 903 projekta registrovana u SAD-u, 338 u Evropi i 19 u Australiji (pretraga na osnovu ključnih reči “*cell therapies AND autologous*” u januaru 2011. godine).



Slika 4.11: Mapa kliničkih istraživanja uz upotrebu mezenhimskih ćelija na svetskom nivou (pretraga uz ključne reči ‘*cell therapies AND mesenchymal stem cells*’) u januaru 2011. godine.



Slika 4.12: Mapa kliničkih istraživanja uz upotrebu mezenhimskih ćelija na svetskom nivou (pretraga uz ključne reči ‘*cell therapies AND mesenchymal stem cells*’) u avgustu 2013. godine.



Slika 4.13: Mapa kliničkih istraživanja uz upotrebu autolognih terapija (903 u SAD-u, 338 u Evropi i 19 u Australiji) koja su izlistana na osnovu ključnih reči ‘*cell therapies AND autologous*’ u januaru 2011. godine.

Cilj ove analize nije bio da se daju detaljni brožčani podaci o kliničkim istraživanjima od interesa, niti iscrpni upiti u analiziranu bazu podataka. Prikazani rezultati dati su samo kao ilustracija odnosno kao pokazatelj trendova u opsegu i tipu kliničkih istraživačkih projekata vezanih za ćelijske terapije.

Danas je prepoznata vrednost i snažan, ali donekle provokativan, potencijal regenerativne medicine i nove generacije terapija baziranih na primeni ćelija i tkiva (Atala, 2012). U hiljadama istraživačkih laboratorija širom sveta ulaže se ogroman napor u ovoj oblasti – koji relativno sporo ulazi u proces translatornih kliničkih istraživanja, pri tome nudeći veliki broj mogućnosti ali postavljajući i niz prepreka (Atala, 2012). Na osnovu ove analize očigledno je da se celokupan proces translatornog istraživanja ipak obavlja na zavidnom nivou kao i da se njegov obim uvećava shodno nastanku novih naučnih i tehnoloških saznanja u ovoj oblasti.

Ipak postoji čitav niz bazičnih istraživačkih metoda i njihovih primena kojima je potreban dalji rad i unapredjenje; tu spadaju: adekvatni pre-klinički modeli, upotreba malih molekula, upotreba novih disciplina kao što je *genomics*, sagledavanje dugoročnih efekata eksperimentalnih terapija na ljudima i profili bezbedne upotrebe novih terapeutika, mnogobrojne kliničke potrebe za novim terapeutskim pristupima, zakonsko regulatorni tokovi, dizajn kliničkih istraživanja, modaliteti kliničke primene i ostali mnogobrojni aspekti (Atala, 2012).

Uspeh u kliničkim translatornim istraživanjima zahteva ne samo visoko obučeni kadar i kompleksan set naučnih znanja i veština, već i razumevanje kompleksnih skupova podataka iz kliničkih primena, njihov značaj u zakonsko regulatornom smislu, *standardizovane laboratorijske protokole i održive organizacione modele* (od kojih će neki biti analizirani u sledećim poglavljima), adekvatne partnerske sporazume, stabilne poslovne sisteme i druge vrste efikasne podrške (Burger, 2003; Dutton, 2007; Prince *et al.*, 2004; *Nature Editorial*, 2008; Kirouac & Zandstra, 2008; Atala, 2012).

## 4.2 Komparativna analiza 2: Karakterizacija laboratorijsko kliničkih protokola

Primena adekvatnih laboratorijskih i kliničkih protokola je osnova u translatorskim istraživanjima. *Kliničke primene* iziskuju neka od sledećih razmatranja u sprovođenju protokola kliničkih istraživanja: preparativne režime (npr. vrste primenjene hemoterapije), alternativne tretmane (autologne vs. transplantacije alogernih ćelija), primenu kombinovanih protokola za transplantaciju, redovno posmatranje mnogobrojnih kliničkih parametara i preventivu neželjenih reakcija kao i mogućih fatalnih ishoda (engraftment, *GVHD*, stopa mortaliteta i drugi parametri). Sa druge strane, *laboratorijski protokoli* se sve više usložnjavaju.

Metodologijom pojedinačne analize slučaja (eng. *case study*) okarakterisani su modeli protokola za izradu (laboratorijski aspekt) i primenu (klinički pristup) matičnih ćelija i drugih ćelijskih terapija, na sledećim nivoima:

- Minimalno manipulisane ćelije,
  - čiji proces proizvodnje uključuje samo zamrzavanje i čuvanje istih, namenjene za transplantaciju istom pacijentu (eng. *autologous use*); bez upotrebe kombinovanih proizvoda (npr. obogaćivanja bilo kakvim proteinskim ili drugim agensima), bez dokazanog sistemskog efekta tj. sa visoko-specifičnim terapeutskim efektom (eng. *homogenous use*), kao što je proizvodnja i transplantacija matičnih ćelija izolovanih iz periferne krvi ili kostne srži.
- Visoko-manipulisane ćelije,
  - čiji proces proizvodnje uključuje kulturu ćelija (eng. *ex vivo expansion*), kao što je proizvodnja i transplantacija adultnih mezenhimskih matičnih / stromalnih ćelija (eng. *mesenchymal stem cells, MSC*) izolovanih iz placente, namenjenih za upotrebu u različitim kliničkim indikacijama.
- Visoko-manipulisane ćelije,
  - čiji proces proizvodnje uključuje obogaćivanje (eng. *loading*) različitim proteinskim ili drugim agensima, kao što je proizvodnja i transplantacija antigen-prezentujućih dendritičnih ćelija (eng. *dendritic cells, DC*) izolovanih iz krvi pacijenta upotrebom ćelijske separacije aferezom (eng.

*leukapheresis*) i obogaćenih rekombinovanim proteinskim produktima, uglavnom namenjenih za antitumorske terapije.

#### **4.2.1 Protokol za izradu i primenu matičnih ćelija hematopoeze izolovanih iz periferne krvi**

Karakteristike koje izdvajaju ovaj model protokola su: koristi se rutinski u kliničkim uslovima, uključuje minimalnu količinu manipulacije (uslovno rečeno, osnovnu manipulaciju) i izrada ćelijskog produkta obavlja se u kliničko bolničkim laboratorijama. Većina zakonsko regulatornih standarda, koji se odnose na minimalno manipulisane ćelije nalazi se u nivou *GTP* (eng. *Good Tissue Practice*). U tom smislu zahteva se da njihove procedure i protokoli sadrže određene elemente i da se u celokupnom procesu primeni adekvatno prikupljanje i čuvanje podataka (Tabela 4.9).

Tabela 4.9: Važni elementi u procedurama, protokolima i čuvanju podataka za potrebe laboratorijske izrade i kliničke primene minimalno manipulisanih matičnih/ progenitorskih ćelija izolovanih iz periferne krvi uz primenu afereze (prema brojnim standardima i regulatornim odredbama).

Elementi neophodni u procedurama, protokolima i procesu čuvanja podataka:	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- donor selection,</li> <li>- assessment,</li> <li>- consent,</li> <li>- microbiological testing,</li> <li>- collection,</li> <li>- labelling,</li> <li>- system of numbering,</li> <li>- processing,</li> <li>- quality management and improvement,</li> <li>- proficiency testing,</li> <li>- storage, including alternative storage strategies if the primary storage device fails,</li> <li>- transportation,</li> <li>- expiry dates,</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- outcome analysis,</li> <li>- audits,</li> <li>- emergency and safety procedures,</li> <li>- equipment and supplies,</li> <li>- maintenance and monitoring,</li> <li>- cleaning procedures,</li> <li>- personnel training,</li> <li>- disposal of medical and biohazard waste,</li> <li>- release procedures, including criteria for exceptional release,</li> <li>- references,</li> <li>- tolerance limits,</li> <li>- corrective actions,</li> <li>- recall, returns and discard policy.</li> </ul>

Za izdvajanje matičnih ćelija periferne krvi (eng. *Haematopoietic Stem/Progenitor Cells, HSC/HPC*) koriste se višenamenski ćelijski separatori sa kontinuiranim ili diskontinuiranim protokom krvi i softverskim programom za svaki tip aferezne procedure. Princip prikupljanja je zasnovan na centrifugalnom razdvajanju krvnih ćelija i izdvajanju mononuklearnog sloja leukocita iz

antikoagulisane krvi bolesnika. Faktori koji utiču na efikasnost ove kliničke procedure objašnjeni su u delu teze koji se bavi teorijskim i praktičnim modelovanjem (Komparativna analiza 5) dok su karakteristike samih ćelija, procesa hematopoeze i afereznih metoda objašnjeni u uvodnom delu teze.

Većina procedura za pripreme matičnih ćelija hematopoeze izolovanih iz periferne krvi, uključuje procesovanje (pripremu ćelija), njihovo zamrzavanje i čuvanje dok se samo ponekad koristi svež proizvod. U toku pripreme ćelija, koje prethodi zamrzavanju, može da se obavi smanjenje volumena plazme ili da se uklone eritrociti (eng. *plasma depletion & red cell depletion*). Cilj je da se redukuje ukupna zapremina proizvoda ili da se uklone neželjene komponente (npr. antitela ili eritrociti). Ovo se smatra osnovnim procesnim modelom u izradi ćelijskih terapija, ne toliko zbog njegove jednostavnosti već zbog učestale upotrebe u rutinske kliničke svrhe.

Manuelne metode smanjenja zapremine plazme i uklanjanja eritrocita uključuju centrifugiranje proizvoda pri čemu se mehanički uklanja sloj plazme ili istaloženi eritrociti. Pri ovoj metodi se gubi određeni deo *osnovnog ćelijskog proizvoda* tako da se sve učestalije koriste automatske metode za odvajanje ćelija. U procesu kriokonzervacije matične ćelije se postepeno zamrzavaju (eng. *control rate freezing*) u rastvoru koji čine: plazma ili albuminski rastvor, krioprotektant (npr. dimetilsulfoksid, DMSO) i citrat dekstroza, obično u odnosu 65:20:10:5. Tako pripremljen, ćelijski produkt se čuva u tečnom azotu (ako je moguće u gasnoj fazi) na temperaturi između -160°C i -190°C.

Osnovni elementi laboratorijske izrade i kliničke primene minimalno manipuliranih matičnih/ progenitorskih ćelija izolovanih iz periferne krvi uz primenu afereze, prikazani su u Tabeli 4.10. Primer standardne operativne procedure za manipulaciju i kriokonzervaciju nalazi se u Prilogu 11.

Tri osnovna elementa kliničke metode transplantacije matičnih ćelija hematopoeze su: i) pripremni tretman (eng. *conditioning regimen*) čija svrha je da ukloni tumorske ćelije; ii) transplantacija ćelijskog grafta (eng. *stem cell graft*), da bi se ponovo uspostavila hematopoeza; iii) post-transplantacioni tretmani (eng.



*supportive care, including immunosuppressive regimen*) uz primenu antibiotika, transfuzije krvi i/ili imunosupresivnih lekova (kod autoložnih transplantacija).

Tabela 4.10: Osnovni elementi laboratorijske izrade i kliničke primene minimalno manipuliranih matičnih/ progenitorskih ćelija izolovanih iz periferne krvi uz primenu afereze.

Prikupljanje ćelija aferezom	Kriokonzervacija i čuvanje	Transplantacija
Collection of PBSC by apheresis	<i>Cryopreservation &amp; storage</i>	<i>Reinfusion</i>
<p>-Use of PBSC mobilization techniques and a variety of chemotherapy and/or cytokine regimens.</p> <p>-For patients treated with chemotherapy plus a hematopoietic cytokine, apheresis is generally initiated when the peripheral blood white cell count exceeded <math>1 \times 10^9/l</math>.</p> <p>-For some patients (as prescribed by the individual patient's physician), apheresis is initiated based on the level of CD34+ cells in the peripheral blood.</p> <p>-Apheresis is continued daily until the target goal of CD34+ cells is achieved (generally, <math>&gt;5 \times 10^6/kg</math> patient weight, although the physician could prescribe collection of higher numbers) or mobilization is deemed a failure.</p> <p>-Patients with limited numbers of cells collected after one or two apheresis procedures are managed with large volume apheresis procedures or with a temporary postponement of apheresis until adequate numbers of CD34+ cells are present in the peripheral blood.</p> <p>-Two or more attempts at mobilization and collection of PBSC are possible and all cells are frozen using the same technique to which the patient is originally assigned.</p> <p>-The peripheral circuit is anticoagulated with a mixture of 5000 units of heparin in 500 ml ACD-A infused at a blood to anticoagulant ratio of 30 : 1. An additional 40 ml of this anticoagulant solution is placed in the collect bag at the start of the procedure.</p> <p>For most patients, 12-15 l of blood is processed during each apheresis procedure.</p>	<p>-The volume of the PBSC component was reduced by centrifugation at 2300g.</p> <p>-Excess supernatant was expressed, the volume of the residual cell pellet adjusted with autologous plasma as necessary, and the cell pellet diluted with an equal volume of the designated 2 cryoprotectant solution.</p> <p>-The cells were frozen in 30–70 ml aliquots in 250 ml freeze bags.</p> <p>-The first collection for each patient was frozen in at least two bags.</p> <p>-Subsequent collections could be frozen in single bags without regard to the concentration of nucleated cells or platelets.</p> <p>-Cells were cooled at <math>-1^\circ C/min</math> using a rate-controlled cooling device to <math>-40^\circ C</math> with compensation for the heat of fusion, and then at <math>-10^\circ C/min</math> to <math>-80^\circ C</math> before storage in the vapor phase of nitrogen at <math>-186^\circ C</math> or colder.</p> <p>-Most components were cryopreserved within 4 h of collection; cells arriving late in the laboratory could be held at <math>4^\circ C</math> overnight in a monitored refrigerator before concentration and cryopreservation.</p>	<p>-Cryopreserved cells were infused at least 24 h after the administration of the last dose of chemotherapy.</p> <p>-All patients were hydrated for 2 h before and after infusion (total, 4 h) with D5W1/2NS containing 20 meq/l KCl at a rate of 125 ml/m<sup>2</sup>/h.</p> <p>-Patients were medicated before infusion with diphenhydramine (or other antihistamine) and hydrocortisone.</p> <p>-Administration of antiemetics before or during the cell infusion was left to the discretion of the staff caring for the patient.</p> <p>-Cells were transported to the patient's bedside in liquid nitrogen carriers and thawed by immersion in a water bath at <math>37^\circ C</math> until complete dissolution of ice crystals.</p> <p>-The cells were then infused at a rate of 10–20 ml/min through a platelet product administration set with an inline 170–210 <math>\mu m</math> filter into a patent central venous catheter.</p>

Adaptirano iz: Chepovetsky *et al.*, 2013.

Pripremni tretman koji prethodi transplantaciji matičnih ćelija sastoji se od intenzivne primene citostatskih lekova koji imaju ulogu da uklone tumorske ćelije, uz

manje ili više očuvan imunitet pacijenta (u zavisnosti od oboljenja i primenjenog terapijskog pristupa/tipa protokola u ovoj fazi). U autolognoj transplantaciji, primena transplantiranih ćelija uklanja efekte primenjenog citostatskog tretmana i uspostavlja ponovo hematopoezu tako da antitumorski efekat počiva pre svega na delovanju primenjenih citostatika. U alogenoj transplantaciji, transplantirane matične ćelije ne samo da obnavljaju hematopoezu već ispoljavaju i svoje antitumorsko dejstvo.

U rutinskoj kliničkoj praksi postoje tri tipična izvora matičnih ćelija hematopoeze: kostna srž, periferna krv i krv iz pupčanika, čije su prednosti i ograničenja prethodno prikazani u uvodnom delu teze. Transplantacija matičnih ćelija hematopoeze tj. ćelijskog *graft*-a uključuje ne samo pluripotentne ćelije već i druge primitivne progenitorske ćelije, uključujući prekursore is različitih razvojnih ćelijskih linija kao i mnoge zrele krvne ćelije. Ova klinička metoda se danas koristi u terapiji velikog broja hematoloških oboljenja, maligniteta (leukemija, limfoma i solidnih tumora) i oboljenja kao što su neke bolesti metabolizma, teške kongenitalne imunodeficijencije, talasemija i druga. Primene ovakvog terapijskog pristupa su u porastu usled pristupačnosti metode (izvodi se u kliničkim uslovima i uz podršku kliničkih laboratorija bez potrebe za većim dodatnim ulaganjima) kao i zbog stalnog usavršavanja metode, u smislu laboratorijskih pristupa i kliničkih protokola koji služe kao podrška u ovom terapeutskom pristupu.

Sa laboratorijskog aspekta, cilj je da se oporavak ćelija održi u optimalnom opsegu nakon njihovog odmrzavanja (70-90%), da im se očuva vijabilnost (ne manje od optimalnih 70-90% u odnosu na vrednost pre zamrzavanja, a meri se pomoću broja kolonija koje su ćelije sposobne da ostvare u *ex vivo* uslovima; eng. *CFU-GM*).

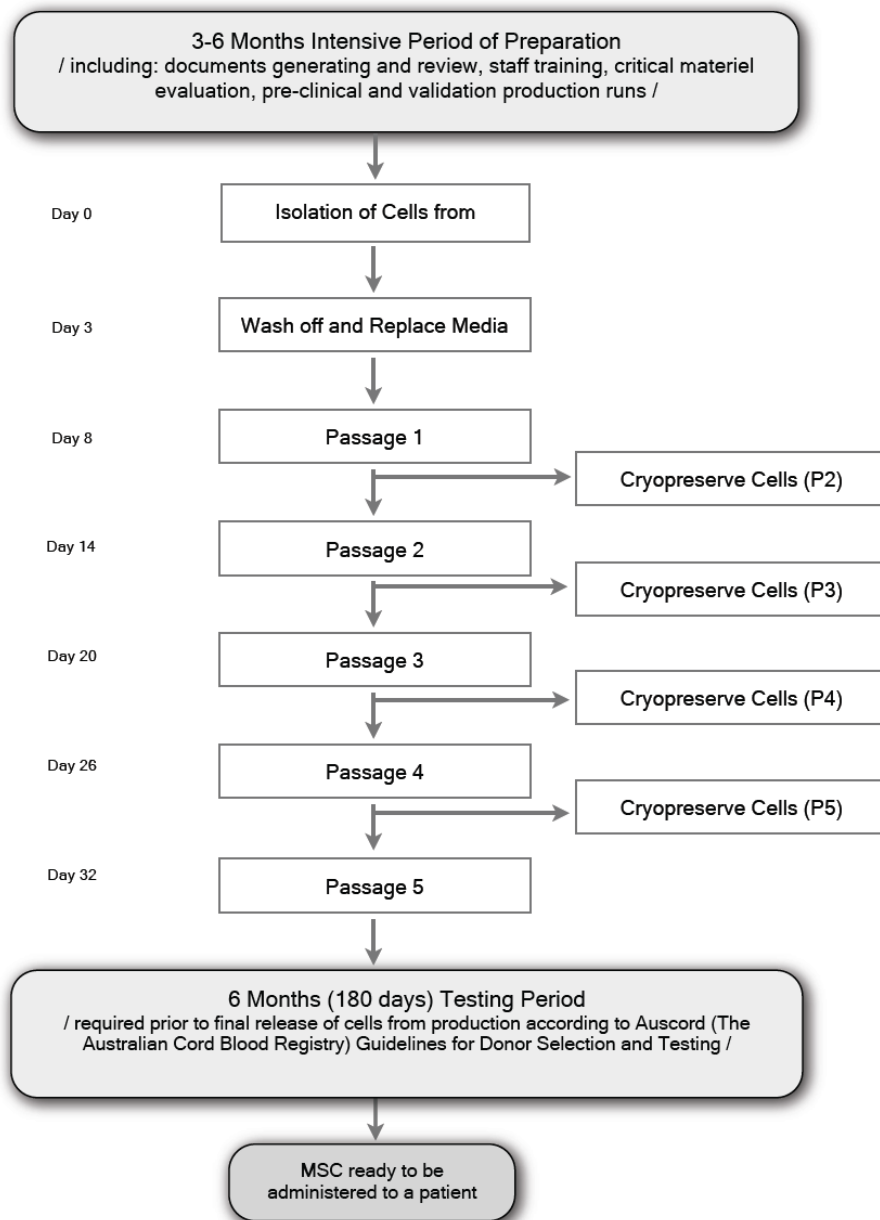
Sa kliničkog stanovišta, cilj je, uglavnom, da se procedure prikupljanja i transplantacije, preparativnih i post-transplantacionih tretmana izvedu u adekvatnom vremenskom intervalu da bi se dobio najoptimalniji terapijski efekat.

#### **4.2.2 Protokol za izradu i primenu mezenhimskih matičnih/stromalnih ćelija izolovanih iz placente**

Karakteristike koje izdvajaju ovaj tip protokola su: koristi se u kliničko istraživačkim uslovima, uključuje značajnu količinu manipulacije, *ex vivo* unmožavanje ćelija, što nosi daleko veće rizike od minimalne manipulacije. Celokupan proces laboratorijske izrade i čuvanja mora da uključi određene *GMP* (eng. *Good Manufacturing Practice*) elemente (kao što je prikazano u Prilogu 14). Obavlja se u za tu svrhu namenjenim *GMP* laboratorijama, koje moraju da zadovolje visoke standarde proizvodnje a što se utvrđuje redovnim periodičnim inspekcijama (primer liste za inspekciju nalazi se u Prilogu 15). Ćelijski produkt ove vrste može biti skladišten i čuvan (eng. *cell banked*), u najvećem broju slučajeva namenjen je većem broju pacijenata, ima nespecifičnu namenu odnosno može biti upotrebljen za različite kliničke indikacije (eng. *off-the-shelf*) što ga čini pogodnim za niz kliničkih istraživanja (usled specifičnosti ćelijskog tipa koji je prikazan u uvodnom delu teze). Ukoliko se koristi više doza ovakvih ćelijskih produkata, preporučuje se da se za istog pacijenta uvek koriste produkti iz iste serije (eng. *batch*).

Tipičan primer ovakvog protokola je izrada i klinička primena mezenhimskih matičnih/stromalnih ćelija (eng. *mesenchymal stem/ stromal cells, MSC*) za različite kliničke primene. Karakteristike mezenhimskih matičnih/stromalnih ćelija su prethodno razmatrane u uvodnom delu teze, a obim kliničkih istraživanja koja uključuju upotrebu MSC je u stalnom porastu, kao što je pokazano u Komparativnoj analizi 1.

U dosadašnjim istraživanjima MSC su bile izolovane iz različitih tkiva i organa, medju kojima su svi delovi placente – amnion, horion i decidua. Medjutim, za njihovu izolaciju se sve učestalije koristi cela placenta prikupljena nakon porodjaja uz primenu carskog reza (eng. *elective Caesarean sections*) da bi se redukovao rizik od mikrobiološke kontaminacije. Usitnjavanje tkiva placente mehaničkim putem praćeno je enzimatskom obradom (eng. *collagenase type I & DNase I*). Nakon ispiranja, centrifugiranja i pripreme ćelija (eng. *ficoll density gradient/ cell lysis*) za *in vitro* kultivaciju, vrši se zasejavanje, inkubacija i uzgajanje u više serija/ pasaža (Slika 4.14).



Adaptirano iz: Ilic *et al.*, 2013.

Slika 4.14: Dijagram procesa prikupljanja i obrade visoko manipuliranih mezenhimskih matičnih/stromalnih ćelija, MSC (dobijenih metodom izolovanja iz placente i *ex vivo* umnožavanja).

U složenom procesu izrade mezenhimskih matičnih/stromalnih ćelija postoji niz neophodnih razmatranja i faktora koji moraju da budu zadovoljeni (Tabela 4.11).

Primer standardne operativne procedure za njihovu izolaciju iz placente i *ex vivo* ekspanziju nalazi se u Prilogu 12.

Tabela 4.11: Elementi laboratorijske izrade visoko manipuliranih mezenhimskih matičnih/ stromalnih ćelija, MSC (dobijenih metodom izolovanja iz placente i *ex vivo* umnožavanja).

Osnovne karakteristike ćelijske terapije	Primeri publikovanih protokola za laboratorijsku izradu i kliničku primenu	Problematika translatornog istraživačkog procesa
<i>Characteristics</i>	<i>Examples of published Laboratory &amp; Clinical Protocols</i>	<i>Translational Research Process ('bench-to bedside')</i>
Highly manipulated, heterogenous use, autologous or allogeneic use (even unmatched); may be combination product; may potentially have systemic effects;	<p>G. Brooke, T. Rossetti, R. Pelekanos, N. Ilic, P. Murray, S. Hancock, V. Antonenas, H. Gillian, D. Gottlieb, K. Bradstock, K. Atkinson, Manufacturing of human placenta-derived mesenchymal stem cells for clinical trials. <i>British Journal of Haematology</i>, 2009; vol 144, 4: 571-579.</p> <p>N. Ilic <i>at al.</i> (2011) Manufacturing of clinical grade human placenta-derived mesenchymal stem cells (MSC), Mesenchymal Stem Cell Assays and Applications, Methods in Molecular Biology, Humana Press USA, Vol. 698; Vemuri, Mohan; Chase, Lucas G.; Rao, Mahendra S. (Eds.).</p>	<p>From basic science concept – <i>Discovery Phase</i> Through <i>Engineering Phase</i> with some of the following steps:</p> <p><b>Process development</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Tissue processing and cell selection and isolation techniques (yield, loss of cells, purity, feasibility of the process eg. time/ staff)</li> <li>-Basic cell isolating techniques or highly sophisticated cell isolating techniques; pros (high purity of cell population vs. high number of cells); cons (single use disposables, time, cost of equipment, cost per procedure, regulatory issues eg. reagents, instruments and their compliance with device regulatory requirements, vendor-dependability, no back up option)</li> <li>-Use of any animal derived reagents (enzymes, media)</li> <li>-Flasks vs. bags, type of plastic/ materials used in culturing technique</li> </ul> <p><b>Scale Up/ Automation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Cost and feasibility studies (open vs. closed system; consistency of cell growth parameters)</li> </ul> <p><b>Validation of Manufacturing</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Use of any animal derived reagents (enzymes, media)</li> <li>-Use of antibiotics, enzymes (clinical grade reagents availability)</li> <li>-Lot release characterisation (how to validate when no standard to compare)</li> <li>-Validation of route of administration (how to validate with limited or no clinical data)</li> <li>-Maintaining sterility through the process, monitoring sterility</li> </ul> <p><b>Custom GMP reagents</b></p> <p><b>QC Assays</b></p> <p><b>Release criteria/ potency assays</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Characterisation of cells, -Viability, -Gram stain, -Sterility 14-day culture, -Endotoxin</li> <li>QA requirements and support</li> <li>Regulatory submission development/ maintenance (eg. IND)</li> </ul>

		Patents/ Intellectual Property (IP) and Commercialisation Multiple contracts and multiple supplier-network arrangements Academic support Regulatory support Funding
--	--	---

Zbog svog porekla (placenta je izgradjena iz tkiva majke i fetusa), ćelijskih karakteristika i mnogostrukih primena, mezenhimske matične/stromalne ćelije izolovane iz placente mogu da zauzimaju specifično mesto u zakonsko regulatornim propisima. Ako se uzmu u obzir samo evropske regulative koje primenjuje agencija EMA, postoji najmanje devet regulatornih i podzakonskih akata koji su primenljivi na izradu i kliničku primenu MSC (Prilog 4, Slika P4.1). Australijski propisi u ovom procesu nameću dve kategorije zakonskih odredbi, one koje su primenljive na matične ćelije pupčanika, jer su takodje fetalnog porekla, kao što su *AusCord Guidelines* (Prilog 7) kao i *GMP* propise namenjene za krv i tkivne produkte (eng. *Human Blood and Tissues GMP*). Zato su testovi za kontrolu kvaliteta ove grupe ćelijskih terapeutika opsežni, i uz standardne testove na infektivne bolesti kao što su hepatitis B, hepatitis C, HIV-1,2, sifilis i HTLV-1, uključuju proveru zdravlja majke i bebe, upitnik pre donacije placente, upitnik 180 dana nakon donacije placente, kariotipske analize i druge testove (Prilog 4, Tabela P4.1).

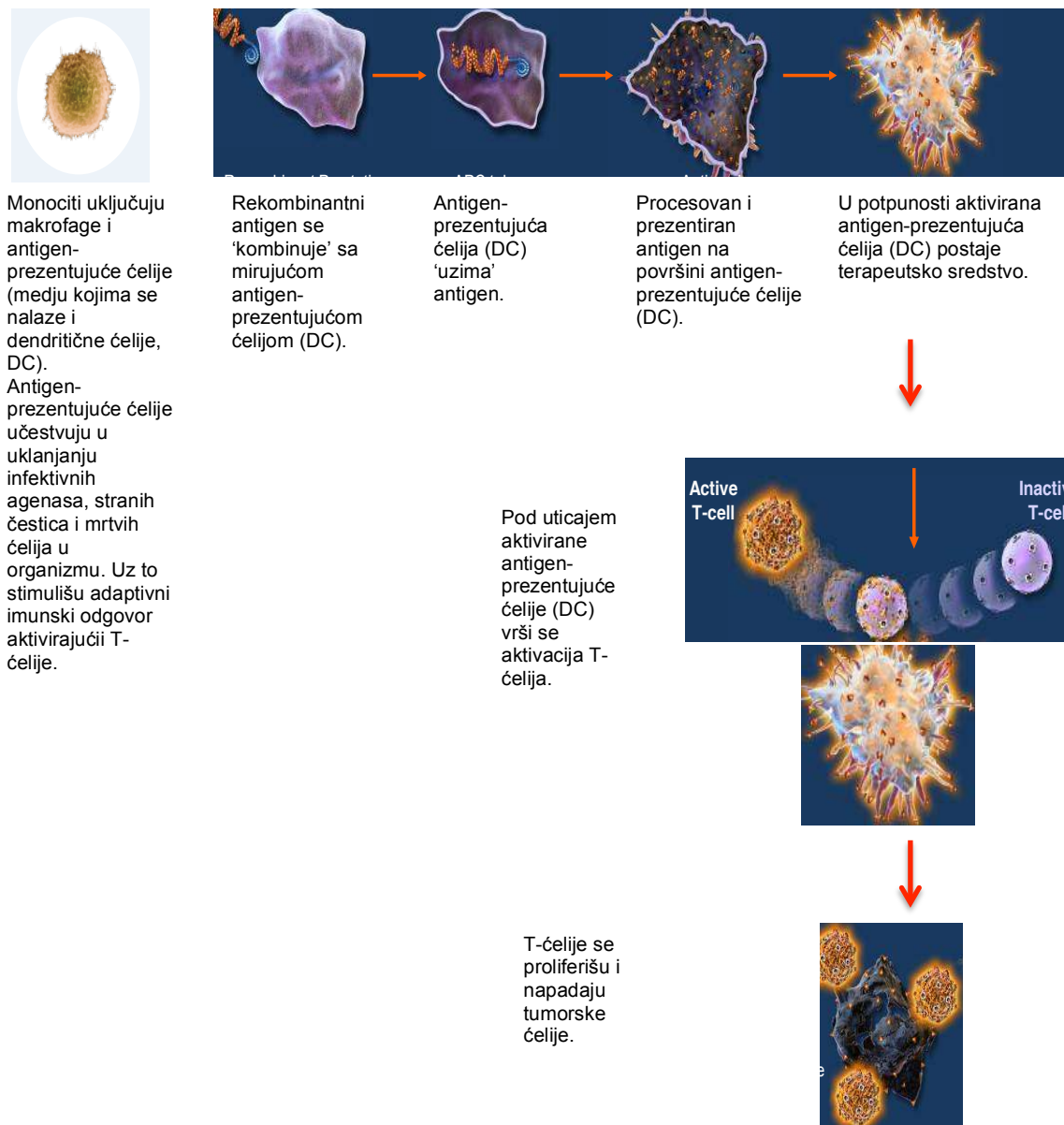
MSC izolovane iz različitih tkiva, koriste se kao jedan od ćelijskih terapijskih produkata u veoma raznolikim kliničkim aplikacijama: u tretmanu *GVHD*, lečenju infarkta miokarda, u ortopedskim oboljenjima/nakon povreda, kao i kod autoimunskih oboljenja. Ove terapije mogu biti kombinovane sa drugim ćelijskim produktima (npr. ko-transplantirane sa matičnim ćelijama hematopoeze), kombinovane sa medicinskim pomagalima (npr. oblaganje stentova), a mogu da se apliciraju lokalizovano ili sistemski. Raznoliki modaliteti primene MSC nameću dodatni nivo složenosti kada su u pitanju zakonsko regulatorne odredbe koje se na njih primenjuju.

#### **4.2.3 Protokol za izradu i primenu anti-tumor vakcina baziranih na primeni antigen prezentujućih dendritičnih ćelija**

Karakteristike koje izdvajaju ovu vrstu protokola su: koristi se u kliničko istraživačkim uslovima, uključuje značajnu količinu manipulacije uz *ex vivo* umnožavanje ćelija i njihovo kombinovanje sa drugim komponentama (eng. *loading*), koja nosi daleko veće rizike od svih prethodno izloženih protokola. Celokupan proces izrade mora da zadovolji uslove prema strogim zakonsko regulatornim odredbama (eng. *GMP*), kao i složenoj logistici jer se često obavlja u više različitih laboratorijskih jedinica (eng. *multicentre manufacturing*) i primenjuje u više različitih kliničkih centara (eng. *multicentre clinical trials*). Ćelijski produkt ove vrste može biti pripremljen za jednog ili više pacijenata, u zavisnosti od toga da li se primenjuje kao autologna ili alogena terapija. Priprema se kao visoko specifična terapija za određeni tip oboljenja.

Primer ovakvog protokola je izrada i klinička primena antigen prezentujućih dendritičnih ćelija koje se, između ostalog, koriste za pripremu antitumor vakcina. Prva istraživanja ovog tipa započela su 1996. godine ali se danas još uvek traga za adekvatnom antitumorskom strategijom, sa ili bez upotrebe dendritičnih ćelija. Ove ćelije se ipak intenzivno koriste i u drugim vrstama kliničkih istraživanja (npr. supresije autoimunskih i alergijskih oboljenja ili aloimunske reakcije odbacivanja presadjenih tkiva) zbog svojih izuzetno značajnih regulatornih i posredničkih uloga u imunskoj reakciji.

Dendritične ćelije se aktiviraju preuzimanjem antigena i zauzimaju specifično mesto u imunskom sistemu jer istovremeno predstavljaju osnovu urođenog imunskog sistema kao i vezu sa adaptivnim imunskim odgovorom – imaju veliki imunogeni, migratorni i tolerogeni potencijal. Kao direktni učesnici u ovim procesima, dendritične ćelije igraju važnu ulogu u genezi različitih patoloških stanja – od alergijskih i autoimunskih poremećaja do nastanka malignih tumora. Ove antigen prezentujuće ćelije su prisutne u skoro svim tkivima organizma, imaju receptore za prepoznavanje i vezivanje antigena, kao i sposobnost da obrade antigene i migriraju u periferne limfne organe (gde se nalaze nezreli T-limfociti koje imaju sposobnost da



Adaptirano iz: *Active cellular immunotherapy monograph* (www.dendreon.com).

Slika 4.15: Dijagram procesa prikupljanja, obrade, primene i efekta visoko manipuliranih antigen prezentujućih dendritskih ćelija, DC (dobijenih metodom umnožavanja i obogaćivanja rekombinantnim antigenom)



Tabela 4.12: Elementi laboratorijske izrade visoko manipuliranih ćelija (metodom *ex vivo & loading* umnožavanja i obogaćivanja ćelija proteinima/rekombinantnim antigen proteinima).

Osnovne karakteristike ćelijske terapije	Primeri publikovanih protokola za laboratorijsku izradu i kliničku primenu	Problematika translatornog istraživačkog procesa
Characteristics	<i>Examples of published Laboratory &amp; Clinical Protocols</i>	<i>Translational Research Process ('bench-to-bedside')</i>
<p>Highly manipulated, heterogenous use, autologous or allogeneic use; may be combination product; systemic effects unknown;</p>	<p>E.J. Small et al, Immunotherapy of Hormone-Refractory Prostate Cancer With Antigen-Loaded Dendritic Cells. <i>Journal of Clinical Oncology</i> 2000; 18(23): 3894 - 3903.</p> <p>J. Baggers, G. Ratzinger, J. W. Young, Dendritic Cells as Immunologic Adjuvants for the Treatment of Cancer. <i>Journal of Clinical Oncology</i> 2000, 18(23): 3879 – 3882.</p>	<p><b>Laboratory process/ pre-clinical studies</b>                      -Mobilised Leukapheresis product from patient/ donor; QC issues                      CD34+ or other marker enrichment using automated techniques (e.g. Isolex Device); validation parameters                      -Cell staining and sorting (e.g. using MoFlo sorter) ; validation parameters                      -Formulation and cryopreservation; QC issues</p> <p><b>Translational research process</b>                      -From basic science concept – <i>Discovery Phase</i>                      -Through <i>Engineering Phase</i> with some of the following steps:</p> <p><b>Process development</b>                      -Cell depletion techniques (yield, loss of cells, purity, feasibility of the process eg. time/ staff)                      -Basic cell sorting techniques or high-speed cell sorting techniques                      -High-speed cell sorting pros (high purity of cell population, enrichment of a subpopulation eg. gene modified cells or tumour cells for vaccine production)                      -High-speed cell sorting cons (single use disposables, time, cost of equipment, cost per procedure, regulatory issues eg. reagents, instruments and their compliance with device regulatory requirements, vendor-dependability, no back up option)                      -Use of any animal derived reagents (antibodies, peptides, proteins, media)</p> <p><b>Scale Up/ Automation</b>                      -Cost and feasibility studies                      -Validation of Manufacturing                      Use of any animal derived reagents (antibodies, peptides, proteins, media)                      Use of antibiotics, enzymes (clinical grade reagents availability)                      Lot release characterisation (how to validate when no standard to compare)                      Validation of route of administration (how to validate with limited or no clinical data)                      Maintaining sterility through the process, monitoring sterility                      Custom GMP reagents                      QC Assays                      Release criteria/ potency assays                      -Characterisation of cells, -Viability, -Gram stain, -Sterility 14-day culture, -Endotoxin                      QA requirements and support                      Regulatory submission development/ maintenance</p>

		(eg. IND) Patents/ Intellectual Property (IP) and Commercialisation Multiple contracts and multiple supplier-network arrangements Academic support Regulatory support Funding
--	--	--

stimulišu). Ipak, najvažniji aspekt istraživanja dendritičnih ćelija leži u procesu diskriminacije između indukcije imuniteta i indukcije tolerancije.

Uspostavljanje kontrole imunskog sistema nad patološkim procesima koji prethode razvoju oboljenja predstavlja značajan cilj mnogih istraživanja. Maligna oboljenja predstavljaju poseban izazov jer su tumorske ćelije slabi inicijatori reakcije imunskog sistema a tumorska mikrosredina može direktno da inhibira imunološku reaktivnost.

Obzirom da su dendritične ćelije angažovane u prepoznavanju i obradi stranih i sopstvenih (eng. *self*) antigena, kao i da učestvuju u balansiranju između autodestrukcije i zaštite tkiva, ne iznenadjuje činjenica da se intenzivno istražuju kao mogući nosioci ili medijatori antitumorskih efekata.

Autologne dendritične ćelije mogu da se uzgajaju *in vitro* i da se pri tome izvrši njihova transfekcija odgovarajućim antigenom – pre nego što se infuzijom vrate istom pacijentu da bi indukovale određeni imunski odgovor u organizmu (Slika 4.15).

U ovom procesu dendritične ćelije su prikupljene u procesu afereze (eng. *leukapheresis*), obogaćene (eng. *loaded*) rekombinantnim proteinskim antigenom specifične strukture i namene. Od tog trenutka ove ćelije postaju novi biološki lek koji započinje svoj antitumorski efekat (Slika 4.15). Postoji niz neophodnih razmatranja i faktora koji moraju da budu zadovoljeni u izradi i primeni antigen-prezentujućih dendritičnih ćelija (Tabela 4.12). Primer standardne operativne procedure za njihovu izradu nalazi se u Prilogu 13.

### **4.3 Komparativna analiza 3: Struktura i primena specifičnih organizacionih modela**

Organizacioni modeli koji daju podršku izradi i primeni ćelijskih terapija/ bioterapeutika predstavljaju značajan preduslov za razvoj ove vrste naprednih terapija. U ovoj analizi, rezultati su izloženi kroz karakteristike modela koje uključuju – njihova osnovna obeležja, izvor finansiranja, prednosti i ograničenja, dinamiku razvoja, rizike koje nose, važne aspekte ili preduslove za njihov dalji razvoj, poziciju u odnosu na zakonske regulative, i da li odgovaraju samo odredjenom tipu projekata za razvoj ćelijskih i drugih naprednih terapija.

#### ***4.3.1 Karakteristike ne-komercijalnog organizacionog modela***

Ne-komercijalni model (eng. *non-for-profit model*) istraživačke grupe za razvoj ćelijskih terapija u okviru ne-komercijalne kliničko bolničke institucije i/ili istraživačkog instituta je najučestaliji razvojni model u datoj oblasti. On nudi mnoge prednosti kao što je relativno malo ulaganje novčanih sredstava (jer se oslanja na postojeće institucijske mehanizme i kadrove) i specifičnost pristupa za dati projekat (jer se odvija u bliskom kontaktu sa razvojnim procesom tj. originlanim bazičnim istraživanjem iz kojeg proističe). Ipak, ovaj model nosi mnoga ograničenja i teško je na osnovu njegove primene započeti neke od narednih razvojnih faza projekta (npr. klinička istraživanja druge ili treće faze). Istovremeno, zbog nedostatka specifičnih znanja u okviru zakonsko regulatornih odredbi često zanemaruje određene važne aspekte ove rane faze translatornih istraživanja i na taj način otežava ili čak onemogućava dalji razvoj projekta kroz kasnije faze.

Primena ovog modela započinje/ završava se u skladu sa razvojem projekta koji podržava – uglavnom na nivou uvođenja rezultata bazičnih istraživanja u rane faze kliničkih istraživanja (translatorni proces). Pri tome ne postoji adekvatno finansiranje, projekti se oslanjaju na postojeće organizacione strukture dok samo povremeno ostvaruju priliv finansijskih sredstava za svoj razvoj (uglavnom iz vladinih fondova za razvoj nauke) (Tabela 4.13). Ovaj organizacioni model karakteriše relativno spora dinamika, obično nema veću dozu fleksibilnosti, bazira se

na kratkoročnim potrebama jednog ili više projekata i retko je visoko efikasan (Tabela 4.14). U isto vreme, može da pruži podršku ranim fazama kliničkih istraživačkih projekata i da preraste u bolje organizovan i adekvatno finansiran model (kao što je npr. kombinovani model) – ukoliko postoji interes institucije, adekvatno dugoročno planiranje i pravilan odabir kadrova (Tabela 4.13 i 4.14).

#### 4.3.2 Karakteristike komercijalnog organizacionog modela

Nezavisni komercijalni model, specifičan za novonastale kompanije u privatnom sektoru (eng. *biotech start-up*), nalazi se na suprotnom kraju organizacionog spektra u odnosu na prethodni model. Pri tome, on ispoljava svoje

Tabela 4.13: Karakterizacija organizacionih modela: uporedna analiza (1).

Model	Ne-komercijalni model (eng. <i>Non-for-profit model</i> )	Komercijalni model (eng. <i>Commercial model</i> )	Kombinovani model (eng. <i>Hybrid/ partnership</i> )
Osnovna obeležja	Highly dependant. Non-for-profit. Mostly project-based. Starts and finishes on "as required" basis so there is no clearly defined hierarchy/ structure.	Independent entity. Commercial. Defined hierarchy/ structure and reporting lines. Requires rather high start-up funding.	Relatively independant entity. Profit-orientated but not profit-dependant. Rather "fluid" structure and not fully defined elements/ areas and stakeholders' responsibilities.
Izvor finansiranja	Grants, fellowships, government (public) funded.	Full commercial ownership and funding.	Mix of private and public funding. Commercial entity start-up in the hospital/ institute only if/ when one of the products or technology becomes financially viable. Profit-orientated only to certain extent (as uses other financial resources eg research grants, donations, fundraising).
Prednosti koje nudi	Ideal for early stage R & D projects, pilot projects or clinical trial son a small scale. Use of existing supporting structures, so minimal funding required.	Fast decision making. Reactive. Efficient.	Offers great range of possibilities and keeps number of options "open" for further development. Promotes number of small projects that may be become viable (or not). Using the best of both worlds – science/ clinical expertise from the hospital/ institute and business knowledge from the commercial partner.

osnovne karakteristike kao što su, pre svega, da je orijentisan ka ostvarivanju profita, finansiran od strane privatnih lica ili korporacija, često visoko efikasan, fleksibilan i nudi adekvatnu ekspertizu u svojoj oblasti poslovanja (eng. *use of 'know-how'*). Inicijalno zahteva značajna finansijska ulaganja, visoko je podložan ekonomskim uticajima (Tabela 4.13). Često ima centralizovanu, hijerarhijsku strukturu i jak zakonsko regulatorni fokus u svom pristupu (Table 4.14).

Tabela 4.14: Karakterizacija organizacionih modela: uporedna analiza (2).

Model	Ne-komercijalni model (eng. <i>Non-for-profit model</i> )	Komercijalni model (eng. <i>Commercial model</i> )	Kombinovani model (eng. <i>Hybrid/ partnership</i> )
Ograničenja koja ima	Slow decision making. Non-reactive. Rarely efficient.	Sub-contractual agreements required (i.e. "know-how" & expertise in area of quality design and production management)	50-50 partnership of a business unit/ entity with the institute/ hospital. Relying on existing hospital/ institute mechanisms and expertise in both science/ clinical, business domain.
Dinamika	Requires low start-up funding. Slow development.	Requires medium to high start-up funding. Fast-paced development.	Requires low to medium to start-up funding. Keeping number of ongoing projects on lower side due to limited resources and in order to keep projects' feasibility.
Projekti	Mostly clinical, clinical research or early stage R&D projects.	All for-profit/ commercial projects.	Versatile projects, from early stage to commercial.
Rizici koje nosi	Easy to lose funding. Priority-driven from the executive level. Usually not very supported by the institution (hospital or institute). Can be complex and unreliable.	Profitability depends on many factors. Financial viability. High-risk for venture capitalists to invest.	Sometimes can be very profit-orientated (as the business partner entirely depends on the financial success). Certain level of ambiguity and uncertainty present until the "take-off" (if successful). Complexity.
Važni aspekti ili preduslovi za dalji razvoj	Executive support.	Funding. New contracts. Keeping efficiency & profitability. Partnerships.	Networking & partnerships (lat. <i>quid pro quo</i> ). Open approach for partnerships and service based on the sound financial impact ("fee for service").
Pozicija u odnosu na zakonske regulative i njihovu primenu	Not very strong regulatory compliance / quality design focus.	Centralised decision making & strong regulatory compliance / quality design focus.	Centralised decision making & strong regulatory compliance / quality design focus.
Da li odgovara samo određenom tipu projekata za razvoj ćelijskih i drugih naprednih terapija?	Yes, only internal 'in-house' projects.	No.	No.

### 4.3.3 Karakteristike kombinovanog organizacionog modela

Kombinovani model (eng. *hybrid model*) je baziran na komercijalnim principima, a formiran je u okviru složenog specijalističkog kliničko bolničkog kompleksa ili kliničke institucije. Uključuje, na primer, formiranje nezavisnog centra za izradu ćelijskih terapija (eng. *fee for service*) u okviru tradicionalne kliničke institucije koja zadržava deo vlasništva nad novonastalom organizacijom (Tabela 4.13). Pri tome se formira određena vrsta partnerskog modela ili pridruženog modela (koji se jednim imenom može nazvati kombinovanim modelom) – između kliničkog centra i privatnih investitora/ kompanije uz učešće partnerskog finansiranja.

Bez obzira što je finansijski kapital mešovit, postoji strogo definisana organizaciona struktura, centralizovano donošenje odluka i visoka efikasnost. Akcenat se stavlja na dobro osmišljen poslovni model, jak zakonsko regulatorni fokus i dugoročno planiranje uz ostvarivanje adekvatnih partnerskih sporazuma za saradnju. Model se zasniva na profitabilnosti, na visokom nivou profesionalizma, strateškom planiranju i dugoročnim projektima. Ovakav organizacioni model obično nastaje iz ne-komercijalnog modela koji je postao dovoljno oformljen i/ili je ostvario veću finansijsku dobit na nekom od svojih uspešnih projekata (Tabela 4.14). Nudi veliki broj mogućnosti za dalji razvoj, često podržava veći broj manjih projekata (posebno u ranim fazama svog razvoja) i može da preraste u ozbiljan komercijalni entitet.

Pored osnovnih prednosti koje nude komercijalni ili kombinovani model, usled nedostatka sredstava u ranim fazama razvoja većina projekata polazi iz *ne-komercijalnih modela* da bi zatim prošla kroz neke od tipičnih razvojnih faza koje su objašnjene u daljem tekstu (Quinn & Cameron, 1983; Maslow, 1998; Weick & Quinn, 1999).

U ovom procesu 'sazrevanja' organizacionih modela često dolazi do promene (eng. *shift*) iz prve razvojne faze tzv. *dobrovoljnog udruživanja znanja i veština* u okviru projekta (eng. *volunteer-based project*), koji su usmereni na samo jedan određeni projekat i čija glavna obeležja predstavljaju osnivanje (eng. *foundation*) i saradnja među učesnicima (eng. *collaboration*) – u drugu fazu koju karakteriše *partnerski odnos*. Partnerski odnos karakterišu jedinstvo pristupa (eng. *synergy*) i tendencija specijalizacije (gde svaki partner, pojedinac ili organizaciona jedinica,

obavlja svoj deo projekta). Pri tome se ne razmenjuju novčana sredstva medju partnerima, a troškovi se uglavnom ravnopravno dele. U trećoj fazi, koja sledi partnerski odnos, formira se polje zajedničkog upravljanja projektom (eng. *shared governance*), pri čemu se ostvaruje određeno pozicioniranje (eng. *positioning*) svakog od učesnika (bilo da su u pitanju pojedinci, organizacione jedinice ili čitave organizacije/institucije) i započinje rast (eng. *growth*), odnosno počinje da se ostvaruje manja finansijska dobit (najučestaliji primer su projekti finansirani od strane vladinih agencija ili drugih eksternih tela kao što su regionalni fondovi razvoja). U završnoj, četvrtoj fazi, formira se nezavisna organizaciona ili institucionalna jedinica (eng. *independent entity*) koja može biti u vidu nove organizacione jedinice u okviru iste institucije (eng. *department*) ili potpuno nezavisne komercijalne kompanije (eng. *biotech start-up*). Ovu fazu karakterišu tendencija ka ostvarivanju sopstvenog identiteta (eng. *recognition*) i ka ostvarivanju zarade (eng. *profit*).

Osnovno obeležje celokupnog razvojnog procesa je 'pomeraj' (eng. *shift*) – iz stanja bez strukture (eng. *volunteer-based stage*) u stanje bez inovacije (eng. *institutional stage*). Izmedju njih se nalazi čitav spektar prelaznih 'stanja' u zavisnosti od razvojne faze i specifičnih uslova za svaki projekat.

Važno je napomenuti da faze mogu da se preklapaju, da se određeni projekti kreću izmedju njih, pri tome se kraće ili duže zadržavajući u određenoj fazi. Neki od ovih projekata nikada ne predju u narednu fazu razvoja već ostanu na istom nivou neko vreme, ugase se ili ih nadomeste novi, veći projekti. Takav poredak utiče na ishode mnogih početnih *translatornih* istraživanja u oblasti ćelijskih odnosno naprednih terapija, pri čemu se najteži zadatak nalazi u njihovoj *selekciji* – šta podržati kroz organizaciono finansiranje ili kroz razvojne fondove? – i u *modalitetima njihovog razvoja* – kako pružiti adekvatnu podršku? Ovo je danas prepoznato kao najveća prepreka izmedju translacije rezultata bazičnih istraživanja u kliničke istraživačke projekte, koja se u literaturi naziva eng. *translational research gap* (Woolf, 2008; Marincola, 2003; Kong & Segre, 2010).

Odgovor na gore navedena pitanja nije jednostavan niti jednoznačan. Verovatno se nalazi u sistemskom pristupu, odabiru projekata od interesa i ustanovljavanju jednog strateškog centra u zemlji ili regionu, koji bi procenjivao i podržavao projekte od interesa. Na taj način bi se omogućio translatorni razvoj i brža

klinička primena novih terapijskih pristupa, posebno u oblasti novih naprednih terapija.



#### 4.4 Komparativna analiza 4: Procena percepcije i problematike oblasti

Kvalitativna metodologija intervjua obezbedjuje obilje podataka. Zbog toga je ovakvim pristupom ostvaren uvid u praktičnu problematiku oblasti razvoja ćelijskih terapija/bioterapeutika – uz iskustva stručnjaka koji u tom procesu učestvuju, njihova mišljenja i percepciju celokupne oblasti. Pri tome je izvršena analiza sadržaja i tematska analiza transkripta 24 intervjua, a zatim su identifikovani pojmovi utemeljeni u podacima/ izvodima iz transkripata intervjua. Rezultati tematske i fenomenološke analize uključuju pet segmenata (1 -5) koji se baziraju na 24 intervjua obavljena sa stručnjacima iz Evrope, SAD-a i Australije. Rezultati su prezentovani na sledeći način:

- Segmenti podataka (1): Poslovni i finansijski aspekti uz osnovna razmatranja.
- Segmenti podataka (2): Uspostavljanje saradnje sa partnerima i druga razvojna problematika.
- Segmenti podataka (3): Primena zakonsko regulatornih odredbi i percepcija njihovog razvoja.
- Segmenti podataka (4): Osnovne teme i kategorije.
- Segmenti podataka (5): Utemeljenje rezultata u podacima.

Na osnovu pristupa analizi podataka prikupljenih kroz intervjue (Tabela 3.6) rezultati su uvek izloženi u okviru dve celine koje manifestuju podatke sakupljene na osnovu – *poznavanja oblasti kroz znanje, praksu i iskustvo* (eng. *knowledge, practice & experience*) ili *mišljenja učesnika formirana kroz posmatranje i percepciju oblasti* (eng. *view, perception & opinion*). Na osnovu brojnih utisaka i zapažanja učesnika, preovladavalo je mišljenje da je celokupna oblast još uvek u veoma ranim fazama razvoja, da postoji izuzetan stepen neizvesnosti o daljim razvojnim pravcima (šta i kako razvijati? gde usmeriti najviše sredstava i napora?) i da su sve dosadašnje procene vezane za razvoj oblasti uglavnom bile pogrešne.

#### 4.4.1 Segmenti podataka (1):

##### Poslovni i finansijski aspekti uz osnovna razmatranja

(eng. *Business Models, Funding, Strategic Decision Making & Main Considerations*)

Analiza sadržaja može da se obavi na kvalitativnom nivou, kao što je obavljeno kategorizacijom u segmente podataka, ili kvantitativno. Kvantitativna analiza sadržaja identifikovala je učestalost određenih termina i fraza kao indikaciju percepcije oblasti.

Na osnovu analize transkripta intervjua, najveći broj učesnika u studiji pomenuo je *'quality'* u različitim kontekstima (n=19) pri tome naglašavajući značaj *kvaliteta* u razmatranju celokupne oblasti.

Termin *'regulatory'* ili *'regulations'* pomenuo je nešto manje učesnika (n=15) dok je približno 50% njih u nekom delu svog intervjua upotrebilo *'challenge'* (n=13) i *'funds'* ili *'funding'* (n=12). Ovo ukazuje na značaj koji su finansijskom aspektu i primeni regulatornih standarda dali intervjuisani stručnjaci. U istoj meri, u približno 50% intervjua, se pojavljuju u različitim kontekstima: *'potential'* (n=11) i *'cost'*, *'expensive'* ili *'costly'* (n=10).

Opseg i učestalost termina *'potential'*, koji je upotrebljen u okviru sledećih fraza: *'potential applications'*, *'potential of therapies'*, *'potential collaboration'* or *'potential development'* – u određenoj meri ukazuje na percepciju neizvesnosti koja okružuje celokupnu oblast razvoja ćelijskih terapija.

Slično tome, širok spektar upotrebljenih fraza koje nose finansijsku konotaciju, *'cost'*, *'costly'*, *'expensive'*, *'cost of manufacturing'*, *'costly exercise'*, *'regulatory compliance cost'*, *'expensive technology'* i *'cost of goods'* – ukazuje na finansijsku neizvesnost i značaj koji je od strane stručnjaka pridodat finansijskim ulaganjima u ovu oblast. Za razliku od toga, samo manji broj učesnika je pomenuo termine kao što su *'promise'* (n=4), *'uncertainty'* ili *'unknown'* (n=3).

Rezultati dalje analize sadržaja nalaze se u okviru tema i kategorija (Tabela 4.21) dok su specifični rezultati vezani za poslovne i finansijske aspekte (uz osnovna razmatranja i izazove identifikovane od strane učesnika) prikazani u Tabeli 4.15 i 4.16.

Tabela 4.15: Rezultati vezani za poslovne i finansijske aspekte uz osnovna razmatranja i izazove identifikovane od strane učesnika (eng. *Business Models & Funding; Strategic Decision Making*).

<b>Business Model &amp; Funding, Strategic Decision Making</b>	<p><b>KNOWLEDGE, PRACTICE &amp; EXPERIENCE:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- “staff switch between projects, portability and flexibility of personnel; process development, consulting &amp; facility design” [CTE01].</li> <li>- “must do’s; black and white delineation; small adjustments as needed; multidisciplinary skill; strategically ... at the very top of organisation ... an inherent understanding of the environment we work in and therefore our structures need to be built up around that” [CTE03].</li> <li>- “business model based on the development of new interventions through basic science, prototype development, high quality clinical data and using good clinical need and cost economic data to provide an attractive platform for potential license and/or trade sale or interested parties” [CTE05].</li> <li>- “where [you have] lots of external funding and almost commercially orientated group which is seeking is fund itself through exploitation of its own capabilities, you may get a group that is set up and has built a facility, it has capabilities and it offers these to the sector on a for-profit basis. So if you’re a group in a university or somewhere you could take your new little cell line and you could, if you had the money, get it expanded and you could get clinical trials going and all that because the centre itself had the full capability of doing it. ... Others may well be more like not-for-profit university based systems, which tend to hold out the olive branch to similar not-for-profit groups of researchers and try to do things collaboratively and collectively and share the costs. So a not-for-profit versus a for-profit [business] model is essentially [here at the moment] and there’re obviously little permutations in between” [CTE14].</li> </ul>
	<p>- “there’s the most popular ‘let’s just wing it and hope for the best’ strategy ... there’s a real level of over confidence. People who are in senior management tend to be extremely confident and not generally particularly detailed orientated ... let’s use slogans and say things that sound good and have absolutely no substance. I have seen situations where you have these very over confident people who don’t want to talk about risk management because they truly believe it won’t happen to them, hey truly believe the clinical trial is going to be successful, it will enrol early, everyone will be great and of course the regulator will say, sure you can market this early, it is the most popular approach” [CTE23].</p>

Oznake za učesnike u istraživanju: CTE01 - CTE24.

Poslovni sistemi i izvori finansiranja koji su diskutovani od strane učesnika studije, bili su raznoliki – od malih projekata do ogromnih korporacijskih struktura. Ipak, kada su razmatrani organizacioni modeli koji se najčešće pojavljuju u oblasti, većina učesnika je naglašavala neophodnost strukturnih, organizacionih i infrastrukturnih resursa koji su neophodni u oblasti. Takodje je naglašena česta pojava da bazični istraživački projekti prerano započinju svoju komercijalnu aktivnost odnosno da većina projekata prerano ulazi u komercijalizaciju, a da ne postoje adekvatni sistemi za podršku (na nivou državnih struktura ili u okviru institucija u kojima se ovo dešava). Kao osnovni faktor uspeha u ovim modelima, pored dovoljno finansijskih sredstava, naveden je regulatorni fokus i znanja u ovoj oblasti. Zajednički stav koji je dominirao medju učesnicima je bio nedostatak finansijskih sredstava za translatorna istraživanja, dizajn i sprovođenje kliničkih istraživanja (posebno rane

faze) kao i transfer tehnologije između istraživačkih i komercijalnih laboratorija (tipa ‘fee for service’).

Tabela 4.16: Rezultati vezani za poslovne i finansijske aspekte uz osnovna razmatranja i izazove identifikovane od strane učesnika (eng. *Main Considerations in Relation to Project or Organisation*).

<p><b>Main Considerations (organisation/ project)</b></p>	<p><b>VIEW, PERCEPTION &amp; OPINION:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- “we have no single product that's the most important. ... one, which is reimbursed, I believe not only provides the strong commercial value but imposes a manufacturing discipline on the facility. It instills and reinforces high levels of professionalism and actually puts appropriate ‘stress’ and pressure on the facility and the personnel” [CTE01].</li> <li>- “a lot of people would try and set up a classic commercial organisation and then... find that the commercial organisation runs at odds to the [regulatory] compliance requirement” [CTE03].</li> <li>- “one is regulatory hurdle, second is the commercial interaction, third is the market needs... you’ve got to understand these three right at the beginning [when developing] cellular product or device - you need to know these three components before you actually [start] development process” [CTE04].</li> <li>- “there is always longer way to the overall exploitation than expected... from [the] idea to the common use, you need [for example] 15 years and you still don't know which of these products will be ‘the product’ ” [CTE11].</li> <li>- “finances are the biggest [issue] for this sector, closely followed by changing the culture from a clinical service to a manufacturing service and ... changing the structure from having the doctor who's looking after the patient versus the doctor who signs off the release” [CTE12].</li> <li>- “some of the gains from these sorts of therapies are going to be much longer term than we can imagine now” [CTE19].</li> <li>- “the field is definitely growing and it's taking on maturity ... when you begin to see pharma companies move into stem cells, it's a realisation that there is an acceptance that, hey there's something here ... still a very, very, very nascent technology and industry” [CTE21].</li> <li>- “there's so much going on in this field and there's been so many things put in place now that new therapies that are just coming in now will have a much more accelerated pace through those painful early first steps. Simply because there's systems that they [industry] can use to get going” [CTE23].</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- “determining governance structure in [an overarching] organisation; developing enterprise &amp; commercial ‘know-how’ “ [CTE01].</li> <li>- “resources; competition for peer-reviewed grants is extremely intense; in human clinical trials [to prove] whether there are any therapeutic benefits” [CTE02].</li> <li>- “establishing a reputation, identifying those organisations, individuals or researchers who were prepared to embrace the concept of outsourcing” [CTE03].</li> <li>- “funding” [CTE04].</li> <li>- “the ongoing financial development of the company” [CTE05].</li> <li>- “the management spends a disproportional amount of time raising money instead of managing day-to-day operation of the company. So raising money is the biggest one. The other challenge is [finding] the right models” [CTE06].</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- “you have fixed costs that will run you high, it could be about 60 or 65 per cent fixed cost... have adequate, sufficient amount of volume to compensate, to leverage of those fixed costs” [CTE08].</li> <li>- “education in a very broad sense ... there needs to be education of all the different participants in the sector. That being the manufacturing, the researchers and investigators, the clinicians, the regulators, and investors because they want to see their money come back quickly” [CTE19].</li> <li>- “they [companies] might make a mistake but they're only going to make it once, the next time around things will be done correctly ... we have people who are getting much more savvy about what happens after the product leaves phase I and how do you submit an IND to the FDA and move forward with that process; things have been slow, there's been a lot of bumps in the road but things will accelerate very rapidly over the next ten years” [CTE23].</li> </ul>

Oznake za učesnike u istraživanju: CTE01 - CTE24.

#### 4.4.2 Segmenti podataka (2):

##### **Uspostavljanje saradnje sa partnerima i druga razvojna problematika**

(eng. *Partnerships, Main Challenges for the Industry, Science, Technology, Tech Transfer & Up Scaling*)

Veći deo učesnika naglasio je značaj partnerstva i uspostavljanja dugoročnih partnerskih sporazuma radi: upotrebe infrastrukture (oprema, tehnologija), pristupa novim naučnim saznanjima (kroz saradnju sa istraživačkim institutima), ili pristupa pacijentima (kroz saradnju sa kliničkim centrima).

Komercijalne kompanije su iz takvih sporazuma dobijale pristup novim naučno tehnološkim saznanjima, dok su manji projekti koji se odvijaju u okviru istraživačkih institucija, na taj način ostvarivali višestruku korist (u ostvarivanju novih finansijskih sporazuma ili razmeni iskustava, kadrova, za potrebe publikovanja i slično). Od svih vrsta partnerskih sporazuma, najmanje značaja je bilo pridodato državnim strukturama, a značaj saradnje sa regulatornim agencijama je izdvojen u svetlu stalnog razvoja i uslozljavanja regulatornih odredbi i potrebe za njihovom implementacijom.

Medju najvećim izazovima navedeni su: nedostatak finansijskih sredstava, dugoročno strateško planiranje, složenost tehnologija i regulatornih odredbi koje se na njih odnose, bezbedna i efikasna translacija iz bazične nauke u kliničku primenu, nedovoljno sredstava za komercijalizaciju. Osim toga, nedovoljno mehanizama koji bi ubrzali proces ostvarivanja prihoda od novih bioloških lekova na nivou zdravstvene zaštite (eng. *reimbursement*) i kompetitivnost u projektima finansiranim od strane države (eng. *grants*). Neki od učesnika su pomenuli uspostavljanje odgovarajućeg profila i reputacije za novonastale kompanije, razvoj novih mehanizama u postojećim istraživačkim institucijama ili kliničkim centrima (logistika neophodna za razvoj novih terapijskih pristupa), obrazovanje kadra, šire javnosti i prateće etičke dileme u oblasti.

Ostali rezultati vezani za uspostavljanje saradnje sa partnerima, tehnološka i druga razmatranja vezana za razvoj proizvodnje bioterapeutika/ ćelijskih terapija prikazani su u Tabeli 4.17 i 4.18, kao i u Prilogu 17.

Tabela 4.17: Rezultati vezani za uspostavljanje saradnje sa partnerima i druga razmatranja vezana za razvoj proizvodnje bioterapeutika/ ćelijskih terapija (eng. *Partnerships & Main Challenges in Relation to Industry/ Field*).

<b>Partnerships &amp; Main Challenges (industry/ field)</b>	<p><b>KNOWLEDGE, PRACTICE &amp; EXPERIENCE:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- “we don't want the relationship [with clients] to be over when the commercial contract phases over; we stay in contact and we encourage them to do the same and that results in a lot of repeat work and a strength in a deepening relationship” [CTE01].</li> <li>- “partners and alliances in manufacturing and in scientific collaborations; co-investigators on grants, shared and co-supervised PhD students, data sharing, data analysis, discussion and agreement on experimental design” [CTE02].</li> <li>- “constant dialog, openness” [CTE03] -“lectures, meetings, networking” [CTE04]</li> <li>- “many groups may not appreciate how important it is to them but in time they will reflect on the fact that they would never have got as far without those collaborations. It may well be that we have to form a new type of organisation [e.g. virtual organisations] to keep this stuff going and to keep those innovative ideas flowing and new products coming on stream in a setting where resources are constrained, both human resources and financial resources... we can try and shed some of that rugged individualism ego stuff in favour of a more collaborative approach” [CTE14].</li> <li>- “it's about those two groups [researchers and clinicians] acting as one to help to influence the regulators in terms of what's realistic e.g. if we are able to provide therapies for patients, then there needs to be consideration about the difficulties of developing these therapies[CTE19]. -this is a field that is very high profile and very intriguing to people so people from all disciplines are coming into cell therapy [industry] ... we have process engineers who maybe last year were working on something for the auto industry or the airline industry but now they are applying it to cell therapy or material engineers who are figuring out how to make new scaffolding that we can stick in joints” [CTE23].</li> </ul>
	<p><b>VIEW, PERCEPTION &amp; OPINION:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- “competition for peer-reviewed grants is extremely intense; in human clinical trials [to prove] whether there are any therapeutic benefits” [CTE02].</li> <li>- “the speed to market is an issue because the trials take so long; meeting the regulatory inherent safety requirements” [CTE03].</li> <li>- “time to deliver their product, not enough financial support from the commercial side” [CTE04].</li> <li>- “some revenue strands and early commercialisation [is present] but the ongoing funding of the companies to a breakeven point or to a point where they can last until the trade sales of their technology; trying to get reimbursement for cell therapy... the second biggest challenge following the regulatory pathways is the reimbursement pathways” [CTE05].</li> <li>- “the biggest challenges have to do with both the technology and the regulatory environment. ... there is not sufficient, or adequate, equipment to do the work. ... The second [challenge] is the regulatory environment, where the regulations are very strict. ... use the pharmaceutical standards in order to align with cell therapy and it does not work” [CTE08].</li> <li>- “the biggest challenge is, let's say, to profile themselves enough” [CTE11].</li> <li>- “the challenge is the safe and effective translation - so the delivery on the promise, that's the challenge; we're making a great deal of progress using stem cells to understand basic biology, to understand the enormous power of these cells... but we're yet to be able to harness that potential” [CTE20].</li> <li>- “you might have a regulation that on paper sounds crystal clear but when you're actually the sponsor and you're trying to comply with that regulation you run into a lot of things that just don't make any sense whatsoever ... you have to go back to the regulator and start to negotiate what you would like to do, give your scientific and clinical rationale and then get agreement. Eventually that feeds back into the high-level executive decision making. But it's not there routinely yet” [CTE23].</li> </ul>

Oznake za učesnike u istraživanju: CTE01 - CTE24.

Tabela 4.18: Rezultati vezani za tehnološka, naučna i druga razvojna razmatranja vezana za proizvodnju bioterapeutika/ ćelijskih terapija (eng. *Science, Technology, Tech Transfer & Up Scaling*) uz generalna zapažanja (eng. *About Industry*).

<b>Science, Technology, Tech Transfer, Up Scaling &amp; About Industry</b>	<p><b>KNOWLEDGE, PRACTICE &amp; EXPERIENCE:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- “cell culture extension incl. basic techniques, automation, purification, in vivo human imaging (labeling, determining presence and distribution of cells); initial transfer to demonstrate comparable outcomes, a process development plan [with] appropriate milestones, full scale engineering runs where we then typically write comparability studies to show that we’ve got a comparable product at the end of the process” [CTE01].</li> <li>- “cell culture, plans for bioreactor; safety driven technology; use of same reagents in pre-clinical and clinical production” [CTE02].</li> <li>- “we work with device and the automation manufacturers; our staff maintain a detailed working knowledge; we work closely with the regulators; we work closely with the manufacturers, such that we can understand the integration; that’s part of our value-add [and] we deliver that to our clients” [CTE03].</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- “the technology is really about cells in defined conditions” [CTE06].</li> <li>- “technology transfer, also similar to new product development, is something that only recently dawned on people that it is a process, tech transfer. Of course the commercial sector could have helped here really early on if people had been aware that there is this thing called tech transfer. I mean it’s only relatively - probably five years’ old in the language. People stumbled upon it” [CTE14].</li> <li>- “typically transfers tend to be small scale to slightly less small scale” [CTE16].</li> <li>- “cell therapy, whether it’s autologous or allogeneic, involves a service component which small molecules do not whatsoever [and] pharma is not comfortable with that. They are not equipped to do it and over the past 15 to 20 years there’s been increasingly high barriers put between the companies [e.g. drug manufacturers] and patients, also between [manufacturing] companies and practising physicians ... that service component (interaction with the actual human being whether it’s the donor of the source tissue or the recipient of the final product) is very difficult for big pharma to manage” [CTE23].</li> </ul>
	<p><b>VIEW, PERCEPTION &amp; OPINION:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- “tremendous promise [but] unrealized until 3-5 years ago; rapid growth, improved revenue and returns, more profitable companies; therapies not reimbursable” [CTE01].</li> <li>- “enormous stem cell potential” [CTE02].</li> <li>- “the market for cellular therapies and tissue replacement is getting more optimistic every year” [CTE03].</li> <li>- “there’s still an enormous amount of opportunities” [CTE05].</li> <li>- “cell therapy application will be developed within the next decade [and] we will have meaningful treatments [with] stem cell therapy (derived from embryonic stem cells)” [CTE06].</li> <li>- “it’s still in its infancy stage, despite the fact that we have been working at this for [over] 16 years” [CTE08].</li> <li>- “high expectations, not developed yet; it’s just starting to profile itself” [CTE11].</li> <li>- “not too many cell products in the market... more academy sponsors doing early studies, without thinking through the study design (many do not make beyond this stage). Industry sponsors are not interested in phase I or II, only phase III and have business models tailored accordingly; there is a disconnect from pre-phase I to phase III” [CTE17].</li> <li>- “the reality of cell therapy is that you have a technology that allows you to actually repair diseased tissues rather than just treating the symptoms of the disease with drugs. You actually can undo some of the damage ... the technology and the potential rewards are huge. But it’s just going to take time and we just have to be careful and cautious but work very diligently to make it a reality” [CTE21].</li> <li>- “it still has a long way to go... in terms of the level of support and investment. The pharmaceutical industry and drug development is a massive machine, there’s a huge amount of money and human effort put into it. The cell therapy industry so far is off in a corner struggling, very poorly funded cousin” [CTE023].</li> </ul>

Oznake za učesnike u istraživanju: CTE01 - CTE24.

#### 4.4.3 Segmenti podataka (3):

#### Primena zakonsko regulatornih odredbi i percepcija njihovog razvoja

(eng. *Regulatory Compliance & Regulatory Landscape*)

Značajni rezultati analize transkripta intervjua koji su vezani za primenu zakonsko regulatornih odredbi (eng. *Regulatory Compliance*) prikazani su u Tabeli 4.19, a za njihov razvoj u širem smislu (eng. *Regulatory Landscape*) u Tabeli 4.20.

Razvojni pristupi kao što su obuka osoblja, usvajanje novih tehnologija ili novih ideja (eng. *Staff Training & Access to New People, New Technology, New Ideas*) kao i značajne pouke nastale u dosadašnjem razvoju (*Important Lessons Learned*) predstavljene su u Prilogu 17.

Tabela 4.19: Rezultati vezani za primenu zakonsko regulatornih odredbi (eng. *Regulatory Compliance*).

<b>KNOWLEDGE, PRACTICE &amp; EXPERIENCE: On Regulatory Compliance</b>
- “multiple markets [that require] thorough understanding [of regulations] nationally and internationally, trusted partners & local presence, local regulatory knowledge; at a strategic level , discuss the threats and opportunities of various proposed changes to the regulatory framework; work with all clients , get some very clear messages across to the regulator” [CTE01].
- “strategically we’ve made the decision to accept the structure that’s needed to be compliant, and then we work the operational things around that structure” [CTE03].
- “[strategically ] we will always look at the regulatory environment first ... one of the first things we looked at was not just the regulatory environment here ...but the regulatory environment across the globe” [CTE05].
- “basically every group comes to grips with [the] GMP. Some try and do it on their own (through trial and error, struggle and at great cost eventually get there) [while] others recognise early on that they need some assistance and they buy in the help. And the whole intention is to try and get them on their learning curve and evolving rapidly into basically a system that is well versed in basically documenting, authoring, validating, capturing data, analysing it, reporting back, doing whatever changes are necessary, auditing and so on that makes up the viable quality system... Over the last five years it’s suddenly become apparent to everybody that this as a parallel organisation - if you’re going to be successful in the space of cell therapies and they’re inexplicably tied up together (understanding of what GMP’s about) and the need for it” [CTE14].
- “incorporating regulatory requirements at the strategic decision making level tends to be hard; industry tends to ‘reinvent the wheel’ and FDA struggles with the new concepts; combination products (e.g. cells on scaffolds) are particularly challenging” [CTE17].
- “one of the major differences [between regulations] is the barrier to entry. To get into a very early stage clinical trial in Australia it’s much lower than in the US ... traditionally in Australia if a physician one and two run a protocol in cell therapy it was a very simple straightforward process of getting local IRB approval and moving forward with it. In the US you still needed to get that federal approval from the FDA in order to implement that kind of trial – that traditionally has been one of the biggest differences[CTE23].

Oznake za učesnike u istraživanju: CTE01 - CTE24.



Tabela 4.20: Rezultati vezani za primenu zakonsko regulatornih odredbi i njihov razvoj u širem smislu (eng. *Regulatory Landscape*).

<b>VIEW, PERCEPTION &amp; OPINION: On Regulatory Landscape</b>
-regulatory uncertainty[CTE01].
-regulatory requirements are ... rigorous and expensive but safety is paramount[CTE02].
-it's an absolute challenge and it's a major problem; for example, the Europeans have determined that cells and tissues are a medicinal... but it is what it is and we're going to have to live with it. In Australia they couldn't work out whether it was a medicinal or a device so they've formed a new division of biologics[CTE03].
-cellular therapies have to separate from the medical devices[CT04].
-in a micro sense some of them [regulatory requirements] just don't make any sense at all; and frankly they're not based on strong scientific evidence. What we're asked to continually base our approach on is strong scientific evidence, yet the regulatory environment is often not based on strong scientific evidence[CTE05].
-in the regulatory environment, regulations are increasing, getting more difficult, and that will continue to happen[CTE08].
-they [regulators] worked kind of hard to evolve a regulatory framework that can address the protection of the public health... they tried to engage the sector in the evolution and it's been a joint learning exercise from a regulator point of view and from the sector's point of view about what the regulator is there to do[CTE14].
-they [regulatory bodies] have come a long way, they have more clarity around the expectations in what you need to do for most part, what you don't need to do, more importantly... from the early days of cell therapy, the regulation has caught up with cell therapy. It took FDA several years to pick up and give exemption, so it's come a long way. The flipside is about maturity – you still don't get the kind of the guidance you might need on more mature products just because of the variation of product and lack of precedent[CTE16].
-EMA is trying to make a lot of people happy, it never works. The member states, the way things are divided up between the EMA versus the members state is very difficult to negotiate if you're not within Europe; people can deal with the TGA and FDA externally I think if somebody wants to do a development programme anywhere in one of the European member states they need to have a location there or they can interact with the local regulator. The reason for that is that the rules are quite different in very fundamental ways from country to country and I think coming from Australia or coming from the US we like to think that there's this one thing called Europe and you coming from Europe know that that is not true[CTE23].

Oznake za učesnike u istraživanju: CTE01 - CTE24.

#### **4.4.4 Segmenti podataka (4):**

##### **Osnovne teme i kategorije** (eng. *Frequent themes and categories*)

Tematskom analizom je identifikovano 16 tema i 19 kategorija koje su dominirale u intervjuima, a koje se mogu svrstati u tri osnovne teme (Tabela 4.21). Osnovne teme uključuju: *dinamiku naučno tehnološkog razvoja; poslovne modele uz operativna i finansijska razmatranja; kao i stalno usavršavanje i usložnjavanje zakonskih regulativa u oblasti.*

Tabela 4.21: Osnovne teme i kategorije dobijene analizom intervjua.

PRINCIPAL THEMES: ( n=3 )	DYNAMICS OF SCIENCE & TECHNOLOGY DEVELOPMENT		REGULATORY IMPACT & CONTINUAL PROGRESS OF REGULATORY REQUIREMENTS		BUSINESS MODELS, OPERATIONAL & FUNDING CONSIDERATIONS		
	Type of product	Disease-centered			Hospital-based	Contract Manufacturing	
Themes ( n=16 )	Segregated focus	Technology-centered	Focus on a global regulatory landscape		University-based	Pharmaceutical Companies	
	New materials/ biomaterials	Automation (e.g. robotics, bioreactors)	Attain local knowledge of regulations		New Biotech Startup	Global Economic Uncertainty	Cell Banking
							Size of the Market
Categories ( n=19 )	Somatic cells vs. Induced pluripotent cells (iPS)	Autologous vs. Allogeneic	Meet current regulations vs. Establish dialogue with a regulatory agency		Private vs. Public	Develop in-house vs. mergers & acquisitions	Virtual Models vs. Real Partnerships
	Public engagement	High throughput screening	Streamline and simplify requirements		Preclinical Studies & Testing services	Skilled workforce	Forecasting
	Cell expansion technologies	Embryonic cells	Process vs. Facility	Project-based compliance vs. Systemic Compliance	Segregated focus	GxP compliance & capabilities	Infrastructure

U okviru prve osnovne teme koja se odnosi na *dinamiku naučno tehnološkog razvoja*, učesnici studije su se uglavnom fokusirali na teme kao što su: tipovi ćelijskih produkata, modeli njihovog razvoja (usmereni na određeno oboljenje/ primenu ili na tip ćelijske terapije i/ili tehnologije koju koriste), razudjenost istraživačkih napora i ulaganja (u smislu broja i vrste projekata) i izvesna nepovezanost koja dominira u tome (da li se zaista može pratiti toliki broj terapijskih indikacija na adekvatnom nivou?), novi materijali/ biomaterijali i upotreba automatizacije (npr. primena bioreaktora, biorobotike i koliko smo danas još uvek daleko od takvih rešenja) (Tabela 4.21).

Još specifičnije oblasti interesa (kategorije) ovde su uključivale: izbor ćelijske populacije od interesa (tzv. somatične/ adultne matične ćelije vs. indukovane pluripotentne matične ćelije, iPS), tip produkata od interesa (autologne vs. alogene terapije), novi pristupi i tehnologije za ‘*high throughput screening*’ i ‘*imaging*’, kao i u određenoj meri, interes za razumevanje problematike ove oblasti u široj javnosti – gde se uticajem medija (i usled drugih faktora) kreiraju nerealna očekivanja ili pružaju mogućnosti za ne-etičke pristupe (Tabela 4.21).

U drugoj i trećoj osnovnoj temi (*poslovni pristupi i usavršavanje/usložnjavanje zakonskih regulativa*), učesnici su svoju diskusiju uglavnom usmerili na sledeće trendove: usložnjavanje i neprekidan razvoj regulatornih aspekata u oblasti/ regionu; uspostavljanje biotehnoloških inicijativa koje se pojavljuju kao novi poslovni sistemi, uticaj globalne ekonomske krize i globalne ekonomske nesigurnosti. Dok su specifičnije kategorije u njima bile grupisane oko sve veće potrebe za: prihvatljivim servisom (za pre-klinička istraživanja i testiranje produkata), adekvatno obučanim kadrovima, ‘virtuelnim’ modelima partnerstva, ali i stvarnim partnerskim modelima, kao i za metodama adekvatnog predviđanja i planiranja (Tabela 4.21).

Iako su izdvojene brojne teme i kategorije, svaki intervju bi, po obilju informacija koje nudi, mogao potencijalno da se iskoristi za individualnu analizu (eng. *case study*) i da ponudi mnoštvo novih podataka za dalje analize.

#### **4.4.5 Segmenti podataka (5):**

##### **Utemeljenje rezultata u podacima** (eng. “*Grounding*” *the data*)

Završni korak u analizi bilo je utemeljenje rezultata u podacima pri čemu su za to korišćeni citati iz transkripta intervjua (eng. *narratives*) koji u sebi sadrže izjave ili opise date od strane učesnika, a koje doprinose nekoj od identifikovanih tema i kategorija (eng. *substantiated by the material or ‘well-grounded’*). Utemeljenje rezultata predstavljeno je u Tabeli 4.22 do 4.25, prema prethodno identifikovanim kategorijama i temama.

Tabela 4.22: Utemeljenje rezultata u podacima: O industriji (eng. *About Industry*).

<p>ABOUT INDUSTRY:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- "It's an industry that had tremendous promise which was largely unrealised till maybe two or three years ago when we began seeing significant growth, improved revenue and returns and more and more profitable companies. So my view is that it's now moved from a fairly slow growth phase till now, a very rapid growth phase across the world." [CTE01]</li> <li>- "So we've shifted from, can we make it and does it do anything, to how do we make it repetitively and reliably and deliver it into the marketplace to thousands of patients? That's where cell therapies is right now." [CTE03]</li> <li>- "I'd like to see some more budgets provided to those that have got personnel - enough personnel to be able to service the industry." [CTE03]</li> <li>- "We're five years from curing cancer, but of course we've been five years from curing cancer for the last 50 years. The same kind of thing is true of cell therapy." [CTE07]</li> <li>- "Differentiation between them [organisations] is mostly based on the funding source, whether they're public or private... with change of models and approaches they use, all money-driven change." [CTE12]</li> <li>- "If we looked at Australia, [they] don't have much in the way of investment, significant investment and ... there's not a huge amount of money going into this space and the most recent funds are going to more bricks and mortar rather than operating funds. This is where the problem lies - building the capacity of these operations to actually run. In the States [USA] and Europe, venture capitalists are much more involved [and] it would appear raising money through venture capitalists seems to be the nature of the game. However, there's a very high mortality rate for bio-techs and ... the fact that the big pharma are muscling in on the territory and causing grief for start-up bio-techs. It's really an interesting phase for cellular therapies right now." [CTE14]</li> <li>- "Stem cell science is seen as an answer to a lot of medical problems that at the moment have no solutions. So I'm very mindful that while it's fantastic to see progress in our field, we're quite a long way away from being able to routinely apply these developments to help people. I'm concerned that there's a bit of a void between - a gap between the community expectation and the reality of where we're at with stem cell research, [in other words] an expectations vacuum." [CTE20]</li> <li>- "There are just issues across everything and there just aren't any easy solutions to any of them. It's going to be a lot of work and I think people were very optimistic early in the days of stem cells [research] that we were going to be in the clinic in a couple of years, that was just grossly naive. People have got to be patient, there aren't going to be any quick solutions." [CTE21]</li> </ul>
--

Oznake za učesnike u istraživanju: CTE01 - CTE24.

Iz rezultata analize vidi se da su učesnici studije uspeli da prenesu osnovu problematike u oblasti – kompleksnost. Neki od eksperata su to pripisali ranom stadijumu razvoja a mnogi su upotrebili termin '*infancy*'. Postoji koherentan stav učesnika studije u tom smislu kao i u stavu da je neophodan dalji razvoj, ne samo u naučno tehnološkom smislu već i u pratećim oblastima koje obezbeđuju podršku čitavom sektoru razvoja ćelijskih terapija odnosno bioloških lekova kao kategorije naprednih terapija. Uz to, većina stručnjaka je izrazila svoje mišljenje o zakonsko regulatornim okvirima, njihovom neprestanom razvoju i promenama u pristupu nekih od regulatornih agencija. Pomenuti su, u značajnoj meri, upravljanje rizicima (eng. *risk management*) na više nivoa i neophodnost poštovanja specifičnih standarda koji se primenjuju u proizvodnji novih terapija (eng. *GMP*). Međutim, većina stručnjaka

se složila da iako su neophodni strogi regulatorni okviri u ovoj oblasti, neophodno je da postoji određeni nivo fleksibilnosti u njima, suštinsko razumevanje razlika između naučnih pristupa, različitih produkata i ograničenja koja oni nose (Tabela 4.23 i 4.24).

Tabela 4.23: Utemeljenje rezultata u podacima: Tehnologija i razvoj (eng. *Technology & Development*).

<p>TECHNOLOGY:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- "So we've changed from first grade media through to improved formulations to animal free formulations. We've moved from enzymes, which were animal derived to recombinant and now to recombinant/animal free. So there's been constant change." [CTE01]</li> <li>- "[One] can argue that bone marrow cell transplantation is a cell therapy, blood transfusion is a stem cell therapy and we have been doing it for many, many years; what we haven't been [doing] is extracting the cells, expanding in vitro, differentiating into different cell populations and transplanting it." [CTE06]</li> <li>- "Make distinction between the use of cells as either tools or for the therapy." [CTE21]</li> <li>- "Looking into the future, for example 2D and 3D bioreactors." [CTE24]</li> </ul> <p>DEVELOPMENT:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- "The products are so different. It relates very much to the regulatory status of the product. Whether it's a standard of care or whether it's a clinical trial product. So for a standard care product it's typically a three year cycle, I think, before there's major technology changes. For new products and clinical research products there's typically an annual cycle." [CTE01]</li> <li>- "We've seen an evolution from - certainly from the US regulators and some of the Europeans. They are now beginning to give approval for phase I/II cellular therapy trials because there's a body of knowledge that's accumulating that says, cell therapies appear to be either inherently safe - they either do something interesting and useful or nothing. They don't appear to follow the classical pharma model [where] you need a phase I to determine the level of toxicity. Cell therapies don't appear to be toxic. ... Whereas we're working with a living cell and we have difficulty defining the cell letting alone doing it." [CTE03]</li> <li>- "There is a philosophical change, where the time span between research, GMP manufacturing and an attempt of commercial applications is now expected to be so fast (e.g. only a couple of years apart for each stage) while previously, in a small molecule development cycle, it took at least five to ten years for the development cycle between the research, pre-clinical and pre-marketing approval prior to commercial application of a drug." [CTE15]</li> <li>- "There are several challenges with that model [from research to manufacturing]. First one is, I think, that a lot of research people are not trained to do development and they don't understand the vigour of [the] development process." [CTE16]</li> <li>- "With the way that society is now ... we're really going much more in the direction of expectations of instant gratification, there's a perception that things shouldn't take so long, that it should be able to happen quickly. The techniques in pharmaceutical development that allow to review a huge number of compounds and pick one or two to take forward, and then to find by computational means other molecules that are very similar or can be used in a similar way ... with bio-therapeutics, because of the way that they're developed clinically as a clinical trial programme, your whole trial programme is designed with the potential product label for one product and one indication only." [CTE19]</li> <li>- "What I've learned both in my own personal interactions with regulators as well as being a regulator, is that you have to work with them, not against them. If you come in with a very antagonistic mindset, as in you're right and they're not; you're not going to get very far. It really is a field that requires mutual understanding and mutual working together because we're all moving into a space that's completely uncharted territory. So it's very important to work with them in a very tight collegial way that will get you further than any other behaviours." [CTE21]</li> <li>- "The [cell] therapies have got incredible clinical potential and incredible financial potential. But it's a complex field and a complicated programme to move forward and needs to be more effort put into it and a more systematic effort. It's that word 'systematic' that has been missing and part of it is that so many of these programmes are being operated by a very small team." [CTE23]</li> </ul>
--

Oznake za učesnike u istraživanju: CTE01 - CTE24.

Tabela 4.24: Utemeljenje rezultata u podacima: Zakonske regulative, upravljanje rizicima, Dobra proizvođačka praksa (eng. *Regulatory compliance, risk management, GMP*).

REGULATORY/RISK MANAGEMENT/GMP:
- "Where we've had the most risk has been when there's been undisclosed and where there's been no stakeholder discussion. For instance when [regulator] abruptly implemented harmonisation treaty ... that caused enormous disruption." [CTE01]
- "The change I would apply is I would actually move forward the biologicals framework ... the biological framework that TGA is proposing is a very sophisticated to provide an expedited approval mechanism for biological therapies which is more supportive and tolerant of the special requirements of cell therapy compared to the European and US frameworks. ... we have a particular framework that's free of many of the requirements of the medicinal framework like in North America, which has a reduced pre-clinical requirement compared to the European framework. So my push would be to expedite that more quickly because the greatest impediment to product development in Australia is the regulatory uncertainty." [CTE01]
- "The whole of our business is risk management, because that - we have to essentially leave a paper trail that says we have assessed and put in place a mechanism whereby we've assessed the risks to be delivering an inherently safe product. So the whole of our GMP is based on a risk management strategy.... All or nothing approach; that's what we do for a living." [CTE03]
- "Our whole ethos is that we are not against the heavy regulation of the industry because we think it's absolutely mandatory to be inherently safe, and we've followed that ... while our operators bitch and moan about having another audit and going through the pain and suffering of the audit, etcetera, we understand it. That's what it needs to play in this space. That's what you need. In terms of [change] ... we're actively attempting to facilitate more dialogue [with regulators]." [CTE03]
- "[If one] cannot achieve the maximum requirement because of [the lack of] staff [try to meet a] minimum requirement from the bottom up, never top down... Use flow-chart of the procedures [and identify] what the potential risks are." [CTE04]
- A very multi-layered risk management approach from a basic science perspective right through to a formalised risk management, risk assessment approach... everything we do is risk assessed, as a group and as individuals." [CTE05]
- "Need to ... increase the funding, increase the regulatory requirements, remove the potential conflicts that exist [on the operational level], separate collection and manufacture versus transplantation, so that the confidentiality of the donor versus the recipient is always maintained." [CTE12]
- "I can see significant impacts in terms of them [sector] certainly understanding the stringency with which some of the things need to be done. A deep understanding that suddenly starts to emerge about what validation really is... this is basically moving from a research paradigm into a production steady state paradigm - you need to know everything about what it is you do when you're in a manufacturing paradigm whereas research you're pushing the edge of [the] knowledge, different mindset entirely. The impact is big because, depending on the maturity of the group and how long ago it left its research roots on its way to becoming a mature production entity, will depend on the impact of the change." [CTE14]
- "For the larger companies with multiple products, more often than not I have seen the 'focused' quality systems. They bring in corporate quality policies as such but they tend to find all the GMP standards as too much of specialisation... it is a bit of implementation challenge in a large company. It's hard to take a risk in a more specialised approach and adapt within the large corporate system." [CTE16]
- "There are technical risks, there are commercial risks, there are manufacturing risks, there are business risks; there are revenue risks. We navel-gaze in quite considerable detail all the time, we have risk litigation as part of what we do but we are in an inherently risky business." [CTE21]
- "We need to have levels of multi-skilling, cross-functional training and an attitude within the group that allows them to quickly adopt other roles without feeling threatened by any changes that they may bring upon them in a short period of time. So our development process is really about keeping the skill set that we have and developing a cohesiveness between the group." [CTE22]
- "Building up GMP facilities, building up solid regulations that industry actually had quite a bit of input to. Now I feel like the foundations are in place so we haven't seen a huge amount of progress the past five to 10 years. But I think there has been a lot of progress, it's just not particularly visible because it's not making the headlines. You don't get a big headline because the FDA has finally issued the draft guidance on knee cartilage." [CTE23]

Oznake za učesnike u istraživanju: CTE01 - CTE24.

Tabela 4.25: Utemeljenje rezultata u podacima: Promene u zakonsko regulatornim odredbama (eng. *Regulatory Shift*).

REGULATORY/SHIFT OF
- "The TGA talks to the FDA on a regular basis, they share information, and the EMA is similarly moving in that field; the problem with the EMA is the fact that, notwithstanding the common regulatory EU approval across the top, when you've got that common approval then you've got to each of the countries anyway. It's better, but ... Europe's still going to be a fragmented market. But it's getting there and they are talking on a regular basis and groups like us are helping keeping that dialogue going so there's some commonality. It's a pity the Europeans chose to regulate cell[s] [and] tissues as a medicinal." [CTE03]
- "We're seeing some interesting shifts in terms of the ability of a regulator to send you back when you go in and ask for a phase I, and they said, well why don't you bring it back as a phase I/II. That to me is the most fantastic outcome... so more of that ... where the regulator is able to disseminate their knowledge of what's inherently safe and what isn't, and to save you time and dollars." [CTE03]
- "The regulatory requirements are acceptable and reasonable. The new four-tier process has been put into place ... I think is probably fair and reflective." [CTE05]
- "Their focus, for years, has been very different, in that the EU regulations were focussed on your design of the facility, on your process and your documentation. The FDA, who is never so focussed on designer facility, or focussed on the process, but they would focus more to the science. What we're now seeing is an evolution where, Europe is beginning to get into the science and the FDA is beginning to get into the design of the facility." [CTE08]
- "Australia has fascinated me. First, you'd never talk to the TGA about anything the FDA does. They [TGA] observe and follow European regulation, but then they'll also take European regulation and put a twist on it. In other words, they'll make their own changes to that. Typically, their changes are more of a conservative approach." [CTE08]
- "FDA has proved core guidance to the extent they care; they got more in writing to dictate how to do the cell therapy." [CTE16]
- "Engage with the regulatory bodies as much as we can as early as possible. In many cases, even almost in an informal way - this is what we're thinking. What do you think about this? They give it a very informal but non-binding interpretation and then from that we will build a case to them." [CTE21]
- "The difference is not in the actual words of the regulations, but it's the interpretation by the regulator of the countries. In particular, in Europe the interpretation by the regulator is actually very, very lenient in respect to what we would expect to see for example in Australia and also, to some extent, in the US; over time the interpretation tends to come together and move apart over the period of years. We've seen differences in regulations even over the course of the last 10 years where the regulations were upheld by the FDA in the States were supposed to be the gold standard. Then it was Health Canada who had a stronger and more rigid interpretation at that time the TGA was very lenient. Then the TGA went through a period in time where they changed their attitude towards the regulations and they became more strict. So it goes through various periods and it probably tends to follow either what's happening within the market – if there's been a scare within the market or whether or not the people who are actually looking after it are that way inclined." [CTE22]
- "If they want to do a trial in Europe, US and Australia they really need to plan on speaking with five regulators and treat them separately. The US is one thing, Australia is one thing and then for Europe you have the EMA, the CAT and whatever member state your main principle investigator or your manufacturing site is located in.[CTE23]

Oznake za učesnike u istraživanju: CTE01 - CTE24.

Rizici i strategije za upravljanje rizicima (eng. *risk management*), po mišljenju svih stručnjaka, su neizbežan element razvoja oblasti. Rizici su prepoznati na svim nivoima aktivnosti – klinički, poslovni, finansijski, operativni, strateški i regulatorni (Tabela 4.24). Pored toga, učesnici studije su se složili da je u toku značajan pomeraj u okviru zakonsko regulatornih tokova na globalnom i lokalnom nivou (Tabela 4.25). Značajno je napomenuti da je većina stručnjaka u određenoj meri zabrinuta zbog

uticaja koji regulativne odredbe mogu imati na budući razvoj sektora/industrije i razvoj novih generacija bioloških lekova.

Neke od najvažnijih pouka izdvojenih od strane učesnika u istraživanju su –  
“*Thrilling experience.*”[CTE02];  
“*Things are always more complicated than you would think they would be.*”[CTE06];  
“*Communicating and not over-selling the promise.*”[CTE19];  
“*There is no single cell that does everything.*”[CTE21]; kao i  
“*Not to underestimate the regulator.*”[CTE22].

Većina stručnjaka je naglasila potrebu da postoji otvorenost u komunikaciji i razmeni saznanja u oblasti, iako se od nedavno zapaža određena promena u tome. Navedeni faktori bili su, ulazak velikih farmaceutskih kompanija u ovu oblast (koje pokušavaju da zaštite ili ostvare profit zaštitom intelektualne svojine) kao i razlike između komercijalnih i akademskih centara (Tabela 4.26).

Tabela 4.26: Utemeljenje rezultata u podacima: Otvorenost i saradnja u industriji (eng. *Industry openness*).

<p>INDUSTRY OPENNESS:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>- “It was [there] but it's gradually closing, because it's now serious. There's now real dollars at the other end [for example] cut a \$1.7 billion deal. That's deadly serious. There will be more and more tightening of security. Researchers will be asked, more and more, not to talk and not to publish. It's a nature of a new, evolving industry. It's been wide open and lots of the academics will continue and attempt to keep it wide open. But because of the mega dollars involved there will be more and more tighter restraints and I expect less and less information to be available.” [CTE03]</li><li>- “In Europe and the US, we would call it a clinical study, we would call it research, maybe a clinical trial, but definitely not a stem cell therapy... in Europe and the US, we would not call it a stem cell therapy.” [CTE10]</li><li>- “Sharing information in the field...I think by those who are responsible, yes. I think there's a big difference between the groups that use peer review publications and standard mechanisms to communicate their results, sharing their information at a conference et cetera. Compared to these groups that operate under the radar that don't go to the international meetings, that don't publish their results. That it's not really clear how many patients they're treating, what they're treating them with and doing appropriate pre and post screening on the patients to really see if there's a result.” [CTE20]</li><li>- “It's such a global community that people are very much still in the mode of sharing what they know and what they've learned and collaborating; that's actually been one very positive side of not having much investment and much involvement from big groups, is that people had to collaborate. They had to get out there and find somebody on the other side of the planet that they could work with and they were free to do so because they weren't hemmed in by IP clauses with their pharmaceutical partner – it's just been very collaborative and very rapidly growing because of that.” [CTE23]</li></ul>
--

Oznake za učesnike u istraživanju: CTE01 - CTE24.



U procesu prikupljanja i analize podataka bila je interesantna tranzicija izdvojenih tema i kategorija, koje u procesu analize nastaju od uopštenih mišljenja o industriji i njenom trenutnom stanju do visoko specifičnih i usko stručnih detalja vezanih za dati projekat. Intervjui su se uglavnom odvijali od opštih primedbi o razvoju, produkciji i upotrebi novih terapeutika baziranih na primeni ćelija i tkiva (bioloških lekova), različite terminologije i različitih namena (uz detaljne preglede projekata, organizacija, starteških pristupa ili detaljnih struktura koje u njima učestvuju). Zatim bi se diskusija ponovo preusmerila na opšta razmatranja, komentare ili mišljenja o stanju u datoj oblasti – kao što je već prezentovano u mnoštvu izloženih rezultata.

Ova komparativna analiza, iako sa relativno malim brojem učesnika, predstavlja doprinos u sagledavanju problematike razvoja ćelijskih terapija kao oblasti (neki od učesnika se nisu složili sa upotrebom termina ‘industrija’). Ona omogućuje određene generalizacije, ali uglavnom otvara niz pitanja na koja bi tek trebalo da se nadju odgovori. Teško je izvršiti poredjenje sa postojećim studijama jer do sada nije bilo sličnih podataka u literaturi. Dok bi buduća istraživanja možda mogla da ponude jasniju perspektivu i specifičniji fokus - ova analiza već započinje taj proces postavljajući pitanja, identifikujući problematiku i nudeći određene praktične modalitete.

Ipak, možda najznačajniji presek dosadašnjeg i budućeg razvoja oblasti daje sledeća izjava jednog od svetskih stručnjaka:

*“There are just issues across everything and there just aren't any easy solutions to any of them. It's going to be a lot of work and I think people were very optimistic early in the days of stem cells [research] that we were going to be in the clinic in a couple of years, that was just grossly naive. People have got to be patient, there aren't going to be any quick solutions.” [CTE21]*

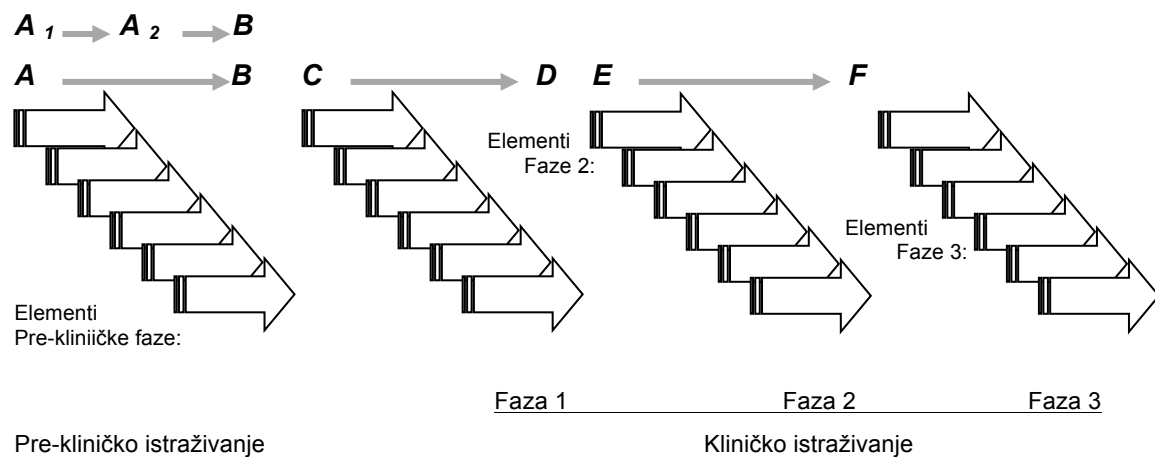
## 4.5 Komparativna analiza 5: Modelovanje pristupa i rešenja u svrhu predvidjanja i planiranja

Rezultati prethodne analize u određenoj meri prezentuju praktična rešenja ali ne i sistemska rešenja u datoj oblasti. U tom smislu je moguće ponuditi neke pojednostavljene teorijske modele kao što su *horizontalni* i *hijerarhijski* pristup razvoju *procesa* izrade ćelijskih terapija.

Fokus razmatranja praktičnih i teorijskih rešenja jeste na *PROCESU* jer bioterapeutska sredstva (uključujući ćelijske terapije) neizbežno podležu klasičnoj postavci *DIZAJN PRODUKT-PROCES-SPECIFIKACIJA* (eng. *design product, process, specification*) – koja se često svodi na jednostavniji oblik *PROCES JESTE PRODUKT* (eng. *process equals product*) (Copmann, 2001; Webster, 2003; Rader, 2008). Ova paradigma razvojnih postupaka bioprocenovanja odgovara osnovnim *CMC* aspektima (eng. *chemistry, manufacturing, control, CMC*) na kojima počivaju osnove Dobre proizvodjačke prakse (eng. *Good Manufacturing Practice, GMP*) u biofarmaceutskoj industriji.

### 4.5.1 Teorijski model 1

Horizontalni model (Slika 4.16) se danas primenjuje u većini projekata, gde u svojoj linearnoj postavci, ne može da obezbedi adekvatno predviđanje, planiranje i upotrebu resursa. U horizontalnom modelu nema zajedničke osnove između faza, kao što je na primer slučaj u hijerarhijskom modelu (Slika 4.17). Horizontalni model odlikuje diskretna raspodela resursa koja onemogućava standardizaciju procesa kao i dugoročno planiranje. Ovakav model omogućava da se projekti u svakoj, manje ili više nezavisnoj fazi, vode kao fragmentisan niz događaja (od A do B) pri tome započinjući proces iz početka za svaku individualnu fazu (npr. od A do B, od E do F) ili njen deo (od A<sub>1</sub> do A<sub>2</sub>). Ograničena finansijska sredstva često uslovljavaju ovakav razvoj projekata, što posredno dovodi do većeg utroška sredstava i manje efikasnosti.

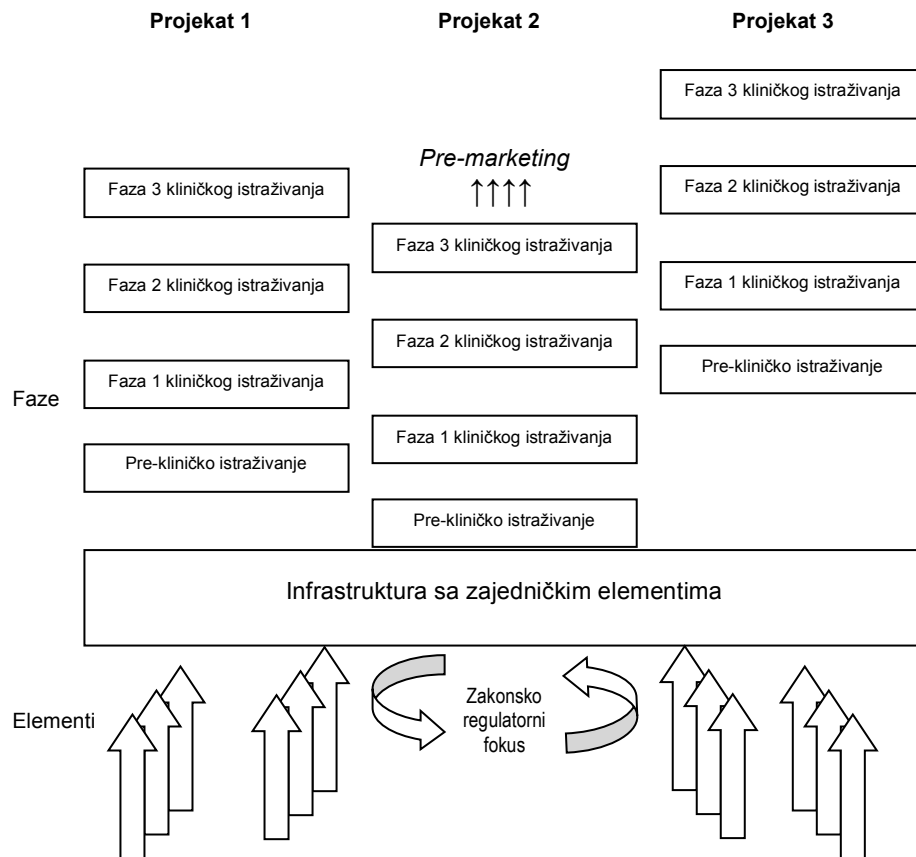


Slika 4.16: Horizontalni model izrade bio-terapeutika sa 'standardnim' pristupom (elementi i faze).

Na primer, ako su određeni elementi obezbedjeni u jednoj od prethodnih faza razvoja, isti ili slični elementi će morati da se obezbede nezavisno u nekoj od kasnijih faza (pri tome iziskujući dodatna finansijska sredstva i vreme za optimizaciju, validaciju ili re-validaciju). Horizontalni model nije pogodan za implementaciju i/ili poštovanje strogih zakonsko regulatornih odredbi u procesu izrade bioterapeutskih sredstava. Ne obezbeđuje jasnu stratešku odrednicu, nema zakonsko regulatorni tim koji će u kontinuitetu da proprati razvojne faze kao ni mogućnost da više projekata koristi zajedničke usluge ili istu komponentu u procesu izrade (npr. logistiku/transport i skladištenje u kontrolisanim uslovima ili testiranje u akreditovanoj laboratoriji).

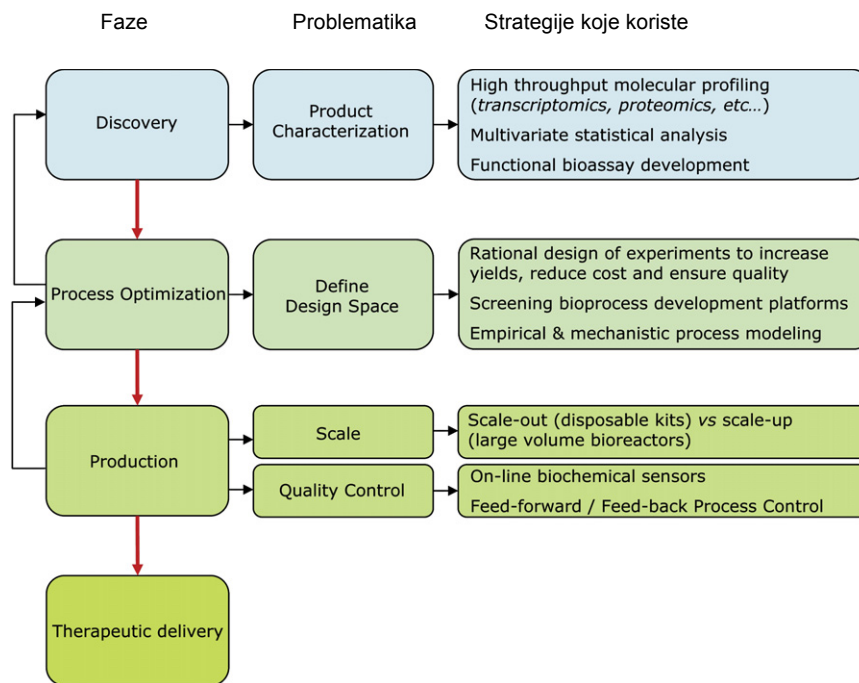
#### 4.5.2 Teorijski model 2

Hijerarhijski model, za razliku od horizontalnog, ima strukturu koja omogućuje kontinuitet, fokus i efikasniju upotrebu resursa. U ovakvom modelu izrade bioterapeutika moguće je izvoditi nekoliko projekata u različitim razvojnim fazama uz optimalnu potrošnju sredstava i u optimalnom vremenskom intervalu. Međutim, ni ovaj teorijski model nije u stanju da omogući adekvatno modelovanje visoko složenog procesa razvoja ćelijskih terapija bioterapeutika (Slika 4.18).



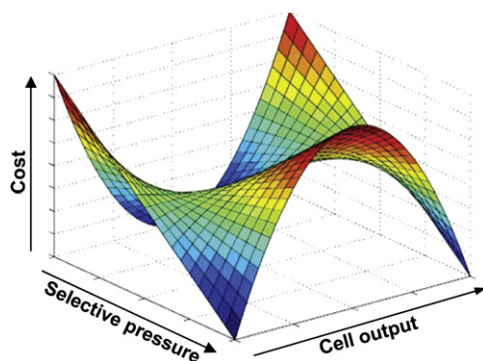
Slika 4.17: Hijerarhijski model organizacije i izrade (elementi i faze).

Odredjena multidimenizionalnost i složenost procesa prikazana je na modelu iz literature (Slika 4.19). Ipak, svi prikazani modeli su drastično pojednostavljena reprezentacija realnosti ovakvih projekata, kompleksnih nelinearnih procesa koji ih čine (Slika 4.18), multidimenzionalnih optimizacija ovih procesa (Slika 4.19) kao i njihove osetljivosti na dinamiku unutrašnjih faktora (Slika 4.20) i spoljašnje uticaje. U tu svrhu su u daljem tekstu navedena neka dodatna razmatranja koja bi mogla da doprinesu smernicama u budućim istraživanjima.



Adaptirano iz: Kirouac & Zandstra, 2008.

Slika 4.18: Dijagram procesa razvoja ćelijskih terapija/bioterapeutskih sredstava i osnovne faze: otkriće, optimizacija, produkcija i isporuka. Faze mogu međusobno da se preklapaju i nisu u potpunosti jednosmerne (npr. u toku procesa optimizacije mogu nastati nova otkrića).

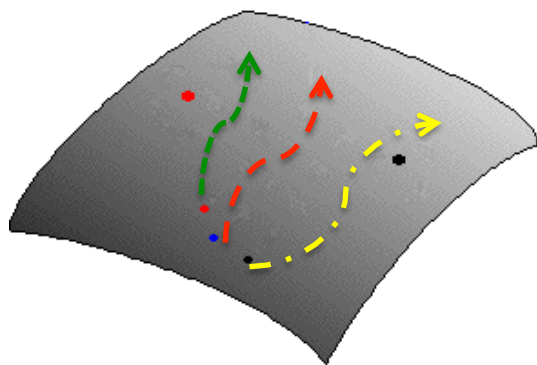


Slika 4.19: Multidimenzionalna optimizacija procesa izrade ćelijskih terapija/bioterapeutskih sredstava sa prikazom višeznačnih (ponekad kontradiktornih) 'izlaza' koji se očekuju (npr. smanjenje troškova uz maksimalni kvalitet ili količinu ćelijskih terapija kao produkta) a koji su uslovljeni ne-linearnim 'ulaznim' parametrima (eng. 'design space'). Pri tome se u teorijskom smislu definiše 'response surface' koji je predstavljen obojenom zakrivljenom površinom.

Adaptirano iz: Kirouac & Zandstra, 2008.

Teorija haosa (eng. *chaos theory*) za čijeg osnivača se smatra matematičar Benoît B. Mandelbrot, 1924–2010 (Mandelbrot, 1977) nalazi svoje mesto u nizu teorijskih razmatranja i nekim praktičnim primenama u matematici, fizici, biološkim i drugim naukama, u nastojanju da otkrije strukturu i zakonitosti u aperiodičnim, nepredvidivim dinamičkim sistemima – kao što su kretanja čestica, formiranje oblaka ili oscilacije u broju i strukturi bioloških populacija. Iako se ovi 'haotični' sistemi

donekle mogu aproksimirati određenim matematičkim funkcijama, teorija haosa ilustruje zašto je teško predvideti njihovo dugoročno ponašanje (Mandelbrot, 1977; Hofstadter, 1985; Strang, 1986; Gleick, 1987; Devaney & Keen, 1989; Stewart, 1997). Linearna analiza koja se primenjuje u klasičnim matematičkim modelima uzima u obzir određeni stepen uredjenosti koji se retko može naći u prirodi – tako da je u ovom nastojanju da se otkriju regularnosti, neuredjenost sistema bila dugo zanemarena.



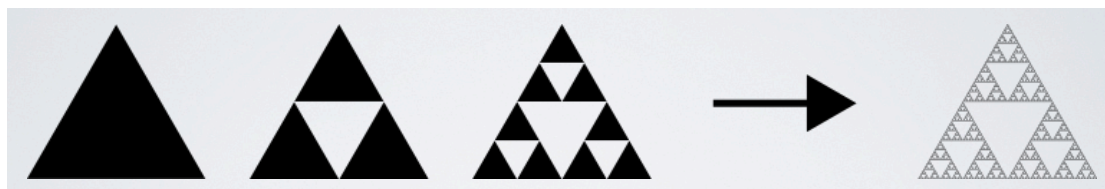
Adaptirano iz: <http://www.duke.edu/~mjd/chaos.html>

Slika 4.20: Ilustracija nepredvidivosti dugoročnog predviđanja u neuredjenim sistemima usled fenomena nazvanog '*sensitive dependence*' – gde male razlike u polaznom stanju mogu da dovedu do značajnih kvalitativnih razlika u ishodima pri tome onemogućujući adekvatno predviđanje u dugoročnom smislu.

Što je sistem složeniji, postoji veća šansa za neuredjenost odnosno 'haos'. To je zato što postoji više šansi za poremećaj uredjenosti koje prete stabilnosti sistema (Mandelbrot, 1977; Hofstadter, 1985; Strang, 1986; Gleick, 1987; Devaney & Keen, 1989; Stewart, 1997). Čak ni elementi koji čine ovakav sistem nisu statični i 'konačni'. Jedno od teorijskih razmatranja blisko teoriji haosa, geometrija fraktala (eng. *geometry of fractals*), objašnjava prirodu i strukturu fraktala (sastavnih elemenata sistema); pri tome navodi da i najmanje promene u njihovoj inicijalnoj vrednosti mogu u velikoj meri da utiču na krajnje ishode/ stanja u sistemu (Mandelbrot, 1977; Hofstadter, 1985; Strang, 1986; Gleick, 1987; Devaney & Keen, 1989; Stewart, 1997).

Složenost fraktala je uporedno proporcionalna rezoluciji njihove analize. Dimenzija fraktala se meri stepenom povećanja njihove strukturalne složenosti koja

prati porast skale ili rezolucije njihove analize (Slika 4.21). Dakle, fraktalna dimenzija služi i kao mera kompleksnosti (Mandelbrot, 1977; Hofstadter, 1985; Strang, 1986; Gleick, 1987; Devaney & Keen, 1989; Stewart, 1997).



Adaptirano iz: Kantz & Schreiber, 2001.

Slika 4.21: Primer fraktalne dimenzije (eng. *Sierpinski gasket*).

Značajna definicija u primeni teorije haosa ovde je navedena kao ilustracija kompleksnosti koju aproksimira: 'haos je neprekidna i neuredjena evolucija koja zadovoljava određene matematičke zakonitosti i koja se odvija u determinističkim nelinearnim sistemima' (Mandelbrot, 1977; Hofstadter, 1985; Strang, 1986; Gleick, 1987; Devaney & Keen, 1989; Stewart, 1997).

U svrhu modelovanja neuredjenih sistema, konstruisani su brojni nelinearni deterministički dinamički modeli, od strane autora kao što su M. Feigenbaum, J. Yorke, E. Lorenz, G.W. Flake; u novije vreme autori kao što su J. Gleick, I. Stewart, A.A. Tsonis, D.N. Chorafas i drugi, koji nastoje da otkriju i prikažu nepredvidiva ponašanja ili objasne različite primene postojećih modela baziranih na teoriji haosa (Mandelbrot, 1977; Hofstadter, 1985; Strang, 1986; Gleick, 1987; Devaney & Keen, 1989; Stewart, 1997).

Budući da pomenuti procesi u bioprocesovanju tj. izradi ćelijskih terapija/ bioterapeutika, nisu linearni po svojoj prirodi, da su kompleksni (gde male razlike u njihovoj osnovnoj konfiguraciji i/ili vrednosti mogu dovesti do kvalitativno različitih ishoda) i da su ovi procesi osetljivi na oscilacije u okolini, kao i da počivaju na još složenijim nelinearnim biološkim sistemima – dalja razmatranja njihovog razvoja, planiranja i predviđanja bi, u nekom od budućih istraživanja, mogla da primene teoriju haosa i matematičke modele koji se baziraju na njoj.

### 4.5.3 Praktični model: evaluacija kliničke metode

Za razliku od teorijskog modelovanja koje uglavnom potvrđuje nepredvidivost sistema u kome se odvija bioprocesovanje, praktično modelovanje procesa izrade ćelijskih terapija (ili jednog dela tog procesa) može da obezbedi značajan aspekt za njihov razvoj i kvalitet, posebno u procesu evaluacija/ validacije tehnika i pristupa.

U ovom poglavlju je prikazano praktično modelovanje, kroz statističku obradu podataka, kliničkog procesa prikupljanja mobilizovanih matičnih/progenitorskih ćelija iz periferne krvi aferezom.

Matične/progenitorske ćelije iz periferne krvi mogu biti prikupljene aferezom od alogenih ili autolognih davalaca. Cilj procedure je da se sakupi odgovarajući broj CD34<sup>+</sup> ćelija po kilogramu telesne težine davaoca. Faktori koji utiču na prinos ćelija u proceduri uključuju telesnu težinu davaoca, koncentraciju CD34<sup>+</sup> ćelija u perifernoj krvi, zapreminu procesovane krvi i efikasnost kliničke procedure afereze (Trickett *et al.*, 2001; Chepovetsky *et al.*, 2013).

Praktično modelovanje i evaluacija kliničke procedure je uključilo uzorak od 111 kliničkih procedura obavljenih u periodu od dve godine (Tabela 4.27). Cilj evaluacije je bio da se utvrdi efikasnost kliničke procedure afereze i da se uspostavi korelacija sa podacima u literaturi (Trickett *et al.*, 2001; Chepovetsky *et al.*, 2013).

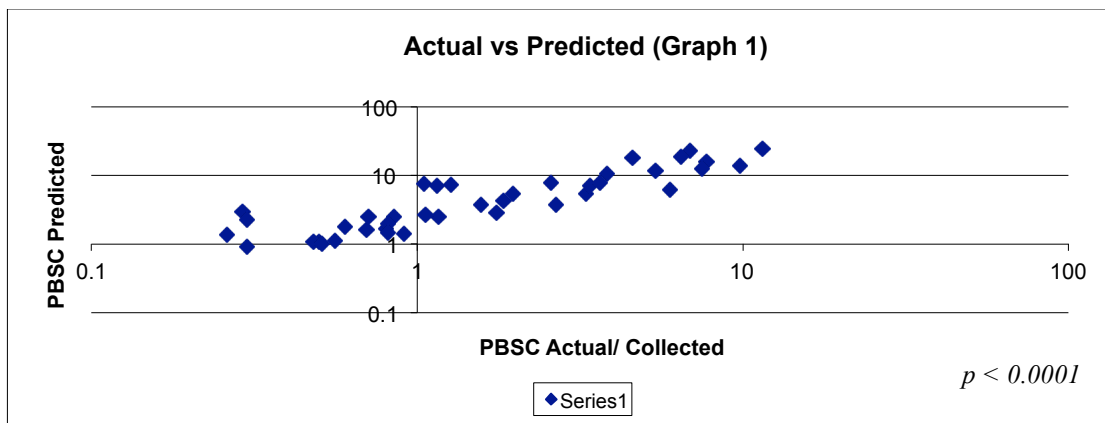
Rezultati analize vezani za efikasnost kliničke procedure afereze pokazali su da je broj prikupljenih CD34<sup>+</sup> ćelija bio preko  $2 \times 10^6$  ćelija u 58 od 111 procedura (>50%).

Korelacija između očekivanog i prikupljenog broja ćelija je grafički predstavljena na Slici 4.22, 4.23 i 4.24 (u okviru tri različite serije analiziranih podataka) dok se ostali rezultati evaluacije nalaze u Tabeli 2.28. Takođe je pokazano da su rezultati evaluacije u skladu sa literaturnim podacima (Trickett *et al.*, 2001; Chepovetsky *et al.*, 2013).

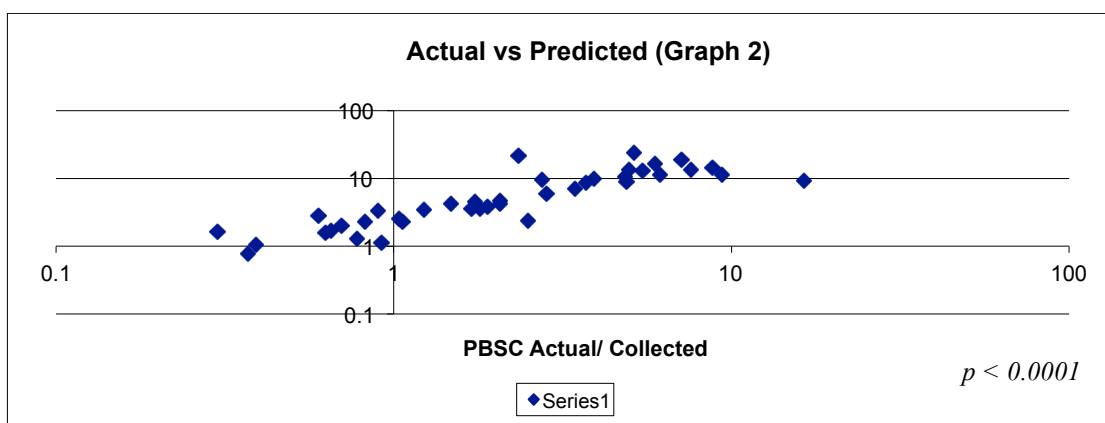


Tabela 4.27: Podaci za uspostavljanje korelacije izmedju broja prikupljenih ćelija (x) i očekivanog broja ćelija (y) u 111 kliničkih procedura afereze obavljenih u periodu od dve godine.

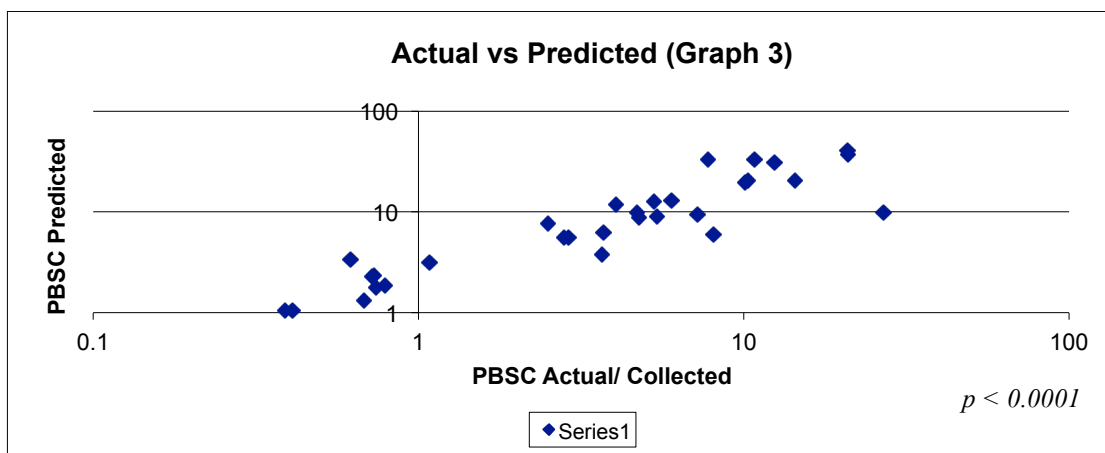
Series 1 (Graph 1)		Series 1 (Graph 2)		Series 1 (Graph 3)	
Actual (x) Collected CD34/kg	Predicted (y) Score CD34	Actual (x) Collected CD34/kg	Predicted (y) Score CD34	Actual (x) Collected CD34/kg	Predicted (y) Score CD34
3.3	5.411764706	16.43	9.236923077	10.78	33.3
2.67	3.764705882	1.06	2.269090909	7.76	33.3
1.75	2.882352941	0.65	1.701818182	0.73	2.368536585
2.57	7.764705882	0.7	1.985454545	0.41	1.052682927
1.27	7.341176471	0.92	1.134545455	0.39	1.052682927
1.05	7.647058824	0.82	2.269090909	2.5	7.71875
1.15	6.988235294	0.6	2.836363636	2.89	5.566819277
0.5	1.090836364	5.16	24.40120482	0.62	3.363738462
0.7	1.636363636	9.39	11.34939759	4.04	11.874
0.48	1.090909091	5.46	13	5.3	12.696
1.57	3.783928571	7.12	18.72	5.99	13.01821667
4.57	17.83285714	3.92	9.88	8.09	6.015737705
0.71	2.514285714	0.78	1.3	14.4	20.65022951
3.4	7.182333333	0.63	1.56	3.67	3.747890625
7.73	15.99296296	0.37	0.78	26.92	9.852272727
1.16	2.536363636	2.83	6	0.74	1.74890625
1.84	4.363636364	3.72	8.7	0.72	2.257734375
1.97	5.454545455	5.94	16.2	0.68	1.314912281
1.06	2.727272727	1.23	3.502333333	0.79	1.856842105
0.85	2.469272727	3.43	7.004666667	1.08	3.096491228
0.6	1.799552239	7.59	13.509	2.8	5.526285714
0.3	0.899776119	8.8	14.4	5.4	9.016571429
0.26	1.3512	1.04	2.538823529	4.7	9.7
6.89	22.70185185	1.7	3.554352941	10.09	19.27395349
5.39	11.62777778	1.74	4.569882353	10.31	20.28837209
3.81	10.52037037	1.8	3.554352941	20.94	36.63204819
0.29	2.946428571	2.34	21.17142857	12.44	31.07875862
5.98	6.24	4.98	13.2	7.2	9.359714286
0.8	1.69	2.75	9.6	4.75	8.722658537
0.81	2.001333333	0.39	1.04	20.8	40.37142857
0.51	1.000666667	1.9	3.831578947	3.7	6.146341463
0.3	2.2515	0.9	3.284210526		
0.81	1.501	0.3	1.642105263		
3.64	7.8	2.06	4.740740741		
9.8	14.04	2.06	4.148148148		
6.44	18.72	1.48	4.148148148		
7.5	12.87785714	6.15	11.4		
0.91	1.418181818	2.5	2.371621622		
0.56	1.134545455	4.9	8.959459459		
11.48	24.75	4.85	10.54054054		



Slika 4.22: Rezultat statističke obrade podataka (eng. *Spearman rank correlation*) za uspostavljanje korelacije između broja prikupljenih ćelija i očekivanog broja ćelija (Graph 1).



Slika 4.23: Rezultat statističke obrade podataka (eng. *Spearman rank correlation*) za uspostavljanje korelacije između broja prikupljenih ćelija i očekivanog broja ćelija (Graph 2).



Slika 4.24: Rezultat statističke obrade podataka (eng. *Spearman rank correlation*) za uspostavljanje korelacije između broja prikupljenih ćelija i očekivanog broja ćelija (Graph 3).

Tabela 4.28: Rezultati statističke obrade podataka i korelacije između broja prikupljenih ćelija (x) i očekivanog broja ćelija (y) u 111 kliničkih procedura afereze obavljenih u periodu od dve godine.

Rezultat tri serije analiziranih podataka			Srednja efikasnost procedure (n=111)
Graph 1 (Slika 4.22)	$r = 0.8937$	$p < 0.0001$	57%
Graph 2 (Slika 4.23)	$r = 0.8989$	$p < 0.0001$	
Graph 3 (Slika 4.24)	$r = 0.9084$	$p < 0.0001$	

Ovde je značajno napomenuti da su u okviru prethodnih teorijskih razmatranja, osnovni postulati bili *geometrija sistema*, mera njegove *neuredjenosti* i oscilacije tih istih parametara – dok se u praktičnom modelu kao osnovni parametar razmatra broj okarakterisanih ćelija odnosno *numerička vrednost*.

Dakle, u oba pristupa, teorijskom i praktičnom, posmatra se *dinamika sistema* kao osnova njegove karakterizacije. Međutim, tehnike i aparati koji se koriste u svakoj analizi (modelovanju) se kvalitativno razlikuju – geometrija i mera neuredjenosti sistema vs. numerička vrednost biološke promenljive tj. broja okarakterisanih ćelija.

Takodje, ako se uzmu u obzir glavne odrednice u *teorijskom razmatranju* kao što je, na primer, geometrija fraktala (kao sastavnih elemenata sistema), one mogu ali ne moraju da budu indikator dinamike sistema – iako se smatra da utiču na nju. Istinski pokazatelj stanja sistema su *oscilacije različitih parametara* u njemu. Slično tome, u praktičnom modelu koji u osnovi razmatra jedan kompleksan i relativno neuredjen biološki sistem, broj okarakterisanih ćelija (koje su sastavni deo sistema i imaju svoju specifičnu geometriju, što ih posredno dovodi u vezu sa geometrijom fraktala), posmatrana numerička vrednost istih okarakterisanih ćelija konvergira ka svom biološkom optimumu i oscilira u datom fiziološkom opsegu usled uticaja različitih unutrašnjih i spoljašnjih faktora – upravo kao kod drugih nelinearnih dinamičkih sistema koje razmatra teorija haosa.

## 4.6 Diskusija

Započela je nova era u razvoju nauke (Atala, 2013; Atala, 2012; Klein 2012; Daley *et al.*, 2003) koja nudi mogućnost da obnavlja i regeneriše ljudske ćelije i tkiva (Trounson, 2009). Odvija se već neko vreme, nudi ogromne mogućnosti ali postavlja mnoga pitanja i dileme (*The Quest Resumes, Time*, Feb 9 2009, A. Park; Finkel, 2005).

Naučno tehnološki razvoj koji je prethodio ovome, i koji se još uvek odvija nesmanjenim tempom, omogućava da se pomeraju granice ljudskih saznanja u istraživačkim laboratorijama širom sveta (Atala, 2012; Trounson *et al.*, 2011).

Prateće tehnologije na sličan način i uz isto toliko novih saznanja nude svoju podršku i ubiraju plodove ove tehnološke ekspanzije (Godlman, 1978; Reiffers, 1988; Eaves, 1992; Perseghin, 1997; Haylock, 1997; Roddie, 2002; Mimeault, 2006).

Kliničko bolnički centri i istraživački instituti su mesta gde se odvija tiho i nezaustavljivo stremljenje ka izlečenju mnogih nedostataka, oboljenja i deformiteta (Serke, 1997; Balint, 1999; Hubel, 2001; Sartor, 2005; Hubel, 2006; Parkins, 2006; Rowley, 2009; McDonnell *et al.*, 2008a; McDonnell *et al.*, 2008b).

Odvijaju se brojna klinička istraživanja (Trounson *et al.*, 2011; Daley *et al.*, 2003; Daley, 2008). Nastaju novi zakonski propisi koji pokušavaju da prate, pomognu ali i kontrolišu način, ne samo primene novih znanja, već i sprovođenje istraživanja koja vode do njih (Burger, 2000; Serke, 2001; Burger, 2003a; FDA, 2004<sup>^</sup>; Halme, 2006; Areman, 2009; Ilic, 2012). Naučna i šira javnost, uz aktivno učešće medija, svakodnevno govori o značajnim otkrićima i time se njihove nade i očekivanja od ovog novog polja nauke svakim danom uvećavaju.

---

<sup>^</sup> FDA Guidance for industry: PAT - A framework for innovative pharmaceutical development, manufacturing, and quality assurance, 2004.

Uložena su ogromna finansijska sredstva od strane javnih fondova za razvoj nauke, kao i privatnih investitora i korporacija širom sveta. Sve razvijene države u svetu danas odvajaju jedan značajan deo svog nacionalnog dohotka da bi stekle ili sačuvale svoje mesto u ovom razvojnom procesu.

Jasno je da se ovde, u osnovi, radi o *primeni matičnih i drugih ćelija* koje se proteklih nekoliko decenija, u manjoj ili većoj meri, sve više istražuju – tako da danas već možemo da govorimo o *sektoru* ili *industriji ćelijskih terapija*. Ipak, čini se da rezultati tolikog rada i ulaganja još uvek ne mogu da se mere sa nastojanjima i očekivanjima.

Pojednostavljeno rečeno, primena ćelijskih terapija uključuje prikupljanje, obradu i čuvanje različitih tipova ćelija kao novih terapeutskih sredstava (Burger, 2003b; Wall, 2003; Prince, 2004). Ovo svrstava ćelijske terapije, ne samo u oblast biofarmaceutskih<sup>¶</sup> nauka i izrade bioterapeutika<sup>^</sup> (eng. *biotherapeutics or biopharmaceuticals*) (Parson, 2008; Kayser & Warzecha, 2012; Handfield, 2012) – već i srodnih zakonsko regulatornih naučnih oblasti<sup>⌘</sup> (eng. *regulatory science*) (Burger, 2003b; Wall, 2003; Pamphilon, 2004; Dutton, 2007; Marwaha, 2007; Ilic, 2012a; Ilic 2012b).

Za sektor ćelijskih terapija (eng. *cell or cellular therapies*) se još uvek smatra da je u svojoj ranoj razvojnoj fazi (eng. '*infancy*') – posebno u smislu šire kliničke primene<sup>\*</sup> i komercijalizacije (Mansbridge, 2006; Dutton & Scharer, 2007; Santos et al., 2013; Kirouac & Zandstra, 2008; Locke *at al.*, 2011).

---

<sup>^</sup> FDA Guidance for industry: PAT - A framework for innovative pharmaceutical development, manufacturing, and quality assurance, 2004.

<sup>\*</sup> To thwart disease, apply now (Editorial). *Nature*, **453** 7197 (2008).

<sup>⌘</sup> Advancing Regulatory Science at FDA, Strategic Plan: August 2011. Food and Drug Administration U.S. Department of Health and Human Services. & Implementing the European Medicines Agency's Road map to 2015: The Agency's contribution to Science, Medicine, Health – From Vision to Reality. 6 October 2011 EMA/MB/550544/2011.

<sup>¶</sup> The financing of biopharmaceutical product development in Europe, Final Report. European Commission, Enterprise and Industry, October 2009.

Za ovo se navode mnogi *naučno tehnološki, zakonsko regulatorni, organizacioni, strateški* razlozi – koji su svi delimično razmatrani u ovom istraživanju, kao i složeni ekonomski i etički razlozi kojima se ova doktorska disertacija nije bavila.

Iz tog razloga je, u svrhu sagledavanja dela problematike razvoja ćelijskih terapija, ovo istraživanje usmereno na više ciljeva. Od njega se očekuje da svojim rezultatima posredno ili neposredno *doprinese razvoju novih terapijskih pristupa u kliničkoj praksi*. U određenoj meri, ovo je moguće ostvariti kroz odgovarajuće *protokole za laboratorijsku izradu i kliničku primenu* ćelijskih terapija (Mason & Dunnill, 2008; Mooney, 2008), uz primenu *procesa i sistema koji uzimaju u obzir složene zakonske regulative* i primenjuju ih na transfer tehnologija i znanja (Slaper-Cortenbach, 2008), uz analizu i sintezu *novih organizacionih modela* (Rader, 2008) kao i adekvatnu upotrebu *teorijskih i praktičnih modela u svrhu planiranja i predviđanja* (Trounson *et al.*, 2012).

Smatra se da je sve ovo neophodno za dalji razvoj ćelijskih terapija kako na lokalnom tako i na globalom nivou (Preti, 2005; Buckler, 2009; Bradley & Cairo, 2005).

Ovo istraživanje takođe doprinosi razvoju naučne misli u oblasti. Očekuje se da u određenoj meri nadomesti nedostatak literature u okviru istraživanja procesa i dinamike *nove biomedicinske i biofarmaceutske discipline* sa svim njenim specifičnostima<sup>¶</sup> (Atala, 2012; Rader, 2008). Do sada korišćeni modeli izrade i primene ćelijskih terapija bili su uglavnom bazirani na biotehnološkoj i farmaceutskoj industriji (Parson, 2008; Handfield, 2012).

---

<sup>¶</sup>The financing of biopharmaceutical product development in Europe, Final Report. European Commission, Enterprise and Industry, October 2009.

Postoji niz naučno tehnoloških izazova koji, za sada, ostaju bez odgovora (Joshi, 2003; Burra, 2011; Jing *et al.*, 2010; Song *et al.*, 2010; Wagner *et al.*, 2008; Wagner *et al.*, 2007; Wein *et al.*, 2010).

Na primer, stabilnost i isplativost dugoročnih ćelijskih linija, kontrola i primena ekspanzije ćelija *in vitro*, način primene i praćenje efekata i ponašanja ćelija *in vivo*, dugoročni efekti ovih terapija, odbacivanje ili gubitak ćelija u organizmu nakon terapijskih primena – da pomenemo samo neke (Bertoncello *et al.*, 1988; Bertoncello and Williams, 2004; Goodell *et al.*, 1996; Li & Johnson, 1995; Schroeder, 2010; Wognum *et al.*, 2003).

Bazična istraživanja nude deo odgovora kroz mnoštvo svojih pristupa, dok se klinička istraživanja, koja su rizična, skupa i složena, sporo odvijaju ili daju samo deo neophodnih podataka za dalji razvoj. Uprkos sprovođenju velikog broja kliničkih projekata (eng. *clinical trials*) u proteklih nekoliko godina, još uvek se smatra da smo između pet i deset godina 'daleko' od neophodnih podataka (pre svega u smislu efikasnosti i kliničke opravdanosti) (Tournson, 2009; Finkel, 2005). Danas se sve više smatra da će biti potrebno veoma mnogo vremena da se *zaista dokaže efikasnost* novih naprednih terapija (matičnim i drugim ćelijama) u poredjenju sa drugim terapijskim pristupima (Blau, 2013; Tournson, 2009; Tournson *et al.*, 2012; Fox, 2007). U smislu novih pravaca tehnološkog razvoja, dominira razvoj kombinovanih produkata baziranih na ćelijskim terapijama uz primenu nosača (eng. *scaffolds*) (Saif *et al.*, 2010) i medicinskih naprava/pomagala (eng. *medical devices*) kao i primena biorobotike, automatizacije i 3-D bioreaktora (Dos Santos *et al.*, 2013; Naing & Williams, 2011). Takodje se razvijaju nove tehnologije u istraživanju i proizvodnji (eng. *upstream processing*)<sup>†</sup> uz tehnologije za prpratne sisteme i testiranja, analitičke metode, karakterizaciju i kvantifikaciju u procesu proizvodnje bioloških lekova (eng. *downstream processing*)<sup>^</sup>.

† [www.dhhs.gov/reference/newfuture.shtml](http://www.dhhs.gov/reference/newfuture.shtml)

¶ [www.ey.com](http://www.ey.com)

^ [www.biopharminternational.com](http://www.biopharminternational.com)

Iako su neki od bioloških lekova (npr. monoklonalna antitela) bili prethodno regulisani od strane regulatornih agencija, biološki produkti koji se baziraju na transplantaciji ćelija i tkiva bili su, istorijski gledano i iz više razloga, isključeni iz okvira ovih regulativa (Burger, 2003b; Halme, 2006; Ilic *et al.*, 2012a; Ilic *et al.*, 2012b). Uprkos tome, danas se smatra da je neophodno da se grupa bioloških terapeutika baziranih na transplantaciji ćelija i tkiva takodje reguliše.

Istovremeno, poznato je da tradicionalni sistemi kvaliteta usvojeni iz farmaceutske industrije nisu najpogodniji za ovu svrhu; budući da su ovi bioterapeutici složeniji i teži za identifikaciju kao i da podležu specifičnim, veoma složenim procesima prikupljanja, izrade i primene (Burger, 2003a; Halme, 2006; Kirouac & Zandstra, 2008; Ilic *et al.*, 2012a; Ilic *et al.*, 2012b).

Ova nova razmatranja uslovljena rapidnim razvojem naučnih istraživanja kao i višeznačna uloga regulatornih agencija (razmatrana u prethodnom poglavlju) doveli su do formiranja novih, složenih regulatornih okvira koji se primenjuju u sferi razvoja bioloških lekova baziranih na transplantaciji ćelija i tkiva. Pri tome se formira inovativni sektor biofarmaceutskih proizvoda ‘koji postaje jedan od najintenzivnijih istraživačkih sektora sa ogromnim potencijalom da obezbedi nove lekove i napredak medicine u budućnosti’ (eng. “*has become one of the most research-intensive sectors with a great potential for delivering innovative human medicines in the future*”)<sup>§</sup>.

Modeli i modaliteti usmereni na *razvoj zakonskih regulativa*, koji uključuju jasno definisane i sveobuhvatne složene sisteme kvaliteta, pokazali su se kao održivi pristup i kao preduslov za uspešne projekte u izradi i primeni ćelijskih terapija na globalnom nivou (Lowes, 2010; Sukkar, 2011, Ilic *et al.*, 2012a; Ilic *et al.*, 2012b). Regulatorna i zakonodavna tela širom sveta još uvek nisu u mogućnosti da formiraju jasan stav u odnosu na mnoge od novih terapija, što kreira osećaj nesigurnosti u industriji u smislu poslovnih rizika i očekivanja.

<sup>§</sup>The financing of biopharmaceutical product development in Europe, Final Report. European Commission, Enterprise and Industry, October 2009. ISBN 978-92-79-14055-6.



Sa druge strane, sa zakonsko regulatornog aspekta, očekuje se da se izradi i primeni ćelijskih terapija pristupi na isti način kao i proizvodnji drugih terapijskih sredstava u farmaceutskoj industriji - kako uključujući odgovarajuće fizičko okruženje, tako i laboratorijske procedure obuhvaćene složenim sistemima kvaliteta u skladu sa propisanim zakonskim regulativama.

Dakle, ovde se radi o dijametralno suprotnom polazištu između dva glavna učesnika u procesu – novog naučnog sektora tj. industrije i zakonsko regulatornog tela.

### *Organizaciono finansijski izazovi*

Većina autora se slaže da će ishodi razvoja novih terapijskih pristupa u ovoj oblasti u krajnjoj instanci zavisiti od adekvatno kontrolisanih, *organizaciono finansijski održivih* modela (Mansbridge, 2006; Weber, 2006; Kirouac, 2008; Areman, 2009).

U ovom procesu ‘sazrevanja’ organizacionih modela često dolazi do promene (eng. *shift*) iz prve razvojne faze tzv. dobrovoljnog udruživanja znanja i veština u okviru projekta (eng. *volunteer-based project*), koji su usmereni na samo jedan odredjeni projekat i čija glavna obeležja predstavljaju osnivanje (eng. *foundation*) i saradnja među učesnicima (eng. *collaboration*) – u drugu fazu koju karakteriše partnerski odnos (Quinn & Cameron, 1983; Maslow, 1998; Weick & Quinn, 1999). Partnerski odnos odlikuju jedinstvo pristupa (eng. *synergy*) i tendencija specijalizacije (gde svaki partner, pojedinac ili organizaciona jedinica, obavlja svoj deo projekta).

---

\* Food and Drug Administration, FDA: <http://www.fda.gov> ; Therapeutic Goods Administration, TGA: <http://www.tga.gov.au>  
European Medicine Agency, EMA: <http://www.ema.europa.eu>

^ The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH), Available from URL: <http://www.ich.org>

# What is Regulatory Science? The Institute for Regulatory Science, USA: [www.nars.org/whatis](http://www.nars.org/whatis)

Pri tome se ne razmenjuju novčana sredstva među partnerima, a troškovi se uglavnom ravnopravno dele. U trećoj fazi, koja sledi partnerski odnos, formira se polje zajedničkog upravljanja projektom (eng. *shared governance*), pri čemu se ostvaruje određeno pozicioniranje (eng. *positioning*) svakog od učesnika (bilo da su u pitanju pojedinci, organizacione jedinice ili čitave organizacije/institucije) i započinje rast (eng. *growth*), odnosno počinje da se ostvaruje manja finansijska dobit (najučestaliji primer su projekti finansirani od strane vladinih agencija ili drugih eksternih tela kao što su regionalni fondovi razvoja). U završnoj, četvrtoj fazi, formira se nezavisna organizaciona ili institucionalna jedinica (eng. *independent entity*) koja može biti u vidu nove organizacione jedinice u okviru iste institucije (eng. *department*) ili potpuno nezavisne komercijalne kompanije (eng. *biotech start-up*). Ovu fazu karakterišu tendencija ka ostvarivanju sopstvenog identiteta (eng. *recognition*) i ka ostvarivanju zarade (eng. *profit*) (Quinn & Cameron, 1983; Maslow, 1998; Weick & Quinn, 1999).

Osnovno obeležje celokupnog razvojnog procesa je 'pomeraj' (eng. *shift*) – iz stanja bez strukture (eng. *volunteer-based stage*) u stanje bez inovacije (eng. *institutional stage*). Između njih se nalazi čitav spektar prelaznih 'stanja' u zavisnosti od razvojne faze i specifičnih uslova za svaki projekat.

Pomenute faze mogu da se preklapaju, da se određeni projekti kreću između njih, pri tome se kraće ili duže zadržavajući u određenoj fazi (Quinn & Cameron, 1983; Maslow, 1998; Weick & Quinn, 1999). Neki od ovih projekata nikada ne predju u narednu fazu razvoja već ostanu na istom nivou neko vreme, ugase se ili ih nadomeste novi, veći projekti. Takav poredak utiče na ishode mnogih početnih translatornih istraživanja u oblasti ćelijskih odnosno naprednih terapija, pri čemu se najteži zadatak nalazi u njihovoj selekciji – šta podržati kroz organizaciono finansiranje ili kroz razvojne fondove? – i u modalitetima njihovog razvoja – kako pružiti adekvatnu podršku?

Ovo je danas prepoznato kao najveća prepreka između translacije rezultata bazičnih istraživanja u kliničke istraživačke projekte koja se u literaturi naziva eng. *translational research gap* (Woolf, 2008; Marincola, 2003; Kong & Segre, 2010).

## *Strateško planiranje i predviđanje (modelovanje)*

Deo strateškog planiranja i predviđanja u sektoru ćelijskih terapija trebalo bi da se odvija uz primenu *teorijskog i praktičnog modelovanja*. Nekim od ranijih studija ustanovljeno je, na primeru jednostavnih modela, kako se odvijaju faze razvoja i bioprocesi izrade ćelijskih bioterapeutika (Kirouac & Zandstra, 2008) ili njihova primena u (linearnom sistemu) translacionih istraživanja (Preti, 2005). Prikazana je multidimenzionalna optimizacija procesa izrade ćelijskih terapija/bioterapeutskih sredstava sa prikazom višeznačnih (ponekad kontradiktornih) 'izlaza' koji se očekuju (npr. smanjenje troškova uz maksimalni kvalitet ili količinu ćelijskih terapija kao produkta) a koji su uslovljeni ne-linearnim 'ulaznim' parametrima (eng. 'design space') (Kirouac & Zandstra, 2008). Pri tome se u teorijskom smislu definiše eng. *response surface* koji je predstavljen obojenom zakrivljenom površinom.

Međutim, uglavnom je nedostajao adekvatan pristup da se sagleda nivo kompleksnosti ovih procesa (koji je višekomponentan i slojevit). Rezultati ove doktorske disertacije delimično su rasvetlili ta pitanja dovodeći u vezu teorije za razmatranje visoko složenih dinamičkih sistema i njihove geometrije tj. strukture. U smislu modelovanja dinamičkih sistema, trebalo bi planirati nastavak istraživanja, uzimajući u obzir sve specifičnosti procesa izrade ćelijskih terapija (kao grupe bioterapeutskih sredstava). Značajno je da su u okviru teorijskih razmatranja u ovom istraživanju osnovni postulati bili *geometrija sistema, mera njegove neuredjenosti i oscilacije tih istih parametara* – dok se u praktičnom modelu kao osnovni parametar razmatrao broj okarakterisanih ćelija odnosno numerička vrednost.

Dakle, u oba pristupa, teorijskom i praktičnom, posmatrana je *dinamika sistema* kao osnova njegove karakterizacije. Međutim, tehnike i aparati koji se koriste u svakoj analizi (modelovanju) se kvalitativno razlikuju – geometrija i mera neuredjenosti sistema vs. numerička vrednost biološke promenljive tj. broja okarakterisanih ćelija. Takodje, ako se uzmu u obzir glavne odrednice u teorijskom razmatranju kao što je na primer, geometrija fraktala (kao sastavnih elemenata sistema), one mogu ali ne moraju da budu indikator dinamike sistema – iako se smatra da utiču na nju. Istinski pokazatelj stanja dinamičkog sistema su oscilacije različitih parametara u njemu. Shodno tome, buduća strateška razmatranja i planiranja u ovoj

obalsti trebalo bi jednim delom da se baziraju na primeni modelovanja dinamičkih sistema.

### *Finansijski izazovi*

*Finansijski aspekt* celokupnog razvoja sektora ćelijskih terapija se ne može zanemariti iz više razloga. Pre svega, značajna finansijska sredstva su neophodna za sam razvoj (usled skupih tehnologija), neophodan je visoko stručan kadar (što takodje iziskuje značajna sredstva), prateće tehnologije u dijagnostici i praćenju kliničkih primena su skupe, a u trenutku kada dodje do njihove šire primene, očekuje se da će troškovi ovakvih terapija biti veoma visoki sa aspekta zdravstvene zaštite (Klein, 2012).

Regenerativna medicina, kao i njen deo koji se zasniva na ćelijskim terapijama, se smatra novim poglavljem u medicinskim naukama jer u praktičnom smislu objedinjuje znanja iz skoro svih naučnih disciplina do sada<sup>¶</sup>. Osim očiglednih razloga u medicinskom smislu, regenerativna medicina ima ogroman ekonomski značaj.

Na primer, u proteklih nekoliko godina SAD, na godišnjem nivou, troši oko 13% ukupnog domaćeg proizvoda (eng. *Gross Domestic Product, GDP*) na zdravstvo<sup>¶</sup>. Do 2040. godine se očekuje da će populacija osoba preko 65 godina života u SAD-u dostići 70 miliona<sup>¶</sup>. Na taj način će, smatra se, potrošnja na zdravstvo u SAD-u dostići 25% ukupnog domaćeg proizvoda<sup>¶</sup>. Japan, Evropska zajednica, Kina i Australija nedavno su započele različite zasebne inicijative za unapredjenje razvoja regenerativne medicine i ćelijskih terapija<sup>¶</sup>. Ovo je postala jedna od osnovnih postavki strateškog razvoja u mnogim državama koje dugoročno planiraju svoja ulaganja i time obezbeđuju budući razvoj ove važne oblasti<sup>¶</sup>.

<sup>¶</sup> [www.dhhs.gov/reference/newfuture.shtml](http://www.dhhs.gov/reference/newfuture.shtml)  
<sup>^</sup> [www.biopharminternational.com](http://www.biopharminternational.com)

<sup>¶¶</sup> [www.ey.com](http://www.ey.com)

Globalno tržište farmaceutskih sredstava je poraslo sa \$693.7 milijardi USD u 2007. godini na očekivanih blizu \$1 trilion USD <sup>¶</sup>. Ipak, velike farmaceutske kompanije trenutno imaju problem sa razvojem novih terapijskih sredstava širom sveta <sup>¶</sup>. Njihov interes za datu oblast bioterapeutika je značajno porastao jer se u ovom trenutku 50% svih novih medicinskih sredstava u procesu razvoja – zasniva na biotehnološkim pristupima <sup>¶</sup>.

Dakle, šira primena ćelijskih terapija kao načina lečenja će umnogome zavisiti od izvora finansiranja za zdravstvenu zaštitu, bilo da su u pitanju javna finansiranja ili privatno zdravstveno osiguranje (Klein, 2012; Trounson *et al.*, 2012; Parson, 2008; Pisano, 2006). Da bi se ovakav (novi) model zdravstvene zaštite uopšte uspostavio (uzimajući pri tom u obzir nove napredne terapije), potrebno je da se demonstrira njihova efikasnost, bezbednost upotrebe ali i finansijska isplativost u odnosu na postojeće tzv. standardne terapijske pristupe (Chapman & Sonnenberg, 2000). Osim toga, potrebno je da se obezbede opšti ekonomski uslovi za to.

Skoro je izvesno da će se ovakva promena prvo desiti u oblastima gde uopšte ne postoje adekvatni terapijski modaliteti, kao što su neka neurodegenerativna oboljenja (na primer demencija ili Parkinsonova bolest) ili u lečenju akutnih povreda.

Primena novih terapija će biti bazirana na finansijskoj isplativosti dugoročnih modela i modaliteta u zdravstvenoj zaštiti, uzimajući u obzir trend starenja populacije u razvijenim zemljama kao i tendencije koje pokazuju grupe dominantnih oboljenja u njima (npr. kardiovaskularna oboljenja, bolesti metabolizma ili neurodegenerativne bolesti).

---

<sup>¶</sup> [www.dhhs.gov/reference/newfuture.shtml](http://www.dhhs.gov/reference/newfuture.shtml)

<sup>¶</sup> [www.ey.com](http://www.ey.com)

<sup>^</sup> [www.biopharminternational.com](http://www.biopharminternational.com)

*Posredni rezultati* koji su već prepoznatljivi ili se očekuju u bližoj budućnosti, između ostalog uključuju: smanjen potencijal za širu primenu i komercijalizaciju ćelijskih terapija, relativno malo znanja i informisanosti o ovome u široj javnosti kao i nizak 'rating' celokupnog sektora u smislu privatnih finansijskih ulaganja na globalnom nivou. Ako se tome doda da intelektualna svojina ovog sektora leži uglavnom u istraživačkim univerzitetskim centrima i kliničkim institucijama, jasno je da model za *isplativu primenu* ovih terapija mora biti perfektno prezentovan da bi se privukao kapital privatnih investitora.

Uz rizike i neizvesnost koje ova oblast nosi u finansijskom smislu, postoji ceo niz drugih problematičnih aspekata kao što su nedostatak odgovarajuće infrastrukture (ili pristupa postojećoj infrastrukturi), nespремnost istraživača i lekara da udju u privatne kompanije, nedostatak adekvatno obučениh rukovodećih kadrova sa poznavanjem problematike oblasti i, još uvek nedovoljno podataka iz kontrolisanih rigorozno sprovedениh kliničkih istraživanja. Dok univerziteti do određene mere razvijaju svoje komercijalne pristupe u ovoj oblasti, bolnički centri i istraživački instituti još uvek nemaju mehanizme za to.

U ovom trenutku izgleda da se kapital uliva iz velikih farmaceutskih kompanija koje postepeno pokazuju interes za uspostavljanje novih terapijskih pristupa baziranih na primeni ćelija i drugih naprednih terapija kao grupe bioloških lekova (Kayser & Warzecha, 2012). Model se zasniva na uspostavljanju novih centara za ispitivanje lekova pri specijalizovanim grupama koje se bave istraživanjem ćelijskih terapija. Na primer *GlaxoSmithKline* je uložio US\$25 miliona dolara u Harvardski centar za matične ćelije još 2008. godine dok je u isto vreme *Pfizer* uložio US\$100 miliona u novi Centar za regenerativnu medicinu u Kembridžu ([www.pfizer.com](http://www.pfizer.com)). Najprodavaniji biološki lekovi su u proteklih dve do tri godine napravili ogroman finansijski uspeh tako da se očekuju dalja ulaganja velikih farmaceutskih korporacija u ovu vrstu istraživanja (Kayser & Warzecha, 2012).

Nedostatak adekvatno obučениh kadrova i infrastrukture, uz naučno tehnološke izazove i nedostatak podataka i kliničkih parametara (ili diskutabilan

kvalitet postojećih kliničkih podataka) ostaju kao najveći problemi u razvoju sektora (Klein, 2012).

Neposredni rezultati višeznačne – *naučno tehnološke, zakonsko regulatorne, organizacione, strateške*, ekonomske i etičke, složenosti su u ovom trenutku prepoznati na svim nivoima. Manje ili više se razmatraju od nivoa malih i srednjih projekata, preko korporacijskih sistema do državnih i regionalnih inicijativa (Klein, 2012; Trounson, 2009; Daley & Scadden, 2008; Kirouac & Zandstra, 2008).

Usled svih kompleksnosti i prepreka u sadašnjem i anticipiranom razvoju oblasti, logično je postaviti dva pitanja – koji su razvojni pravci i kako ih ostvariti. Postoji više značajnih primera, od kojih će ovde biti pomenuti samo nekoliko – eng. *Disease Teams* i *Alpha Stem Cell* klinike, virtuelni GMP modeli, planiranje 'unazad' i personalizovana medicina uz 4Ps pristup.

*Nova rešenja*

*'Disease Team' i 'The Alpha Stem Cell Clinic'*

Modeli kao što su eng. *Disease Team* (Klein, 2012) i eng. *The Alpha Stem Cell Clinic* (Trounson *et al.*, 2012) proizašli su iz CIRM (eng. *California Institute for Regenerative Medicine*) inicijativa u SAD-u i njihovih modela za finansiranje translatorskih istraživanja.

Za model nazvan *Disease Teams* je predviđeno da integriše sve neophodne aspekte u translaciji terapijskog kandidata (specifičnog ćelijskog proizvoda) da bi se taj proizvod našao u fazi kliničkih istraživanja u periodu od četiri godine. To znači da bi u tom periodu, proizvod od interesa trebalo da bude u prvoj ili drugoj fazi kliničkih istraživanja (Klein, 2012). Za ovu svrhu su predviđena sredstva i do \$20USD miliona dolara po projektu, a od istraživača se zahteva da obezbede svoj tim koji će raditi na projektu. Timski pristup je najvažniji aspekt ovog modela a finansiranje je obezbeđeno od strane privatnih investitora (Klein, 2012). U okviru plasiranja ovog

modela i njegove prezentacije naučnoj javnosti, naglašava se značaj: edukacije šire javnosti, uloge medija u ovom procesu kao i činjenice da se u svetu trenutno dešava 'revolucija matičnih ćelija' (Klein, 2012).

Predviđa se da će model koji se naziva *The Alpha Stem Cell Clinic* ispuniti osnovne tri funkcije u procesu razvoja ćelijskih terapija. U to spadaju – sprovođenje kliničkih istraživanja, procena novog ćelijskog proizvoda (pre svega se misli na bezbednost i efikasnost terapije), kao i obezbeđenje pristupa ovim terapijama za pacijente (Trounson *et al.*, 2012). Pacijenti koji bi imali pristup ovim klinikama bili bi grupisani prema kategoriji u odnosu na *nivo razvijenosti terapija* koje im se nude. Od pacijenata koji nemaju bilo kakve druge terapijske opcije (stoga im se nudi eksperimentalna terapija) do pacijenata kojima su potrebni standardni terapijski pristupi (eng. *standard of care treatment*) koje bi platilo njihovo zdravstveno osiguranje. Klinička istraživanja bi u okviru ovog modela bila nezavisno finansirana, tako da može da se posmatra kao umrežen system centara za klinička istraživanja (Trounson *et al.*, 2012). Ova inicijativa bi trebalo da bude finansirana iz javnih fondova, uz mogućnost da se deo troškova povрати kroz privatno zdravstveno osiguranje. Poslovni pristup u osnovi ove inicijative po svojoj strukturi podseća na primenjeni model za centre koji obezbeđuju vantelesnu oplodnju (eng. *IVF clinics*). Pri tome može da ponudi podršku projektima u dizajnu kliničkih istraživanja, kao i u prikupljanju dugoročnih podataka o pacijentima i ishodima njihovih terapija (što je do sada bio jedan od osnovnih nedostataka kliničkih istraživanja – nedovoljan broj pacijenata uz nedovoljno podataka vezanih za dugoročne efekte terapija) (Trounson *et al.*, 2012). Smatra se da će jedna od osnovnih uloga ove inicijative biti edukacija pacijenata, njihovih porodica i šire javnosti.

#### Virtuelni GMP model

Za razliku od prethodnih modela, *virtual GMP model* se ne odnosi na dizajn i izvođenje kliničkih istraživanja već na *izradu ćelijskih proizvoda*. Jednostavnost ovog modela leži u činjenici da se tim obučениh stručnjaka (operativnih i regulatornih kadrova) angažuje na projektu prema potrebi. Ovakav tim je obično iz veće institucije



ili iz kliničko bolničke ustanove koja se bavi izradom ćelijskih proizvoda. Iako je model dosta zastupljen na manjim projektima ne smatra se da je dugoročno isplativo u skladu sa GMP zahtevima. Osim toga, nije prethodno bio zastupljen u farmaceutskoj industriji ili u biotehnološkom sektoru (Preti, 2005). Ipak, uz ograničena finansijska sredstva može da pruži podršku razvoju eksperimentalnih terapija.

### Planiranje ‘unazad’

Jedna od inicijativa Nacionalnog instituta za zdravlje (eng. *National Institutes of Health, NIH*), agencije FDA i istraživača koji se bave ćelijskim terapijama uključuje seriju edukativnih seminara koja se upravo odvija. Među njima se u okviru razmatranja vezanih za translatorna istraživanja pluripotentnih ćelija, pojavila inicijativa tzv. planiranja ‘unazad’ (eng. *planning backward*) – pri čemu se, pre nego što osnovno istraživanje uopšte otpočne, ono planira uzimajući u obzir osnovne postulate koji će biti značajni tek u njegovim kasnijim translatornim fazama (Kleitman *et al.*, 2013). Posebna pažnja je posvećena parametrima testiranja (materijala i reagenasa koji se koriste, životinjskih modela, dizajna samog ćelijskog proizvoda, dizajna procesa izrade, vrste kontrola u tom procesu). Akcenat je na dizajnu kliničkih istraživanja putem dizajna osnovnih (bazičnih) i pre-kliničkih istraživanja koja im prethode.

### Personalizovana medicina i 4Ps pristup

Novi pristupi u medicinskim naukama uključuju model nazvan 4Ps (eng. *Personalized, Predictive, Preventive, Participatory*) (*Stanford Center for Genomics & Personalized Medicine* [www.stanford.edu](http://www.stanford.edu); Sadee & Dai, 2005; Hood, 2006; Martinez de Lecea & Rossbach, 2012; *An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes*). Smatra se da je ova promena uslovljena pojavom *nove nauke*

(Hood, 2002) kojom se naziva molekularna tehnologija uz druge integrisane nauke (*genomics*, IT, matematičko modelovanje, integracija podataka, *epigenetics*). Očekuje se da novi trendovi u pristupu definicijama bolesti i zdravlja, upotrebi *genomics*-a i njegovoj translaciji u kliničku praksu – uspostave nove postulate biomedicinskih istraživanja, bioterapeutskih sredstava, kao i da promene fokus sa lečenja na predviđanje i prevenciju (*Stanford Center for Genomics & Personalized Medicine* [www.stanford.edu](http://www.stanford.edu); Sadee & Dai, 2005; Hood, 2006; Martinez de Lecea & Rossbach, 2012; *An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes*). Smatra se da je osim naučno tehnološke zanosovanosti ovog pristupa najvažnija edukacija i multidisciplinarnost u budućim istraživanjima.

U literaturi se naglašava da su tendencije ka usko stručnoj specijalizaciji u visokom školstvu danas u svetu prepoznate kao mogući problem za obrazovanje budućih stručnjaka koji bi u svom obrazovanju dobili najviše od sinteze i integracije saznanja iz više različitih oblasti. Ovo se već prepoznaje u okviru novih naučnih disciplina kao što su, između ostalog, razvoj novih terapijskih pristupa, primena *genomics*-a, *proteomics*-a i personalizovane/ individualizovane medicine (eng. *genomics, proteomics & personalised medicine*). U nove multidisciplinarne oblasti spadaju još: hemijski bioinženjering, epigenetska istraživanja, razvoj medicinskih naprava i pomagala uz primenu bioinženjerstva, integracija informacione tehnologije, kao i procesni inženjering, regulatorni inženjering i druge discipline koje su trenutno u svojim ranim fazama razvoja.

Ovo istraživanje je obavljeno naučnim metodologijama koje se uobičajeno koriste u okviru medicine, socioloških razmatranja, istraživanja u psihologiji, pravnim i političkim naukama. Međutim, kontekst i konceptualna kompleksnost koju ono donosi razvoju egzaktnih nauka u oblasti bioterapeutskih sredstava, svrstava ga u red modernih multidisciplinarnih istraživanja čija ekspanzija se očekuje u 21. veku.

## 5. Zaključci

Na osnovu sveobuhvatne kvalitativne studije procesa, sistema i regulativa u nizu kliničkih projekata, ovaj rad nudi detaljan protokol izrade i primene više vrsta ćelijskih terapija kao nove grupe biofarmaceutskih sredstava (eng. *biopharmaceuticals*) tj. novonastale grupe bioloških lekova (eng. *biologic drugs*).

Uz pretragu literature u datoj oblasti razvoja i primene ćelijskih terapija u Evropi, Sjedinjenim Američkim Državama i Australiji, u disertaciji je izvršena sveobuhvatna karakterizacija zakonsko regulatornih modela, savremenih tokova u kliničkim istraživanjima u ovoj oblasti, kao i teorijskih i praktičnih modela u laboratorijskoj izradi i kliničkoj primeni matičnih ćelija i drugih vrsta ćelija u terapeutske svrhe.

### I

U prvom delu istraživanja izvršena je, manuelna i automatizovana (uz pomoć softverskog paketa *Leximancer*) analiza dokumenata i detaljan pregled zakonsko regulatornih modela u Evropi, Sjedinjenim Američkim Državama i Australiji – uključujući zakonske regulative za dobru proizvodjačku praksu, dobru kliničku praksu i druga zakonska dokumenta na najvišem nivou – koji se odnose na primenu matičnih ćelija i drugih vrsta ćelija kao nove generacije bioterapeutika tj. bioloških lekova.

- Odredjene su sličnosti i razlike medju zakonsko regulatornim modelima koji se odnose na primenu matičnih ćelija i drugih vrsta ćelija u terapeutske svrhe.
- Prikazana je i detaljno analizirana terminologija, centralne teme i koncepti zakonsko-regulatornih dokumenata na najvišem nivou.
- Pokazano je da, iako svaki regulatorni model ima sopstvenu terminologiju i koncepte, postoji zajednički fokus na kvalitet, bezbednost i efikasnost krajnjeg

*proizvoda* koji predstavlja bioterapeutsko sredstvo nove generacije tj. biološki lek.

- Takodje je pokazano da razlike medju regulatornim agencijama, u formalnom smislu, postoje kroz najviše zakonsko regulatorne odredbe koje u ovoj analizi reprezentuju dati zakonski okvir za svaku od njih.

## II

Analizirana je globalna baza podataka kliničko istraživačkih projekata baziranih na primeni matičnih ćelija i drugih vrsta ćelija u terapeutske svrhe u regionima Evrope, Sjedinjenih Američkih Država, Australije i drugih delova sveta, prema kategorijama, geografskom regionu i tipu ćelijskih terapija koje se primenjuju.

Na osnovu dobijenih rezultata:

- Utvrđen je broj ukupnih kliničkih istraživanja u datom periodu.
- Prikazani su statistički podaci prema tipu ćelijskih terapija od interesa, prema geografskom regionu i ključnim terminima.
- Ukazano je na značajan porast broja i opsega kliničkih istraživanja u oblasti ćelijskih terapija.
- Pokazano je da postoje određeni trendovi u kliničko istraživačkim projektima – uglavnom zasnovani na određenom tipu ćelija koje se u tom trenutku koriste kao nova bioterapeutska sredstva tj. biološki lekovi od interesa.

## III

Metodologijom komparativne analize serije uzoraka (eng. *case study*) u trećoj komparativnoj studiji prikazani su:

- a) Detaljni laboratorijski protokoli izrade matičnih ćelija i drugih ćelijskih terapija,

- Minimalno manipulirane ćelije koje se koriste kao terapijska sredstva i čiji proces proizvodnje uključuje samo zamrzavanje i čuvanje istih, namenjene za transplantaciju istom pacijentu (eng. *autologous use*); bez upotrebe kombinovanih proizvoda (npr. obogaćivanja bilo kakvim proteinskim ili drugim agensima), bez dokazanog sistemskog efekta tj. sa visoko-specifičnim terapijskim efektom (eng. *homogenous use*), kao što je proizvodnja i transplantacija matičnih ćelija hematopoeze izolovanih iz periferne krvi a namenjenih obnavljanju hematopoeze.
- Visoko-manulirane ćelije koje se koriste kao terapijska sredstva, a čiji proces proizvodnje uključuje:
  - kulturu ćelija (eng. *ex vivo expansion*), kao što je proizvodnja i transplantacija adultnih mezenhimskih matičnih/stromalnih ćelija (eng. *mesenchymal stem cells, MSC*) izolovanih iz placente, namenjenih za upotrebu u različitim kliničkim indikacijama.
  - obogaćivanje (eng. *loading*) različitim proteinskim ili drugim agensima, kao što je proizvodnja i transplantacija antigen-prezentujućih dendritičnih ćelija (eng. *dendritic cells, DC*) izolovanih iz krvi pacijenta upotrebom ćelijske separacije aferezom (eng. *leukapheresis*) i obogaćenih rekombinovanim proteinskim produktima, namenjenih za anti-tumorske terapije.

b) Primena matičnih ćelija i drugih ćelijskih terapija (klinički pristup) za:

- Rutinsku kliničku primenu - izrada i primena minimalno manipuliranih ćelija: umnožavanje i klinička primena hematopoetskih ćelija iz periferne krvi;
- Primenu u istraživačke svrhe - izrada i primena visoko manipuliranih ćelija: umnožavanje i klinička primena dendritičnih ćelija u anti-tumor terapiji;
- Istraživačke svrhe i za širu kliničku primenu (eng. *'off-the-shelf'*) - izrada i primena visoko manipuliranih ćelija: umnožavanje i primena mezenhimskih matičnih/stromalnih ćelija za različite kliničke primene i klinička istraživanja.

#### IV

U četvrtoj komparativnoj studiji uporednom analizom postojećih laboratorijsko-organizacionih modela:

- Analizirana su tri održiva modela, koji su se do sada pokazali kao finansijski i zakonski prihvatljivi, a koji se odnose na izradu matičnih ćelija i drugih vrsta ćelija kao nove generacije bioterapeutskih sredstava.
- Predloženi modeli mogu biti primenjeni kako u okviru akademskih institucija, tako i u okviru komercijalnih jedinica pri velikim akademskim ili kliničkim institucijama, ili u nezavisnim komercijalnim kompanijama (eng. *biotech*).

U okviru iste studije izvršena je fenomenološka/tematska analiza i analiza sadržaja transkripta intervjua sa 24 svetska stručnjaka koji su ili direktno uključeni u izradu ćelijskih terapija za kliničku primenu, ili učestvuju u drugim oblastima razvoja bazičnih i kliničko-primenljivih bioloških i medicinskih istraživanja, bioetike i strateškog razvoja ćelijskih terapija za kliničku primenu.

Procenjeni su značajni aspekti i date su preporuke za praktična rešenja i uspešan razvoj projekata u relativno novoj i veoma kompleksnoj oblasti izrade novih generacija bioloških lekova.

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da ne postoji jedan univerzalan model koji bi u potpunosti zadovoljio potrebe izrade ćelijskih terapija ali su opisana tri praktična modela od značaja za dalji razvoj i primenu ove grupe bioterapeutskih sredstava.

## V

Uz primenu teorijskog i praktičnog modelovanja razvijena su dva teorijska modela koji, u završnom delu istraživanja, nude mogućnost teorijskih razmatranja, planiranja, predviđanja (eng. *forecasting*) i projektovanja vezanog za budući razvoj ove naučne oblasti; takodje je razvijen jedan praktični model evaluacije kliničke metode koji je dostupan za primenu u novim projektima.

Analizom teorija modelovanja i analizom praktičnih primera date su osnove za dalja istraživanja modelovanja biosistema i može se zaključiti da se u oba pristupa, teorijskom i praktičnom, posmatra *dinamika sistema* kao osnova njegove karakterizacije. Takodje, ako se uzmu u obzir glavne odrednice u *teorijskom razmatranju* kao što je na primer, geometrija fraktala (kao sastavnih elemenata sistema), one mogu ali ne moraju da budu indikator dinamike sistema – iako se smatra da utiču na nju. Istinski pokazatelj stanja sistema su *oscilacije različitih parametara* u njemu. Slično tome, u praktičnom modelu koji u osnovi razmatra jedan kompleksan i relativno neuredjen biološki sistem, broj okarakterisanih ćelija (koje su sastavni deo sistema i imaju svoju specifičnu geometriju, što ih posredno dovodi u vezu sa geometrijom fraktala), posmatrana numerička vrednost istih okarakterisanih ćelija konvergira ka svom biološkom optimumu i oscilira u datom fiziološkom opsegu usled uticaja različitih unutrašnjih i spoljašnjih faktora – upravo kao kod drugih nelinearnih dinamičkih sistema koje razmatra teorija haosa.

## 6. Literatura

Atala A. The Journal of Tomorrow is a Reality Today (Editorial). *Stem Cell Translational Medicine* 2013;2:1-2.

Atala A. A New Era in Stem Cells Translational Medicine (Editorial). *Stem Cell Translational Medicine* 2012;1:1-2.

Anderson M., FDA abandons Declaration of Helsinki for international clinical trials. *Social Medicine Portal*, 1 June 2008.

An integrated map of genomic variation from 1,092 human genomes, The 1000 Genomes Project Consortium. *Nature* 2012;491: 56-65.

Areman E.M. (Ed.) (2009), *Cellular Therapy: Principles, Methods, and Regulations*. AABB, Bethesda, Maryland (USA).

Armstrong P. (2001) *Science, Enterprise and Profit: Ideology in the Knowledge-driven economy*; Vol.30, No.4. *Economy and Society* (USA).

Australian Life Scientist. Trial failures a setback to stem cell therapies. Sep 21, 2009.

Baech J. et al, Technical aspects and clinical impact of hematopoietic progenitor subset quantification. *Stem Cells*, 2000, 18:76-86.

Bailey KD, *Methods of Social Research*, 2nd edn, New York, USA: Free Press; 1982.

Baggers J., G. Ratzinger, J. W. Young, Dendritic Cells as Immunologic Adjuvants for the Treatment of Cancer. *Journal of Clinical Oncology* 2000, 18(23): 3879 – 3882.

Baker SC, Gallois C, Driedger SM et al. Communication accommodation and managing musculoskeletal disorders: doctors' and patients' perspectives. *Health communication*, 26(4) (2011), pp. 379 -388.

Balint B., Z. Ivanovic, M. Petakov, J. Taseski, G. Jovcic, N. Stojanovic, P. Milenkovic, The cryopreservation protocol optimal for progenitor recovery is not optimal for preservation of marrow repopulating ability. *Bone Marrow Transplantation* 1999; 23:613-619.

Balint B. (1999), *Hemomodulatorni mehanizmi i terapijski pristupi*. Zavod za udzbenike i nastavna sredstva. Beograd, Srbija.

Balint B. (2001), *Od hemoterapije do hemomodulacije*. Zavod za udzbenike i nastavna sredstva. Beograd, Srbija.

Balint B. (2004), *Transfuziologija*. Zavod za udzbenike i nastavna sredstva. Beograd, Srbija.

Balint B., Pavlović M. Stem cells – Biology, Harvesting, Extracorporeal purification and some aspects of their clinical application. *Bilt Transfuziol* 2006;52(2-3):2-10.

Barlow S, Brooke G, Chatterjee K, Price G, Pelekanos R, Rossetti T, et al. Comparison of Human Placenta- and Bone Marrow-Derived Multipotent Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells and Development* 2008; 17(6):1095-1108.

Berry MF, Engler AJ, Woo YJ, Pirolli TJ, Bish LT, Jayasankar V, et al. Mesenchymal Stem Cell Injection After Myocardial Infarction Improves Myocardial Compliance. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 290:H2196-H2203.

Bender J.G. et al, Characterization of chemotherapy mobilized peripheral blood progenitor cells for use in autologous stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1992, 10:281-285.



- Bjornson C.R.R. et al., Turning brain into blood: A haematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo. *Science* 1999; 283: 534.
- Bradford G.B. et al., Quiescence, cycling and turnover in the primitive hematopoietic cell compartment, *Exp Hematol* 1997; 25: 445.
- Bourgoin AF. What you need to know about the follow-on biologic market in the U.S.: Implications, Strategies and Impact. White Paper, January 2011. Thomson Reuters.
- Brooke G., T. Rossetti, R. Pelekanos, N. Ilic, P. Murray, S. Hancock, V. Antonenas, H. Gillian, D. Gottlieb, K. Bradstock, K. Atkinson, Manufacturing of human placenta-derived mesenchymal stem cells for clinical trials. *British Journal of Haematology*, 2009; vol 144, 4: 571-579.
- Brooke G., T. Rossetti, N. Ilic, P. Murray, S. Hancock, R. Pelekanos, K. Atkinson, Points to consider in designing MSC-based clinical trials. *Journal Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 2008; 35: 279-285.
- Brooke G, Tong H, Levesque JP, Atkinson K. Molecular trafficking mechanisms of multipotent mesenchymal stem cells derived from human bone marrow and placenta. *Stem Cells Dev* 2008a; 17:1039-41.
- Brooke G, Rossetti T, Pelekanos R, Ilic N, Murray P, Hancock S, et al. Manufacturing of human placenta-derived mesenchymal stem cells for clinical trials *Brit J Haem* 2008b; 144:571-579.
- Buckler, L (2009), *Cell Therapies, Opportunities in Regenerative Medicine*, BioProcess International, Vol. 9, No. S1, March 2011, pp. 14–19.
- Burra P, Bizzaro D, Ciccocioppo R, Marra F, Piscaglia AC, Porretti L, et al. Therapeutic application of stem cells in gastroenterology: An up-date. *World J Gastroenterol* 2011; 17(34):3870-3880.
- Burger S. R. Current regulatory issues in cell and tissue therapy, *Cytherapy* 2003(a); 5: 289-298.
- Burger S. R. CTP/GMP cell engineering for cell and gene therapies. *Bioprocessing J* 2003(b); 2:1-4.
- Cabré Castellví MT, Theories of terminology: their description, prescription and explanation. *Terminology*, 9 (2003), pp.
- Campagnoli C, Roberts IA, Kumar S, Bennett PR, Bellantuono I, Fisk NM. Identification of mesenchymal stem/progenitor cells in human first-trimester fetal blood, liver, and bone marrow. *Blood* 2001; 98:2396-2402.
- Caplan AI. Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine. *J Cell Physiol* 2007; 213:341–347.
- Chapman GB, Sonnenberg FA. *Decision Making in Health Care - Theory, Psychology and Applications*. Cambridge University Press 2000.
- Chepovetsky J. et al. Roles of Peripheral Blood CD34+ Cell Count and Midpoint Collection CD34+ Cell Yield for Peripheral Blood Stem Cell Collections from Autologous Patients Mobilized by G-CSF and Plerixafor. *North American J Med Sci*. 2013;6(2):63-70.
- Chin M.H. et al, Induced Pluripotent Stem Cells and Embryonic Stem Cells Are Distinguished by Gene Expression Signatures. *Cell Stem Cell* 2009, 5(1):111-123.
- Creswell JW, *Qualitative Inquiry & Research*, 2nd edn USA: Sage Publications; 2007. ISBN 978-1-4129-1607-3.
- Cretchley J, et al. Conversations between carers and people with schizophrenia: a qualitative analysis using leximancer. *Qualitative Health Research*, 20(12) (2010), pp.

- Currie G, Brown AD (2003). A narratological approach to understanding processes of organizing in a UK hospital. *Human Relations*, 56(5), 563–586.
- Daley GQ et al., Realistic Prospects for Stem Cell Therapeutics. *American Society of Hematology* 2003, 398-415.
- Daley GQ, Scadden DT, Prospects for Stem Cell-Based Therapy. *Cell* 2008;132:544-548.
- Deskins DL, Bastakoty D, Saraswati S, Shinar A, Holt GE, Young PP. Human Mesenchymal Stromal Cells: Identifying Assays to Predict Potency for Therapeutic Selection. *Stem Cells Translational Medicine* 2013, 2:151-158.
- Devaney R. L. & Keen L, eds. *Chaos and Fractals*, AMS, 1989.
- Dos Santos F.F., Andrade P.Z., Da Silva C.L., Cabral J.M. Bioreactor design for clinical-grade expansion of stem cells. *Biotechnology* 2013;8(6):644-654.
- Dutton R.J., J.M. Scharer, *Advanced technologies in biopharmaceutical processing*. 2007; Ames, Iowa; Blackwell Publishing Ltd.
- Eisenhardt, K. M. (1989). Building theories from case study research. *Academy of Management Review*, 14(4), 532-550.
- Eaves C.J. et al, The human hematopoietic stem cell in vitro and in vivo. *Blood Cells* 1992; 18:301-307.
- Evans M, Kaufman M., Establishment in culture of pluripotent cells from mouse embryos. *Nature* 1981; 292:154–6.
- Felber H, *Terminology Manual*. Paris: General Information Programme & UNISIST, UNESCO, Infoterm, Paris; 1984.
- Finkel E. (Ed.) (2005), *Stem Cells - Controversy at the frontiers of science*. ABC Books, Sydney, NSW (Australia).
- Fraenkel, J.R., & Wallen, N.E. (2006). *How to design and evaluate research in education*. New York: McGraw-Hill.
- Franken R. *Human motivation*, 2001, 5<sup>th</sup> Ed. Pacific Grove, CA:Brooks/Cole.
- Fox C. (2007), *Cell of Cells - The global race to capture and control the stem cells*. W.W. Northon & Company, New York, NY (USA).
- Gabriel Y (1998). *The Use of Stories*. In G. Symon & C. Cassell (Eds.), *Qualitative Methods and Analysis in Organizational Research*. London, Sage.
- Gamiche MC, Koteliansky VE, Briere J, Herve P, Chabord P. Stromal cells from human long-term marrow cultures are mesenchymal cells that differentiate following a vascular smooth muscle differentiation pathway. *Blood*, 82 (193), pp. 66-76.
- Gharibi B, Hughes FJ. Effects of Medium Supplements on Proliferation, Differentiation Potential, and In Vitro Expansion of Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cell Translational Medicine* 2012, 1:771-782.
- Gleick J, *Chaos*, Viking, 1987
- Grimbeek P, Bartlett B, Loke K. Using Leximancer to Identify Themes and Patterns in the Talk of Three High-distinction Students. *Educating: Weaving Research into Practice*. Conference Proceeding: International Conference on Cognition, Language, and Special Education Research, 2 (2004), ISBN 9781921166051, pp. 122-128.
- Goldman J.M., K.H. Th'ng, D.S. Park. A.S.D. Spoers, R.M. Lowenthal, T. Ruutu, Collection, cryopreservation and subsequent viability of haematopoietic stem cells intended for treatment of chronic granulocytic leukaemia in blast-cell transformation. *British Journal of Haematology* 1978; 40: 185-195.

- Grech MR, et al. Human error in maritime operations: Analyses of accidents reports using the Leximancer tool. Proceedings of Human Factor and Ergonomics Society 46<sup>th</sup> Annual Meeting, HFES, Baltimore, MD 2002.
- Heazlewood C, Cook M, Ilic N, Atkinson K. Exploring the Human Term Placenta as a Novel Source for Stem Cells and their Application in the Clinic. In: Zheng J (Ed.) Recent Advances in Research on the Human Placenta 1<sup>st</sup> ed. Rijeka: InTech 2012 p. 53-76.
- Halme D.G., D.A Kessler, FDA regulation of stem-cell-based therapies. N.Engl.J.Med. 2006; 355: 1730-1735.
- Hepworth N, Paxton, S J. Pathways to help-seeking in bulimia nervosa and binge eating problems: a concept mapping approach. The International journal of eating disorders, 40(6) (2007), ISSN 1098-108X , pp. 493-504.
- Hickey et al., Innate and adaptive immunity at mucosal surfaces of the female reproductive tract: stratification and integration of immune protection against the transmission of sexually transmitted infections. Journal of Reproductive Immunology 2011;88(2):185-194.
- Hofstadter DR, Metamagical Themes, Basic Books, Inc., 1985, Chapter 16.
- Hood LE, Galas DJ. P4 Medicine: personalized, Predictive, Preventive, Participatory –A Change of View that Changes Everything. Dec 2008. www.cra.org
- Hood LE. A Personal View of Molecular technology and How It Has Changed Biology. J Proteome Research 2002.
- Hubel A., Cryopreservation of HPCs for clinical use. Transfusion 2001; 41: 579-580.
- Hubel A., Preservation of cell-based products for human therapeutic application. Science & Technology 2006; 36-37.
- Handfield R. (Ed.) (2012), Biopharmaceutical Supply Chains. CRC Press Taylor & Francis Group, Florida (USA).
- Hay D. Ed. (2012), Regenerative Medicine, Stem Cells and the Liver. CRC Press Taylor & Francis Group, New York, NY (USA).
- Ilic N., Tasic Lj, et al. Conference Proceedings. Regulation of Medicines and Access to New Investigational Drugs: Cell Therapies, FIP PSWC 2010, New Orleans, USA.
- Ilic N at al. (2011) Manufacture of Clinical Grade Human Placenta-Derived Multipotent Mesenchymal Stromal Cells. In: Lucas CG, Vemuri MC, Rao M.S. (Ed.). Mesenchymal Stem Cell Assays and Applications 1<sup>st</sup> ed. Methods in Molecular Biology. Heidelberg: Springer-Humana Press, New York, NY (USA) 2011 p.89-106.
- Ilic N, Savic S, Siegel E, Atkinson K, Tasic Lj. Examination of the regulatory frameworks applicable to biologic drugs (including stem cells and their progeny) in Europe, USA and Australia: a method of manual documentary analysis (Part I). Stem Cells Transl Med 2012(a) 12:898-908.
- Ilic N, Savic S, Siegel E, Atkinson K, Tasic Lj. Examination of the regulatory frameworks applicable to biologic drugs (including stem cells and their progeny) in Europe, USA and Australia: a method of manual documentary analysis (Part II). Stem Cells Transl Med 2012(b) 12:909:920.
- Ilic N, Khalil D, Hancock S, Atkinson K. Regulatory Considerations Applicable to Manufacturing of Placenta-Derived Mesenchymal Stromal Cells (MSC) Used in Clinical Trials in Australia and Comparison to USA and European Regulatory Frameworks. In: Lucas CG, Vemuri MC (Ed.). Mesenchymal Stem Cell Therapy, 1<sup>st</sup> edition. Stem Cell Biology and Regenerative Medicine. Heidelberg: Springer-Humana Press, New York, NY (USA) 2013 p.373-404.

- Islam MN, Das SR, Emin MT, Wei M, Sun L, Westphalen K, et al. Mitochondrial transfer from bone-marrow-derived stromal cells to pulmonary alveoli protects against acute lung injury. *Nature Medicine* 2012; 18 (5):759-765.
- Joshi C., T. Enver, Molecular complexities of stem cells. *Curr. Opin. Hematol.* 2003; 10: 220-228.
- Kageura K, *The Dynamics of Terminology: A descriptive theory of term formation and terminological growth.* ISBN 90 272 2328 9. Amsterdam/Philadelphia: John Benjamins; 2002.
- Kantz H. & Schreiber T., *Nonlinear Time Series Analysis,* Cambridge University Press 2001.
- Kayser O., Warzecha H. (Ed.) (2012), *Pharmaceutical Biotechnology.* Wiley-Blackwell, Weinheim, Germany.
- Kirouac D.C. and P.W. Zandstra, The systematic production of cells for cell therapies. *Cell Stem Cell*, 3 (2008), pp.
- Klein R. A New Paradigm for Funding Medical Research. *Stem Cells Translational Medicine* 2012;1:3-5.
- Kleitman N et al., Pluripotent Stem Cells in Translation: A Food and Drug Administration – National Institutes of Health Collaboration. *Stem Cell Translational Medicine* 2013;2:483-487.
- Kong HH, Segre JA. Bridging the Translational Research Gap: A Successful Partnership Involving a Physician and a Basic Scientist. *Journal of Investigative Dermatology* 2010;130:1478–1480.
- Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, Reitsms M, Dohse M, Osborne L, Wang X, Finegold M, Weissman IL, Grompe M. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nature Medicine*, 6 (2000), pp. 1229-1234.
- Lee, A. S. (1989). A scientific methodology for MIS case studies. *MIS Quarterly*, 13(1), 33-52.
- Lemischka I., A few thoughts about the plasticity of stem cells. *Experimental Haematology*, 30 (2002), pp. 848-852.
- Locke M, Feisst V, Dunbar PR. Concise Review: Human Adipose-Derived Stem Cells: Separating Promise From Clinical Need. *Stem Cells* 2011; 29:404-411.
- Loke K, Bartlett B. What Distinguishes a Distinction? Perceptions of Quality Academic Performance and Strategies for Achieving It. *Reimagining Practice: Researching Change: Conference Proceeding International Conference on Cognition, Language, and Special Education 2003 (Vol.2),* ISBN 0909291861, pp. 175-182.
- Loh Y.H. et al, Generation of induced pluripotent stem cells from human blood. *Blood*, 2009, 113(22):5476-5479.
- Lowes R., FDA Vows to Bring Its “Regulatory Science” Into 21<sup>st</sup> Century. *Medscape Medical News*, October 2010.
- Magner, L. N., *A history of the life sciences.* Marcel Dekker 2002 (ISBN: 0-8247-0824-5).
- Mandelbrot B, *The Fractal Geometry of Nature,* W.H.Freeman and Co., NY, 1977.
- Stewart I, *Nature's Numbers,* Basic Books, 1997.
- Mansbridge J., Commercial considerations in tissue engineering. *J. Anat.* 2006; 209: 527-532.
- Martin NJ, et al. Profiling enterprise risks in large computer companies using the Leximancer software tool. *Risk Management*, 9 (2007), pp.

- Martin G., Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78:7634–8.
- Marincola FM. Translational Medicine: A two-way road. *Journal of Translational Medicine* 2003;1:1
- Martinez de Lecea MG, Rossbach M. Translational genomics in personalized medicine – scientific challenges en route to clinical practice. *The Hugo Journal* 2012;6:2.
- Mason C & Dunnill P (2008). A brief definition of regenerative medicine. *Regen Med* 3(1); 1-5.
- Maslow A, Lowery R (Ed.). *Toward a psychology of being* 3<sup>rd</sup> ed. 1998. New York: Wiley & Sons.
- Maxwell JA. *Qualitative Research Design*, 2nd edn, Sage Publications, USA, 2005. ISBN 0-7619-2608-9.
- McDonnell W., H. Mooraj, *Clinical Trial Supply Chains: A Look Ahead*, AMR Research, May 12, 2008(a).
- McDonnell W., H. Mooraj, *Clinical Trials are Moving Out*, AMR Research, May 13, 2008(b).
- McGivern G, et al. Reactivity and Reactions to Regulatory Transparency in Medicine, Psychotherapy and Counselling. *Social Science and Medicine*, (2011), pp.
- McKenna B, et al. Media-ated political oratory following terrorist events. *Journal of Language and Politics*, 6(3) (2007), pp.
- Meyer, et al. Systematic concept analysis within a knowledge-based approach to terminology. In Wright S.E. & Buding G. (eds.) *Handbook of Terminology Management*. Amsterdam/Philadelphia: John Benjamins; 1997:110.
- Mezey E. et al., Transplanted bone marrow generates new neurons in human brains. *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)* 2003; 100: 1364.
- Miles, M. B., & Huberman, A. M. (1994). *Qualitative data analysis: An expanded sourcebook*. Beverly Hills, CA: Sage.
- Mimeault M, Balta SK. Recent advances on the significance of stem cells in tissue regeneration and cancer therapies. *Stem Cells* 2006;14:1-48.
- Miranda-Sayago JM, Fernandez-Arcas N, Benito C, Reyes-Engel A, Carrera J, Alonso A. Lifespan of human amniotic fluid-derived multipotent mesenchymal stromal cells. *Cytotherapy* 2011, 13:572-581.
- Mooney D., H. Vandenburgh, *Cell delivery mechanisms for tissue repair*. *Cell Stem Cell* 2008; 2: 205-213.
- Montanari M. et al, Long-term hematologic reconstitution after autologous peripheral blood progenitor cell transplantation: a comparison between controlled-rate freezing and uncontrolled-rate freezing at 80C. *Transfusion /Transplantation and Cellular Engineering/* 2003,43:42-49.
- Patton MQ, *Qualitative research & evaluation methods*, 3rd edn, California, USA: Sage Publications; 2002.
- Naing MW, Williams DJ. Three-dimensional culture and bioreactors for cellular therapies. *Cytotherapy* 2011;13:391-399.
- Noble C, et al. Concept Mapping to Evaluate an Undergraduate Pharmacy Curriculum. *American Journal of Pharmaceutical Education*, 75(3) (2011), pp.
- Nur Fariha MM, Chua KH, Tan GC, Tan AE, Hayati AR. Human chorion-derived stem cells: changes in stem cell properties during serial passage. *Cytotherapy* 2011, 13:582-593.

- Olson SD, Pollock K, Kambal A, Cary W, Mitchell G, Tempkin J, et al. Genetically Engineered Mesenchymal Stem Cells as a Proposed Therapeutic for Huntington's Disease. *Mol Neurobiol* 2012; 45:87-98.
- Parkins M.D., N. Bahlis, C. Brown, L. Savoie, A. Chaudhry, J.A. Russel, D.A. Stewart, Overnight storage of autologous stem cell apheresis products before cryopreservation does not adversely impact early or long-term engraftment following transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 2006; 38: 609-614.
- Pamphilon D. Stem-cell harvesting and manipulation. *Vox Sang* 2004;87:20-25.
- Parolini O, Alviano F, Bagnara GP, Bilic G, Bühring HJ, Evangelista M et al. Concise Review: Isolation and Characterization of Cells from Human Term Placenta: Outcome of the First International Workshop on Placenta Derived Stem Cells. *Stem Cells* 2008; 26:300-311.
- Park A. The Quest Resumes, *Time*, February 9 2009.
- Parson A.B., Stem cell biotech: seeking a piece of the action. *Cell* 2008; 132: 511-513.
- Peitgen HO et al., *Chaos and Fractals: New Frontiers of Science*, Springer, 2nd edition, 2004
- Perseghin P., R. Epis, M. Vigano, A. Malacrida, A. Pastorini, G. Camerone, Satisfactory recovery and viability of stem cells cryopreserved at high cell concentration. *Transf. Sci.* 1997; 18: 399-403.
- Pieri L, Urbani S, Mazzanti B, Dal Pozzo S, Santosuosso M, Saccardi R et al. Human mesenchymal stromal cells preserve their stem features better when cultured in the Dulbecco's modified Eagle medium. *Cytotherapy* 2011, 13:539-548.
- Preti R. Bringing safe and effective cell therapies to the bedside. *Nature Biotechnology* 2005;23(7).
- Prince H. M., D. P. Wall, K. H. Stokes, R. Wood, S. R. Burger, P. Coghlan, N. Boyce, *Cell Processing for Clinical Trials and Commercial Manufacture*. *Cell and Gene Therapy*, May 2004.
- Pisano G. P. (2006), *Science Business - The promise, the reality, and the future of Biotech*. Harvard Business School Press, Boston, Massachusetts (USA).
- Prince H. M., D. P. Wall, K. H. Stokes, R. Wood, S. R. Burger, P. Coghlan, N. Boyce, *Cell Processing for Clinical Trials and Commercial Manufacture*. *Cell and Gene Therapy*, May 2004.
- Park A., *The Quest Resumes*. *Time* [www.time.com](http://www.time.com) February 9 2009.
- Pope C., Ziebland S., Mays N.. Qualitative research in health care - Analysing qualitative data. *BMJ* Vol. 320 (1), 2000 p. 114-116.
- Quinn RE, Cameron K. Organizational Life Cycles and Shifting Criteria of Effectiveness: Some Preliminary Evidence. *Management Science* 1983;29(1):33-51.
- Rader R., (Re)defining biopharmaceutical. *Nature Biotechnology*, 26 (7) (2008).
- Reid CD. The biology and clinical application of dendritic cells. *Transfus Med* 1998;8:77-86.
- Risk R., J.M. Corman, The Role of Immunotherapy in Prostate Cancer: An Overview of Current Approaches in Development. *Reviews in Urology* 2009, 11(1):16 - 27.
- Robson C, *Real World Research*, 2nd edn, Oxford, UK: Blackwell; 2002.
- Roddie PH et al., Cellular Therapy for haematological malignancies. *Vox Sang* 2002;83:294-304.
- Rooney D, Gallois C, Cretchley J. Mapping a 40-Year History With Leximancer: Themes and Concepts in the *Journal of Cross-Cultural Psychology*. *Journal of Cross-Cultural Psychology*, 41(3) (2010), ISSN 0022-0221, pp. 318-328.

- Rowley S.D., W.I. Bensinger, T.A. Gooley, C.D. Buckner, Effect of cell concentration on bone marrow and peripheral blood stem cell cryopreservation. *Blood* 1994; 83: 2731-2736.
- Ryan R, Deci E. Self-determination theory and the facilitation of intrinsic motivation, social development, and well-being. *American Psychologist* 2000;55(1):68-78.
- Sadee W, Dai Z. Pharmacogenetics/genomics and personalized medicine. *Human Molecular Genetics* 2005;14(2):207-214.
- Saif J., Schwarz T.M., Chau D.Y., et al. Combination of injectable multiple growth factor-releasing scaffolds and cell therapy as an advanced modality to enhance tissue neovascularization. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 2010;30(10):1897-904.
- Scott N, et al. Use of automated content analysis techniques for event image assessment. *Tourism Recreation Research*, 30(2) (2005), pp.
- Sartor M., V. Antonenas, F. Garvin, M. Webb, K.F. Bradstock, Recovery of viable CD34+ cells from cryopreserved hemopoietic progenitor cell products. *Bone Marrow Transplantation* 2005; 36: 199-204.
- Scott J., *A Matter of Record*. UK/USA: Polity Publishing; 1990.
- Serke S., L. Arseniev, M. Watts, G. Fritsch, J. Ingles-Esteve, H.E. Johnsen, D. Linch, J.A. Cancelas, O. Meyer, J.G. Kadar, D Huhn, J. Matcham, Imprecision of counting CFU-GM colonies and CD34-expressing cells. *Bone Marrow Transplantation* 1997; 20: 57-61.
- Serke S., H. E. Johnsen, A European reference protocol for quality assessment and clinical validation of autologous haematopoietic blood progenitor and stem cells. Special Report. *Bone Marrow Transplantation* [www.nature.com/bmt](http://www.nature.com/bmt) 2001; 27: 463-470.
- Shin L, Peterson DA. Human Mesenchymal Stem Cell Grafts Enhance Normal and Impaired Wound Healing by Recruiting Existing Endogenous Tissue Stem/Progenitor Cells. *Stem Cell Translational Medicine* 2013, 2:33-42.
- Slaper-Cortenbach I, Current Regulations for the Production of Multipotent Mesenchymal Stromal Cells fro Clinical Application. *Transfusion Medicin and Hemotherapy* 2008; 35:295-298.
- Small E.J. et al, Immunotherapy of Hormone-Refractory Prostate Cancer With Antigen-Loaded Dendritic Cells. *Journal of Clinical Oncology* 2000; 18(23): 3894 – 3903.
- Smith AE. *Leximancer Manual (Version 3.1)* 2010. [www.leximancer.com](http://www.leximancer.com)
- Smith AE. *Leximancer Manual (Version 2.2)* 2005. [www.leximancer.com](http://www.leximancer.com)
- Smith AE et al. Evaluation of unsupervised semantic mapping of natural language with Leximancer concept mapping. *Behavior Research Methods*, 38(2) (2006), pp.
- Strang G, *Introduction to Applied Mathematics*, Wellesley-Cambridge Press, MA, 1986.
- Strauss A, Corbin J, *Basis of qualitative research: Techniques and procedures for developing grounded theory*. Thousand Oaks, CA: Sage; 1998.
- Sukkar E., Lack of investment in regulatory science is part of “innovation gap”, believes FDA commissioner. *British Medical Journal*, 343 (2011). Silver G. A., Virchow, the heroic model in medicine: health policy by accolade. *American Journal of Public Health* 1987; 77: 86.
- Tasic Lj. (2007), *Farmaceutski menadžment i marketing*. Placebo, Beograd, Srbija.
- Tasic Lj., Marinkovic V. (2012), *Kvalitet u farmaciji - Od teorije do prakse*. Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Beograd, Srbija.
- Thomas J et al, Methods for the thematic synthesis of qualitative research in systematic reviews. *BMC Medical Research Methodology*, 8 (2008), pp.

- Thomson J. et al., Blastocysts Embryonic Stem Cell Lines Derived from Human. *Science* 1998; 282: 1145–1147.
- Tran C.A. et al., Manufacturing of large numbers of patient-specific T cells for adoptive immunotherapy: an approach to improving product safety, composition, and production capacity. *J. Immunother.* 2007; 30: 644-654.
- Trickett AE, Smith S, Kwan YL. Accurate calculation of blood volume to be processed by apheresis to achieve target CD 34+ cell numbers from PBPC transplantation. *Cytotherapy.* 2001; 3:5-10.
- Trounson A et al., The Alpha Stem Cell Clinic: A Model for Evaluating and Delivering Stem Cell-Based Therapies. *Stem Cell Translational Medicine* 2012;1:9-14.
- Trounson A et al., Clinical Trials for Stem Cell Therapies. *BMC Medicine* 2011, 9:52.
- Trounson A. New perspectives in human stem cell therapeutic research. *BMC Medicine* 2009, 7:29.
- Vander Lugt M.T., Braun T.M., Hanash S, et al. ST2 as a Marker for Risk of Therapy-Resistant Graft-versus-Host Disease and Death. *N Engl J Med* 2013;369(6):529-539.
- Veljkovic D, Balint B. Mobilizacija matičnih ćelija hematopoeze i njihovo prikupljanje iz periferne krvi. *Bilt Transfuziol* 2006;52(2-3):13-19.
- Vichow R., A versatile cell line raises scientific hopes, legal questions. *Science* 1998, 282: 1014.
- Viswanathan S, P.W. Zandstra, Towards predictive models of stem cell fate. *Cytotechnology* 2003; 41: 75-92.
- Waring, J. (2009). Constructing and reconstructing narratives of patient safety. *Social Science & Medicine*, 69, 1722–1731).
- Watson M; Smith A, Watter S. Leximancer Concept Mapping of Patient Case Studies. *Knowledge-Based Intelligent Information and Engineering Systems, Lecture Notes in Computer Science*, 3683 (2005), ISBN 9783540288961, pp. 1232-1238.
- Wayne McDonnell, Hussain Mooraj, Clinical Trial Supply Chains: A Look Ahead, *AMR Research*, May 12, 2008(a).
- Wayne McDonnell, Hussain Mooraj, Clinical Trials are Moving Out, *AMR Research*, May 13, 2008(b).
- Wall D.M. , H. M. Prince, Regulation of cellular therapies: the Australian perspective. *Cytotherapy* 2003; 5: 284-288.
- Weber RP, *Basic Content Analysis*. 2nd edn, California, USA: Sage Publications; 1990.
- Weick KE, Quinn RE. Organizational Change and Development. *Annual Review of Psychology* 1999;50:361-386.
- Williams D.A., C. Baum, Gene therapy - new challenges ahead. *Science* 2003; 302: 400-401.
- Wingard J.R., Gattineau D.A., Leather H., Szczepiorkowski Z.M., Snyder E.L. (Ed.) (2009), *Hematopoietic Stem Cell Transplantation - A Handbook for Clinicians*. AABB (USA).
- Woolf SH, The Meaning of Translational Medicine and Why It Matters. *JAMA* 2008;299(2).
- Yang Y, Lee AJ, Barabino GA. Coculture-Driven Mesenchymal Stem Cell-Differentiated Articular Chondrocyte-Like Cells Support Neocartilage Development. *Stem Cell Translational Medicine* 2012, 1:843-854.
- Yen BL, Huang HI, Chien CC, Jui HY, Ko BS, Yao M, et al. Isolation of multipotent cells from human term placenta. *Stem Cells* 2005; 23:3-9.



Yust-Katz S, Fisher-Shoval Y, Barhum Y, Ben-Zur T, Barzilay R, Lev N, et al. Placental mesenchymal stromal cells induced into neurotrophic factor-producing cells protect neuronal cells from hypoxia and oxidative stress. *Cytotherapy* 2012; 14:45-55.

Yamanaka S., Strategies and new development in the generation of patient-specific pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 2007; 1: 39-49.

Yin, R. K. (1994). *Case study research, Design and methods* Beverly Hills, CA: Sage.

Yin, R. K. (1999). Enhancing the quality of case studies in health services research. *Health Services Research*, 34(5), Part II, 1209-1224.

Zuell C et al. (eds) *Computer-assisted text analysis for the social sciences: The General Inquirer III*. Mannheim, Germany: Center for Surveys, Methods and Analysis (ZUMA), 1989.

### **Internet websites**

*(poslednji pristup jul, 2013)*

American Association of Blood Banks. *Standards for Cellular Therapy Product Services* 2004, 1<sup>st</sup> Ed. 1-85.

BIO. (2001) *Editor's and Reporter's Guide to Cell therapy*, A report by the Cell Therapy Industry Organization, USA.

BCC Research, *Protein Drugs: Global Markets and Manufacturing Technologies Report (BIO021C)* by A. Brock [www.bccresearch.com/report/BIO021C.html](http://www.bccresearch.com/report/BIO021C.html)

*Business Process Management: Global Trends to 2013 (Strategic Focus)*, September 2008, Datamonitor

The Joint Accreditation Committee of ISHAGE-Europe and EBMT. *Standards for blood and marrow progenitor cell processing, collection and transplantation*, 1998.

<http://www.science.org.au/nova/079/079sit.htm>

<http://www.springerlink.com/content/100524/>

<http://www.mja.com.au>

[http://www.mja.com.au/public/issues/179\\_03\\_040803/byr10862\\_fm-1.html](http://www.mja.com.au/public/issues/179_03_040803/byr10862_fm-1.html)

<http://www.atse.org.au/index.php?sectionid=477>

[http://www.infoport.ca/life/bins/content\\_page.asp?cid=4364](http://www.infoport.ca/life/bins/content_page.asp?cid=4364)

<http://www.merriam-webster.com/dictionary>

<http://dictionary.cambridge.org>

<http://hbswk.hbs.edu/cgi-bin/print?id=5987>

BCC Research, *Therapeutic Vaccines: Targets, Technologies and Markets Report (BIO052A)* by L. Gray [www.bccresearch.com/report/BIO052A.html](http://www.bccresearch.com/report/BIO052A.html)

BCC Research, *The Worldwide Market for Prophylactic and Therapeutic Vaccines Report (PHM014B)* by L. Gray [www.bccresearch.com/report/PHM014B.html](http://www.bccresearch.com/report/PHM014B.html)

BCC Research, Global Pharmaceutical Markets Report (PHM037B) by V. Natale  
[www.bccresearch.com/report/PHM037B.html](http://www.bccresearch.com/report/PHM037B.html)

BCC Research, Protein Drugs: Global Markets and Manufacturing Technologies Report (BIO021C) by A. Brock [www.bccresearch.com/report/BIO021C.html](http://www.bccresearch.com/report/BIO021C.html)

Code of Federal Regulations: Food & Drug Administration GTP Regulations: 21 CFR Part 1271.170.2005.

WTEC Panel Report (World Technology Evaluation Center Inc), International Assessment of Research and Development in Rapid Vaccine Manufacturing December 2007 by J. Bielitzki, S. Drew, C. Gay, T. Leighton, S. Jacobson and M Ritchey.

To thwart disease, apply now (Editorial). Nature, 453 7197 (2008), Available from URL: [www.nature.com/nature](http://www.nature.com/nature) .

FDA Guidance for industry: PAT - A framework for innovative pharmaceutical development, manufacturing, and quality assurance. 2004, Available from URL: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm070305.pdf>.

Final Report on the International API inspection Pilot Programme, European Medicines Agency. 16 June 2011 EMA/453741/2011, Available from URL: [www.ema.europa.eu](http://www.ema.europa.eu) . Accessed on October 17, 2011.

The financing of biopharmaceutical product development in Europe, Final Report. European Commission, Enterprise and Industry, October 2009. ISBN 978-92-79-14055-6, Available from URL: [http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/biotechnology/files/docs/financing\\_biopharma\\_product\\_dev\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/biotechnology/files/docs/financing_biopharma_product_dev_en.pdf).

Advancing Regulatory Science at FDA, Strategic Plan: August 2011. Food and Drug Administration U.S. Department of Health and Human Services, Available from URL: [www.fda.gov/regulatoryscience](http://www.fda.gov/regulatoryscience).

Implementing the European Medicines Agency's Road map to 2015: The Agency's contribution to Science, Medicine, Health – From Vision to Reality. 6 October 2011 EMA/MB/550544/2011, Available from: [www.ema.europa.eu](http://www.ema.europa.eu) .

FDA News Release: Regulatory science plan positions agency to foster innovation through better science, August 17, 2011. Available from URL: [www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm268293](http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm268293)

The Common Fund's Regulatory Science program between NIH and FDA. Available from URL: [www.commonfund.nih.gov/regulatoryscience/overview](http://www.commonfund.nih.gov/regulatoryscience/overview)

European Medicines Agency, Special Topics, Regulatory science. Available from URL: [www.ema.europa.eu/ema](http://www.ema.europa.eu/ema)

EMA Report. Regulatory science: are regulators leaders or followers? Available from URL: [www.ema.europa.eu/ema](http://www.ema.europa.eu/ema)

What is Regulatory Science? The Institute for Regulatory Science, USA.  
Available from URL: [www.nars.org/whatis](http://www.nars.org/whatis)

Advancing Regulatory Science: Moving Regulatory Science into the 21<sup>st</sup> Century. Available from URL: [www.fda.gov/scienceresearch/specialtopics/regulatotsyience/default](http://www.fda.gov/scienceresearch/specialtopics/regulatotsyience/default)

The European Medicines Agency (EMA)  
[http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=/pages/home/Home\\_Page.jsp](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=/pages/home/Home_Page.jsp)

The European Medicines Agency (EMA)

[http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/about\\_us/general/general\\_content\\_000235.jsp&murl=menus/about\\_us/about\\_us.jsp&mid](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/about_us/general/general_content_000235.jsp&murl=menus/about_us/about_us.jsp&mid)

The Food and Drug Administration (FDA) <http://www.fda.gov>

Quick Facts on Regenerative Medicine & CCRM, Centre for Commercialization of Regenerative Medicine, Canada. Available at [www.ccrm.ca](http://www.ccrm.ca)

Therapeutic Goods Administration <http://www.tga.gov.au/docs/html/tga/tgaginfo.htm>

Therapeutic Goods Administration <http://www.tga.gov.au/docs/html/clintrials.htm>

Therapeutic Goods Administration <http://www.tga.gov.au/unapp/ctglance.htm>

Therapeutic Goods Administration <http://www.tga.gov.au/docs/pdf/euguide/ich/ich13595.pdf>

The Center for Biologics Evaluation and Research (CBER) Web site.

<http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/DevelopmentApprovalProcess/default.htm>

The Center for Drugs Evaluation and Research (CDER)

<http://www.fda.gov/cder/guidance/959fnl.pdf>

The Center for Biologics Evaluation and Research (CBER)

<http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/DevelopmentApprovalProcess/NewDrugApplicationNDAProcess/default.htm>

The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) <http://www.ich.org>

## **Baze podataka**

*(poslednji pristup decembar, 2012)*

Clinical Trials: [www.clintrials.gov](http://www.clintrials.gov)

## 7. Prilozi tezi

### Prilog 1: Lista skraćenica i definicija

#### Abbreviations (eng.)

EMA	European Medicines Agency	FACT	Foundation for the Accreditation of Cell Therapies
FDA	Food and Drug Administration	NPAAC	National Pathology Accreditation Advisory Council
TGA	Therapeutic Goods Administration	PBSC	Peripheral Blood Stem Cells (also referred to as: PBPC)
a.k.a.	also known as	PBPC	Peripheral Blood Progenitor Cells
e.g.	for example	HPC	Haematopoietic Progenitor Cells
vs.	versus	HPC-A	Haematopoietic Progenitor Cells (harvested by peripheral blood apheresis)
R&D	Research and Development	MSC	Mesenchymal Stem Cells (non embryonic stem cells)
IP	Intellectual Property	DC	Dendritic Cells (from blood)
APC	Antigen-presenting cells	QMS	Quality Management System
HDT	High-dose therapy	SACTP	“Standardised approach to cell therapy production”
HR	Hematologic reconstitution	GMP	Good Manufacturing Practice
ROI	Return on investment	GCP	Good Clinical Practice
ESC	Embryonic Stem Cells	iPS	Induced pluripotent stem cells
HLA	Human Leukocyte Antigen	vs.	versus
ATMP	Advanced Therapy Medicinal Products.	HCT/P	Human Cell and Tissue Products
ARTG	Australian Register of Therapeutic Goods.	ICH	International Conference on Harmonisation
CBER	Center for Biologics Evaluation and Research.	IND	Investigational New Drug Application
CDER	Center for Drugs Evaluation and Research	IRB	Institutional Review Board
CFR	Code of Federal Regulation	MHRA	MHRA, Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency
cGTP	Current Good Tissue Practices	OECD	OECD, Organisation for Economic Cooperation and Development
EEA-EFTA	European Economic Area- European Free Trade Association	PIC/S	Pharmaceutical Inspection Convention (PIC) and Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme
EMA	European Medicines Agency	PMDA	Pharmaceutical and Medical Devices Agency
EU	European Union	TGA	Therapeutics Goods Administration
FDA	Food and Drug Administration		

## Definitions (eng.)

### Life science

A branch of science (as biology, medicine, and sometimes anthropology or sociology) that deals with living organisms and life processes – usually used in plural.

(Merriam-Webster Online Dictionary <http://www.merriam-webster.com/dictionary/life+science> )

### Life science

Any of several branches of science, such as biology, medicine, anthropology, or ecology, that deal with living organisms and their organization, life processes, and relationships to each other and their environment. Also called *bioscience*.

(Free Dictionary Online <http://www.thefreedictionary.com/life+science> )

### Biotechnology

The manipulation (as through genetic engineering) of living organisms or their components to produce useful usually commercial products (as pest resistant crops, new bacterial strains, or novel pharmaceuticals); also : any of various applications of biological science used in such manipulation.

(Merriam-Webster Online Dictionary <http://www.merriam-webster.com/dictionary/biotechnology> )

### Biotechnology

The use of living things, especially cells and bacteria, in industrial processes.

(Cambridge International Dictionary of English <http://dictionary.cambridge.org> )

### Minimal manipulation

Includes centrifugation, refrigeration, freezing, trimming, flushing, washing; processing steps related to preserving function or minimising contamination, including using additives such as cryopreservatives, anticoagulants, antimicrobial agents and irradiation; and freeze drying (of structural tissues only).

(Australian Regulatory Guidelines for Biologicals <http://www.tga.gov.au/pdf/biologicals-argb-p1.pdf> )

### Homologous use

The repair, reconstruction, replacement or supplementation of a recipient's cells or tissues with a biological that performs the same basic function in the recipient as in the donor. This definition is internationally consistent and relates to the use of the product independent of whether the recipient is the same as the donor (autologous) or different from the donor (allogeneic).

(Australian Regulatory Guidelines for Biologicals <http://www.tga.gov.au/pdf/biologicals-argb-p1.pdf> )

### Complex methods of modification

Include processes that are not listed under 'minimal manipulation', including such processes as demineralisation or enzymatic dissociation. Genetic modification is also a complex method.

(Australian Regulatory Guidelines for Biologicals <http://www.tga.gov.au/pdf/biologicals-argb-p1.pdf> )

## Definicije

Davalac

Davalac početne populacije ćelija namenjenih za transplantaciju.

Recipijent/ Primalac

Primalac završnog ćelijskog produkta (ćelija pripremljenih za transplantaciju).

Singena transplantacija (i/ili ćelijska terapija)

Transplantacija između genetski podudarnih (identičnih) osoba kao što su jednojajni blizanci.

Alogena transplantacija (i/ili ćelijska terapija)

Transplantacija između genetski različitih (neidentičnih) osoba uskladenih na osnovu ispitivanja antigena glavnog sistema histokompatibilnosti (HLA).

Autologna transplantacija (i/ili ćelijska terapija)

Transplantacija sopstvenih matičnih ćelija.

## REČNIK TERMINA I IZRAZA U OKVIRU OBRADE I PRIMENE ČELIJSKIH TERAPIJA

*Rečnik sadrži i neke termine koji se ne koriste u samoj tezi ali se koriste u širem kontekstu izrade čelijskih terapija i njihove primene.*

*Sledeća objašnjenja termina nisu namenjena da budu "definicije" u naučnom smislu ili "interpretacije" u pravnom smislu.*

**ACCOMPANY:** To go or be together with, but not attached. Information that must accompany a cellular therapy product in a sealed package, or alternatively, be attached or affixed.

**PRATE:** Da idu ili da budu zajedno, u prilogu. Informacija koja mora da prati čelijske terapije pripremljene za upotrebu, u zatvorenoj ambalaži, ili alternativno, da bude priložena ili zalepljena na takav proizvod.

**ACCREDITATION CYCLE:** The period of time from the awarding of accreditation until its expiration.

**AKREDITACIJSKI CIKLUS:** Vremenski period od dodele akreditacije do njenog isteka.

**ADVERSE EVENT:** Any unintended or unfavourable sign, symptom, abnormality, or condition temporally associated with an intervention that may or may not have a causal relationship with the intervention, medical treatment, or procedure. Adverse reaction is a type of adverse event. The Glossary also includes some terms not used in the training manual but commonly used in cell therapy manufacturing and application.

**EPIZODA – NEŽELJENI EFEKAT:** Svaki nenamerni ili nepovoljni efekat, simptom, abnormalnost ili privremeno stanje u vezi sa intervencijom/ primenom terapije koji može ali ne mora imati kauzalni odnos sa intervencijom ili terapijom, lečenjem ili procedurom. Neželjena reakcija je takodje epizoda neželjenog efekta.

**ADVERSE REACTION:** A noxious and unintended response to the collection or infusion of any cellular therapy product for which there is a reasonable possibility that the cellular therapy product caused the response.

**NEŽELJENA REAKCIJA:** Štetna i nenamerno izazvana reakcija organizma na proceduru prikupljanja ili infuzije čelijske terapije (proizvoda) za koju postoji realna mogućnost da je izazvana primenom čelijske terapije, odnosno smatra se da je primena čelijske terapije izazvala takvu reakciju organizma.

**AFFIX:** To attach in physical contact with the cellular therapy product container.

**ZALEPITI:** Pričvrstiti na kontejner koji sadrži čelijsku terapiju (proizvod).

**ACCURACY:** The closeness of the result obtained, during measurement or analysis, to the true value. Bias is a systematic deviation from the true value.

**PRECIZNOST:** Blizina rezultata dobijenih u toku merenja ili analize u odnosu na pravu vrednost. Greška je sistematsko odstupanje od prave vrednosti.

**ALLOGENEIC:** Cellular therapy product obtained from a donor and intended for infusion into a genetically distinct recipient.

**ALOGENA:** Vrsta proizvoda čelijske terapije dobijenog od davaoca a namenjenog za infuziju u genetski različitog primaoca.

**APPROVED SUPPLIER: A supplier of starting materiel of known origin who is recognised as reliable, based on a history of deliveries which meet specifications and were well packaged and intact on receipt and, where possible, based also on a vendor audit (see also Certified Supplier).**

**ODOBRENI DOBAVLJAČ:** Dobavljač sirovina i osnovnih materijala u procesu pripreme ćelijske terapije (proizvoda) koji je: poznatog porekla, priznat kao pouzdan (na osnovu prethodnih isporuka koje su bile zadovoljavajuće na osnovu utvrdjene specifikacije, isporučenih proizvoda - pravilno upakovanih, neotvorenih i neoštećenih na prijemu, a gde je to moguće, takođe zadovoljavajući na osnovu prethodno obavljene revizije dobavljača (vidi: SERTIFIKOVANI DOBAVLJAČ).

**APHERESIS: The process in which the whole blood of a donor is separated into its component parts, the desired component is removed and the remaining components are returned to the donor.**

**AFEREZA:** Proces separacije ćelija krvi (davaoca ili pacijenta) pri čemu se željena komponenta krvi odvaja u sterilni kontejner a preostale krvne komponente se vraćaju u cirkulaciju davaoca ili pacijenta.

**ASEPTIC TECHNIQUE: Practices designed to reduce the risk of microbial contamination of products, reagents, specimens, patients, or donors.**

**ASEPTIČNA TEHNIKA:** Tehnike i praksa osmišljene da smanje rizik od kontaminacije proizvoda, reagenasa, uzoraka, pacijenta ili davaoca mikroorganizmima. Mere koje se koriste da se spreči kontaminacija ćelijske terapije (proizvoda) mikroorganizmima.

**ATTACH: To fasten securely to the cellular therapy product container by means of a tie tag or comparable alternative. Any information required to be attached to a container may alternatively be affixed.**

**PRILOŽITI:** Pričvrstiti na kontejner koji sadrži ćelijske terapije (proizvod). Sve informacije koje moraju biti vezane, na bilo koji način za kontejner - mogu se alternativno zalepiti na kontejner ili pričvrstiti u posebnom pakovanju za kontejner.

**AUDIT: Documented, systematic evaluation to determine whether approved policies or procedures have been properly implemented and are being followed.**

**INSPEKCIJA (REVIZIJA):** Dokumentovani, sistematski uvid da bi se odredilo da li se, i u kojoj meri, prethodno odobrena pravila i procedure pravilno sprovede i prate.

**AUTOLOGOUS: Cellular therapy product obtained from a donor and intended for infusion back into the same individual.**

**AUTOLOGNI:** Vrsta proizvoda ćelijske terapije dobijenog od davaoca i namenjenog za infuziju nazad istoj osobi.

**AVAILABLE FOR DISTRIBUTION: The point at which the cellular therapy product has been determined to meet all release criteria.**

**DOSTUPNO ZA DISTRIBUCIJU:** Faza u kojoj je za ćelijske terapije (proizvod) utvrđeno da ispunjavaju sve prethodno zadate kriterijume.

**BATCH: A defined quantity of materiel processed in one process or series of processes so that it may be expected to be uniform with respect to composition and probability of chemical and/or microbiological contamination. However, to complete certain stages of manufacture, it may be necessary to divide a batch into a number of sub batches, which are later brought together to form a final homogeneous batch.**

**SERIJA:** Definisana količina biološkog materijala obradjena u jednom procesu ili u seriji procesa tako da se u razumnoj meri može očekivati da budu jedinstveni u pogledu sastava i hemijske i/ili mikrobiološke kontaminacije. U istom smislu, da bi se izvela određena faza proizvodnje, može biti neophodno da se serija podeli na manje jedinice (delove serije ili pakete), koji se kasnije objedine u seriju ili homogenu grupu koja sačinjava jedinstveni deo serijske proizvodnje.



**BATCH NUMBER:** A number or combination of numerals, symbols and letters which uniquely distinguishes a batch of product from all other batches of that product, or other products, at all stages of manufacture and permits a correspondence to be established between the batch and all tests carried out on it in the course of processing and quality control. A number of sub batches may be combined by mixing to form a single batch. However, where the bulk batch is divided into lots for different processes such lots need to be distinguished from one another by suitable means by labelling. It is permissible to use one unique series of numbers (processing numbers) on product up to the point of packaging and another for the packed product, with or without an affix as described above, provided that they are unambiguously correlated in batch records.

Incoming materiel will usually carry the batch, lot or equivalent number of their manufacturer, but will be allocated instead a Unique Identifying Number by which they are identified within the premises of the user. This avoids the use of the term "batch number" with two different meanings.

SERIJSKI BROJ: Broj ili kombinacija brojeva, simbola i slova koja jedinstveno izdvajaju seriju ćelijskih terapija (proizvoda) od svih drugih serija tog istog proizvoda, ili drugih proizvoda, u svim fazama proizvodnje i testiranja (i koji omogućava da se uspostavi veza između proizvoda i svih sprovedenih testova u toku procesa obrade i kontrole kvaliteta). Brojevi pod-serija (delova serije ili paketa), koji se kasnije objedinjuju u seriju ili homogenu grupu koja sačinjava jedinstveni deo serijske proizvodnje, se mogu kombinovati. Međutim, kada je veća grupa proizvoda (super-serija) podeljena u nekoliko manjih grupa radi obrade u različitim procesima (ili fazama procesa obrade), sastavni delovi serije (manje grupe proizvoda) trebalo bi da se razlikuju jedan od drugog na osnovu individualnog sistema obeležavanja. Dozvoljeno je koristiti jedan jedinstveni niz brojeva kao serijski broj do faze pakovanja a zatim drugi niz brojeva za svako odvojeno pakovanje, sa ili bez upotrebe nalepnica i etiketa, pod uslovom da su nedvosmisleno povezani u procesu dokumentovane serijske proizvodnje.

Dolazni materijali (sirovine i osnovni materijali) obično će nositi serijski broj proizvođača (ili ekvivalentnu oznaku) ali će im biti dodeljen i takozvani 'jedinstveni identifikacioni broj' kojim će biti identifikovani u prostoru individualnog korisnika. Ovim se izbegava upotreba termina "serijski broj" sa dva različita značenja.

**BIOLOGICAL PRODUCT DEVIATION:** A deviation from applicable regulations, standards, or established specifications that relate to the prevention of communicable disease transmission or cellular therapy product contamination; or an unexpected or unforeseeable event that may relate to the transmission or potential transmission of a communicable disease or may lead to cellular therapy product contamination. It is also permissible to combine a series of batches of bulk product into a continuous series of packaging operations (not significantly separated in time, place or equipment) and apply a single batch number to the packaged batch, bearing in mind that if a fault occurs or reconciliation fails, the whole series may have to be rejected or recalled.

ODSTUPANJE BIOLOŠKOG PROIZVODA: Devijacija ili odstupanje od važećih propisa, standarda ili osnovne specifikacije, koje se primenjuje radi prevencije prenošenja zaraznih bolesti ili kontaminacije ćelijskih terapija (proizvoda) mikroorganizmima; ili neočekivani ili nepredviđeni događaji koji mogu da utiču na prenos ili potencijalno prenose zarazne bolesti; ili mogu dovesti do kontaminacije i oštećenja ćelijske terapije (proizvoda). Dozvoljeno je kombinovanje niza ćelijskih terapija (proizvoda) u kontinuirani proces pakovanja (pri čemu proizvodi nisu značajno različiti po vremenu i mestu pakovanja kao i opremi za pakovanje) pod jednim kumulativnim serijskim brojem, imajući u vidu da ako dođe do greške u procesu pakovanja i/ili se nastala greška u potpunosti ne otkloni, cela serija će verovatno morati da bude opozvana tj. neće moći da se odobri njena primena.

**CALIBRATE:** To set measurement equipment against a known standard.

KALIBRISATI: Uspostaviti status opreme i uređaja na osnovu poznatih standarda.

**CALIBRATION:** Periodic scheduled activity to check and maintain the accuracy of measurements against a known standard. The operations carried out to determine the accuracy of measuring instruments, of "materiel measures" such as masses or gauges and of measurement standards.

KALIBRACIJA: Periodično planirana i sprovedena aktivnost provere tačnosti merenja na osnovu poznatih standarda. Operacija kalibracije se izvodi da bi se utvrdila tačnost (ili odstupanje) mernih instrumenata upotrebom mernih standarda kao što su standardna masa ili promer.

**CD34:** The 115 kD glycoprotein antigen, expressed by 1-2% of normal bone marrow mononuclear cells, that is defined by a specific monoclonal antibody (anti-CD34) using the standardized cluster of differentiation (CD) terminology.

CD34: 115kD glikoproteinski antigen koji produkuje 1-2% normalnih mononuklearnih ćelija koštane (kostne) srži i koji se definiše upotrebom specifičnih monoklonskih antitela (anti-CD34) koristeći terminologiju standardizovane klaster diferencijacije (CD).

**CELLULAR THERAPY:** The administration of products with the intent of providing effector cells in the treatment of disease or support of other therapy. Cellular therapy product: Somatic cell-based product (e.g. mobilized HPC, therapeutic cells, cord blood cells, pancreatic islets) that is procured from a donor and intended for processing and administration.

ĆELIJSKE TERAPIJE: Administracija ćelijskih proizvoda (bioterapeutika) sa namerom zamene/ dopune ćelija i/ili ćelijskih grupa efikasnih u lečenju bolesti ili u vidu podrške drugim terapijama. Neki od bioterapeutika (terapeutskih proizvoda) baziranih na ćelijskim terapijama obuhvataju: terapije bazirane na primeni adultnih/somatskih ćelija (npr. mobilisane krvno-produkujuće ćelije koštane srži, matične ćelije iz krvi pupčanika/ pupčane vrpce, insulin-produkujuće ćelije pankreasa), dobijaju se od davaoca i namenjeni su za obradu i administraciju.

**CERTIFIED SUPPLIER:** An Approved Supplier who has been formally audited by the purchaser and who meets ISO requirements and is certified by National Standards or the equivalent (see: Approved Supplier).

SERTIFIKOVAN DOBAVLJAČ: Odobreni dobavljač koji je i formalno revidiran od strane kupca, a koji zadovoljava ISO uslove i overen je od strane Nacionalnog instituta za standarde ili ekvivalentne institucije (vidi: ODOBRENI DOBAVLJAČ).

**CHANGE CONTROL:** a) Ensures the disciplined adaptation of changes and additions to the original processes. b) The term given to the cyclic processes of software and data system maintenance.

KONTROLA PROMENE: a) Obezbeđuje postepeno i kontrolisano prilagođavanje promenama u okviru izmena i dopuna originalnog procesa. b) Termin koji se koristi za ciklično održavanje IT sistema, softvera i podataka.

**CLINICAL PROGRAM:** An integrated medical team housed in geographically contiguous or proximate space with a single Clinical Program Director and common staff training programs, protocols, and quality management systems.

KLINIČKI PROGRAM: Integrisani medicinski tim smešten u neposrednoj blizini, pod rukovodstvom istog Direktora programa i sa zajedničkim programom obuke kadrova, implementacije zajedničkih protokola i pod kontrolom istog sistema kvaliteta.

**COLLECTION:** Any procedure for harvesting cellular therapy products, including labelling, regardless of technique or source.

PRIKUPLJANJE ĆELIJA: Postupak prikupljanja ćelija za izradu ćelijskih terapija (proizvoda) bez obzira na tehniku ili izvor ćelija, uključujući proces obeležavanja.

**COLLECTION FACILITY:** The site where a cellular therapy product is collected from a donor.

KLINIČKA JEDINICA ZA PRIKUPLJANJE ĆELIJA: Lokacija gde se vrši klinička procedura za prikupljanje ćelija od davaoca a u svrhu izrade ćelijskih terapija (proizvoda).

**CLEAN AREA/ CLEAN ROOM:** A room(s) with defined environmental control of particulate and microbial contamination, used in such a way as to minimise the introduction, generation and retention of contaminants within it. A room(s) in which the concentration of airborne particulate matter is strictly controlled as specified and where other factors may be controlled to within limits necessary to cater for particular needs.

STERILNA JEDINICA/ STERILNA SOBA: Soba(e) sa striktnom kontrolom prostora i minimalnom kontaminacijom česticama i mikroorganizmima; koriste se da bi se smanjio unos, generisanje i zadržavanje kontaminanata; soba(e) u kojima je koncentracija čestica u vazduhu strogo kontrolisana prema prethodno utvrdjenim specifikacijama i gde drugi faktori takodje mogu biti kontrolisani u okviru istih specifikacija (npr. temperatura i vlažnost vazduha) neophodnih za posebne namene.

**COMPETENCY:** Ability to adequately perform a specific procedure or task according to direction.

KOMPETENCIJA: Sposobnost da se adekvatno obavljaju posebne procedure ili zadaci u skladu sa propisanim pravilima.

**CLOSED SYSTEM:** A system (such as a multiple pack system) where the registered assembly is manufactured under clean conditions, sealed to the external environment and sterilised by an approved method. Apart from collection/retrieval requirements, such as venepuncture for blood, the integrity of the assembly need to not be breached.

ZATVORENI SISTEM: Sterilan 'izolovani' sistem za infuziju koji je proizveden i sklopljen u sterilnim uslovima i sterilisan prema odgovarajućim standardima a koristi se za prikupljanje biološkog materijala (npr. krvi) i/ili infuziju; pri upotrebi ne sme biti kontaminiran i njegova sterilnost dovedena u pitanje.

**CODE:** The Code of Good Manufacturing Practice (cGMP).

KOD: Kodeks dobre proizvođačke prakse (DPP).

**COMPLAINT:** Any written, oral, or electronic communication about a problem associated with a distributed cellular therapy product or with a service related to the collection, processing, storage, distribution, or infusion of a cellular therapy product.

PRIGOVOR: Svaka pismena, usmena ili elektronska komunikacija o problemu u vezi sa primenjenom ćelijskom terapijom (proizvodom) ili procesom koji se odnosi na prikupljanje, obradu, skladištenje, distribuciju ili infuziju ćelijske terapije (proizvoda).

**COMPUTER SYSTEM:** The combination of hardware, software and operating procedures that determine computer functions.

RAČUNARSKI SISTEM: Kombinacija hardvera, softvera i operativne procedure, koja određuje funkciju računara.

**CONFIRMATORY TESTING:** Additional testing, using an alternative method or marker, undertaken on a sample repeatably reactive on a primary screening assay, to confirm or exclude the presence of a specific viral marker.

DODATNI TEST: Dodatno laboratorijsko testiranje, korišćenjem alternativnih metoda ili markera, preduzeto na uzorku da bi se potvrdio inicijalni rezultat testa (npr. reaktivnost na primarnom testu) i/ili da bi se potvrdilo ili isključilo prisustvo specifičnih virusnih markera.

**CONTRACT LABORATORY:** Work associated with the manufacturing process performed by another organisation.

IZVODJAČKA LABORATORIJA: Rad u vezi sa procesom proizvodnje obavljenim od strane neke druge organizacije.

**CONTROLLED ENVIRONMENT:** An environment which is controlled with respect to particulate contamination, both viable and non viable particles are controlled. May also include temperature and humidity controls. (See also Clean Room)

**KONTROLISANO OKRUŽENJE:** Okruženje koje je pod kontrolom u odnosu na čestice zagađenja - žive i nežive čestice. Takođe može da uključi kontrolu temperature i vlažnosti vazduha. (Vidi: sterilna soba)

**CORD BLOOD:** The whole blood, including HPC, collected from placental and umbilical cord blood vessels after the umbilical cord has been clamped.

**KRV IZ PUPČANE VRPCE:** Puna krv, uključujući matične ćelije hematopoeze, prikupljena iz krvnih sudova pupčane vrpce.

**CORRECTIVE ACTION:** Action taken to eliminate the causes of an existing discrepancy or other undesirable situation to prevent recurrence.

**KOREKTIVNE MERE:** Akcija koja se preduzima za otklanjanje uzroka postojećeg neslaganja ili druge neželjene situacije, u cilju da se spreči ponavljanje.

**CRITICAL LABELS:** A label which identifies a product or status, including critical materiel, used in manufacture. It includes any label which indicates and controls release of product.

**OZNAKE OD KRITIČNOG ZNAČAJA:** Oznaka koja identifikuje proizvod ili status, uključujući materijale od kritičnog značaja, koji se koriste u proizvodnji. To uključuje bilo koju oznaku koja označava i kontroliše izdavanje proizvoda.

**CRITICAL MATERIEL:** All components, materials or supplies which could have a direct negative impact on the quality of the end product.

**MATERIJAL OD KRITIČNOG ZNAČAJA:** Sve komponente, materijali ili sirovine koji bi mogli imati direktan negativan uticaj na kvalitet krajnjeg proizvoda.

**CURRENT GOOD TISSUE PRACTICE:** The methods used in, and the facilities and controls used for, the manufacture of HCT/Ps including recordkeeping and the establishment of a quality programme as required by the FDA for HCT/P establishments. When components of a system are connected (such as for apheresis), these connections can be regarded as 'closed system' provided it can be shown that the process of joining and sealing two packs does not lead to the possible microbial contamination of the products in either pack. (See also "Open System").

**AKTUELNA DOBRA PRAKSA ZA (procesovanje) TKIVA:** Metode, objekti i kontrole koje se koriste za proizvodnju ćelija i tkiva, uključujući vođenje evidencija i uspostavljanje kvalitetnog programa u skladu sa zahtevima od strane regulatornih agencija (npr. FDA). Kada su komponente sistema povezane (kao što je slučaj sa aferezom), ove veze mogu da se smatraju "zatvorenim sistemom" pod uslovom da može da se pokaže da proces pridruživanja i zatvaranje dva dela ne dovede do eventualne kontaminacije mikrobima, proizvoda u bilo kom delu. (Vidi: Otvoreni sistem).

**DEDICATED FACILITY:** A room(s) with attendant equipment and services, including air handling, used only for the manufacture of one product or a closely related group of products. Equipment may be similarly "dedicated".

**NAMENSKA JEDINICA:** Soba(e) ili laboratorije sa odgovarajućom opremom i namenom, sa regulisanim protokom vazduha, koja se koristi samo za proizvodnju jednog proizvoda ili usko povezanu grupu proizvoda. Oprema može na sličan način biti "namenska".

**DESIGNEE:** An individual with appropriate experience or expertise who is given the authority to assume a specific responsibility.

**IZVRŠILAC:** Lice sa odgovarajućim iskustvom ili ekspertizom kome je dato ovlašćenje da preuzme određenu odgovornost.

**COLLECTION FACILITY DIRECTOR:** An individual with a medical degree or doctoral degree in a relevant science, qualified by postgraduate training or experience for the scope of activities carried out in the Collection Facility. The Collection Facility Director is responsible for all technical procedures, performance of the collection procedure, supervision of staff and administrative operations of the Collection Facility. The Collection Facility Director may also serve as the Medical Director if appropriately credentialed.

DIREKTOR SABIRNE JEDINICE je lice sa medicinskim fakultetom ili doktoratom iz oblasti relevantne nauke, kvalifikovan putem postdiplomske obuke ili iskustva iz obima aktivnosti koje se sprovode u Sabirnoj jedinici. Direktor Sabirne jedinice je odgovoran za sve tehničke procedure, vršenje sabirne procedure, nadzor osoblja i administrativne poslove Sabirne jedinice. Direktor Sabirne jedinice redovno učestvuje u obrazovnim aktivnostima koje se odnose na polje ćelijskih terapija, prikupljanje produkta i / ili transplataciju. Direktor Sabirne jedinice može takođe da služi kao Medicinski direktor, ako je odgovarajuće obučen.

**PROCESSING FACILITY DIRECTOR: An individual with a medical degree or a doctoral degree in a relevant science, qualified by training or experience for the scope of activities carried out in the Processing Facility. The Processing Facility Director is responsible for all procedures and administrative operations of the Processing Facility, including compliance with these Standards. The Processing Facility Director may also serve as the Processing Facility Medical Director if appropriately credentialed.**

DIREKTOR PROIZVODNE JEDINICE je lice sa medicinskim fakultetom ili doktoratom iz oblasti relevantne nauke, kvalifikovan putem obuke ili iskustva iz obima aktivnosti koje se sprovode u Proizvodnoj Jedinici. Direktor Proizvodne jedinice je odgovoran za sve procedure i administrativne poslove Proizvodne jedinice, uključujući usaglašenost sa ovim standardima. Direktor Proizvodne jedinice redovno učestvuje u obrazovnim aktivnostima vezanim za oblast izvršenja ćelijskih terapija i / ili transplantacije. Direktor Proizvodne jedinice može takođe da služi kao Medicinski direktor Proizvodne jedinice, ako je odgovarajuće obučen.

**DISTRIBUTION: Any conveyance or shipment (including importation and exportation) of a cellular therapy product that has been determined to meet appropriate release criteria.**

DISTRIBUCIJA: Bilo koji prenos ili transport (uključujući uvoz i izvoz) proizvoda ćelijske terapije koji je određen da ispuni odgovarajuće kriterijume za pripremu.

**DONOR: A person who is the source of cells or tissue for a cellular therapy product.**

DAVALAC: Osoba koja je izvor ćelija ili tkiva za proizvod ćelijske terapije.

**ELECTRONIC RECORD: Any record or document consisting of any combination of text, graphics, or other data that is created, stored, modified, or transmitted in digital form by a computer.**

ELEKTRONSKI ZAPIS: Svaki zapis ili dokument koji se sastoji od bilo koje kombinacije teksta, grafike, ili drugih podataka koji je stvoren, sačuvan, modifikovan, ili transmitovan u digitalnoj formi pomoću računara.

**ELIGIBLE: A cellular therapy product donor who meets all donor screening and testing requirements related to transmission of infectious disease as defined by the regulatory agency.**

PODOBAN: Davalac proizvoda ćelijske terapije koji ispunjava sve uslove i zahteve testiranja vezanih za prenošenje zaraznih bolesti kao što je definisano od strane regulatorne agencije.

**ENGRAFTMENT: The reconstitution of recipient haematopoiesis with blood cells and platelets from a donor.**

ENGRAFTMENT: Rekonstitucija hematopoeze primaoca krvnim ćelijama i trombocitima od davaoca.

**EQUIPMENT QUALIFICATION:**

**Installation Qualification (IQ):** Provides documented verification that all key aspects of the installation of equipment adhere to the approved design intentions, and are in accordance with the advice of the manufacturer.

**Operational qualification (OQ):** Provides documented verification that the system and sub-systems perform as intended throughout all anticipated operating ranges.

**Process qualification (PQ):** Provides documented verification that the process does what it purports to do.

**KVALIFIKACIJA OPREME:**

**INSTALACIONA KVALIFIKACIJA (IK):** Pruža dokumentovanu potvrdu da se svi ključni aspekti instaliranja opreme pridržavaju odobrenog dizajna, i da su u skladu sa preporukom proizvođača.

**OPERATIVNA KVALIFIKACIJA (OK):** Pruža dokumentovanu potvrdu da sistem i pod-sistemi obavljaju svoju funkciju kako treba kroz sve predviđene operativne opsege.

**PROCES KVALIFIKACIJA (PK):** Pruža dokumentovanu potvrdu da proces radi ono što mu je namena.

**ERRORS AND ACCIDENTS: Any unforeseen or unexpected deviations from applicable regulations, standards, or established specifications that may affect the safety, purity, or potency of a cellular therapy product.**

**GREŠKE I PROPUSTI:** Nepredviđena ili neočekivana odstupanja od važećih propisa, standarda ili postojećih specifikacija koja mogu uticati na bezbednost, čistoću, ili moć proizvoda ćelijske terapije.

**ESTABLISH AND MAINTAIN: A process to define, document in writing or electronically, implement, follow, review, and, as needed, revise on an ongoing basis.**

**USPOSTAVITI I ODRŽAVATI:** Proces definisanja dokumenta u pisanoj formi ili elektronski, implementiranja, praćenja, pregledanja, i po potrebi, revizije na stalnoj osnovi.

**EXPANSION: Growth of one or more cell populations in an *in vitro* culture system.**

**ŠIRENJE:** Rast jedne ili više populacija ćelija u sistemu kulture *in vitro*.

**FACILITY: A location where activities covered by these Standards are performed. Such activities include determination of donor eligibility or suitability, product collection, processing, storage, distribution, issue, and administration.**

**JEDINICA:** Lokacija na kojoj se obavljaju delatnosti u okviru proizvodnje ćelijskih terapija. Takve aktivnosti uključuju utvrđivanje podobnosti davaoca, prikupljanje proizvoda, obradu, skladištenje, distribuciju, izdavanje i administraciju.

**FRACTIONATION FACILITY: The facility to which plasma designated for further fractionation is transported.**

**FRAKCIONARNA JEDINICA:** Jedinica u koju se transportuje plazma određena za dalju obradu.

**FRESH: A cellular therapy product that has never been cryopreserved.**

**SVEŽ:** Proizvod ćelijske terapije koji nikada nije bio kriokonzerviran.

**GENE INSERTION: The introduction of one or more exogenous genes into one or more cell populations.**

**UMETANJE GENA:** Uvođenje jednog ili više egzogenih gena u jednoj ili više populacija ćelija.

**GOOD MANUFACTURING PRACTICE (GMP): All the elements in established practice that will collectively lead to final products or services that consistently meet expected specifications.**

**DOBRA PROIZVODJAČKA PRAKSA (DPP):** Svi elementi u ustaljenoj praksi koji će zajedno dovesti do konačnog proizvoda ili usluge, koji dosledno ispunjuju očekivane specifikacije.

**INELIGIBLE: A cellular therapy product donor who does not meet all donor screening and testing requirements related to transmission of infectious disease as defined by the regulatory agency.**

**NEPRIHVATLJIV:** Davalac početnog materijala (ćelija) za izradu ćelijske terapije koji ne ispunjava sve zahteve proveravanja i testiranja vezanih za prenošenje zaraznih bolesti, kao što je definisano od strane regulatorne agencije.

**LABELLING: Steps taken to identify the original cellular therapy product collection and any products or product modifications; to complete the required reviews; and to attach the appropriate labels.**

**OBELEŽAVANJE I OZNAČAVANJE:** Koraci preduzeti da se identifikuje prikupljanje početnog materijala za izradu ćelijske terapije i bilo kog drugog proizvoda ili njegove modifikacije; da se izvrše potrebne provere; i da se zalepe odgovarajuće nalepnice.

**LEARNING AND DEVELOPMENT:** The acquisition of skills, knowledge and attributes through formal and informal processes. Assessment of these skills, to determining competency, is required.

**UČENJE I RAZVOJ:** Sticanje znanja, veština i atributa kroz formalne i neformalne procese. Provera ovih znanja, u odnosu na utvrđene standarde, je neophodna.

**LINEARITY: (of analytical method):** The ability of the method to produce results (within a defined range) that are directly or indirectly proportional to the concentration of the analyte in the sample.

**LINEARNOST:** (analitičkih metoda): Sposobnost metoda da daje rezultate (u okviru definisanog opsega) koji su direktno ili indirektno proporcionalni koncentraciji analizirane materije/sastojka u uzorku.

**MASTER DOCUMENT:** A document from which copies are made for use in any step in the manufacturing process, including testing of donor samples. The master is checked, authorised and filed until required for copying. It is convenient to distinguish the master copy, which can be done by the use of coloured paper, coloured logo or the use of red/blue ink signatures, ensuring that the copies will be distinguished by their lack of colour.

**GLAVNI DOKUMENT:** Dokument od kog se prave kopije namenjene za upotrebu u bilo kom koraku u procesu proizvodnje, uključujući i testiranje uzoraka davaoca. Glavni dokument je proveren, overen i uknjižen sve dok nije neophodan za kopiranje. Korisno je izdvojiti glavnu kopiju, što može da se uradi korišćenjem obojenog papira, obojenog zaštitnog znaka ili korišćenjem potpisa u crvenoj/plavoj boji, pod uslovom da kopije neće biti u boji.

**MANIPULATION:** An *ex vivo* procedure(s) that selectively removes, enriches, expands, or functionally alters cellular products.

**MANIPULACIJA:** *Ex vivo* procedura(e) koja selektivno uklanja, obogaćuje, proširuje, ili funkcionalno menja ćelijski proizvod van živog organizma.

**MANUFACTURING:** Includes, but is not limited to, any or all steps in the recovery, processing, packaging, labelling, storage, or distribution of any human cellular or tissue-based product, and the screening and testing of a cell or tissue donor.

**PROIZVODNJA:** Uključuje, ali nije ograničena na, bilo koji ili sve korake u prikupljanju, preradi, pakovanju, označavanju, skladištenju, ili distribuciji bilo kog proizvoda baziranog na primeni humanih ćelija ili tkiva, kao i kontrola i testiranje davaoca ćelija ili tkiva.

**MATERIEL:** All components, materials or supplies which are to be incorporated or to be used in the manufacture (including testing) of a therapeutic good.

**MATERIJAL:** Sve komponente, materijali ili zalihe koji bi trebalo da budu uključeni ili korišćeni u proizvodnji (uključujući i testiranje) bioterapeutskih proizvoda.

**MICROBIAL:** Related to infectious agents including bacterial and fungal organisms.

**MIKROBIOLOŠKA:** U vezi sa infektivnim agensima, uključujući viruse, bakterije i gljivične mikroorganizme.

**MINIMALLY MANIPULATED:** Processing that does not alter the relevant biological characteristics of cells or tissues.

**MINIMALNO MANIPULISANA:** Obrada koja ne menja relevantne biološke karakteristike ćelija ili tkiva.

**MORE THAN MINIMALLY MANIPULATED:** Processing that does alter the relevant biological characteristics of cells or tissues.

VIŠE NEGO MINIMALNO MANIPULISANA: Obrada koja menja relevantne biološke karakteristike ćelija ili tkiva.

**NEGATIVE SELECTION:** The manipulation of a cellular therapy product such that a specific cell population(s) is depleted.

NEGATIVNA SELEKCIJA: Manipulacija proizvodom ćelijske terapije, takva da je određena ćelijska populacija(e) ili neka njena komponenta uklonjena.

**OPEN SYSTEM:** A system which has been breached but where every effort is made to maintain sterility by the use of sterile materiel and aseptic handling techniques in a clean environment (See also "Closed System").

OTVOREN SISTEM: Sistem koji je narušen, ali gde je svaki napor napravljen da se održi sterilnost korišćenjem sterilnog materijala i tehnikama aseptičnog rukovanja u čistoj sredini (vidi: zatvoren sistem).

**OUTCOME ANALYSIS:** The process by which the results of a therapeutic procedure are formally assessed.

ANALIZA ISHODA: Proces kojim se rezultati terapijskog postupka formalno ocenjuju.

**PARTIAL LABEL:** The minimum essential elements that must be affixed to all cellular therapy product containers.

PARCIJALNA OZNAKA: Minimum osnovnih elemenata koji moraju biti označeni na svim proizvodima i njihovim kontejnerima, u procesu izrade i čuvanja ćelijske terapije.

**POLICIES:** Documents that define the scope of an organization, explain how the goals of the organization will be achieved, and/or serve as a means by which authority can be delegated.

OSNOVNE/ GLAVNE ODREDBE: Dokumenti koji definišu obim organizacije ili procesa, objašnjavaju kako će ciljevi biti postignuti, i/ili služe kao sredstvo kojim se prenosi odgovornost.

**POTENCY:** The therapeutic activity of a product as indicated by appropriate laboratory tests or adequately developed and controlled clinical data.

POTENTNOST: Terapijska aktivnost proizvoda kao što je navedeno na osnovu odgovarajućih laboratorijskih testova ili adekvatno razvijenih i kontrolisanih kliničkih podataka.

**POSITIVE SELECTION:** The manipulation of a cellular therapy product such that a specific cell population(s) is enriched.

POZITIVNA SELEKCIJA: Manipulacija proizvodom ćelijske terapije, takva da je populacija(e) specifične ćelije obogaćena.

**PREVENTIVE ACTION:** Action taken to eliminate the cause of a potential discrepancy or other undesirable situation to prevent such an occurrence.

PREVENTIVNA AKCIJA: Akcija koja se preduzima za otklanjanje uzroka potencijalnog neslaganja ili druge neželjene situacije, u cilju da spreči takve pojave.

**PROCESS CONTROL:** That part of quality control and quality assurance concerned with minimising variations in the characteristics which occur during the manufacturing process.

KONTROLA PROCESA: Onaj deo kontrole kvaliteta i obezbeđenja kvaliteta koji se bavi minimiziranjem varijacija u karakteristikama koje se javljaju u toku procesa proizvodnje.

**PROCESS:** A goal-directed, interrelated series of actions, events, or steps.

PROCES: Usmeren, povezan niz akcija, događaja ili koraka.



**PROCESS DEVELOPMENT: The series of procedures performed in order to develop a final process that achieves the required results.**

RAZVOJ PROCESA: Niz procedura koji se obavlja u cilju razvijanja kompletnog procesa koji ostvaruje potrebne rezultate.

**PROCESSING: All aspects of manipulation, cryopreservation, packaging, and labelling of cellular therapy products regardless of source, including microbial testing, preparation for infusion or storage, and removal from storage. Processing may or may not include collection, donor screening, donor testing, storage, or distribution.**

OBRADA: Svi aspekti manipulacije, kriokonzervacije, pakovanja i označavanja proizvoda ćelijske terapije, bez obzira na izvor, uključujući i mikrobiološko testiranje, pripremu za infuziju ili skladištenje i distribuciju. Obrada može ali ne mora da uključi prikupljanje, kontrolu i, testiranje davaoca, skladištenje i/ili distribuciju ćelijskih proizvoda.

**PROCESSING FACILITY: A location where cellular therapy product processing activities are performed in support of the Clinical Programme. A Processing Facility may be part of the same institution as the Clinical Programme or may be part of another institution and perform these functions through contractual agreement.**

JEDINICA ZA OBRADU: Lokacija na kojoj se obavlja laboratorijska obrada ćelijskog proizvoda ili terapije, a za potrebe ili u okviru kliničkog programa. Jedinica za obradu može biti deo iste ustanove kao i klinički program ili može biti deo druge ustanove, gde pri tome obavlja ovu funkciju na osnovu medjusobnog ugovora.

**PRODUCT RELEASE: The process which enables a product to be released from a quarantine status by the use of systems and procedures to ensure that the finished product meets its release specifications. (See also "Release for supply").**

IZDAVANJE PROIZVODA (slično izdavanju leka): Proces koji omogućava da proizvod bude pušten iz statusa karantina i izdat u svrhu upotrebe kako bi se osiguralo da gotov proizvod zadovoljava finalne specifikacije. (Vidi "Izdavanje za upotrebu").

**PRODUCT SAMPLE: A quantity of product removed from the cellular therapy product.**

PROIZVODNI UZORAK: Manja količina proizvoda koja se prikuplja iz procesa izrade ćelijske terapije u svrhu testiranja i/ili skladištenja za buduća testiranja.

**PROCEDURE: A document that describes in detail, the process or chronological steps taken to accomplish a specific task; a procedure is more specific than a policy.**

PROCEDURA: Dokument koji detaljno opisuje proces ili hronološke korake preduzete da se ostvari određeni zadatak; procedura je konkretnija od odredbe.

**QUALITY ASSURANCE: The function which has responsibility for creating quality systems and procedures, and ensuring their effectiveness. Quality assurance is concerned with preventative as well as corrective action.**

OBEZBEDJENJE KVALITETA: Funkcija koja je odgovorna za stvaranje sistema kvaliteta i procedura, kao i obezbeđivanje njihove efikasnosti. Obezbedjenje kvaliteta uključuje, kako preventivnu, tako i korektivnu akciju.

**QUALITY CONTROL: The function responsible for the actual sampling and testing of materiel, including products, to verify that specifications are met.**

KONTROLA KVALITETA: Funkcija koja je odgovorna za uzimanje uzoraka i ispitivanje materijala, uključujući i proizvode, u cilju provere navedenih specifikacija.

**QUALITY IMPROVEMENT: The actions, planned and performed, to develop a system to review and improve the quality of a product or process.**

UNAPREDJENJE KVALITETA: Akcije, planirane i izvedene, u cilju razvijanja sistema za pregled i unapredjenje kvaliteta proizvoda ili procesa.

**QUALITY MANAGEMENT: An integrated program of quality assessment, assurance, control, and improvement.**

UPRAVLJANJE KVALITETOM: Integrisani program za procenu kvaliteta, obezbedjenje, kontrolu i unapređenje.

**QUALITY MANAGEMENT PLAN: A written document that describes the systems in place to implement the quality management program.**

PLAN UPRAVLJANJA KVALITETOM: Pisani dokument koji opisuje sisteme za sprovođenje programa upravljanja kvalitetom.

**QUALITY MANAGEMENT PROGRAM: An organization's comprehensive system of quality assessment, assurance, control, and improvement. A quality management program is designed to prevent, detect, and correct deficiencies that may adversely affect the quality of the cellular therapy product or increase the risk of communicable disease introduction or transmission.**

PROGRAM UPRAVLJANJA KVALITETOM: Sveobuhvatan sistem procene, obezbedjenja, kontrole i unapređenja kvaliteta u organizaciji ili u procesu. Program upravljanja kvalitetom je dizajniran za sprečavanje, otkrivanje i ispravljanje nedostataka koji mogu negativno uticati na kvalitet proizvoda ćelijske terapije ili povećati rizik od pojave zaraznih bolesti ili njihovog prenosa.

**QUARANTINE: The status of materiel, including products, whether physically or by a system, whilst awaiting a decision on their suitability for further processing.**

KARANTIN: Status materijala, uključujući i ćelijske proizvode, bilo fizički ili na osnovu specifičnog sistema skladištenja, dok se čekaju rezultati testiranja i/ili odluka o njihovoj podobnosti za dalju obradu ili upotrebu.

**RECONCILIATION: Comparison and assessment of any discrepancy between the amount of materiel entering and leaving a given operation or series of operations.**

POREDJENJE I PORAVNAVANJE: Poređenje i procena podataka o materijalima koji ulaze i izlaze iz date operacije ili serije operacija, da bi se ustanovilo eventualno neslaganje između ovih iznosa.

**REGISTERED GOODS: A therapeutic good registered (in some cases only listing is required) on a register of therapeutic goods or its equivalent.**

REGISTROVANA ROBA: Terapijska sredstva registrovana (u nekim slučajevima zahteva se samo spisak a u drugim složen proces registracije) u nekom od registara za terapijska sredstva ili sličnom sistemu.

**RELEASE: Removal of a product from quarantine or in-process status for distribution.**

IZDAVANJE: Uklanjanje proizvoda iz karantina ili 'u procesu' statusa u cilju distribucije.

**RESPONSIBLE PERSON: A person who is authorized to perform designated functions for which he or she is trained and qualified.**

ODGOVORNO LICE: Lice ovlašćeno za obavljanje određenih funkcija za koje je obučeno i kvalifikovano.

**RELEASE FOR SUPPLY: The process which enables a product to be released from a quarantine status by the use of systems and procedures to ensure that the finished product meets its release specifications. (See also "Product Release").**

IZDAVANJE ZA UPOTREBU: Proces koji omogućava da proizvod bude oslobođen statusa karantina uz korišćenje sistema i procedura koje omogućuju da se uspostavi njegov status i da gotov proizvod zadovoljava završne specifikacije. (Vidi takođe "Izdavanje proizvoda").

**SAFETY: Relative freedom from harmful effects to persons or products.**

BEZBEDNOST: Relativna sloboda od štetnog dejstva na lica ili proizvode.

**SENSITIVITY: A term defining the limit of detectable specific reactions using reagents or test systems. The document specifies levels of sensitivity which need to be achieved.**

OSETLJIVOST: Termin koji definiše granicu registrovanih specifičnih reakcija pomoću reagenasa ili test sistema. Dokument precizira nivoe osetljivosti koje treba postići.

**SESSION RECORD: Record(s) which link relevant details of the collection or retrieval session directly to the donation number, and contains information linking critical materiel used to the donor.**

RADNI ZAPIS: Zapis(i) koji povezuje relevantne detalje izrade ili prikupljanja ćelijskog proizvoda direktno sa brojem donacije, i sadrži informacije koje povezuju korišćene kritične materijale sa davaocem.

**SPECIFICITY (of analytical method): The ability of the method to measure the analyte in a manner that is free from interference from other components that may normally be expected to be present, such as ingredients, impurities and degradation products. Specificity is a term defining the ability of a reagent or test system to react selectively. In practical terms, it represents the absence of false positive reactions.**

SPECIFIČNOST (analitičkih metoda): Sposobnost metoda za merenje prisustva analita na način koji je bez smetnji od uticaja drugih komponenti (koje su obično prisutne) kao što su sastojci, nečistoće i proizvodi degradacije. Specifičnost je termin koji definiše sposobnost reagensa ili test sistema da selektivno reaguje. U praktičnom smislu, ona predstavlja odsustvo lažnih pozitivnih reakcija.

**STANDARD NAME: A name assigned to starting materiel that uniquely identifies it within the manufacturing establishment. It is used to cite the material in specifications, on identity status tags, in analytical reports, in stores records and in product documents. It is chosen to avoid the possibility of confusion between similar looking or similar sounding names.**

STANDARDNI NAZIV: Naziv dodeljen osnovnim materijalima koji ga na jedinstven način identifikuje u proizvodnji. Koristi se za navodjenje materijala u specifikacijama, na oznakama statusa identiteta, u analitičkim izveštajima, u evidenciji skladistenja i u proizvodnim dokumentima. Izabran je da bi se izbegla mogućnost zabune zbog naziva koji se slično čitaju ili pišu.

**STANDARD OPERATING PROCEDURES MANUAL: A compilation of written detailed instructions required to perform procedures.**

UPUTSTVO ZA STANDARDNE OPERATIVNE PROCEDURE: Skup pisanih detaljnih instrukcija neophodnih za obavljanje procedura.

**STANDARDS: The current edition of the International Standards for Cellular Therapy Product Collection, Processing, and Administration published by the Regulatory body.**

STANDARDI: Aktuelno izdanje međunarodnih standarda za ćelijske terapije, koji se odnose na prikupljanje proizvoda, obradu i administraciju, a koje objavljuje određeno zakonsko telo ili regulatorna agencija.

**STATUS: The classification of any materiel or product in relation to their acceptance (or otherwise) for use, further processing or distribution. Terms used could include "Quarantine", "Released", "Hold", or "Rejected".**

STATUS: Klasifikacija bilo kog materijala ili proizvoda u odnosu na njihov status/ prihvatljivost (ili na drugi način) za korišćenje, dalju obradu ili distribuciju. Termini koji se koriste mogu da uključuje: "karantin", "izdat nakon proizvodnje", "neodređen" ili "odbijen".

**STARTING MATERIEL: Any materiel employed in manufacture which may contact or be included in the finished product, including packaging materiel. The term does not include ancillary chemicals such as cleaning agents or adhesives, though these are not to be overlooked for their possible hazards or effects on the product.**

**OSNOVNI/ POČETNI MATERIJAL:** Bilo koji materijal korišćen u proizvodnji koji može biti deo gotovog proizvoda, uključujući i materijal za pakovanje. Izraz ne obuhvata pomoćne hemikalije kao što su sredstva za čišćenje ili sredstva za lepljenje, mada ne bi trebalo prevideti moguće opasnosti vezane za njihov uticaj na proizvod (npr. u okviru GMP).

**STERILE: Free from viable micro organisms.**

**STERILNI:** Oslobodjen prisustva živih mikroorganizama.

**STERILITY: The concept of the complete absence of living micro organisms.**

**STERILNOST:** Koncept potpunog odsustva živih mikroorganizama iz uzorka koji je testiran.

**STORAGE: Holding a cellular therapy product for future processing and/or distribution.**

**SKLADIŠTENJE:** Čuvanje proizvoda ćelijske terapije za buduću obradu i/ ili distribuciju.

**SPECIFICATION: A document(s) giving a description of starting material, packaging material, intermediate, bulk or finished product in terms of its chemical, physical and (possibly) biological properties together with methods of testing. A specification normally includes descriptive clauses and numerical clauses, the latter stating standards and permitted tolerances.**

**SPECIFIKACIJA:** Dokument koji daje opis osnovnih materijala, materijala za pakovanje, poluproizvoda, sirovog ili gotovog proizvoda u smislu svoje hemijske, fizičke i (eventualno) biološke osobine, zajedno sa metodama ispitivanja. Specifikacija obično sadrži opisne i numeričke klauzule, navodeći standarde i dozvoljene tolerancije.

**SUPPLEMENTAL TESTING: Additional testing undertaken to clarify the serological status of a sample repeatably reactive on a primary [or frontline] screening assay.**

**DODATNO ISPITIVANJE:** Dopunsko testiranje preduzeto da se razjasni serološki status uzorka, koji je bio učestalo reaktivan na primarnom skrining testu.

**TIME OF COLLECTION: The time of day at the end of the cellular therapy product collection procedure.**

**VREME PRIKUPLJANJA:** Datum i vreme zabeleženo na kraju postupka prikupljanja ćelija kliničkom metodom.

**TRACK: To follow a process or product from beginning to end.**

**PUT:** Da prati proces ili proizvod od početka do kraja.

**TRANSPLANTATION: The infusion of autologous, syngeneic, or allogeneic HPC with the intent of providing transient or permanent engraftment in support of therapy of disease.**

**TRANSPLANTACIJA:** Infuzija autolognih, singenih ili alogenih ćelija sa namerom pružanja prolaznog ili trajnog engraftmenta ('primanja loze') u okviru podrške terapiji bolesti.

**UNIQUE: Being the only one of its kind or having only one use or purpose.**

**Unique Identifier: A numeric or alphanumeric sequence used to designate a given cellular therapy product with reasonable confidence that it will not be used for another purpose.**

**JEDINSTVEN:** Biti samo jedan od svoje vrste ili imati samo jednu upotrebu ili namenu.

**JEDINSTVENI IDENTIFIKATOR:** Numerički ili alfanumerički niz koji se koristi za označavanje određenog proizvoda ćelijske terapije, čime se osigurava da on neće biti korišćen za druge svrhe.

**UNIQUE IDENTIFYING NUMBER: See "Batch Number".**

**JEDINSTVEN IDENTIFIKACIONI BROJ:** Vidi 'serijski broj'.

**URGENT MEDICAL NEED: A situation in which no comparable cellular therapy product is available and the recipient is likely to suffer death or serious morbidity without the cellular therapy product.**

URGENTNA MEDICINSKA POTREBA: Situacija u kojoj nije dostupan nijedan drugi odgovarajući ćelijski proizvod a primalac će biti životno ugrožen bez dostupnog proizvoda ćelijske terapije (koji verovatno ne podleže svim specifikacijama pa je njegova upotreba dovedena u pitanje).

**VALIDATION (1) (cGMP): The action of proving that any materiel, process, procedure, activity, system or equipment used in manufacture or control can and will reliably achieve the desired and intended results.**

VALIDACIJA (1) (cGMP): Radnja kojom se dokazuje da određeni materijal, proces, postupak, aktivnost, sistem ili oprema, korišćeni u proizvodnji ili kontroli, mogu i pouzdano će postići željeni cilj i rezultate.

**VALIDATION (2): Confirmation by examination and provision of objective evidence that particular requirements can consistently be fulfilled. A process is validated by establishing, by objective evidence, that the process consistently produces a cellular therapy product meeting its predetermined specifications.**

VALIDACIJA (2): Potvrda putem ispitivanja i pružanja objektivnog dokaza da određeni uslovi mogu biti konstantno ispunjeni. Proces je validiran ako se ustanovi, objektivnim dokazima, da je proces kojim se konzistentno priprema proizvod ćelijske terapije, ispunjavajući svoje predodređene specifikacije.

**VALIDATION (PROSPECTIVE): The validation taken before manufacture begins. It is an orderly approach to development of procedures.**

VALIDACIJA (BUDUĆA): Validacija preduzeta pre nego što počne proizvodnja. To je pravilan pristup razvoju procedura.

**VALIDATION (RETROSPECTIVE): The conduct of validation studies performed after manufacture has begun and designed to show that the processes and procedures are effective and robust, within the likely ranges of variables affecting them. (A collection of data demonstrating that product always meet specifications is not, in itself, validation.**

VALIDACIJA (RETROSPEKTIVNA): Postupak validacionih ispitivanja koji se vrši nakon što je počela proizvodnja i kreiran je da pokaže da su procesi i procedure efikasni i održivi, u okviru najverovatnijeg opsega promenljivih koje utiču na njih. (Uključuje prikupljanje podataka koji pokazuju da proizvod uvek zadovoljava specifikacije, ali nije samo po sebi, validacija).

**VARIANCE: A planned deviation from recommended practice or standard operating procedure.**

VARIJANSA: Planirano odstupanje od preporučene prakse ili standardne operativne procedure.

**VERIFICATION: The confirmation of the accuracy of something or that specified requirements have been fulfilled.**

VERIFIKACIJA: Potvrda preciznosti nečega ili da su određeni zahtevi ispunjeni.

**VIABILITY: Living cells as defined by dye exclusion, flow cytometry, or progenitor cell culture.**

VIJABILNOST: Opstanak ili preživljavanje, odnosno, broj živih ćelija nakon procesovanja, a definiše se metodama bojenja, flou citometrije ili metodom kulture ćelija.

**WORKING STANDARD: A preparation prepared nationally or locally containing a known or agreed concentration of the activity being measured. It should be assayed with each group of tests to establish the sensitivity or calibration of the unknown tests in the group.**

RADNI STANDARD: Norma pripremljena na nacionalnom ili lokalnom nivou koja sadrži poznatu ili ugovorenu koncentraciju aktivnosti koja se meri. Trebalo bi je ispitati za svaku grupu testova da bi se uspostavila osetljivost ili kalibracija nepoznatih testova u tzv. bateriji testova.

### **Prilog 3: Lista tabela i slika**

#### **Lista tabela:**

Tabela 1.1: Tipovi transplantacije, bilo da su u pitanju matične ćelije iz kostne srži, matične ćelije izolovane iz pupčanika ili iz periferne krvi.

Tabela 1.2: Osnovne komponente transplantacije matičnih ćelija hematopoeze.

Tabela 1.3: Izvor matičnih ćelija za kliničku upotrebu u svrhe transplantacije.

Tabela 1.4: Prednosti i nedostaci različitih tipova transplantacije matičnih ćelija.

Tabela 1.5: Definicije koje se odnose na značenje pojmova “regenerativna medicina” i “ćelijske terapije” u kontekstu regenerativne medicine.

Tabela 1.6: Definicije koje se odnose na značenje pojmova “biotehnologija”, “nova biotehnologija” i “biofarmaceutska industrija”.

Tabela 1.7: Praktični aspekti izrade ćelijskih terapija koji često ograničavaju proces razvoja novih bioloških lekova u toj oblasti.

Tabela 1.8: Kategorije HCT/P proizvoda koje ne zadovoljavaju sve kriterijume propisane u regulativi 21 CFR 1271.10(a).

Tabela 1.9: Biološki proizvodi koji zadovoljavaju ili ne zadovoljavaju kriterijume propisane u novom zakonskom okviru (eng. *Biologicals Regulatory Framework*).

Tabela 1.10: Podrška koju agencija EMA nudi individualnim i organizacionim projektima za napredne terapije u ranom stadijumu razvoja kao dodatak inicijativi eng. *Innovation Task Force, ITF* i uloga Komiteta za napredne terapije (eng. *Committee for Advanced Therapies, CAT*).

Tabela 1.11: Kompleksnost zakonskih propisa u Evropskoj zajednici koji se odnose na napredne terapije (eng. *ATMP*) a sastoje se iz vise regulativa i direktiva.

Tabela 1.12: Domeni u procesu transplantacije ćelija i tkiva koji su regulisani Zakonom (Zakon o transplantaciji ćelija i tkiva, Sl. glasnik RS br. 72/2009).

Tabela 1.13: Realnost i očekivanja u razvoju ćelijskih terapeutika.

Tabela 3.1: Kriterijumi za izbor analiziranih dokumenata.

Tabela 3.2: Lista analiziranih dokumenata.

Tabela 3.3: Odabir analiziranih protokola i laboratorijskih modela izrade ćelijskih terapija za kliničku upotrebu i klinička istraživanja.

Tabela 3.4: Odabir analiziranih laboratorijsko-organizacionih modela.

Tabela 3.5: Proces manuelne analize dokumenata.

Tabela 3.6: Pristup analizi podataka prikupljenih kroz intervju.

Tabela 3.7. Kriterijumi za evaluaciju kliničke metode prikupljanja matičnih/progenitorskih ćelija hematopoeze aferezom.

Tabela 4.1: Rezultat manuelne analize dokumenata iz grupe 1: učestalost termina.

Tabela 4.2: Rezultat manuelne analize dokumenata iz grupe 1: učestalost fraza.

Tabela 4.3: Rezultat softverske analize dokumenata iz grupe 1 i 2: najučestaliji koncepti u pojedinačnim regulatornim okvirima i u okviru regulatornih principa (GMP(1), GMP(2), GCP).

Tabela 4.4: Rezultati softverske analize dokumenata iz grupe 1 i 2: Tematski pregled u pojedinačnim regulatornim okvirima i u okviru regulatornih principa (GMP(1), GMP(2), GCP).

Tabela 4.5: Frekvencije (eng. high, medium & low) i stepen konektivnosti (%) između tema koje su identifikovane u dokumentima grupe 1 i 2 (eng. *cohorts 1 and 2*).

Tabela 4.6: Broj kliničkih istraživanja na svetskom nivou u januaru 2011. i u avgustu 2013. godine.

Tabela 4.7: Broj kliničkih istraživanja na svetskom nivou u januaru 2011. i u avgustu 2013. godine na osnovu ključnih reči "*cell therapies*".

Tabela 4.8: Broj kliničkih istraživanja na svetskom nivou u januaru 2011. i u avgustu 2013. godine na osnovu ključnih reči "*cell therapies AND stem cell*".

Tabela 4.9: Važni elementi u procedurama, protokolima i čuvanju podataka za potrebe laboratorijske izrade i kliničke primene minimalno manipuliranih matičnih/ progenitorskih ćelija izolovanih iz periferne krvi uz primenu afereze (prema brojnim standardima i regulatornim odredbama).

Tabela 4.10: Osnovni elementi laboratorijske izrade i kliničke primene minimalno manipuliranih matičnih/ progenitorskih ćelija izolovanih iz periferne krvi uz primenu afereze.

Tabela 4.11: Elementi laboratorijske izrade visoko manipuliranih mezenhimskih matičnih/ stromalnih ćelija, MSC (dobijenih metodom izolovanja iz placente i *ex vivo* umnožavanja).

Tabela 4.12: Elementi laboratorijske izrade visoko manipuliranih ćelija (metodom *ex vivo* & *loading* umnožavanja i obogaćivanja ćelija proteinima/rekombinantnim antigen proteinima).

Tabela 4.13: Karakterizacija organizacionih modela: uporedna analiza (1).

Tabela 4.14: Karakterizacija organizacionih modela: uporedna analiza (2).

Tabela 4.15: Rezultati vezani za poslovne i finansijske aspekte uz osnovna razmatranja i izazove identifikovane od strane učesnika (eng. *Business Models & Funding; Strategic Decision Making*).

Tabela 4.16: Rezultati vezani za poslovne i finansijske aspekte uz osnovna razmatranja i izazove identifikovane od strane učesnika (eng. *Main Considerations in Relation to Project or Organisation*).

Tabela 4.17: Rezultati vezani za uspostavljanje saradnje sa partnerima i druga razmatranja vezana za razvoj proizvodnje bioterapeutika/ ćelijskih terapija (eng. *Partnerships & Main Challenges in Relation to Industry/ Field*).

Tabela 4.18: Rezultati vezani za tehnološka, naučna i druga razvojna razmatranja vezana za proizvodnju bioterapeutika/ ćelijskih terapija (eng. *Science, Technology, Tech Transfer & Up Scaling*) uz generalna zapažanja (eng. *About Industry*).

Tabela 4.19: Rezultati vezani za primenu zakonsko regulatornih odredbi (eng. *Regulatory Compliance*).

Tabela 4.20: Rezultati vezani za primenu zakonsko regulatornih odredbi i njihov razvoj u širem smislu (eng. *Regulatory Landscape*).

Tabela 4.21: Osnovne teme i kategorije dobijene analizom intervjua.

Tabela 4.22: Utemeljenje rezultata u podacima: O industriji (eng. *About Industry*).

Tabela 4.23: Utemeljenje rezultata u podacima: Tehnologija i razvoj (eng. *Technology & Development*).

Tabela 4.24: Utemeljenje rezultata u podacima: Zakonske regulative, upravljanje rizicima, Dobra proizvodjačka praksa (eng. *Regulatory compliance, risk management, GMP*).

Tabela 4.25: Utemeljenje rezultata u podacima: Promene u zakonsko regulatornim odredbama (eng. *Regulatory Shift*).

Tabela 4.26: Utemeljenje rezultata u podacima: Otvorenost i saradnja u industriji (eng. *Industry openness*).

Tabela 4.27: Podaci za uspostavljanje korelacije izmedju broja prikupljenih ćelija (x) i očekivanog broja ćelija (y) u 111 kliničkih procedura afereze obavljenih u periodu od dve godine.

Tabela 4.28: Rezultati statističke obrade podataka i korelacije izmedju broja prikupljenih ćelija (x) i očekivanog broja ćelija (y) u 111 kliničkih procedura afereze obavljenih u periodu od dve godine.

#### **Lista slika:**

Slika 1.1 Razvoj i hijerarhija matičnih ćelija hematopoeze.

Slika 1.2: Morfologija mezenhimskih ćelija izolovanih iz placente obojenih fluorescentnom bojom Phalloidin-AF546.

Slika 1.3: Praktični aspekti izrade ćelijskih terapija koji često ograničavaju proces razvoja novih bioloških lekova u toj oblasti

Slika 1.4: Definicija naprednih terapija prema Reg. 1394/2007 Evropskog parlamenta.

Slika 3.1: Statistička metoda obrade podataka (eng. *Spearman rank correlation*) za uspostavljanje korelacije izmedju broja prikupljenih ćelija i očekivanog broja ćelija.

Slika 4.1: Manuelna analiza dokumenata: frekvencija upotrebe termina u dokumentima iz grupe 1 (eng. *cohort 1*).

Slika 4.2: Manuelna analiza dokumenata: frekvencija upotrebe fraza u dokumentima iz grupe 1 (eng. *cohort 1*).

Slika 4.3: Konceptualne mape i koncepti identifikovani u sledećim dokumentima: dokumenta agencije EMA (A), dokumenta agencije FDA (B), dokumenta agencije TGA (C), GMP(1) dokumenta (D), GMP(2) dokumenta (E), GCP dokumenta (F).

Slika 4.4 A-C: Konceptualni oblaci i teme (konceptualne grupe) identifikovani u dokumentima softverskom analizom.

Slika 4.4 D-F: Konceptualni oblaci i teme (konceptualne grupe) identifikovani u dokumentima softverskom analizom.

Slika 4.6: Najučestalije teme i koncepti (A, B).

Slika 4.6: Najučestalije teme i koncepti (C).

Slika 4.7: Mapa kliničkih istraživanja na svetskom nivou u januaru 2011. godine.

Slika 4.8: Mapa kliničkih istraživanja u Evropi u januaru 2011. godine.



Slika 4.9: Mapa kliničkih istraživanja u Evropi u avgustu 2013. godine.

Slika 4.10: Mapa kliničkih istraživanja na osnovu pretrage ključnih reči “*cell therapies AND adult stem cell*” u januaru 2011. godine.

Slika 4.11: Mapa kliničkih istraživanja uz upotrebu mezenhimskih ćelija na svetskom nivou (pretraga uz ključne reči “*cell therapies AND mesenchymal stem cells*”) u januaru 2011. godine.

Slika 4.12: Mapa kliničkih istraživanja uz upotrebu mezenhimskih ćelija na svetskom nivou (pretraga uz ključne reči “*cell therapies AND mesenchymal stem cells*”) u avgustu 2013. godine.

Slika 4.13: Mapa kliničkih istraživanja uz upotrebu autolognih terapija (903 u SAD-u, 338 u Evropi i 19 u Australiji) koja su izlistana na osnovu ključnih reči “*cell therapies AND autologous*” u januaru 2011. godine.

Slika 4.14: Dijagram procesa prikupljanja i obrade visoko manipulisanih mezenhimskih matičnih/ stromalnih ćelija, MSC (dobijenih metodom izolovanja iz placente i *ex vivo* umnožavanja).

Slika 4.15: Dijagram procesa prikupljanja, obrade, primene i efekta visoko manipulisanih antigen prezentujućih dendritskih ćelija, DC (dobijenih metodom umnožavanja i obogaćivanja rekombinantnim antigenom).

Slika 4.16: Horizontalni model izrade bio-terapeutika sa ‘standardnim’ pristupom (elementi i faze).

Slika 4.17: Hijerarhijski model organizacije i izrade (elementi i faze).

Slika 4.18: Dijagram procesa razvoja ćelijskih terapija/bioterapeutskih sredstava i osnovne faze: otkriće, optimizacija, produkcija i isporuka.

Slika 4.19: Multidimenzionalna optimizacija procesa izrade ćelijskih terapija/bioterapeutskih sredstava sa prikazom višeznačnih (ponekad kontradiktornih) ‘izlaza’ koji se očekuju.

Slika 4.20: Ilustracija nepredvidivosti dugoročnog predviđanja u neuredjenim sistemima usled fenomena nazvanog ‘*sensitive dependance*’.

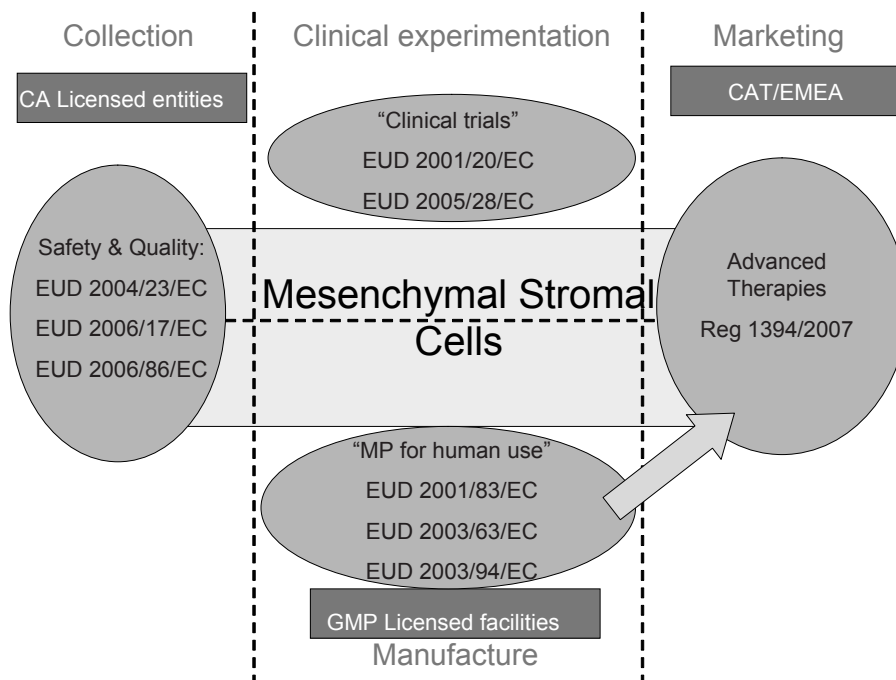
Slika 4.21: Primer fraktalne dimenzije (eng. *Sierpinski gasket*).

Slika 4.22: Rezultat statističke obrade podataka (eng. *Spearman rank correlation*) za uspostavljanje korelacije između broja prikupljenih ćelija i očekivanog broja ćelija (Graph 1).

Slika 4.23: Rezultat statističke obrade podataka (eng. *Spearman rank correlation*) za uspostavljanje korelacije između broja prikupljenih ćelija i očekivanog broja ćelija (Graph 2).

Slika 4.24: Rezultat statističke obrade podataka (eng. *Spearman rank correlation*) za uspostavljanje korelacije između broja prikupljenih ćelija i očekivanog broja ćelija (Graph 3).

## Prilog 4: Visoko manipulirane ćelije (MSC)



Adaptirano iz Slaper-Cortenbach, 2008

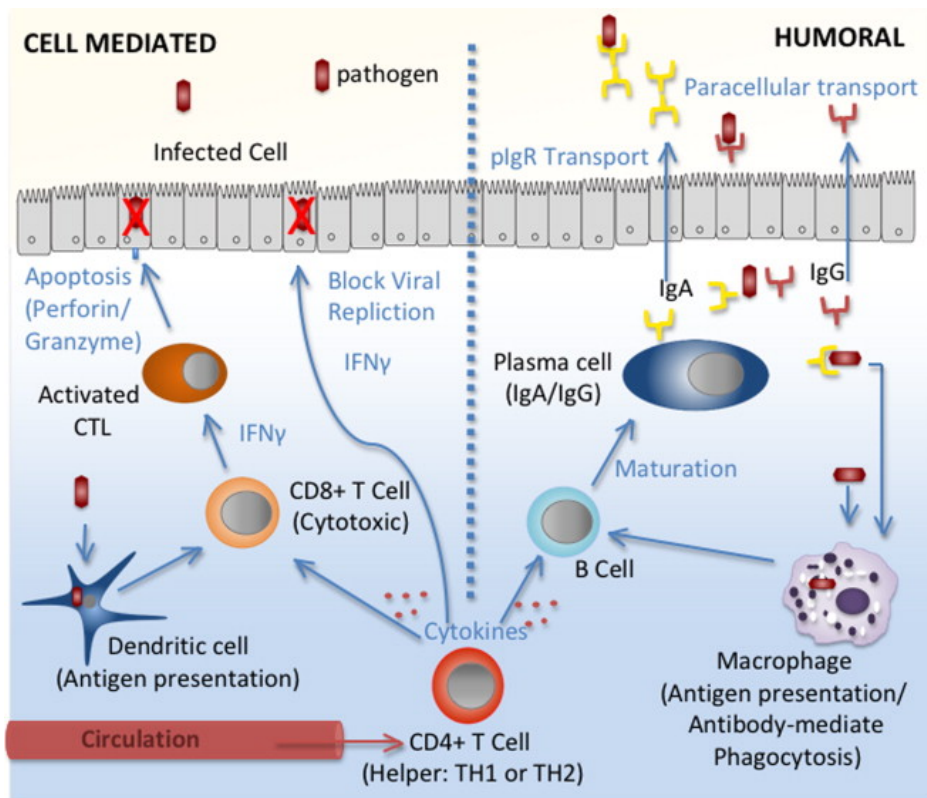
**Slika P4.1:** Položaj visoko manipuliranih mezenhimskih matičnih/stromalnih ćelija (MSC) pripremljenih za kliničku primenu u razmatranjima evropskih regulativa.

**Tabela P4.1:** Pregled laboratorijskih testova za proveru kvaliteta u izradi visoko manipulisanih ćelija za primenu u kliničke svrhe (primer mezenhimskih matičnih ćelija izolovanih iz placente).

<b>Test to be Completed</b>	<b>Pre-donation Screening</b>	<b>Passage 0</b>	<b>Passage 1</b>	<b>Passage 2</b>	<b>Passage 3</b>	<b>Passage 4</b>	<b>Passage 5</b>	<b>Day 180**</b>
Gram stain	<i>Not applicable</i>	<i>Not applicable</i>	<i>Not applicable</i>	<i>Required</i>	<i>Required</i>	<i>Required</i>	<i>Required</i>	<i>Not applicable</i>
Sterility	<i>Not applicable</i>	<i>Required</i>	<i>Required</i>	<i>Required</i>	<i>Required</i>	<i>Required</i>	<i>Required</i>	<i>Not applicable</i>
Mycoplasma	<i>Not applicable</i>	<i>Not applicable</i>	<i>Not applicable</i>	<i>Required</i>	<i>Required</i>	<i>Required</i>	<i>Required</i>	<i>Not applicable</i>
Endotoxin	<i>Not applicable</i>	<i>Not applicable</i>	<i>Not applicable</i>	<i>Required</i>	<i>Required</i>	<i>Required</i>	<i>Required</i>	<i>Not applicable</i>
FACS phenotype	<i>Not applicable</i>	<i>Not applicable</i>	<i>Not applicable</i>	<i>Required</i>	<i>Required</i>	<i>Required</i>	<i>Required</i>	<i>Not applicable</i>
Karyotype	<i>Not applicable</i>	<i>Not applicable</i>	<i>Not applicable</i>	<i>Required</i>	<i>Required</i>	<i>Required</i>	<i>Required</i>	<i>Not applicable</i>
Donor serology*	<i>Required</i>	<i>Not applicable</i>	<i>Not applicable</i>	<i>Not applicable</i>	<i>Not applicable</i>	<i>Not applicable</i>	<i>Not applicable</i>	<i>Required</i>
Donor health questionnaire	<i>Required</i>	<i>Not applicable</i>	<i>Not applicable</i>	<i>Not applicable</i>	<i>Not applicable</i>	<i>Not applicable</i>	<i>Not applicable</i>	<i>Required</i>

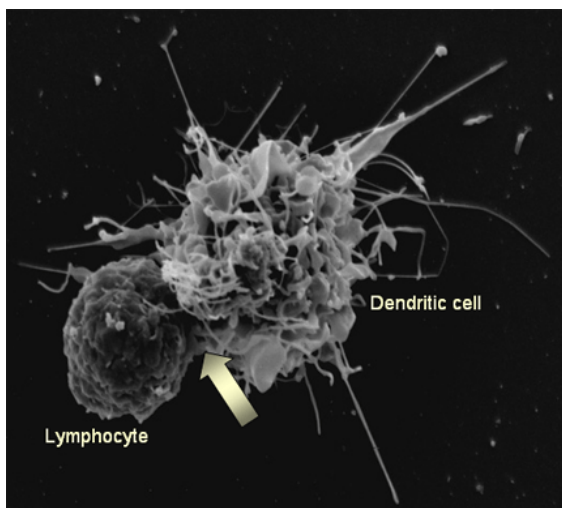
\* For infectious disease markers. \*\* Donor/mother and the baby follow-up.

**Prilog 5: Visoko manipulisane ćelije: antigen-prezentujuće dendritične ćelije**



Adaptirano iz: Hickey et al., 2010

**Slika P5.1:** Višestruka funkcija antigen-prezentujućih dendritičnih ćelija.



**Slika P5.2:** Ilustracija principa izrade anti-tumorskih vakcina primenom dendritičnih ćelija - autologne ćelijske terapije

DC Vaccine Strategy, Adaptirano iz: ISCT presentations Feb 2008; by J McMannis

## Prilog 6: Regulatorne agencije (FDA, TGA, EMA)

### FDA (Source: official website)

**Tabela P6.1:** USA: Overview of the FDA Regulations Applicable to Biologic Drugs since 2004.

21 CFR 1271.10(a) sets out the criteria that form the foundation of our tiered, risk-based approach to regulating HCT/Ps. HCT/Ps that meet all of these criteria are subject only to regulation under section 361 of the PHS Act. These HCT/Ps are subject to the regulations in Part 1271, and no pre-market approval is required. HCT/Ps that do not meet all of the criteria in 21 CFR 1271.10(a) are regulated as drugs, devices, and/or biological products. These HCT/Ps are subject to the regulations specific to drugs, biological products, or medical devices, in addition to applicable sections of Part 1271. Bone (including demineralized bone), Ligaments, Tendons, Fascia, Cartilage, Ocular Tissue (Corneas and Sclera), Skin, Arteries and Veins (except umbilical cord veins), Pericardium, Amniotic membrane (when used alone, without added cells for ocular repair), Dura mater, Heart valve allografts, Semen, Oocytes, Embryos and Hematopoietic stem/progenitor cells derived from peripheral and cord blood.

The above HCT/Ps are regulated solely under section 361 of the PHS Act and the regulations in 21 CFR Part 1271 if they meet all of the following criteria: minimally manipulated; intended for a homologous use only as reflected by the labelling, advertising, or other indications of the manufacturer's objective intent; not combined with another article, (except for water, crystalloids, or a sterilizing, preserving, or storage agent, if the addition of the agent does not raise new clinical safety concerns with respect to the HCT/P); and either:

- Do not have a systemic effect and are not dependent upon the metabolic activity of living cells for the primary function; OR
- Have a systemic effect or are dependent upon the metabolic activity of the other cells for the primary function, AND:
- Are for autologous use; -Are for allogeneic use in a first or second-degree relative; OR -Are for reproductive use.

HCT/P establishments must follow CGTP requirements to prevent the introduction, transmission, or spread of communicable diseases by ensuring that the HCT/Ps do not contain communicable disease agents, that they are not contaminated, and that they do not become contaminated during manufacturing (9). The

following are Core CGTP requirements as referenced in 21 CFR 1271.150(b):

- Requirements relating to facilities (21 CFR 1271.190(a) and (b))
- Requirements relating to environmental controls (21 CFR 1271.195(a))
- Requirements relating to equipment (21 CFR 1271.200(a))
- Requirements relating to supplies and reagents (21 CFR 1271.210(a) and (b))
- Requirements relating to recovery (21 CFR 1271.215)
- Requirements relating to processing and process controls (21 CFR 1271.220)
- Requirements relating to labeling controls (21 CFR 1271.250(a) and (b))
- Requirements relating to storage (21 CFR 1271.260(a) - (d))
- Requirements relating to receipt, pre-distribution shipment, and distribution of an HCT/P (21 CFR 1271.265(a) - (d)).
- Requirements relating to donor eligibility determinations, donor screening, and donor testing (sections 1271.50, 1271.75, 1271.80 and 1271.85).

---

<sup>§</sup> "A proposed Approach to the Regulation of Cellular and Tissue-Based Products" (62 FR 9721) & "Reinventing the Regulation of Human Tissue".

## **Tabela P6.2: Pregled zakonsko-regulatornog modela FDA u USA za izradu i primenu ćelija, tkiva i bioterapeutika baziranih na ćelijama i tkivu za upotrebu u humanoj medicini**

(Outline of the Food and Drug Administration, FDA (USA) Framework for human cells, tissues, and cellular and tissue-based products (HCT/Ps),

izvor: [www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/ComplianceActivities/Enforcement/CompliancePrograms/ucm095207.htm](http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/ComplianceActivities/Enforcement/CompliancePrograms/ucm095207.htm)

### **Intro/ Background**

In the early 1990's, the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) reported that human immunodeficiency virus (HIV) had been transmitted through transplantation of human tissue. Information was also reported which suggested that potentially unsafe tissue was being imported into the United States for transplantation into humans. Prompted by reports that potentially unsafe bone was being imported, the Commissioner of Food and Drugs ordered an immediate investigation. Information resulting from this investigation identified an immediate need to protect the public health from the transmission of HIV and hepatitis B and C through transplantation of unsuitable tissue. Concerns that disease transmission could occur, coupled with information derived from these investigations, prompted the Food and Drug Administration (FDA, the Agency) to publish an interim rule in December 1993 that specifically required certain communicable disease testing, donor screening, and record-keeping for human tissue intended for transplantation. A final rule was issued in July 1997.

FDA chose to regulate tissues under the legal authority of Section 361 (Sec. 361) of the Public Health Service Act (hereafter, PHS Act) [42 USC 264]. This section authorizes the Surgeon General, with the approval of the Secretary, Department of Health and Human Services, to make and enforce such regulations as judged necessary to prevent the introduction, transmission, or spread of communicable diseases from foreign countries into the United States or from State to State. Section 361 of the PHS Act focuses on preventing the introduction, transmission, and spread of communicable diseases.

In 1997, the agency announced its plans for human cells, tissues, and cellular and tissue-based products (HCT/Ps) in two documents: "A Proposed Approach to the Regulation of Cellular and Tissue-Based Products" (62 FR 9721, March 4, 1997) and "Reinventing the Regulation of Human Tissue". FDA requested written comments on its proposed approach and, on March 17, 1997, held a public meeting to solicit information and views from the interested public. Since that time, the Agency has published three final rules and one interim final rule to implement aspects of the proposed approach.

On January 19, 2001, FDA issued regulations to create a new unified system for registering HCT/P establishments and for listing their HCT/P's (registration final rule, 66 FR 5447). The registration rule became effective in two stages. The first effective date, April 4, 2001 was applicable to establishments that were already regulated under 21 CFR Part 1270. The second effective date was originally January 21, 2003, and was applicable to establishments that manufacture HCT/Ps currently regulated as biological products, drugs, or devices, hematopoietic stem cells from peripheral and cord blood, and reproductive cells and tissues. On January 21, 2003, FDA announced that the registration requirements for these establishments would be further delayed until January 21, 2004.

On January 27, 2004, FDA issued an interim final rule to except human dura mater and human heart valve allografts from the scope of that definition until all of the tissue rules became final. On May 25, 2004, FDA promulgated regulations requiring most cell and tissue donors to be tested and screened for relevant communicable diseases (donor-eligibility final rule, 69 FR 29786). On November 18, 2004, FDA issued regulations that require establishments that manufacture HCT/Ps to comply with Current Good Tissue Practices (CGTP), which would include, among other things, proper handling, processing, labeling, and record-keeping procedures. The regulations require each establishment to maintain a quality program to ensure compliance with CGTP. In addition, with the implementation of CGTPs, human dura mater and human heart valve allografts are now included in the scope of HCT/Ps regulated under 21 CFR 1271. On May 25, 2005 FDA published an interim final rule to revise certain regulations regarding the screening and testing of HCT/P donors and related labeling (interim final rule, 70 FR29949). FDA took this action in response to comments from interested persons regarding the impracticability of complying with certain regulations as they affect particular HCT/Ps.

## 21 CFR Part 1271

The CGTP and other regulations are contained in 21 CFR Part 1271, along with provisions relating to establishment registration. These regulations will apply to HCT/Ps recovered on or after the rule's effective date, May 25, 2005. HCT/Ps that were recovered before the effective date of the new rules are subject to 21 CFR 1270, and subparts A and B of Part 1271, as appropriate. In addition, 21 CFR Part 1271 subparts A, B, C, F, 21 CFR 1271.150(c), and 21 CFR 1271.155 of subpart D apply to reproductive HCT/Ps. The new Part 1271 is made up of six subparts:

1. General provisions pertaining to the scope and purpose of Part 1271, as well as definitions.
2. Registration and listing procedures.
3. Provisions for the screening and testing of donors to determine their eligibility.
4. Current Good Tissue Practice (CGTP) requirements.
5. Certain labeling and reporting requirements.
6. Inspection and enforcement provisions.

21 CFR 1271.10(a) sets out the criteria that form the foundation of our tiered, risk-based approach to regulating HCT/Ps. HCT/Ps that meet all of these criteria are subject only to regulation under section 361 of the PHS Act. These HCT/Ps are subject to the regulations in Part 1271, and no pre-market approval is required. HCT/Ps that do not meet all of the criteria in 21 CFR 1271.10(a) are regulated as drugs, devices, and/or biological products. These HCT/Ps are subject to the regulations specific to drugs, biological products, or medical devices, in addition to applicable sections of Part 1271.

### **HCT/Ps covered by this program include:**

Bone (including demineralized bone), Ligaments, Tendons, Fascia, Cartilage, Ocular Tissue (Corneas and Sclera), Skin, Arteries and Veins (except umbilical cord veins), Pericardium, Amniotic membrane (when used alone, without added cells for ocular repair), Dura mater, Heart valve allografts, Semen, Oocytes, Embryos and Hematopoietic stem/progenitor cells derived from peripheral and cord blood.

### **361 HCT/Ps – Definition**

The above HCT/Ps are regulated solely under section 361 of the PHS Act and the regulations in 21 CFR Part 1271 if they meet all of the following criteria:

-Minimally manipulated; -Intended for a homologous use only as reflected by the labeling, advertising, or other indications of the manufacturer's objective intent; -Not combined with another article, (except for water, crystalloids, or a sterilizing, preserving, or storage agent, if the addition of the agent does not raise new clinical safety concerns with respect to the HCT/P); AND

Either:

-Do not have a systemic effect and are not dependent upon the metabolic activity of living cells for the primary function; OR

-Have a systemic effect or are dependent upon the metabolic activity of the other cells for the primary function, AND:

-Are for autologous use;



- Are for allogeneic use in a first or second-degree relative; OR
- Are for reproductive use.

### **HCT/Ps not regulated under section 361 of the PHS Act and the regulations in 21 CFR Part 1271 and Products covered by other Compliance Programs**

Those HCT/Ps that do not meet all 21 CFR 1271.10(a) criteria and are regulated as drugs, devices, or biological products are covered under separate compliance programs, such as:

- Blood and Blood Products are covered under CP 7342.001 "Inspection of Licensed and Unlicensed Blood Banks, Brokers, Reference Laboratories, and Contractors"; and CP 7342.002 "Inspection of Source Plasma Establishments"
- HCT/Ps that do not meet all 21 CFR 1271.10(a) criteria, and are regulated as Medical Devices are covered under CP 7382.845 "Inspection of Medical Device Manufacturers"
- HCT/Ps that do not meet all 21 CFR 1271.10(a) criteria, i.e. Autologous, Allogeneic, or Xenogeneic Cells whose biological characteristics have been altered (propagate, pharmacologically treated, etc.); Ex Vivo and Gene Therapy products are regulated as biological drugs and are covered under CP 7345.848 "Inspection of Biological Drug Products"
- HCT/Ps recovered before May 25, 2005 and regulated under 21 CFR 1270 and subparts A and B of Part 1271 are covered under CP 7341.002A "Inspection of Tissue Establishments".

### **Current Good Tissue Practices (CGTPs):**

HCT/P establishments must follow CGTP requirements to prevent the introduction, transmission, or spread of communicable diseases by ensuring that the HCT/Ps do not contain communicable disease agents, that they are not contaminated, and that they do not become contaminated during manufacturing.

The following are Core CGTP requirements as referenced in 21 CFR 1271.150(b):

- Requirements relating to facilities (21 CFR 1271.190(a) and (b))
- Requirements relating to environmental controls (21 CFR 1271.195(a))
- Requirements relating to equipment (21 CFR 1271.200(a))
- Requirements relating to supplies and reagents (21 CFR 1271.210(a) and (b))
- Requirements relating to recovery (21 CFR 1271.215)
- Requirements relating to processing and process controls (21 CFR 1271.220)
- Requirements relating to labeling controls (21 CFR 1271.250(a) and (b))
- Requirements relating to storage (21 CFR 1271.260(a) - (d))
- Requirements relating to receipt, pre-distribution shipment, and distribution of an HCT/P (21 CFR 1271.265(a) - (d)).
- Requirements relating to donor eligibility determinations, donor screening, and donor testing (sections 1271.50, 1271.75, 1271.80 and 1271.85).

**Establishment Registration, Listing, and Inspection status:**

- All establishments engaged in manufacture (as defined in 21 CFR 1271.3(e)) of an HCT/P must register with and submit to FDA, a list of each human tissue product manufactured unless excepted by 21 CFR 1271.15.
- New establishments must register and list within 5 days of beginning operations.
- CBER maintains an alphabetic listing of currently registered HCT/P establishments that is accessible on the CBER internet web site at <http://www.fda.gov/cber/tissue/hctregistabl.htm>.

**Donor Eligibility Determination:**

- HCT/P establishments must screen and test HCT/P donors for risk factors for, and clinical evidence of, relevant communicable disease agents and diseases and communicable disease risks associated with xenotransplantation.
- Procedures for all steps that the HCT/P establishment performs in testing, screening, and determining donor eligibility must be established and maintained. These procedures must be designed to ensure compliance with the requirements of subpart C, 21 CFR Part 1271.
- Donor eligibility determination must be based upon the results of donor screening in accordance with 21 CFR 1271.75 and donor testing in accordance with 21 CFR 1271.80 and 1271.85.
- Certain records must accompany the HCT/P at all times once a donor eligibility determination has been made (21 CFR 1271.55). These include a summary of records used to make the donor eligibility determination.
- Until completion of the donor eligibility determination, an HCT/P must be kept in quarantine, and clearly identified as quarantined to prevent improper release and distribution (21 CFR 1271.60).

**TGA**  
(Source: official website)

**Tabela P6.3:** Australia: Overview of the TGA website structure and content as on 1<sup>st</sup> July 2011.

<ul style="list-style-type: none"><li>-Home Page</li><li>-Safety information</li><li>-Consumers</li><li>-Health professionals</li><li>-About the TGA</li><li>-News room</li><li>-Industry<ul style="list-style-type: none"><li>- Regulation basics<ul style="list-style-type: none"><li>- How therapeutic goods are regulated in Australia</li><li>- Australian Register of Therapeutic Goods</li><li>- Legislation &amp; legislative instruments</li><li>- Advertising therapeutic goods</li><li>- Labelling &amp; packaging</li><li>- Import &amp; export</li><li>- Clinical trials*</li><li>- Cosmetics</li><li>- Regulatory reforms</li><li>- Safety information for industry</li></ul></li><li>- Over-the-counter medicines</li><li>- Medical devices &amp; IVDs</li><li>- Prescription Medicines</li><li>- Complementary medicines</li><li>- Other therapeutic goods</li><li>- Manufacturing therapeutic goods</li><li>- Scheduling medicines &amp; poisons</li></ul></li><li>- <b>Blood, tissues &amp; biologicals</b></li><li>- <b>Blood &amp; tissues regulation</b><ul style="list-style-type: none"><li>-<i>Blood &amp; tissues regulation basics</i><ul style="list-style-type: none"><li>-Regulation of blood</li><li>-Regulation of tissues</li><li>-Current situation</li></ul></li></ul></li></ul>
--

-The future

-Standards, guidelines & publications

-Australian code of GMP for human blood and tissues

-Current standards applicable to TGA-licensed HPC manufacturers

-Enforcements guidelines

-Guidelines for preparation of Technical Master Files for blood, blood components and haematopoietic progenitor cells (HPC)

-Forms for the blood & tissues industry

-Blood & tissues forms

-Related forms

**1. Biologicals regulation**

-Biologicals regulation basics

-Regulatory framework for biologicals

-TGA biologicals framework newsletter

-2010

-2009

-Standards, guidelines & publications

Biologicals

-Enforcement guidelines

-Forms for the biologicals industry

-Biologicals forms (*no content*)

-Related forms

-Client details form

-Request to transfer the sponsorship of an ARTG entry

-Form for relinquishing company

-Form for accepting company

**EMA**  
(Source: official website)

**Tabela P6.4:** European Union: Overview of the EMA website references to ATMPs Regulations as on 10<sup>th</sup> December 2011.

Regulation of medicines
<p>Human medicines This section of the website provides information for companies and individuals involved in developing and marketing medicines for use in the European Union. For further information on EU legislation and procedures for the regulation of medicines, see also Volumes 1-4 and 9-10 of the rules governing medicinal products in the European Union*.</p>
<p>*Eudralex: The body of European Union legislation in the pharmaceutical sector is compiled in Volume 1 and Volume 5 of the publication "The rules governing medicinal products in the European Union".</p> <p>Volume 1 - EU pharmaceutical legislation for medicinal products for human use Volume 5 - EU pharmaceutical legislation for medicinal products for veterinary use The basic legislation is supported by a series of guidelines that are also published in the following volumes of "The rules governing medicinal products in the European Union": Volume 2 - Notice to applicants and regulatory guidelines for medicinal products for human use Volume 3 - Scientific guidelines for medicinal products for human use Volume 4 - Guidelines for good manufacturing practices for medicinal products for human and veterinary use Volume 6 - Notice to applicants and regulatory guidelines for medicinal products for veterinary use Volume 7 - Scientific guidelines for medicinal products for veterinary use Volume 8 - Maximum residue limits Volume 9 - Guidelines for pharmacovigilance for medicinal products for human and veterinary use Volume 10 - Guidelines for clinical trial</p> <p>Medicinal products for paediatric use, orphan, herbal medicinal products and advanced therapies are governed by specific rules.</p>
<p><b>Advanced therapies</b> Advanced-therapy medicinal products (ATMPs) are medicines for human use that are based on gene therapy, somatic-cell therapy or tissue engineering. They offer groundbreaking new opportunities for the</p>

<p>treatment of disease and injury.  The regulatory framework for ATMPs is established in Regulation (EC) No 1394/2007.  These pages provide information for applicants on:  -the classification of ATMP marketing-authorisation applications;  -certification of the quality of ATMPs;  -non-clinical data submitted by small and medium-sized enterprises (SMEs) developing ATMPs.</p>
<p><b>Support to companies</b>  The Innovation Task Force (ITF) provides a forum for informal dialogue between the European Medicines Agency and companies or individuals in the early stages of the medicine development process.  In addition, the Agency can provide support to companies through:  -the SME office; scientific advice and protocol assistance; orphan designation.  -European Union regulation on advanced therapies ATMP classification<sup>^</sup>, Certification procedure for small- and medium-sized enterprises, Marketing-authorisation application submission, Scientific guidelines, Risk management, Interested parties Guidance.</p> <p style="text-align: right;">^ includes scientific recommendations</p>
<p><b>Procedural advice</b>  Procedural advice on the provision of scientific recommendation on classification of advanced therapy medicinal products in accordance with article 17 of regulation (EC) No 1394/2007.</p>
<p><b>Other information</b>  European Union regulation on advanced therapies  ATMP classification  Certification procedure for small- and medium-sized enterprises  Marketing-authorisation application submission  Scientific guidelines  Risk management  Interested parties  Guidance</p>

## Prilog 7: Ostali regulatorni standardi, preporuke i pravilnici

**Tabela P7.1:** Pregled internacionalnih standarda i regulativa koji se odnose na izradu i kliničku primenu ćelijskih terapija na globalnom nivou (International Regulatory Requirements, Standards and Guidelines currently applicable to Cell Therapies used in Clinical and Clinical Research Purposes). (Source: official websites).

Name of the Standard/ Regulation or Guidelines and Regulatory Agency	Abbreviated Name of Standard/ Guidelines or Issuing Authority	Purpose and Context	Scope
<p>Standards for Haemopoietic Progenitor Cell Collection, processing and Transplantation</p> <p>Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy, FACT</p>	<p><b>FACT</b></p> <p><b>FACT cont'd</b></p>	<p>Founded in 1996, FACT establishes standards for high quality medical and laboratory practice in cellular therapies. FACT is a non-profit corporation co-founded by the International Society for Cellular Therapy (ISCT) and the American Society of Blood and Marrow Transplantation (ABMTR) for the purposes of voluntary inspection and accreditation in the field of cellular therapy.</p> <p>In 2000 and 2006 FACT partnered with NetCord and Joint Accreditation Committee-ISCT &amp; EBMT (JACIE) respectively, and developed international standards in the field of cellular therapy.</p>	<p>FACT accredits facilities under the two sets of international standards:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-FACT-JACIE International Standards for Cellular Therapy Product Collection, Processing and Administration. These apply to hematopoietic progenitor cells isolated from bone marrow or peripheral blood and to all phases of collection, processing and administration of these cells.</li> <li>- NetCord-FACT International Standards for Cord Blood Collection, Processing, Testing, Banking, Selection and Release.</li> </ul>
<p>The Joint Accreditation Committee-ISCT &amp; EBMT</p> <p><a href="http://www.jacie.org/portal/jacie/welcome">http://www.jacie.org/portal/jacie/welcome</a></p>	<p><b>JACIE</b></p>	<p>The Joint Accreditation Committee-ISCT &amp; EBMT is a non-profit body established in 1998 for the purposes of assessment and accreditation in the field of haematopoietic stem cell (HSC) transplantation. The Committee was founded by the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT), the two leading scientific organisations involved with HSC transplantation in Europe.</p>	<p>JACIE's primary aim is to promote high quality patient care and laboratory performance in haematopoietic stem cell collection, processing and transplantation centres through an internationally recognised system of accreditation.</p>
<p>AABB, The association has grown to represent much more than the "American Association of Blood Banks."</p> <p>In 2005, the association instituted a name change to reflect its expanding interests and diverse membership, and is now known only by its acronym, AABB.</p>	<p><b>AABB</b></p>	<p>AABB is an international association, based in USA, representing individuals and institutions involved in activities related to transfusion and cellular therapies, including transplantation medicine. AABB member facilities are responsible for collecting virtually all of the nation's blood supply and transfusing more than 80 percent of all blood and blood components used in the United States. Since its inception in 1947, AABB — formerly known as the American Association of Blood Banks — has continued to support the highest standards of medical, technical and</p>	<p>Nearly 2,000 institutions, including community and hospital blood banks, hospital transfusion services and laboratories, and about 8,000 individuals, including physicians, nurses and other health care providers; scientists; administrators; medical technologists; blood donor recruiters; and public relations practitioners, are members of AABB. AABB's active membership — located in all 50 states and 80</p>

		administrative performance; scientific investigation; and clinical application through standard setting, accreditation, education, advocacy and other activities. The association also is dedicated to increasing public awareness of the importance of voluntary blood donation.	countries — provides direction to the association through its board of directors and more than 30 committees of volunteer professionals.
<p>Approved by the ISBT Council in 1994, the ISBT 128 standard has gained international acceptance* and is now officially endorsed by the American Association of Blood Banks, European Plasma Fractionators Association, European Blood Alliance and the American Red Cross.</p> <p>Its use for Cellular Therapy products is supported by the boards of the AABB, ASBMT<sup>§</sup>, EBMT<sup>§</sup>, FACT, ISBT, ISCT, ISCT Europe, JACIE, NMDP<sup>§</sup> and WMDA<sup>§</sup>.</p>	<b>ISBT</b>	<p>ISBT 128 sets a global standard for the identification, labeling and information processing of human blood, tissue and organ products across international borders and disparate health care systems. The standard has been designed and perfected over a period of almost two decades to ensure the highest levels of accuracy, safety and efficiency for the benefit of donors, patients and official ISBT 128 licensed facilities worldwide.</p> <p>*Countries which have facilities that have implemented ISBT 128: Austria, Belgium, Brazil, Canada, China, Denmark, Egypt, Estonia, Finland, Greece, Iceland, Israel, Kuwait, Latvia, Lithuania, Netherlands, Norway, Oman, Portugal, Russia, Singapore, South Korea, Spain, Sweden, Switzerland, Taiwan, Turkey, United Arab Emirates, United Kingdom, United States.</p>	<p>The standard has been designed to ensure the highest levels of accuracy, safety and efficiency for the benefit of donors, patients and official ISBT 128 licensed facilities worldwide.</p> <p>Featuring a unique, highly flexible and comprehensive coding method for every collected product, ISBT 128 provides international consistency to support the transfer, transfusion or transplantation of blood and tissue products.</p> <p>A truly global standard, ISBT 128 has been adopted worldwide in numerous countries*. Its adoption has spanned the spectrum from major health care facilities, governmental agencies, and emergency response organizations to medical technology hardware and software developers, laboratories and research organizations.</p>
<p>International Cellular Therapy Coding and Labeling Advisory Group</p> <p>**The Boards of AABB, ASBMT, ASFA, EBMT, FACT, ICCBBA Inc, ISBT, ISCT, ISCT Europe, JACIE, NMDP and WMDA:</p>	<b>ICCBBA</b>	<p>The Boards of relevant agencies** are: recognizing the significant benefits of international standardization of coding and labelling in clinical practice; taking into account the requirements of new regulation, in particular the European Tissue and Cells Directive (2004/23/EC) and the FDA interest in bar coding of biological products [Federal Register: February 26, 2004 (Volume 69, Number 38)].</p>	<p>It is to acknowledge the widespread use of the international information standard ISBT 128 in the fields of blood transfusion and transplantation; recognise the need for international management and technical co-operation for the successful maintenance and development of such standards, and confirm their support for the international use of ISBT 128 in the coding of hematopoietic progenitor cell and other therapeutic cell products and announce the establishment of a co-sponsored International Cellular Therapy Coding and Labeling Advisory Group.</p>
<p>The British Pharmacopoeia</p> <p><a href="http://www.pharmacopoeia.co.uk/">http://www.pharmacopoeia.co.uk/</a></p>	<b>BP</b>	<p>The British Pharmacopoeia (BP) is the official collection of standards for UK medicinal products and pharmaceutical substances.</p>	<p>Produced by the British Pharmacopoeia Commission Secretariat, part of the Medicines and Healthcare products Regulatory Agency, the BP makes an important contribution to public health by setting publicly available standards for the quality of medicines.</p>



<p>The United States Pharmacopeia</p> <p><a href="http://www.usp.org/">http://www.usp.org/</a></p>	<p><b>USP</b></p>	<p>The United States Pharmacopeia (USP) is a non-governmental, official public standards-setting authority for prescription and over-the-counter medicines and other healthcare products manufactured or sold in the United States.</p>	<p>USP sets widely recognized standards for food ingredients and dietary supplements. USP sets standards for the quality, purity, strength, and consistency of these products. It is recognized and used in more than 130 countries around the globe.</p>
--	-------------------	---	---

<sup>§</sup>Abbreviations: EBMT, European Group for Blood and Marrow Transplantation; ASBMT, American Society for Blood and Marrow Transplantation; NMDP, National Marrow Donor Program (USA); WMDA, World Marrow Donor Association.

**Tabela P7.2:** Pregled standarda i regulativa u Australiji koji se odnose na izradu i kliničku primenu ćelijskih terapija (Regulatory Requirements, Standards and Guidelines currently applicable to Cell Therapies used in Clinical and Clinical Research Purposes in Australia). (Source: official websites).

<p><b>Name of the Standard/ Regulation or Guidelines and Regulatory Agency</b></p>	<p><b>Abbreviated Name of Standard/ Guidelines or Issuing Authority</b></p>	<p><b>Purpose and Context</b></p>	<p><b>Scope</b></p>
<p>Requirements for Procedures Related to the Collection, Processing, Storage and Issue of Human Haemopoietic Progenitor Cells</p> <p>This NPAAC Standard is currently administered by the National Association of Testing Authorities, NATA</p>	<p><b>NPAAC</b></p>	<p>The National Pathology Accreditation Advisory Council (NPAAC) was established in 1979 to consider and make recommendations to the Australian, state and territory governments on matters related to the accreditation of pathology laboratories and the introduction and maintenance of uniform standards of practice in pathology laboratories throughout Australia. A function of NPAAC is to formulate standards and initiate and promote guidelines and education programs about pathology tests.</p> <p>Publications produced by NPAAC are issued as accreditation material to provide guidance to laboratories and accrediting agencies about minimum standards considered to be acceptable for good laboratory practice. Failure to meet these minimum standards may pose a risk to public health and patient safety.</p>	<p>The standard describes the minimum requirements for competence and quality to be met by facilities and individuals preparing HPCs (PBSC) and/or lymphocytes for infusion, and for providing assured safety and quality of the product.</p> <p>Any manufacturing and use of products will still be subject to regulatory oversight by the Therapeutic Goods Administration (TGA) or its successor body. This document covers Class 1 products only. For further info on HPC see Appendix 2, Table 3.</p>
<p><i>Current:</i></p> <p>Australian Code of Good Manufacturing Practice – Human Blood and Tissues, cGMP</p>	<p><b>cGMP</b></p>	<p>To meet the requirements of the Therapeutic Goods Act 1989, blood and tissue banks must meet the requirements of the Manufacturing Principles, which reference the Australian Code of Good Manufacturing Practice - Human Blood and Tissues.</p>	<p>The current code continues to include the elements of quality systems from the ISO 9000 series of standards and applies these principles to blood and tissue banking.</p> <p>Human tissue for implantation in the human body that is obtained, stored and supplied without any deliberate alteration to its biological and</p>

Therapeutic Goods Administration (TGA)		Under the present revision of the Therapeutic Goods Act 1989 (amended June 2003), human organs, tissue and cellular products, and tissue and cell based derivatives are regulated by several different routes within the legislation.	mechanical properties must comply with the Australian Code of Good Manufacturing Practice, Human Blood and Tissues but are exempt from the requirement for entry on the ARTG.  This includes most banked tissue, such as dura mater, heart valves, skin, corneas and bone.
--	--	---	--

<p><i>Proposed:</i></p> <p>Australian Code of Good Manufacturing Practice human blood and blood components, human tissues and human cellular therapies - Draft</p> <p><a href="http://www.tga.gov.au/bt/consult/drbloodstandards-cgmp.pdf">http://www.tga.gov.au/bt/consult/drbloodstandards-cgmp.pdf</a></p> <p>Therapeutic Goods Administration (TGA)</p>	<b>cGMP</b>	<p>In July 2002 the Australian Health Ministers' Conference recommended that the Therapeutic Goods Administration (TGA) develop a new regulatory framework for human cell and tissue therapies and other emerging biological therapies. A framework to regulate these products was proposed by the TGA during the development of the now postponed joint Australia New Zealand Therapeutic Products Agency (ANZTPA). During this time significant consultation was undertaken on the development of standards.</p> <p>Following the postponement of ANZTPA in 2007, the Government agreed in 2008 to move forward with a number of improvements identified during the development of ANZTPA in an Australia-only context.</p> <p>The TGA is inviting stakeholders to comment on five newly drafted Therapeutic Goods Orders (TGOs) and an amended Code of GMP for blood and blood components, human tissues and human cellular therapies.</p> <p>The draft Code of GMP is an amended version of the current Code of GMP for human blood and tissues (2000) which has applied to manufacturers and has been in place for almost 10 years.</p>	<p>The five new TGOs are proposed to mandate a standard for minimising the risk of transmission of infectious diseases and four tissue-specific standards for banked cardiovascular tissue, musculoskeletal tissue, ocular tissue and skin. The new TGOs clarify best practice requirements, increase the degree of international harmonisation and ensure ongoing flexibility to respond to new technologies.</p> <p>The draft Code of GMP and the infectious diseases standard are intended to apply to all human blood and blood components, human tissues and human cellular therapy products. Some of these products will be regulated under a new regulatory framework for Biologicals. Products regulated under the new Biologicals framework will also have to comply with the relevant tissue specific standards i.e. standards for banked cardiovascular, musculoskeletal and ocular tissue and skin.</p>
---	-------------	--	---

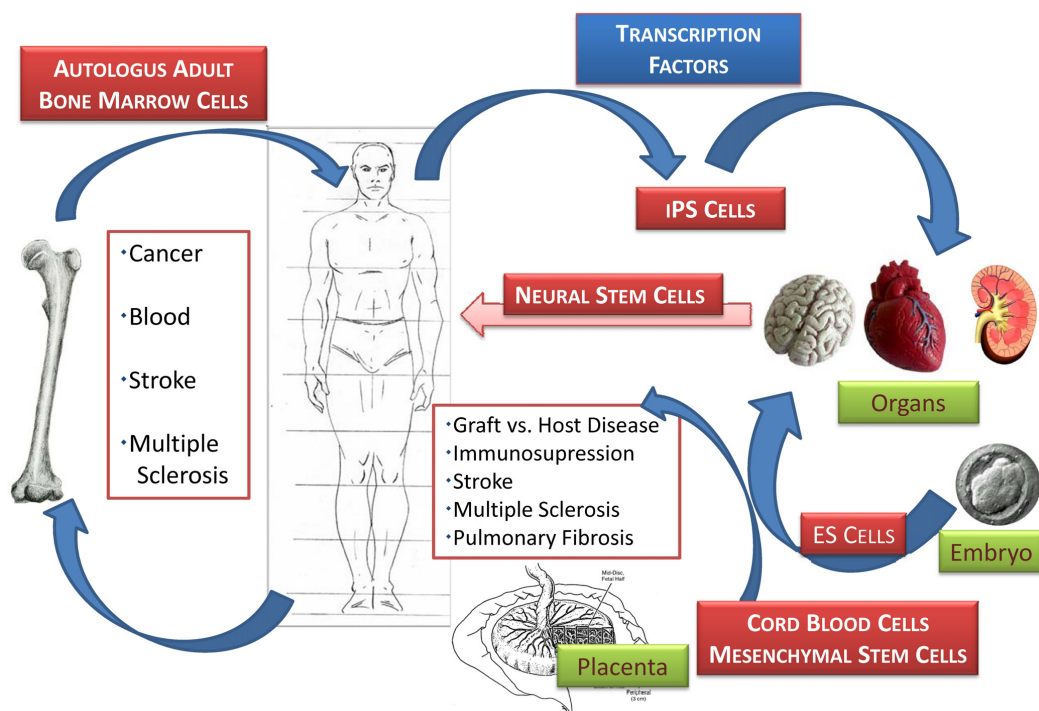
<p><i>Definitions and Exclusions:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Organs used in direct transplant are excluded therapeutic goods (Therapeutic Goods (Excluded Goods) Order No. 1 of 2008. The solutions used to flush the organs or to maintain them during transport must be listed or registered on the Australian Register of Therapeutic Goods (ARTG).</li> <li>-Human tissue and cell extracts, whose principle therapeutic purposes are achieved through chemical, pharmacological, or metabolic actions that are generally able to be batch released, are regulated as medicines.</li> <li>-Human derived tissue and cell products that are not regulated as medicines; and are produced by deliberate alteration of tissue or cells in defined manufacturing processes are being regulated as "therapeutic devices" and declared other therapeutic goods (OTGs) by a subsection 41BD(3) Order, Therapeutic Goods (Articles that are not Medical Devices &lt;<a href="http://www.tga.gov.au/legis/tgdev0401.htm">http://www.tga.gov.au/legis/tgdev0401.htm</a>&gt;). Such products are to be manufactured in compliance with the Australian Code of Good Manufacturing Practice for Human Blood and Tissues (Part 3-3 of the Act), and to be registered on the ARTG (Part 3-2 of the Act).</li> <li>-Medicines and other therapeutic goods (OTGs) of human origin produced or prepared for a particular person are regulated differently.</li> </ul>
--

Cont'd.

Name of the Standard/ Regulation or Guidelines and Regulatory Agency	Abbreviated Name of Standard/ Guidelines or Issuing Authority	Purpose and Context	Scope
<p>Access to Unapproved Therapeutic Goods - Clinical Trials in Australia</p> <p><a href="http://www.tga.gov.au/docs/html/clintrials.htm">http://www.tga.gov.au/docs/html/clintrials.htm</a></p> <p>Therapeutic Goods Administration (TGA)</p>	<p><b>TGA</b></p>	<p>This document describes the regulations for allowing patients access to unapproved medicines or medical devices by participation in a clinical trial. It is primarily directed at sponsors and investigators, but will also provide useful guidance to Human Research Ethics Committees (HRECs).</p> <p>HRECs are also directed to the TGA publication Human Research Ethics Committees and the Therapeutic Goods Legislation &lt;<a href="http://www.tga.gov.au/docs/html/hrec.htm">http://www.tga.gov.au/docs/html/hrec.htm</a>&gt;.</p>	<p>This document provides: Legislative basis for clinical trials, The Clinical Trial Notification (CTN) Scheme, The Clinical Trial Exemption (CTX) Scheme, Reporting of adverse reactions during a clinical trial of medicines, Reporting of adverse reactions during clinical trials of medical devices, Glossary, CTN form, Clinical trial completion advice - CTN and CTX schemes, Supply of unapproved therapeutic goods under the CTX Scheme, CTX scheme - particulars of the product and the trial, CTX scheme documents for ethics committees, ADRAC blue card format, Medical device incident report form.</p>
<p>Good Clinical Practice – Internationally accepted*** standard for the designing, conducting, recording and reporting of clinical trials</p> <p><a href="http://www.tga.gov.au/docs/html/ich13595.htm">http://www.tga.gov.au/docs/html/ich13595.htm</a></p> <p>Therapeutic Goods Administration (TGA)</p>	<p><b>GCP</b></p>	<p>The Note for Guidance on Good Clinical Practice (CPMP/ICH/135/95) is an internationally accepted standard for the designing, conducting, recording and reporting of clinical trials.</p>	<p>The TGA has adopted CPMP/ICH/135/95 in principle but has recognised that some elements are, by necessity, overridden by the National Statement (and therefore not adopted) and that others require explanation in terms of 'local regulatory requirements'.</p> <p><i>***Adopted as a National Standard with TGA Annotations</i></p>
<p>National Statement on Ethical Conduct in Human Research</p> <p><a href="http://www.nhmrc.gov.au/publications/synopses/e72syn.htm">http://www.nhmrc.gov.au/publications/synopses/e72syn.htm</a></p> <p>The National Health and Medical Research Council</p>	<p><b>NHRMC</b></p>	<p>This Statement entitled the National Statement on Ethical Conduct in Human Research ('the Statement') consists of a series of Guidelines made in accordance with the National Health and Medical Research Council Act 1992 ('the Act').</p>	<p>This document outlines the values and principles of ethical conduct, themes in research ethics: risk and benefit, consent, ethical considerations specific to research methods or fields, ethical considerations specific to participants, processes of research governance and ethical review.</p>
<p>Human Research Ethics Committees and the Therapeutic Goods Legislation</p> <p>Therapeutic Goods Administration (TGA)</p>	<p><b>TGA</b></p>	<p>This document describes the role of Human Research Ethics Committees (HRECs) in relation to the supply of unapproved therapeutic goods.</p>	<p>It is in connection with the operation of the Clinical Trial Notification Scheme (CTN), the Clinical Trial Exemption Scheme (CTX), the Special Access Scheme, and in the approval of Authorised Prescribers.</p>

<p>Australian Red Cross Blood Services (ARCBS) and National Transplantation Service (NTS)</p> <p><a href="http://www.donateblood.com.au/index.aspx">http://www.donateblood.com.au/index.aspx</a></p>	<p><b>ARCBS-NTS</b></p>	<p>Before the Blood Service came into formal existence in 1996, the collection, processing and distribution of blood products throughout the country's health system was managed by individual State and Territory Red Cross Transfusion Services. The establishment of a national blood service has facilitated new levels of national and international co-operation, resulting in improved consistency, quality and safety across Australia.</p>	<p>ARCBS Guidelines for Selection of Blood Donors, to assist in determining the appropriateness of collecting blood from potential donors and the purpose(s) for which their collection should be used.</p>
<p>Australian Bone Marrow Donor Registry Guidelines</p> <p>Australian Bone Marrow Donor Registry</p> <p><a href="http://www.abmdr.org.au/">http://www.abmdr.org.au/</a></p>	<p><b>ABMDR</b></p>	<p>The Australian Bone Marrow Donor Registry is the tenth largest registry in the world. The registry is guided by people committed to help any person in need of a haemopoietic stem cell transplant.</p> <p>The ABMDR Board provides oversight and guidance to the ABMDR and its executives.</p>	<p>The registry network is comprised of state donor centres, tissue typing centres, marrow collection centres and transplant centres. It receives advice and support from the following advisory committees: Scientific advisory, Donor centre advisory, Ethics and Cord blood national management.</p>
<p>AusCord Guidelines</p> <p><a href="http://www.abmdr.org.au/dynamic_menus.php?id=4&amp;menuid=17&amp;mainid=4">http://www.abmdr.org.au/dynamic_menus.php?id=4&amp;menuid=17&amp;mainid=4</a></p>	<p><b>AusCord</b></p>	<p>AusCord is the Australian national network of umbilical cord blood banks and cord blood collection centres. AusCord aims to provide greater opportunities to patients who need a life-saving procedure through cord blood transplantation.</p>	<p>AusCord Guide to Selection of Mothers and Donors used by Cord Blood Banks staff in Australia to establish selection criteria.</p>

## Prilog 8: Mogućnosti primene i kompleksnost ćelijskih terapija



Preuzeto iz: Trounson, 2009

**Slika P8.1:** Mogućnosti za primenu i složenost ćelijskih terapija. Različite primene: ćelija kostne srži, alogeni ćelijskih terapija (iz placente), mezenhimijskih matičnih ćelija, neuralnih matičnih ćelija, embrionalnih pluripotentnih matičnih ćelija i indukovanih pluripotentnih ćelija.

## Prilog 9: Metodološki prikaz

### KOMPARATIVNA ANALIZA PROCESA, SISTEMA I REGULATIVA U IZRADI I PRIMENI MATIČNIH ČELIJA I DRUGIH ČELIJSKIH TERAPIJA

Metodološki prikaz komparativne studije

Elementi i faze			Fokus i očekivani rezultati
Svrha ove faze analize	Jedinica analize i materijal (izvor informacija)	Kvalitativna metodologija koja se koristi u ovoj fazi	
Izvodi novu teoriju i/ili novi model	<b>Teorija/ Model</b> ( <i>novonastali teorijski pristup, model i/ili modalitet</i> )	<b>Teorijski modeli/ rešenja</b>  <b>Praktični model/ evaluacija</b>	Nova teorijska rešenja i novi modaliteti. Praktična primena modelovanja.
<i>Komp. studija 5</i>	Materijal: rezultati prethodnih analiza i empirijski rezultati		
Analizira značenje ljudskih iskustava, percepcije i znanja/ fenomene	<b>Fenomen</b> ( <i>postojeći problemi i rešenja</i> )  Materijal: transkripti intervjua CTE01 - CTE24	<b>Izvodjenje teorije iz prakse</b> (engl. <i>Grounded theory</i> ) ↑ <b>Tematska/ fenomenološka analiza</b> (engl. <i>Phenomenology/ Thematic analysis</i> )	Postojeći problemi i postojeća rešenja iz prakse.
<i>Komp. studija 4</i>	Jedinica analize- intervjui (zvučni zapis i transkript zvučnog zapisa)		
Demonstrira sličnosti i razlike između modela izrade	<b>Model</b> ( <i>postojeći lab-organizacioni model</i> )  M-1 ↔ M-2 ↔ M-3	<b>Uporedna analiza modela</b> (engl. <i>Cross-case study</i> )	Karakteristike postojećih organizacionih modela.
<i>Komp. studija 3</i>	Materijal: dokumenta/ zvanični web sajt Jedinica analize- organizacioni model (koji se bavi izradom ćelijskih terapija nezavisno od njihoveog tipa i primene)		
Ilustruje složenost procesa izrade i primene	<b>Projekat</b> ( <i>postojeći lab-klinički proces</i> )  P-1 P-2 P-3	<b>Pojedinačna analiza individualnog projekta</b> (engl. <i>Case study</i> )	Karakteristike procesa laboratorijske izrade i kliničke primene u postojećim projektima.
<i>Komp. studija 2</i>	Materijal: dokumenta/ publikacije Jedinica analize- projekat (proces laboratorijske izrade i kliničke primene određenog tipa ćelija)		
Ilustruje stepen raznovrsnosti primena u kliničke svrhe	<b>Baza podataka kliničkih istraživačkih projekata</b> ( <i>kliničkih istraživanja</i> )	<b>Analiza dokumenata</b> (engl. <i>Documentary analysis</i> )  (Pregled kliničkih primena/ kliničkih istraživačkih projekata)	Raznovrsnost, tip i broj kliničkih istraživačkih projekata.
<i>Komp. studija 1</i>	Materijal: baza podataka/ zvanični web sajt Jedinica analize- klinički istraživački projekat (kliničko istraživanje)		
Ilustruje složenost zakonsko regulatornih modela	<b>Zakonsko regulatorni model</b> ( <i>engl. Regulatory Framework</i> )	<b>Analiza dokumenata</b> (engl. <i>Documentary analysis</i> )  (Pregled zakonsko regulatornih propisa)	Kompleksnost zakonsko regulatornih modela i okruženja.
<i>Komp. studija 1</i>	Materijal: dokumenta/ zvanični web sajt Jedinica analize- zakonsko regulatorni model		

## Prilog 10: Methodology Overview (eng.)

### COMPARATIVE STUDY OF PROCESSES, SYSTEMS AND REGULATIONS IN MANUFACTURING AND APPLICATION OF STEM CELLS AND OTHER CELL THERAPIES *Methodology Overview of the Comparative Study*

Elements and phases			Focus & expected results
Purpose of the analysis	Unit of analysis & Material (source of information)	Qualitative methodology	
Generates a new theory/ model  <i>Comp. Study 5</i>	<b><i>Theory/ Model</i></b> <b><i>(new theoretical approach/ models)</i></b>  Material: results of previous analyses and empirical results	New theory/ New models  Practical model/ evaluation	New theories, theoretical & practical models.
Looks into human experiences / type of phenomenon  <i>Comp. Study 4</i>	<b><i>Phenomenon</i></b> <b><i>(existing problems and solutions)</i></b>  Material: interview transcripts CTE01 - CTE24  Unit of analysis- interview (recordings and interview transcripts)	Grounded theory ↑  Phenomenology/ Thematic analysis	Identifying existing problems and practical solutions
Demonstrates similarities and differences between manufacturing models  <i>Comp. Study 3</i>	<b><i>Model</i></b> <b><i>(existing manufacturing/ organisational model)</i></b> M-1 ↔ M-2 ↔ M-3  Material: documents/ official web site Unit of analysis- organisational model in cell therapies manufacturing/service, irrespective of applications	Cross-case study	Characteristics of existing organisational models in manufacturing/ services.
Demonstrates complexity of manufacturing process and clinical appl.  <i>Comp. Study 2</i>	<b><i>Project</i></b> <b><i>(existing lab-clinical process)</i></b> P-1    P-2    P-3  Material: documents/ publications Unit of analysis- project (process of laboratory manufacturing & clinical application of a specific cell type)	Case study	Process characteristics: an existing laboratory manufacturing & clinical application.
Presents the broad spectrum of clinical applications  <i>Comp. Study 1</i>	<b><i>Clinical Trials Database</i></b>  Material: data-base/ official web site Unit of analysis- clinical trials	Documentary analysis (Overview of clinical applications/ clinical trials)	Variety of clinical applications and number of clinical trials.
Presents the complexity of regulatory environment  <i>Comp. Study 1</i>	<b><i>Regulatory Framework(s)</i></b>  Material: documents/ official web site Unit of analysis- regulatory framework	Documentary analysis (Overview of regulatory frameworks)	Complexity of reg. frameworks/ global regulatory environment.

## Prilog 11: Primer standardne operativne procedure za izradu minimalno manipuliranih ćelija

### Generic elements:

#### **PURPOSE AND SCOPE**

This method will describe the standard operating procedure for ...

#### **REFERENCES**

Add: standards, guidelines, publications and other external documents.

#### **DOCUMENTS**

Add: manufacturing standard procedures and other internal documents.

For example: Cleaning of Biological Safety Cabinet in Laboratory, Product Release, Product Transfer and Disposal from the Lab, Product Transport and Receipt to the Lab, Cryopreservation, Reinfusion, Collection and Training for Collection, Records Overview, Detailed Records, Records Validation and Reporting, CFU-GM Quantitation - Fresh Assay, CFU-GM Quantitation - Thawed Vial Assay, Storage of Cryopreserved Products, Thawed Vial CD34 Assay, Donor Evaluation and Selection, Quality Control of Cryopreserved Product,

#### **DEFINITIONS**

Add: list of definitions.

#### **RESPONSIBILITIES**

Add: list of staff responsibilities.

### Product-specific elements:

#### **PROCEDURE**

Stem/progenitor cells (CELLS PRODUCT) harvested by peripheral blood apheresis are to be cryopreserved in a solution comprising autologous plasma or albumex - 4 at 20%, dimethyl sulphoxide (DMSO) 10%, and acid citrate dextrose – A 5%, of the final volume (i.e. a ratio of 65:20:10:5). The cells are then control rate frozen to -160°C and stored in a vapour phase liquid nitrogen cryostorage vessel (tank). DMSO is the primary cellular cryopreservative. It prevents cellular hypo-osmotic stress by minimizing intracellular ice crystal formation, which may rupture cells on thawing.

### **Critical Control Points and Assays**

#### **Critical Control Points**

The Critical Control points i.e. points during the cryopreservation process where error may result in product loss or patient harm are listed below:

- Time and temperature of storage of CELLS PRODUCT collection prior to completion of cryopreservation should be less than 24 hours at 4°C.
- Identification checks of CELLS PRODUCT collection and related labels/records
- Review of Infectious serology
- Weighing CELLS PRODUCT and Plasma collection bags
- Calculation of cryoprotectant volumes
- Labelling of Cryobags, Cryovials and Blood Culture Bottles
- Sterile connection of CELLS PRODUCT collection bag to linked cryobag, plasma bag and transfer set
- Aseptic preparation of cryoprotectant mix – correct volume of DMSO i.e. 10% of final volume
- Setup of Rate freezer – correct cryopreservation program
- Aliquoting and Heat sealing cryobags
- Aliquoting Blood cultures and cryovials
- Excel record data entry (Bag Weights, Nucleated Cell Count, CD34+ cell count)
- Correct storage and documentation of cryopreserved CELLS PRODUCT in inventory with reference to quarantine status.

#### **Critical Assays**

Assays / testing associated with critical control points are listed below:

- Blood Cultures – Apheresis end of procedure and cryobag culture.
- CFU-GM Assay
- CD34 Assay
- CELLS PRODUCT bag white cell count

#### **Specimen**

- Autologous CELLS PRODUCT collection supplied in apheresis harvest bag or equivalent.



- Autologous plasma collection supplied in bag or equivalent.
- Additional samples are taken off the collected cells by apheresis staff, at the completion of the harvest. These include:
  - EDTA specimen for bag white cell count.
  - EDTA specimen for molecular analysis if required.
  - Lithium Heparin specimen for CD34 analysis.
  - Blood cultures - to check sterility of apheresis procedure and cells collection.

#### Materials Required

- Metal tray with frozen cold packs and freezer rack for cryotubes
- Benchcoat sheet
- Gown - long sleeve
- Sterile gloves - Ansell
- Cryocyte freeze containers - size & no. is patient dependent
- Connector adaptor set. 1 per apheresis product
- Syringes - 50ml, 30ml, and 10ml
- 18g needles
- 23g needles
- Blunt fill needles
- Airway needles
- Sterile IVA bottle seals
- Alcowipes
- Cryotubes for aliquots of cryopreserved cells
- Sterile plain 5ml screw top tube - for cryobag cell count
- Blood culture bottles - aerobic and anaerobic - 1 pair per cells collection
- Blood transfer device for blood cultures eg. Angelwings
- Sterile disposable scissors
- Transfer bags 600ml size with coupler, sterile, may be required if autologous plasma not supplied.

#### Reagents Required

- Acid Citrate Dextrose - Solution A, 500ml for injection
- Dimethyl sulphoxide –DMSO, 70ml multidose vial - Sterile endotoxin free.
- Albumex 4 - 50ml sterile vials, use as replacement for autologous plasma
- 70% alcohol solution surface spray disinfectant - for swabbing out laminar flow cabinet before and after use.
- Viraclean Disinfectant solution for swabbing out laminar flow cabinet before and after use.

#### Equipment Required

- Computer (records)
- Biological Class II Safety Cabinet (Laminar Flow Cabinet)
- Weighing balance
- Calibration weight – 500g
- Stainless steel tray
- Freezer blocks & bench coat
- Sterile Coupling Device & disposable wafers
- Tubing Heat Sealer
- Freezing Cassettes
- Rack for cryovials
- Control Rate Freezer
- Liquid nitrogen reservoir
- Cryostorage Tank with liquid nitrogen (vapour phase)

#### Method

##### Unique ID of sample generation

##### Cryopreservation process

Prepare **Class II Biological Safety Cabinet** for use. Briefly:

- Spray Viraclean liberally on all surfaces. Leave for 10 minutes. Soak up and wipe off Viraclean with a disposable cloth.
- Spray all surfaces in the cabinet with 70% Isopropyl alcohol. Wipe all surfaces using a clean disposable cloth using a consistent motion from left to right and back to front.
- Turn on BSC and allow to equilibrate air flow and pressure by running for at least 5 minutes.
- Note any warnings or alarms and use alternate cabinet if fault detected.
- Check Identification on cells and plasma bag labels with the accompanying records.
- Document identification check performed.
- Document transportation and product storage details.

##### Weigh plasma collection bag (if available) and determine collected plasma volume.

- Collected plasma volume = plasma bag weight – empty bag weight (i.e. tare bag weight)
- NOTE: compare plasma bag against laboratory examples of empty bags for tare weight
  - Document weights.

**Weigh cell product and determine collected CELLS PRODUCT volume.**

Collected cells volume = .cells product bag weight minus empty bag weight (i.e. tare weight)

- NOTE: compare CELLS PRODUCT bag against laboratory examples of empty bags for tare weight)
- Document weights.

**Compare collected volume of plasma with calculated volume of plasma** determined in next step below. Differences of greater than approximately 3% (or 5 mls plasma volume) of the final cryopreserved volume, should be adjusted for by aseptically removing plasma or adding albumex-4 to the plasma, to make up to correct volume. Autoplasma, which will automatically instruct if steps need to be taken to adjust plasma volume.

**Calculate cryoprotectant volumes and final cryopreservation volume** Relative amounts of each component are given in table 1.

COMPONENT	% OF FINAL VOLUME
CELLS PRODUCT collection	65
Plasma (Albumex 4)	20
ACD-A	5
DMSO	10

Table 1. Relative amounts of cells product to cryoprotectant

**Determine number and type of cryocyte cryopreservation bags required for cryopreservation.**

- Check calculated Volume. /Cryobag and based on data in the Table for cryobags, determine appropriate cryobag size to be used.
- If the volume / cryobag is greater than the maximum for the anticipated cryobag size then readjust the number of cryobags eg. from 2 to 4, to give a volume / cryobag compatible with the minimum and maximum cryobag volumes listed in the table below.

**Generate LABELS for Cryobags, Cryovials, CFU-GM vial and Blood Cultures**

**Prepare laminar flow cabinet** with the following:

- Benchcoat
- Metal tray with frozen cold packs covered by benchcoat above and then with the cells and Plasma collection bags (or empty transfer bag if no plasma bag)
- Labelled cryobags of appropriate type (size) & number
- Multiflow connector adaptor set
- Syringes - 50ml, 20ml, and 10ml
- 23g needles
- 18g needles
- Blunt fill needle
- Airway needles
- IVA seals
- Alcowipes
- Chilled cryotubes
- Sterile plain 5ml screw top tube
- Blood culture bottles
- Blood transfer device for blood cultures eg. Angelwings
- Acid Citrate Dextrose - Solution A
- Dimethyl sulphoxide
- Sterile disposable scissors
- Albumex 4 - 50ml sterile vials - if no autologous plasma collected.
- Sterile transfer bag - if no autologous plasma collected

**Glove (sterile) and gown up for CELLS PRODUCT processing.** When documentation for processing is complete (ie to the stage of processing volumes for cells product, Plasma, DMSO & ACD-A being determined) don disposable gown then sterile gloves in preparation for aseptic processing.

**Needle + syringe preparation.**

- ACD-A syringe preparation: In laminar flow cabinet, aseptically prepare a 20ml syringe and 18 g blunt fill needle or similar.
- DMSO syringe preparation: In laminar flow cabinet, aseptically prepare a syringe eg. 50ml + 21 g needle.
- If required due to insufficient autologous plasma, Albumex 4 syringe/s are prepared as above using 50ml syringe and 18 g needle.
- Aseptically prepared needle + syringes are placed aside in laminar flow cabinet until needed.

Aseptically open **multiflow connector set** in laminar flow cabinet and inspect for sterile integrity i.e. all luer connector covers in place and no tubing compromised. If necessary tighten all luer lock covers. Close all clamps and turn 3-way tap away from luer lock port. Lay set out on cabinet bench.

**Prepare cryocyte/cryomacs bags.** In laminar flow cabinet lay out labelled cryobags on cabinet bench. Close all roller clamps. Heat seal off the two female luer lock connectors leaving only the male luer lock connector attached to the bags.

**Attach cryocyte bag to connector set** using aseptic technique. Connection is made using cryocyte bag male connector connected to set cryobag (1 of 4) female connector. Repeat for additional cryocyte bags (maximum of 4 cryocyte bags per set).

**Attach Plasma bag to connector set** using aseptic technique. Connection is via connector set bag spike with adjacent remaining female luer lock fitting close and then piercing using a quarter turn only the plasma bag port. Place Plasma bag on covered ice tray.

**If no autologous plasma has been collected then prepare albumex -4 substitute bag.** Aseptically connect empty transfer bag (or similar) to plasma bag spike /coupling site of connector set using ¼ turn only or alternately via sterile tubing welder. Swab Albumex 4 vials with alcohol wipe and allow to dry for 10-15 seconds before aseptically withdrawing with prepared 50ml syringe + 18 g needle and airway needle the required "plasma" volume from albumex-4 vial/s. Remove needle/s from syringe/s and aseptically add albumex-4 to 600ml transfer bag via Luer lock fitting of connector set. Leave empty syringe attached to female luer lock fitting to maintain aseptic pathway.

**Attach cells product bag to connector set** using aseptic technique. Connection is via remaining bag spike on connector set and piercing cells bag port with a maximum of a ¼ turn. Place bag with cells product on covered ice tray.

**Remove CFU-GM aliquot sample.** Attach 10ml syringe to Plasma bag associated female luer lock fitting. Clamp off plasma bag using grips. Open clamps to gently mix bag with cells product. Withdraw 1ml of cells product via syringe. Leave syringe attached to fitting until ready to replace it with ACD-A syringe. Close clamps.

**Add CFU-GM sample to prelabelled sterile plain tube.**

**DMSO** - Swab DMSO bottle with alcowipe and allow to dry for 10-15 seconds. Pierce bung with airway needle. Swab bung again with second alcowipe and allow to dry for 10-15 seconds then pierce with needle+syringe. Aseptically draw up required volume of DMSO. Remove needle+ syringe from DMSO bottle. Aseptically remove needle from syringe and discard needle safely. Displace syringe attached to Plasma bag associated luer lock fitting and attach the DMSO syringe. Open clamps and slowly add DMSO to plasma (or albumex-4) - ACD-A solution mixing well but avoid foaming of the solution. Leave empty syringe attached to luer lock fitting. Close clamps and allow the cryoprotectant solution to cool between covered (benchcoat) frozen cold packs in metal tray. Cooling of the cryoprotectant solution occurs during set up of control rate freezer

**Start control rate freezer.**

**Add cooled cryoprotectant to bag with cells product.**

**Distribute CELLS PRODUCT/cryoprotectant into cryobags.**

**Remove air from cryobags.** In turn open clamps between each cryocyte bag and the CELLS PRODUCT bag. Gently squeeze all the air from cryobag. Close cryobag clamp. Repeat for each cryobag. Ensure all clamps are closed on completion.

**Heat seal (x3) tubing adjacent to the cryobag.** Ensure one seal is close to the tubing attachment site on the cryo bag and is sited beneath the yellow D ring port covers.

**Detach cryobags** - by cutting with sterile disposable scissors across the middle of the third seal distal from the cryobag, i.e. leaving 2.5 seals attached to the cryobag. Repeat for additional cryobags. Store cryobags on covered ice cold blocks.

**Collect sample of cells for blood cultures and cryovials.** Aseptically attach a 20ml syringe to the 3-way tap of the connector set and open this tap and CELLS PRODUCT bag clamp. Aseptically draw up cells/cryomix from CELLS PRODUCT harvest bag into the syringe. Draw all cells/cryoprotectant in bag into the syringe (approx 10mls).

**Inoculate blood cultures.** Exercise care and maintain aseptic technique.

Aseptically aliquot 0.5 – 1.0 ml of cells+Cryoprotectant into each of 3 cryovials. Ensure cryovials are securely capped and place in cold rack.

**Cryobags to control rate freezer.** Take sealed cryobags on covered iceblock tray and cryovials in cold rack to the control rate freezer. Using a clean cloth wipe chilled freeze cassettes and cryocyte bag free of any moisture (prevents ice forming on outside of cryocyte bag during freezing which may make it difficult to remove the bag from the freezing cassette / damage cryobags). Place cryobag evenly and with no folds in freeze cassette and close cassette clamp. Place on shelf in Cryomed freeze chamber. Repeat for additional cryobags. Place cryovials in rack on top shelf in the freeze chamber. Close and seal door.

Start cryopreservation run, as per the freezing profile.

Review freeze curve for any cryopreservation program anomalies.

Record run/patient demographics on printout and file in patient file

**Complete records with the required data including cryobag and vial storage location and sign where appropriate.**

**Deliver cryobag cultures for testing.**

Record any adverse cryopreservation events, if occur.

**Endpoints**

Patient cells cryopreserved in cryoprotectant solution (20% v/v autoplasm or equivalent; 10% DMSO; 5% ACD-A) using standard control rate freeze program, within 24 hours of collection.

Sterile cryopreserved cells product.

Viability and engraftment potential of cryopreserved cells maintained.

**END OF DOCUMENT**

Document Review Record		
Date Reviewed	Reviewed By	Reason for Review

**Appendix X: How to generate a Unique Number/ Product ID**

**Appendix Y: How to operate Control Rate Freezer**

**Appendix Z: Training Guide for the Procedure**

## Prilog 12: Primer standardne operativne procedure za izradu visoko manipuliranih ćelija 1

### Generic elements:

#### **PURPOSE AND SCOPE**

This method will describe the standard operating procedure for ...

#### **REFERENCES**

Add: standards, guidelines, publications and other external documents.

#### **DOCUMENTS**

Add: manufacturing and related standard operating procedures and other internal documents.

#### **DEFINITIONS**

Add: list of definitions.

#### **RESPONSIBILITIES**

Add: list of staff responsibilities.

### Product-specific elements:

#### **Example of standard operating procedure for manipulation and cryopreservation of human placenta mesenchymal stem cells (hpMSC)**

##### **Procedure**

This procedure involves a biohazard.  
Laboratory scientists must exercise caution when working with biological specimens.

##### **Method**

- Aseptic technique must be used throughout this method
- Sterile gloves must be changed EACH TIME Operator 1 enters the biohazard cabinet or every 2 hours. Sterile gloves must be sprayed with 70% IPA for Operator 2 and changed every 2 hours.
- All reagents, disposables and tools must be sprayed with sterile 70% IPA each time they enter the biohazard cabinet
- A sterile drape must be removed when there is a spill in the biohazard cabinet
- Packages and bags containing materiel (listed above) must be opened inside the biohazard cabinet
- Used disposables must be discarded in pathological waste bin
- Liquid waste must be discarded in waste container
- Scalpel blades must be discarded in Sharps container

##### **Preparation**

##### **Day before production**

##### **DOCUMENTS**

Print all documents required for the production day..

##### **LABELS**

Print all labels for this production day

Label items throughout this process.

##### **CLEANING**

Check that all equipment required and Production Laboratory have been cleaned according to relevant SOPs and sign the Q-Gen Clean room Cleaning Form (QF-HK-1) located on the door of the clean room.

Fill in Batch Record Form.

##### **MATERIEL**

Place FCS, DMEM-LG, gentamicin, Collagenase I and Pulmozyme (DNase I) in the refrigerator in the Production Laboratory.

Place cleaning and sterilising, environmental monitoring and stationary materiel on a bench in the Production Laboratory.

Place all other reagents, disposables and tools on the trolleys and move them into the Production Laboratory.

Fill in Batch Record Form.

##### **DOCUMENTS**

Place all documents printed in Steps 1-2 on a bench in the Production Laboratory.

Fill in FRM 2-094, Batch Record Form.

##### **Day of production**

Clean biohazard cabinet with viraclean..

Place 10 x sterile drapes evenly at least 3 layers deep across the biohazard cabinet.

Spray the packaged, sterilised waste containers with 70% IPA and place in biohazard cabinet. Remove and discard bags in the pathological waste bin.

Label waste containers.

Fill in Batch Record Form.

#### **Preparation of Digest Medium**

Place one bottle of 500 ml DMEM-LG in biohazard cabinet.

Use Collagenase NB6 and Neutral protease as outlined in the Batch Record.

Using 10 ml syringe and hypodermic needle take up 10 ml from fresh 500 ml bottle of DMEM-LG and add to the lyophilised Collagenase NB6 bottle.

Using 10 ml syringe and hypodermic needle take up a further 10 ml DMEM-LG from the 500 ml bottle of DMEM-LG and add to the lyophilised Neutral Protease bottle.

Swirl bottles to dissolve contents.

Using fresh syringes and needles remove dissolved enzymes and transfer back to the 500 ml bottle of DMEM-LG.

Add 0.6 ml gentamicin to the bottle of DMEM-LG/Collagenase/Neutral Protease.

Add 2.0 ml Pulmozyme (DNase I) to bottle of DMEM-LG/Collagenase/Neutral Protease/gentamicin and mix well.

Over-lay previous label on this bottle with "Digest Medium" label.

#### **Preparation of Tissue Culture Medium**

In biohazard cabinet, spray 1x bottle of DMEM-LG and 1x bottle of FCS with 70% IPA.

Allow bottles to air dry.

Remove lid from DMEM-LG and FCS bottles.

Using a 50 ml pipette, add 125 ml FCS to DMEM-LG.

In biohazard cabinet, spray 1 vial of gentamicin (2ml @ 40 mg/ml) with 70% IPA.

Allow vial to air dry.

Break top off a gentamicin vial by twisting until it detaches.

Using a 1 ml syringe transfer 0.8 ml of gentamicin to bottle of DMEM-LG/20% FCS.

Label the medium bottle with "TCM/gent-01" label.

Transfer to 4°C fridge in production laboratory.

Discard remaining gentamicin.

Fill in Batch Record Form.

#### **Isolation of hpMSC from placenta**

##### **OBTAINING PLACENTA**

Obtain a placenta with patient consent and ethics approval.

Fill in Batch Record Form.

Spray 70 % IPA onto gloved hands and the placenta's outer bag and move into biohazard cabinet

##### **DISSECTING PLACENTA**

Open the two sterile bags which contain the placenta, but keep the placenta in the bags.

Label three (x3) 30 cm petri-dishes; Petri Dish A

Using tweezers and scissors or a scalpel, remove the umbilical cord and keep in bag.

Cut the placenta into cubes of approximately 5 cm x 2 cm x 1 cm (approx. 10g) and distribute them evenly into "Petri dishes A".

Leave any unused placenta and umbilical cord in its own bag and discard into pathological waste bin.

##### **WASHING PLACENTA**

Label four (x4) 600 ml wash containers; "placenta wash-01" to "placenta wash-04".

Place placenta pieces into *placenta wash-01* beaker using tweezers.

Add HBSS up to 500 ml mark in *placenta wash-01* beaker.

Stir the contents of the *placenta wash-01* beaker with a 5 ml serological pipette for approximately 20 seconds. Using the pipette, gently squeeze the placental pieces against the sides of the beaker to aid process.

With care, using 5 ml pipette to help retain placental pieces in wash beaker, pour HBSS into *placenta wash-02* beaker. .

Repeat these steps twice more, except this time pouring waste into *placenta wash-03* beaker and *placenta wash-04* beaker respectively. At least 2x 1 litre bottles of HBSS will be needed to accomplish this.

##### **COLLAGENASE I AND DNASE I DIGESTION OF PLACENTA:**

Label 32x50 ml tubes: *Tubes-placental digest* (numbered 1-32).

Transfer *Tubes-placental digest* (1-32) in 4 racks into biohazard cabinet and remove lids.

Using tweezers transfer all placenta pieces from *placenta wash-01* beaker to 4 fresh Petri Dishes.

Cut each piece of placenta into approximately 5-10 mm pieces with scissors/scalpel.

Transfer placenta pieces up to 10 ml mark in 32 x *Tubes-placental digest* (1-32) using tweezers.

Using a 25 ml pipette, add 15 ml of Digest Media to each of *Tubes-placental digest* (1-32).

Reattach lids to tubes. Tighten firmly.

Transfer tubes to incubated shaker and incubate tubes at 250 rpm, 37°C for 1-1.5 hours (but no more than 2.5 hours) – fix tube racks onto shaker at an angle to aid digestion.

During this incubation, label 32 tubes "*Tubes-cell suspension* (numbered 1-32)" and place in 4 racks (8 per rack).

#### **CELL ISOLATION (PART 1)**

Place 16x *Tubes-cell suspension* (1-16) in 2 racks in biohazard cabinet. (**note: this is only half of the tubes!**).

Place 16x 100 µm nylon cell strainers in biohazard cabinet.

Remove lids from *Tubes-cell suspension* (1-16) and place a 100 µm nylon cell strainer on top of each tube, positioning cell strainers on an angle so there is a small air gap between the bottom of each cell strainer and the top of each tube.

When incubation/tissue digestion step is complete, transfer *Tubes-placental digest (1-16)* into centrifuge. Set centrifuge to a speed of 540g (*rcf*). Set acceleration and deceleration to their maximum settings. Set temperature to 20°C. As this is a pulse spin, time setting is not critical. It can be set for 5 min, but this will not be used. Start centrifuge, allow to attain 540g, then immediately press stop. **Do not allow to run for more than 5 seconds.** Transfer tubes back to biohazard cabinet in racks.

In biohazard cabinet, being careful not to dislodge solid tissue, pipette as much cell suspension as possible from each *Tubes-placental digest (1-16)* into *Tubes-cell suspension (1-16)*, through the cell strainer. The tubes may need to be tipped at a slight angle to achieve this.

Using a 25 ml pipette, add 20 ml HBSS to remaining tissue in each *Tubes-cell suspension (1-16)*.

Attach lids to *Tubes-cell suspension (1-16)*, tighten firmly and shake vigorously for 5 seconds.

Repeat steps 69-71

Discard all *Tubes-placental digest (1-16)* and cell strainers into pathological waste bin.

Using a 25 ml pipette, adjust volume of *Tubes-cell suspension (1-16)* to 40 ml with HBSS.

Firmly attach lids and transfer *Tubes-cell suspension (1-16)* to bench beside centrifuge.

### **CELL ISOLATION (PART 2)**

Repeat steps 62-75 with *Tubes-placental digest (17-32)*, transferring to the tubes labelled *Tubes-cell suspension (17-32)*.

Place *Tubes-cell suspension (1-16)* in centrifuge and spin at 540 g for 5 minutes, 4°C.

Transfer *Tubes-cell suspension (1-16)* back to biohazard cabinet.

Carefully discard the supernatant using a 50 ml pipette.

Swirl/flick tubes to resuspend pellet.

Add 5 ml HBSS to each tube *Tubes-cell suspension (1-16)* and put these tubes to one side.

Place *Tubes-cell suspension (17-32)* in centrifuge and spin at 540 g for 5 minutes, 4°C.

Transfer *Tubes-cell suspension (17-32)* back to biohazard cabinet.

Carefully discard the supernatant using a 50 ml pipette.

Swirl/flick tubes to resuspend pellet.

Add 5 ml HBSS to each tube *Tubes-cell suspension (17-32)*.

### **CELL ISOLATION (PART 3)**

Pool contents of *Tubes-cell suspension (1-16)* into two of the existing tubes (*Tube-cell suspension-1 and Tube-cell suspension-2*).

Place *Tube-cell suspension-1 and Tube-cell suspension-2* to one side

Pool contents of *Tubes-cell suspension (17-32)* into two of the existing tubes (*Tube-cell suspension-17 and Tube-cell suspension-18*).

Transfer *Tubes-cell suspension (1217 and 18)* to centrifuge and spin 540g, 5 min, 4°C.

Transfer *Tubes-cell suspension (1217 and 18)* back to biohazard cabinet.

Carefully discard the supernatant using a 50 ml pipette.

Swirl/flick tubes to resuspend pellet.

Add 9 ml sterile water to each of *Tubes-cell suspension (1217 and 18)*, leave for **5 seconds (10 seconds MAXIMUM)**, then add 1 ml **10x** HBSS to each tube. Re-attach lids and mix well. .

Transfer *Tubes-cell suspension (1217 and 18)* to centrifuge and spin 540g, 5 min, 4°C.

Transfer *Tubes-cell suspension (1217 and 18)* back to biohazard cabinet. Carefully remove the supernatant from each tube using a 50 ml pipette, ensuring that the cell pellet is not disturbed.

Swirl/flick tubes to resuspend pellet.

Transfer *TCM+gent-01* bottle from 4°C fridge in production laboratory to Biohazard Cabinet, spray with 70% IPA and allow to air dry.

Label a fresh 50 ml tube "*Tube p0 cells*" and transfer to a rack in Biohazard Cabinet.

Using a 5 ml pipette, add 5 ml *TCM+gent-01* to each of *Tubes-cell suspension (1, 2, 17 & 18)*.

Transfer contents of all *Tubes-cell suspension (1, 2, 17 & 18)* to *Tube p0 cells*.

Remove 10 µl from *Tube p0 cells* and place in one well of a 96 well plate. Add 10 µl of trypan blue to this and mix well.

Assess cell yield and viability with a trypan blue count and haemocytometer.

### **CULTURING PLACENTA CELLS:**

Move 8 x 175cm<sup>2</sup> flasks into biohazard cabinet.

Label these flasks: *flask p0-1* to *flask p0-8*.

Add 22 ml medium from *TCM+gent-01* bottle to each flask using 25 ml pipette.

Add 3.25 ml of cell suspension from *Tube-p0* cells to each *flask p0-1* to *flask p0-8*.

Keeping flasks horizontal swirl contents gently to disperse cells evenly and ensure base is covered with media.

Transfer *flask p0-1* to *flask p0-8* to TC-incubator.

### **CONCLUSION:**

Complete Batch Record Form.

Transfer unused TCM back to 4°C fridge in production laboratory.

From this point use SOP for Culture of hpMSC, to culture placenta-derived cells.

### **Cleaning**

#### **TOOLS**

Wipe scissors, tweezers and scalpel holders clean.

Add biodyne to liquid waste containers and double bag in a biohazard bag. Take to sterilization room for autoclaving.

Send scissors, tweezers and scalpel holders to sterilization room for washing and sterilising.

#### **EQUIPMENT**

Perform a Minor Clean of Biohazard Cabinet and switch off.

Switch off centrifuge, incubating shaker and microscope.

Clean equipment and Production Laboratory as described in relevant SOPs.

Update Q-Gen clean room cleaning form (QF-HK-1).

## Storage

### MATERIEL

Store gentamicin, DMEM-LG, DMEM-LG + 20% (v/v) FCS (not heat-inactivated) + 50 µg/ml gentamicin, FCS, Collagenase NB6 solution and powder and clinical-grade water in refrigerator at 4°C.  
Store cleaning and sterilising, environmental monitoring and stationary materiel, 1 x HBSS, unopened disposables and tools that don't require sterilising at room temperature.

Next step:

## Preparation for cryopreservation hpMSC

### Before production

#### DOCUMENTS

Print the batch record.

Print all documents required for the production day, as outlined in the batch record.

#### LABELS

Print all labels for this production day.

Label items throughout this process.

#### CLEANING

Clean equipment required (see the batch record) and Production Laboratory.

Fill in the batch record.

#### MATERIEL

Place Plasma-Lyte and Albumex-20 in the refrigerator in the Production Laboratory.

Place stationary materiel on a bench in the Production Laboratory.

Place all other reagents, disposables and tools on the trolleys and move them into the Production Laboratory.

Fill in the batch record.

#### DOCUMENTS

Place all documents in the Production Laboratory.

Fill in the batch record.

#### BIOHAZARD CABINET

Clean biohazard cabinet.

Fill in the batch record.

Place 5 x sterile drapes on the base of the biohazard cabinet.

Spray the packaged, sterilised waste containers with 70 % ethanol and place in biohazard cabinet. Remove and discard bags in the pathological waste bin.

Fill in The batch record.

#### REAGENTS

Place 8x50 ml tubes in the biohazard cabinet and label tubes "Freezing Mix-01" to "Freezing Mix-08"

Place 1 litre bag of plasmaLyte and Albumex-20 in biohazard cabinet.

Using a 50 ml syringe and sterile needle, transfer 32.5 ml of plasmaLyte into each of 8x50 ml Tubes.

Add 12.5 ml of Albumex-20 to each of 8x50 ml tubes.

Add 5 ml of Cryo-Sure DMSO to each of 8x50 ml tubes and mix well.

Fill in the batch record.

### Cryopreservation of hpMSC

#### Obtaining the hpMSC:

hpMSC at passage 2-5 in media obtained as outlined in SOP 2-93 Passage 2 of hpMSC.

#### Cryopreserving Cells:

##### OVERVIEW

Two cryopreserved hpMSC doses; A and B are required, as listed in Appendix 1.

Appendix 1 is an example of the number of cryopreserved hpMSC bags (at Doses A and B) that would need to be administered (in full and part) to patients weighing 20 kg, 50 kg and 100 kg, at the three hpMSC administration doses (i.e.  $1 \times 10^6$  cells/kg,  $3.3 \times 10^6$  cells/kg and  $10 \times 10^6$  cells/kg).

##### CALCULATIONS FOR CRYOPRESERVATION DOSES

The number of cells to be cryopreserved will depend on the passage number, calculations are explained below:

#### For Passages 2-4

##### Overview

Cells will be used for testing, continuing culture and the remaining cells will be cryopreserved.

Testing: 4 aliquots of cells in culture medium after counting will be kept ( $1 \times 10^6$ ) and 14 vials will be cryopreserved for testing along with the cryo-bags (Dose A  $1.2 \times 10^8$ /bag and Dose B  $4 \times 10^7$ /bag) and clinical dose cryovials ( $1 \times 10^6$ ,  $2 \times 10^6$  and  $8 \times 10^6$ ).

Continuing culture:  $47.7 \times 10^6$  cells are required for continuing culture of the cells in 15xT1272 flasks. Cells are plated at 2500 cells/cm<sup>2</sup>,  $3.18 \times 10^6$  cells per flask. Cells will be separated and aliquoted after counting and kept in media in the fridge until after cells have been cryopreserved.

##### Calculation

Cells for cryopreservation = Total # of Cells - Cells for aliquoting prior to cryopreservation and continuing culture ( $49.7 \times 10^6$ )

#### For Passage 5

##### Overview

Cells will be used for testing, continuing culture and the remaining cells will be cryopreserved.

Testing: 4 aliquots of cells in culture medium after counting will be kept ( $1 \times 10^6$ ) and 14 vials will be cryopreserved for testing along with the cryo-bags (Dose A  $1.2 \times 10^8$ /bag and Dose B  $4 \times 10^7$ /bag) and clinical dose cryovials ( $1 \times 10^6$ ,  $2 \times 10^6$  and  $8 \times 10^6$ ). See Appendix 2.

No cells are needed for continuing culture.

#### Calculations

Cells for cryopreservation = Total # of Cells - Cells for aliquoting prior to cryopreservation ( $2 \times 10^6$ )

#### Volumes of Cryopreservation Reagents in Each Mix

Cryobag Cell Dose Size	Total Volume	Volume of Plasma-Lyte (65%)	Volume of Albumex-20 (25%)	Volume of DMSO (10%)
A - $1.2 \times 10^8$ cells/bag	30 ml	19.5 ml	7.5 ml	3 ml
B - $4 \times 10^7$ cells/bag	10 ml	6.5 ml	2.5 ml	1 ml
<b>Cryovials</b>	1ml	0.65 ml	0.25ml	0.10 ml

Add cryopreservation mixtures to appropriate tubes Dose A or Dose B using serological pipettes.

Label the correct number of cryocyte freezing bags according to SOP 2-13, Labelling for Manufacture and Sampling during Open Label Trials. There must be the same number of cryocyte bags as there are 50ml tubes Dose A and Dose B containing cell suspensions.

Inside the biohazard cabinet, determine which tube (out of the three input tubes) on the cryocyte freezing bags fits a mixing canula in it. Mark the other two tubes with black permanent marker.

In the biohazard cabinet, use the heat sealer to seal each tube on every cryocyte bag which has black permanent marker three times.

Cut through each third seal (i.e. the seal that is furthest from the cryocyte bag) with scissors.

In biohazard cabinet, aseptically attach a mixing canula to a 60 ml syringe.

Place the mixing canula at the bottom of one 50ml tube Dose A or Dose B and suck up all of the tube's contents into the syringe.

Insert the mixing canula to the one remaining input tube ON THE CORRECT CRYOCYTE BAG (look at the label). Have a second Operator check that the correct cell dose is added to the appropriate cryocyte freezing bag.

Add the cells and cryopreservation mixture to the bag.

Use heat-sealing machine to seal each cryocyte bag's open tube three times, as close to the bag as possible.

Cut THROUGH the third seal (the seal furthest from the cryocyte bag) with scissors.

Repeat Steps for every tube Dose A and Dose B.

Place one cryocyte bag per cryocyte bag cassette.

Repeat Step for every cryocyte bag.

Place all cryocyte bag cassettes in the controlled-rate freezer and press START.

Controlled-rate freezer program: Hold at  $4^{\circ}\text{C}$  for 10 mins. Drop  $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$  to  $-90^{\circ}\text{C}$ .

Transfer cryobags to liquid  $\text{N}_2$ .

#### **CONCLUSION**

Discard any remaining hpMSC.

Complete the batch record.

Cells will be transported to the receiving hospitals.

#### **Cleaning**

#### **TOOLS**

Soak tube racks in a bucket of warm water with Pyroneg for at least 10 minutes.

Send tube racks, pipette boys and power pipettes to Central Sterilizing Supply Department (CSSD) for washing and sterilising.

#### **EQUIPMENT**

Clean Biohazard Cabinet. .

Clean equipment and Production Laboratory.

#### **Storage**

#### **MATERIEL**

Store gentamicin, DMEM-LG + 20% (v/v) FCS (not heat-inactivated) + 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$  gentamicin, TrypLE™ Select, FCS and in refrigerator at  $4^{\circ}\text{C}$ .



Store cleaning and sterilising, environmental monitoring and stationary material, 1 x HBSS, unopened disposables and tools that don't require sterilising, at room temperature.

**END OF DOCUMENT**

<b>Document Review Record</b>		
Date Reviewed	Reviewed By	Reason for Review

**Appendix X: Example of how the hpMSC Cryopreservation Doses (Doses A and B)**

The following could be used for the three hpMSC administration doses (i.e.  $1 \times 10^6$  cells/kg,  $3.3 \times 10^6$  cells/kg and  $10 \times 10^6$  cells/kg) in patients weighing 20kg, 50kg and 100kg:

<b>MSC Dose</b>	<b>20 kg person</b>	<b>50 kg person</b>	<b>100 kg person</b>
<b><math>1.0 \times 10^6</math> cells/kg</b>	$2 \times 10^7$ cells <i>1 x cryobag B</i>	$5 \times 10^7$ cells <i>2 x cryobag B</i>	$1 \times 10^8$ cells <i>1 x cryobag A</i>
<b><math>3.3 \times 10^6</math> cells/kg</b>	$6.6 \times 10^7$ cells <i>2 x cryobag B</i>	$1.65 \times 10^8$ cells <i>1 x cryobag A + 2 x cryobag B</i>	$3.3 \times 10^8$ cells <i>3 x cryobag A + 1 x cryobag B</i>
<b><math>1.0 \times 10^7</math> cells/kg</b>	$2 \times 10^8$ cells <i>2 x cryobag A</i>	$5 \times 10^8$ cells <i>5 x cryobag A</i>	$1 \times 10^9$ cells <i>10 x cryobag A</i>

## Prilog 13: Primer standardne operativne procedure za izradu visoko manipuliranih ćelija 2

### Generic elements:

#### **PURPOSE AND SCOPE**

This method will describe the standard operating procedure for ...

#### **REFERENCES**

Add: standards, guidelines, publications and other external documents.

#### **DOCUMENTS**

Add: manufacturing and related standard operating procedures and other internal documents.

#### **DEFINITIONS**

Add: list of definitions.

#### **RESPONSIBILITIES**

Add: list of staff responsibilities.

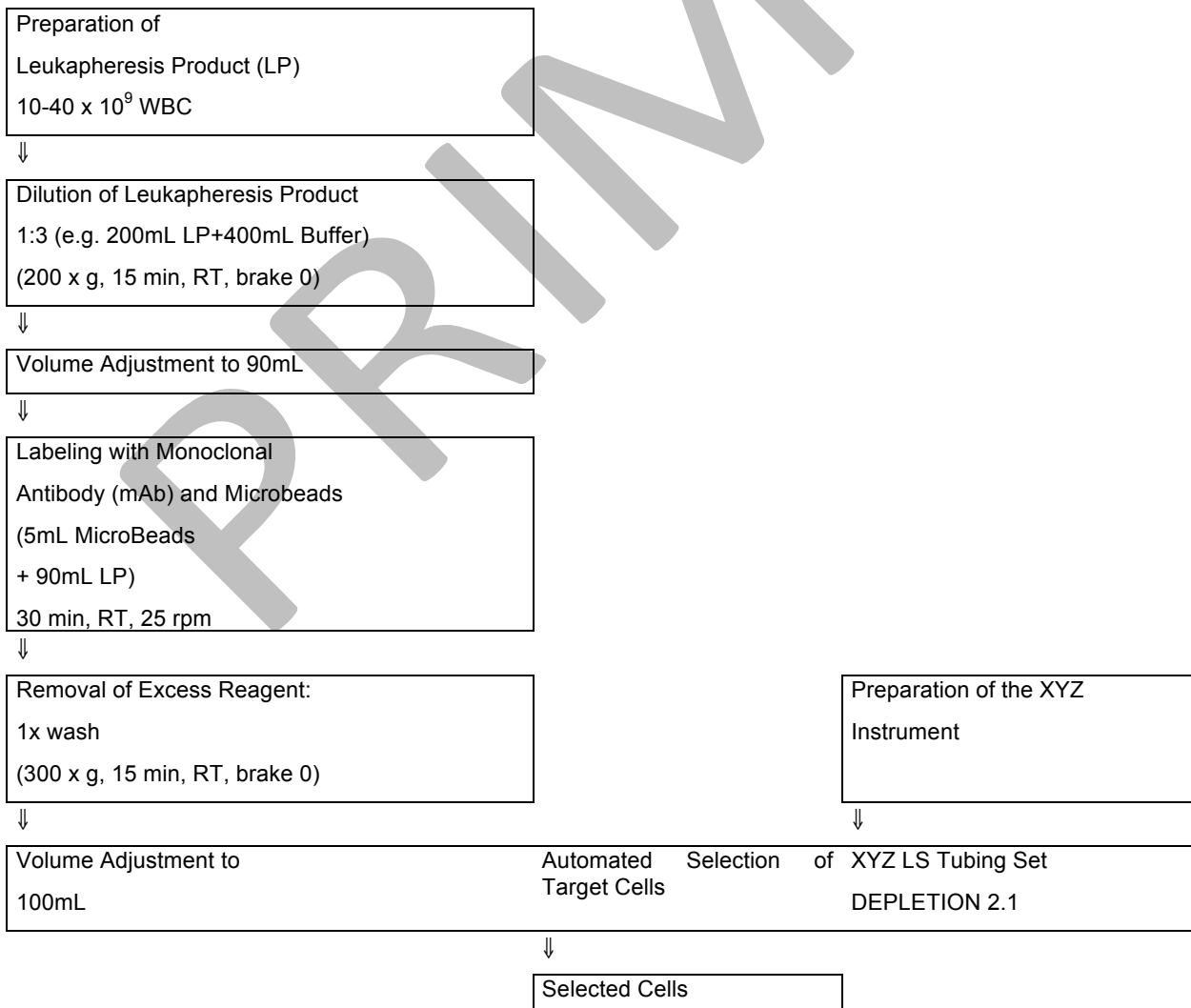
### Product-specific elements:

**Example of standard operating procedure for the enrichment of antigen presenting dendritic cells from leukapheresis product.**

#### **Procedure**

This protocol describes the enrichment of antigen presenting dendritic cells from leukapheresis product after depletion of xyz positive cells with the XYZ Instrument.

#### **Summary flow diagram of xyz isolation process**



( depleted Cells)

Removal of Excess buffer:  
1x wash  
(300 x g, 15 min, RT, brake 0)



Volume Adjustment to 95mL

Labelling with XYZ Anti-Labelled MicroBeads  
(7,5mL Beads + 95mL LP)  
30 min, RT, 25 rpm

Removal of Excess Reagent:  
**2x wash !**  
2 x (300 x g, 15 min, RT, brake 0)

Preparation of the XYZ  
Instrument

Volume Adjustment to 100mL Automated Selection of XYZ Tubing Set  
Labelled Cells ENRICHMENT 3.1

Selected Cells

Flow Cytometry-Analysis

### Notes

Always carryout manipulations of the product in the biohazard safety cabinet, unless performing the XYZ run, sterile connects using the heal sealing procedures, incubations on the shaker or centrifugations.

Place a sterile drape in the biohazard hood before starting the procedure. Change as appropriate.

Always keep the same clamp and bag pair once recorded.

Bag No. &	Bag name
2	LEUKAPHERESIS PRODUCT (LP)
3	LP WASH SN
4	MICROBEAD WASH SN
5	CELL COLLECTION BAG (CCB)
8	POST ISOLATION WASH SN
9	1. POST ISOL. WASH 1 SN
10	2. POST ISOL. WASH 2 SN
11	LABELLED +VE CCB

### Preparation For xyz XYZ Isolation

#### Preparation for production run-documentation/Records

Complete, document, label and form issue list in the batch record (BR)

Complete supplies checklist in the BR

Complete equipment checklist in the BR

### Labelling of bags and sample containers

Label 8x 600ml transfer bags with pre-prepared labels (SOP# ) as below

Label 14x 1.5ml eppendorf tubes with the pre-prepared labels (Labels in DC Production Process (2A, 2B, 3A, 4A, 5A, 5B, 6A, 7A, 8A, 9A, 10A, 11A, 12A, 13A) for cell counts/ flow cytometry

Label 4x 15ml falcon tubes (Labels in DC Production Process SOP# ) (6A, 7A, 12A, 13A).

### Preparation of XYZ buffer

Spray 3 bags of room temperature XYZ buffer with sterile 70% ethanol and place in biohazard hood.

Spray Albumex-20 bottle with sterile 70% ethanol and place in biohazard hood

Remove cap from one port each of the buffer bags

Swap top of ports with disinfectant wipe

Swap bung on Albumex-20 bottle with disinfectant wipe

Using a 21g needle and 25 ml syringe remove 25ml of Albumex-20 and inject into one of the XYZ buffer bags using the swabbed port.

Place needle and syringe in sharps bin

Repeat steps 3.1.3.6 to 3.1.3.7 for the additional two buffer bags

Label buffer bags with the pre-prepared labels (SOP#) buffer bag A, buffer bag B, buffer bag C

Depletion of + cells: Antibody and Magnetic Labeling I

Weigh Bag 2 with clamp. **Record in BR**

Insert the spike on Bag 2 into Bag 1.

Transfer the leukapheresis product into bag 2.

Clamp off bag 2 and using the tube stripper remove, strip any remaining cellular product into bag 2 and remove the bag 1 using the heat sealer

Reweigh bag 2 with clamp. **Record in BR**

Determine the volume of leukapheresis product. **Record in BR**

Insert a sample site coupler via port on bag 2.

Remove a 500ul sample using a 21g needle plus 5ml syringe using the sample site coupler from Bag 2, place in Eppendorf 2A. **Record in BR**

Send 2A sample to Pathology for automated cell count (SOP# ). Determine frequency of positive cells from the remaining sample (XYZ XYZ Staining SOP#).

Swab the uncapped port of one XYZ buffer bag with a disinfectant wipe and insert a plasma transfer set with two spikes ( )

Fuse XYZ buffer bag with bag 2 using

Determine volume of buffer required to dilute the leukapheresis product (Bag 2) upto 400ml with XYZ Buffer using BR.

Place bag 2 on balance with appropriate clamps and run XYZ buffer into the bag until the correct bag weight has been reached. Clamp off the tubing close to XYZ buffer bag, using the tube stripper remove, strip any remaining cellular product into bag 2 and clamp off close to bag 2. **Record in BR**

Re-Weigh Bag 2 with a clamp. **Record in BR**

Weight bag 3 with clamp. **Record in BR**

Using the remove the XYZ buffer bag and attach bag 3 to bag 2.

Place bag 2 with bag 3 attached in the centrifuge bucket taking care not to create folds in the bag as this will affect pelleting of the sample. Label of the bag must face to the outside of the centrifuge.

Place bucket in centrifuge with appropriate balance and centrifuge sample (Bag 2) at 300g for 15 minutes, RT, Brake 1.

**Record in BR**

Remove supernatant using the plasma extractor into bag 3 taking care not to resuspend the pellet.

Clamp off and disconnect bag 3 using heat sealer. Place to one side for further analysis.

Using the tube stripper remove, strip any remaining cellular product into bag 2. Gently resuspend pellet by rubbing bag 2, using a low lint cloth, in a circular motion, whilst it is flat on the bench,

Re-Weigh bag 2 with clamp. **Record in BR**

Determine the volume of buffer required to adjust the volume to 90ml. **Record in BR**

Connect XYZ buffer bag to bag 2 using the, place on balance and run XYZ buffer into bag 2 until the correct bag weight has been reached. Clamp off the tubing close to XYZ buffer bag, using the tube stripper remove, strip any remaining cellular product into bag 2 and clamp off close to bag 2. **Record in BR**

Remove XYZ buffer bag using the heat sealer

Wipe sampling site coupler on bag 2 with disinfectant wipe

Gently mix XYZ Labelled +ve (Anti-xyz)-Labelled and XYZ MicroBead vials and remove lids using a clamp.

Using a syringe and 21g needle take up the Microbeads, blow air into the vial first to help.

Add the beads to bag 2 using the sampling site coupler. **Record in BR**

Using a new syringe and needle repeat for the Labelled +ve labelled. **Record in BR**

Mix bag 2 carefully. Incubate the cell preparation, bag 2, for 30 minutes at controlled room temperature (+19 to 25°C) on an orbital shaker at 25 rpm. **Record in BR**

Re-weigh bag 3

Remove a 500ul sample using a 21g needle plus 5ml syringe from Bag 3, place in Eppendorf 3A. **Record in BR**

Following incubation. Weigh bag 2. **Record in BR**

Determine the amount of buffer required to make the volume in bag 2 up to 400mls using the BR. **Record in BR**

Connect the XYZ buffer to bag 2 using the . Place on balance and run XYZ buffer into bag 2 until the correct bag weight has been reached.

Clamp off the tubing close to XYZ buffer bag, using the tube stripper remove, strip any remaining cellular product into bag 2 and clamp off close to bag 2. **Record in BR**

Weigh Bag 4 with and without a clamp. **Record in BR**

Using the remove the XYZ buffer bag and attach bag 4 to bag 2.

Place bag 2 with bag 4 attached in the centrifuge bucket taking care not to create folds in the bag as this will affect pelleting of the sample. Label of the bag must face to the outside of the centrifuge.

Place bucket in centrifuge with appropriate balance and centrifuge sample (Bag 2) at 300g for 15 minutes, RT, Brake 1.

**Record in BR**

Remove supernatant using plasma extractor into bag 4 taking care not to resuspend the pellet.

Using the tube stripper remove, strip any remaining cellular product into bag 2 and clamp off close to bag 2

Using the , seal off and disconnect bag 4, connect a buffer bag.

Gently resuspend pellet by rubbing bag 2, using a low lint cloth, in a circular motion, whilst it is flat on the bench.

Re-weigh bag 2 and determine the volume of buffer required to adjust the volume to 95ml using the batch record. **Record in BR**

Adjust bag 2 final volume to 95mls by placing bag 2 on balance with appropriate clamps and run the XYZ buffer into the bag until the correct bag weight has been reached. Using the tube stripper remove, strip any remaining cellular product into bag 2 and clamp off close to bag 2.

Remove XYZ buffer bag using the heat sealer

In the hood using a 21g needle and syringe take a 500ul sample from bag 2 and place in Eppendorf labelled 2B. (It is recommended to determine total cell number and viability).

Re-weigh bag 4

Remove a 500ul sample using a 21g needle plus 5ml syringe from Bag 4, place in Eppendorf 4A. **Record in BR**

**Depletion**

Insert a luer/ spike interconnector in to one of the ports on a 600ml transfer bag

Weigh this transfer bag with a clamp and label as cell collection bag (bag 5). **Record in BR**

Connect Bag 5 to the cell collection port of the XYZ LS tubing set via the luer/spike Interconnector. Ensure the Spike Interconnector slide clamp is closed.

Label & Weigh the Buffer Waste Bag (Bag 6, no clamp), the negative fraction bag (Bag 7, no clamp). **Record in BR**

Clamp the tubing set just below each of the couplers (see diagram 1). **Record in BR**

Wipe the surface of a port on the XYZ buffer bag with a disinfectant wipe and connect to the tubing set via the Buffer spike see diagram 1. Check that a clamp is firmly fitted so that the buffer cannot flow into the tubing set.

Connect a pre-filter to the XYZ tubing set via Bubble trap spike see diagram 1. Ensure that the PALL logo will be facing you when the tubing is on the XYZ machine and is the correct way up.

Ensure that the tubing is clamped to prevent the any cell suspension flowing into the tubing set and that the tubing on the cell bag (bag 2) is clamped then connect the cell bag (bag 2) to the pre-filter (see diagram 1).

Switch on the XYZ Instrument and select the "DEPLETION 2.1" program. Confirm by pressing "ENT". Enter the Ref-number of the XYZ LS tubing set. Follow instructions given on the instrument screen for installation of the tubing set, keeping all clamps in place. Ensure that the buffer waste bag and the priming waste bag are higher than the cell preparation bag.

Enter the WBC concentration determined from sample 2A. **Record in BR**

Enter frequency of labelled (†) cells. **Record in BR**

Enter Sample-loading volume (This should be 95ml). *Record in BR*

Keep Bag 2 clamped, remove the clamp from below the buffer bag just before the priming cycle.

Remove the clamp from below the cell bag (bag 2) and open the side clamp on the interconnect on the cell collection bag (Bag 5) respectively, when the program instructs the cell preparation bag to be connected and the line to the cell collection bag checked.

Start the depletion process. **Record in BR**

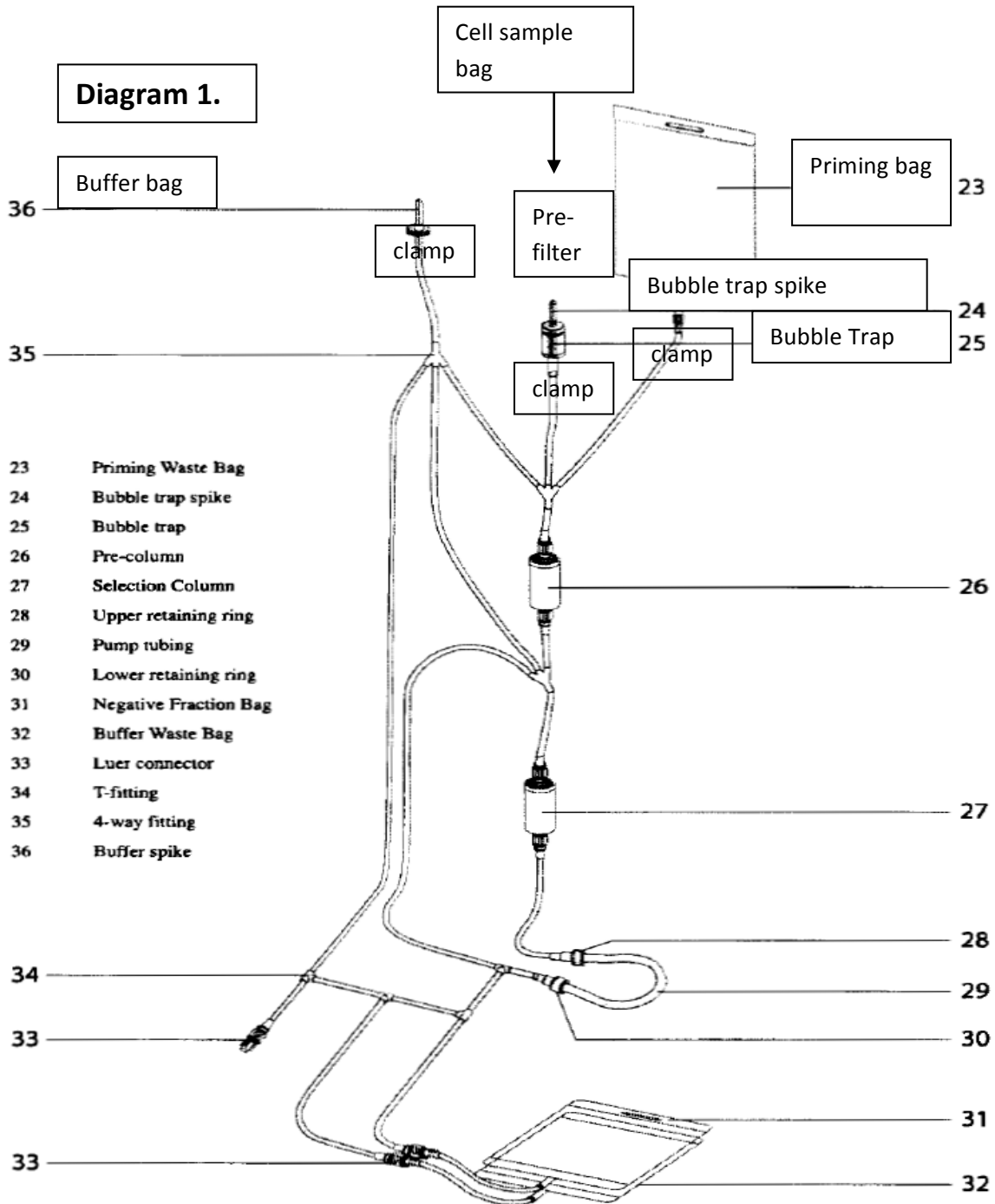
When the depletion process has finished (*Record in BR*), clamp the cell collection bag (bag 5) and heat seal off and remove the Buffer Waste Bag (Bag 6), the negative Fraction bag (Bag 7) and cell collection bag (bag 5). Also heat seal off and remove the XYZ buffer bag.

Place bags 6 and 7 to one side for further analysis

Follow the instructions on the XYZ machine and note the protocol process code. **Record in BR**

Determine the weight of Cell Collection Bag (Bag 5), take a 500ul sample with a 5ml syringe via the leur/spike interconnector and place in the Eppendorf labelled 5A. **Record in BR**

**Diagram 1.**



## MAGNETIC LABELLING II (ENRICHMENT OF LABELLED +VE CELLS)

Connect the XYZ buffer to bag 5 using the .

Determine the amount of buffer required to make the volume in bag 5 up to 400mls using BR. **Record in BR**

Run XYZ buffer into the bag 5 whilst it is on the balance until the correct bag weight has been reached. Clamp off the XYZ buffer bag. Using the tube stripper, strip any remaining cellular product into bag 5 and clamp off close to bag 5. **Record in BR**

Weigh Bag 8 with a clamp

Remove the XYZ buffer bag and attach bag 8 to bag 5 using the

Place bag 5 with bag 8 attached in the centrifuge bucket taking care not to create folds in the bag as this will affect pelleting of the sample. Ensuring that the label of the sample bag faces to the outside of the centrifuge, place bucket in the centrifuge with appropriate balance and centrifuge the sample (Bag 5) at 300g for 15 minutes, RT, Brake 1, Acceleration 8.

**Record in BR**

Remove supernatant using plasma extractor into bag 8 taking care not to resuspend the pellet. Clamp off near bag 8 and using the tube stripper, strip any remaining cellular product into bag 5 and clamp off close to bag 5.

Using the heat sealer, seal off and disconnect bag 8 place to one side for further analysis

Resuspend pellet by gently massaging bag 5 in a circular motion, whilst bag is flat on the bench, using a low lint cloth

Re-Weigh bag 5

Determine the volume of buffer required to adjust the volume to 95ml using batch record.

- Connect XYZ buffer bag 5 using the
- Run XYZ buffer into the bag 5 whilst it is on the balance until the correct bag weight has been reached. Clamp off the XYZ buffer bag and using the tube stripper, strip any remaining cellular product into bag 5 and clamp off close to bag 5.
- Clamp off the tubing close to bag 5. **Record in BR**
- Remove XYZ buffer bag using the heat sealer
- Gently mix the XYZ Anti-Labelled MicroBeads vial. Using a 10ml syringe and 21g needle take up contents of vial. Add to bag 5 via the luer/ spike interconnector, which has been swabbed with a disinfectant wipe. **Record in BR**
- Incubate bag 5 for 30 minutes at controlled room temperature (+19 to +25°C) on an orbital shaker at 25 rpm. Record in BR
- Re-Weight of bag 6 and bag 7. **Record in BR**
- Using a syringe take a 15ml sample from bag 6, put a 500ul sample into the Eppendorf labelled 6A and the place rest of sample in Falcon tube labelled 6A.
- Repeat above step for bag 7, but use Eppendorf 7A and Falcon tube 7A
- Re-weigh bag 8. **Record in BR**
- Remove a 500ul sample using a 21g needle plus 5ml syringe from Bag 8, place in Eppendorf 8A. **Record in BR**
- When incubation is complete re-weigh bag 5
- Connect the XYZ buffer to bag 5 with tubing set.
- Determine the amount of buffer required to make the volume up to 400mls using batch record:
  - Place bag 5 on the balance and run in the determined weight of buffer. Clamp off near the XYZ bag and using the tube stripper remove, strip any remaining cellular product into bag 5 and clamp off close to bag 5. **Record in BR**
- Weigh Bag 9 with a clamp. **Record in BR**
- Using the remove the XYZ buffer bag and attach bag 9 to bag 5.
- Place bag 5 with bag 9 attached in the centrifuge bucket taking care not to create folds in the bag as this will affect pelleting of the sample. Ensuring that the label of the sample bag faces to the outside of the centrifuge, place bucket in the centrifuge with appropriate balance and centrifuge the sample (Bag 5) at 300g for 15 minutes, RT, Brake 1, acceleration 8. **Record in BR**
- Remove supernatant using plasma extractor into bag 9 taking care not to resuspend the pellet. Clamp off near bag 9 and using the tube stripper, strip any remaining cellular product into bag 5 and clamp off close to bag 5.
- Using the , disconnect bag 9 and place to one side for further analysis and attach XYZ buffer bag.
- Resuspend pellet by gently massaging bag 5 in a circular motion whilst bag is flat on the bench using a low lint cloth

- Re-weigh bag 5 with clamp. **Record in BR**
- Determine the amount of buffer required to make the volume up to 400ml using BR
- Place bag 5 on the balance and run in the determined weight of buffer. Clamp off near XYZ buffer bag and using the tube stripper, strip any remaining cellular product into bag 5 and clamp off close to bag 5. **Record in BR**
- Weigh bag 10 with a clamp
- Remove the XYZ buffer bag and attach bag 10.
- Place bag 5 with bag 10 attached in the centrifuge bucket taking care not to create folds in the bag as this will affect pelleting of the sample. Ensuring that the label of the sample bag faces to the outside of the centrifuge, place bucket in the centrifuge with appropriate balance and centrifuge the sample (Bag 5) at 300g for 15 minutes, RT, Brake 1, acceleration 8. **Record in BR**
- Re-weigh bag 9. **Record in BR**
- Remove a 500ul sample using a 21g needle plus 5ml syringe from Bag 9, place in Eppendorf 9A. **Record in BR**
- When centrifugation has finished, remove supernatant using plasma extractor into bag 10 taking care not to resuspend the pellet. Clamp off near bag 10 and using the tube stripper, strip any remaining cellular product into bag 5 and clamp off close to bag 5.
- Using the Thermo remove bag 10, set to one side for further analysis and attach a XYZ buffer bag.
- Resuspend pellet by gently massaging bag 5 in a circular motion whilst bag is flat on the bench using a low lint cloth
- Using the batch record determine and add in XYZ buffer to make the volume up to 100mls.
- Using a 21g needle and syringe take a 500ul sample from bag 5 to an Eppendorf labelled 5B. **Record in BR**
- Re-weigh bag 10. **Record in BR**
- Remove a 500ul sample using a 21g needle plus 5ml syringe from Bag 10, place in Eppendorf 10A. **Record in BR**

#### Labelled +ve ENRICHMENT

- Insert a luer/spike interconnector in to one of the ports on a 600ml transfer bag
- Weigh this 600ml transfer bag with clamp and label as Labelled +ve cell collection bag (bag 11). *Record in BR*
- Connect Bag 11 via the Luer/Spike Interconnector to the cell collection port of a XYZ TS tubing set. Ensure that the Luer/Spike Interconnector slide clamp is closed.
- Label & Weigh the Buffer Waste Bag (Bag 12, no clamp) and the negative Fraction bag (Bag 13, no clamp). **Record in BR**
- Clamp the tubing set just below each of the couplers (see diagram 1).
- Wipe the surface of a port on the XYZ buffer bag with a disinfectant wipe and connect to the tubing set via the Buffer spike (see diagram 1). Check that a clamp is firmly fitted so that the buffer cannot flow into the tubing set.
- Connect a pre-filter to the XYZ tubing set via Bubble trap spike see diagram 1. Ensure that the PALL logo will be facing you when the tubing is on the XYZ machine and is the correct way up.
- Ensure that the tubing is clamped to prevent the any cell suspension flowing into the tubing set and that the tubing on the cell bag (bag 5) is clamped then connect the cell bag (bag 5) to the pre-filter (see diagram 1).
- Switch on XYZ Instrument and select the separation program called "ENRICHMENT 3.1". Confirm your choice by pressing "ENT" and enter the Ref-number of the XYZ tubing set. Follow instructions given on the instrument screen for installation of the tubing set and set up of the program, keeping all clamps in place. Ensure that the buffer waste bag and the priming waste bag are higher than the cell preparation bag. Keep Bag 5 clamped until after the system has been primed, remove the clamp from below the buffer bag just before the priming cycle.



- Remove the clamp from below the cell bag (bag 5) when the programme instructs the cell preparation bag to be connected.
- Open the side clamp on the interconnect on the Labelled +ve cell collection bag (Bag 11) as instructed
- Start the ENRICHMENT process. **Record in BR**
- When the enrichment process has finished (*Record in BR*) clamp the cell collection bag (bag 11) and heat seal the tubing of the, Buffer Waste Bag (Bag 12), the negative Fraction bag (Bag 13) and cell collection bag (bag 11) remove and place in hood. Also heat seal off and remove the XYZ buffer bag.
- Follow the instructions on the XYZ machine and note the protocol process code. **Record in BR**
- Determine the weight of Cell Collection Bag (Bag 11), using a syringe take a 500ul sample via the leur/spike interconnector and put in the Eppendorf labelled 11A. **Record in BR**
- Re-weigh bag 12 and bag 13. *Record in BR*
- Using syringe take a 15ml sample from bag 12, put a 500ul sample into the Eppendorf labelled 12A and place the rest of the sample into the Falcon tube labelled 12A.
- Repeat above step for bag 13, but use Eppendorf 13A and Falcon tube 13A.
- Ensure that 500ul samples have been taken from samples 2A, 2B, 3A, 4A, 5A, 5B, 6A, 7A, 8A, 9A, 10A, 11A, 12A and 13A for pathology cell counting/flow cytometry.
- Close Biohazard hood and run UV program
- Take samples to Pathology and carry out differential cell counts according to SOP#. **Record in BR**
- Take samples for Flow cytometry analysis according to SOP#. **Record relevant results in BR**

Antigen loading of Labelled +ve<sup>+</sup> enriched cell population.

- For rest of process use sterile gloves, changing on every entry into the biohazard hood.
- Clean biohazard hood with 70% alcohol, put down sterile drapes and put out settle and contact plates for in-process monitoring as SOP #
- Label a 50ml Falcon tube AL1 using pre-prepared label SOP# for the sample antigen loading
- Label two eppendorf tubes with AL2 and AL3 for cell counting samples
- Remove peptides and KLH from +4°C fridge, swab with 70% alcohol and place in biohazard hood
- Using a 50ml syringe remove cells from bag 11 via leur/spike interconnector. **Record in BR**
- Place in 50ml Falcon tube 1A
- Using a syringe, add 10ml Normal saline to bag 11 to wash out bag. Use a cannula to load the syringe. **Record in BR**
- Remove saline from bag 11, via leur/spike interconnector using a syringe and add to 50 ml Falcon tube 1A. **Record in BR**
- Make volume up to 50 mls with X-VIVO 15 media. Determine required volume using the batch record. **Record in BR**
- Take a 100ul sample from Falcon tube 1A using a autoclaved pipette and sterile filter tips
- Carry out a viable cell count using (Cell Counting SOP #) *Record in BR*
- Centrifuge 50ml Falcon tube AL1 at 400g for 5 min, Brake 9, Acceleration 8. RT
- Without disturbing the cell pellet, remove supernatant using a 60ml syringe and cannula.
- Re-cap tube and flick pellet to resuspend add required volume of X-vivo 15 medium to give  $1 \times 10^6$  cells/ml using a sterile syringe. Determine volume using batch record. **Record in BR**

- Using an autoclaved P20 or P200 pipette add P1, P2, P3 and P4 peptides to a final concentration of 1ug/ml and KLH to give final required concentration of 25ug/ml.
- Incubate cell preparation at RT for 1 hr, in the biohazard cabinet. *Record in BR*
- Make volume up to 50ml in sterile normal saline. Use batch record to determine volume. **Record in BR**
- Centrifuge sample at 400g for 5 min, Brake 9, RT. *Record in BR*
- Without disturbing the cell pellet, remove supernatant using a 60ml syringe and cannula. Inoculate a Thioglycollate broth bottle obtained from MAH microbiology department with 5mls of the supernatant- label with prepared label- AL WASH 1
- Make volume up to 50ml in sterile normal saline. Use batch record to determine volume. **Record in BR**
- Centrifuge sample at 400g for 5 min, Brake 9, RT. *Record in BR*
- Without disturbing the cell pellet, remove supernatant using a 60ml syringe and cannula. Inoculate a Thioglycollate broth bottle obtained from MAH microbiology department with 5mls of the supernatant- label with prepared label- AL WASH 2
- Resuspend cell pellet in 1ml normal saline and carry out a viable cell count (Cell Counting SOP #) **Record in BR**
- Use one of the following to load the administration syringe depending on the product schedule of the patient the product is being manufactured for.
- $1 \times 10^6$  xyz ID-
  - Remove required volume of LABELLED +VE<sup>+</sup>)- work out the volume required using the FACS purity data and calculation in BR using a autoclaved pipette and sterile filter tips
  - Place in a sterile 5ml tube; add sterile saline to give a 4ml volume and load 1ml into each of 4x 1ml syringes. **Record in BR**
- $1 \times 10^6$  xyz IV-
  - Remove required volume of LABELLED +VE<sup>+</sup>)- work out the volume required using the FACS purity data and calculation in BR using a autoclaved pipette and sterile filter tips
  - Place in a sterile 5ml tube; add sterile saline to give a 1ml volume and load into a 1ml syringe. **Record in BR**
- $1 \times 10^6$ -  $1 \times 10^7$  xyz ID-
  - If participant is on the  $1 \times 10^7$  LABELLED +VE<sup>+</sup>)-dose schedule then this number of cells should be used if possible. If this cannot be achieved then the patients will receive a dose, which is as close as possible to the target dose.
  - Remove required volume of LABELLED +VE<sup>+</sup>)- work out the volume required using the FACS purity data and calculation in BR using a autoclaved pipette and sterile filter tips
  - Place in a sterile 5ml tube; add sterile saline to give a 4ml volume and load 1ml into each of 4x 1ml syringes. **Record in BR**
- $1 \times 10^6$ -  $1 \times 10^7$  xzy IV-
  - If participant is on the  $1 \times 10^7$  LABELLED +VE<sup>+</sup>)-dose schedule then this number of cells should be used if possible. If this cannot be achieved then the patients will receive a dose, which is as close as possible to the target dose.
  - Remove required volume of LABELLED +VE<sup>+</sup>)- work out the volume required using the FACS purity data and calculation in BR using a autoclaved pipette and sterile filter tips
  - Place in a sterile 5ml tube; add sterile saline to give a 1ml volume and load into a 1ml syringe. **Record in BR**
- Cryopreserve remaining cells according to Cryopreservation of DC Product SOP.

END OF DOCUMENT

Document Review Record		
Date Reviewed	Reviewed By	Reason for Review

## Prilog 14: Pregled najvažnijih GMP elemenata u izradi visoko manipuliranih ćelija za primenu u kliničke svrhe

**Tabela P14.1:** Pregled najvažnijih elemenata u izradi visoko manipuliranih ćelija za primenu u kliničke svrhe (primer mezenhimskih ćelija izolovanih iz placente).

Good Manufacturing Practice Code Requirements	Quality Management System (QMS) Requirements			Assigned Priority	Time Allocation	Increase of Resources Required
Requirements level	Policies	Procedures	Records	High, Medium or Low	A, B, C, D **	Yes/No
QUALITY MANAGEMENT SYSTEM	Quality Objectives, Quality System Requirements			High	A	No
	Organisational Structure: Director, Quality Nominee and Production Nominee(s)			High	A	No
	Resources and Personnel			High	D	Yes
	Monitoring Systems, Internal Audits, Corrective Actions and Management Review			Medium	D	No
	Change Control			Low	D	No
PERSONNEL AND TRAINING	General Personnel Objectives			Medium	A	No
	Initial Training and Induction			High	A	No
	Laboratory Training			High	C	No
	QA and QMS Training			Medium	C	No
	Annual Training, Task-based Training			Medium	B	No
BUILDINGS AND FACILITIES	General Building and Facilities Objectives, Floors, Walls and Fittings			High	C	Yes
	Environmental Control			High	D	Yes
	Cleaning and Pest Control			High	D	Yes
	Goods receipt and Storage Areas			Medium	C	No
	Manufacturing Areas including General, Donor areas, Despatch			Medium	C	No
EQUIPMENT	General Equipment Objectives, Preventative Maintenance			High	D	Yes
	Qualification and Validation including IQ, OQ, PQ <sup>#</sup> (see definitions below)			Medium	A	Yes
	Calibration			High	B	Yes
	Specific Equipment including Refrigeration equipment, Irradiation equipment, Barcode equipment			High	A	Yes
DOCUMENTATION	General Document Control Objectives			High	D	No
	Control of Documentation			High	D	No
	Storage and Retention			Medium	B	No

<sup>#</sup> IQ, Installation Qualification; OQ, Operational Qualification; PQ, Process Qualification.

\*\* A (first 1-3 months only); B (once or less than 3 months at any stage); C (6-12 months); D (over 12 months)

cont'd.

Good Manufacturing Practice Code Requirements	Quality Management System Requirements			Assigned Priority	Time Allocation	Increase of Resources Required
Requirements level	Policies	Procedures	Records	High, Medium or Low	A, B, C, D **	Yes/ No
RECORDS	General Record Keeping Objectives, Donor Sessions, Donor Deferral			High	D	No
	Collection, Retrieval and Processing Records			High	D	No
	Final Product and Batch Record			High	D	No
	Storage, retention and Archiving			High	B	Yes
	Product Complaints and Recall, Corrective Action			High	D	No
	Computer Records including General Computer Records Requirements, Documentation, Validation Data, Data Control			Medium	C	Yes
CONTROL OF MATERIEL	General Control of Materiel Objectives			High	D	No
	Starting Materiel including General, Reagents, Collection Packs, Labels/			High	C	Yes
	In-Process Materiel			High	C	Yes
	Suppliers and Sub-Contractors Review			Medium	B	No
	Non-Conforming Materiel, Recall of Products			High	C	No
DONOR SELECTION, DONATION AND TESTING <sup>^</sup>	General Donor Selection Requirements including Pre-Donation, Donation, Post Donation			High	C	No
	Tissue Donors including Pre-Donation, Donation, Post Donation			High	C	No
	Testing of Donor Samples including General, Contracted Laboratories			High	C	Yes
<sup>^</sup> Includes Additional Requirements of both Australian Red Cross and Auscord (The Australian Cord Blood Registry) Guidelines for Donor Selection and Testing						
PROCESS CONTROL	General Process Control Requirements			High	D	No
	Validation			Medium	A	Yes
	Quality Control, Monitoring			Medium	D	No
	Product release			High	C	No
STORAGE, PACKAGING AND TRANSPORT	Storage including General, Labeling, Quarantine, Discard			High	C	No
	Packaging including General, Labelling, Records			High	B	Yes
	Transport			Medium	B	Yes

\*\* A (first 1-3 months only); B (once or less than 3 months at any stage); C (6-12 months); D (over 12 months)

**Tabela P14.2:** Pregled najvažnijih elemenata u izradi visoko manipuliranih ćelija za primenu u kliničke svrhe (primer mezenhimskih ćelija izolovanih iz placente): posebna razmatranja.

<p><b>Stage of manufacturing and/or cGMP area:</b></p>	<p>Special considerations in manufacturing process</p>
<p><b>Obtaining and control of clinical-grade or GMP grade critical material:</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- A major obstacle has been a lack of clinical-grade cGMP reagents in the cell isolation steps. If clinical grade consumables are available, these should given priority (e.g. Ficoll-Paque is produced as a cGMP reagent whereas Percoll is not). Any change in reagent should be validated, e.g. we have found that Ficoll-Paque produces equivalent results for isolation of placental cells in our pre-clinical data.</li> <li>- Consumables with a sterility testing certificate and/or a Certificate of Analysis (COA) stating the minimal level of “contaminants” should also be considered (e.g. collagenase I remains a relatively crude isolation fraction containing a range of proteins and enzymes such as collagenase, trypsin and dispase).</li> <li>- Control of critical material (that directly or indirectly may influence the quality of the cell product) is obtained according to specific requirements outlined in procedural documents. This includes <i>all</i> items used in the production process (such as media, enzymes, flasks and tubes), but also items such as 70% ethanol, sterile drapes, sterile gloves and disposable laboratory gowns.</li> </ul>
<p><b>Transport and handling of placenta:</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- We currently use elective caesarean sections as our placenta source as, although the operating procedures are open, they are performed in relatively sterile environment. The placenta is subsequently double bagged in plastic draw string bags. After weighing, the placenta is placed in a cool box and transferred to our manufacturing facilities on the same campus for processing. Appropriate documentation is signed (donor details and ID check, date, time, witnessing process). The placenta must never be left unattended; it must be given directly to the manufacturing staff to be placed into the laboratory and attended immediately by the manufacturing team. Although class II safety cabinets are used in our production of MSC, this still represents an “open” system of manufacture. Even with a quality system in place and numerous safety precautions, there remains a greater chance of microbial contamination in an open system versus a closed system. Our hospital manufacturing laboratory is not classified as a clean room and is therefore not required to meet defined levels for air particles or viable organisms as set out by appropriate regulatory authorities for clean room standards. However, in order to provide a highly controlled environment and to ensure processing is carried out in an environment where microbial contamination levels are known, environmental monitoring is conducted on a regular basis.</li> <li>- If cord blood has not been drained prior to receiving placenta, blood in the placenta will still be at foetal arterial pressure. Care should be taken when taking the cord blood and placental anatomy should be known in order to find the cord vein. Relevant safety equipment such as eye protection, mask and gloves should always be used.</li> </ul>
<p><b>Documentation:</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- The Batch Record Form and procedural documents (e.g. Standard Operating Procedures, SOP) are subject to strict document control; each version is reviewed, approved and released. Archived versions are stored and made available, if required.</li> <li>- It is useful to have a brief check-list of tasks to be completed prior to and on the day of production. This list enables staff to focus and perform their tasks according to procedural requirements and record any non-conformances occurring in the manufacturing process.</li> </ul>

<b>Stage of manufacturing and/or cGMP area:</b>	Special considerations in manufacturing process
<b>Equipment and facilities:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Equipment servicing and calibration is obtained on a regular basis and along with the cleaning records kept on the premises; it is required that all equipment used in the production run is up-to-date with regards to maintenance and calibration (including items such as thermometers, timers, automatic pipettes, data-loggers monitoring temperature and humidity).</li> <li>- Equipment status can be recorded on separate documents linked to the Batch Record.</li> <li>- Production facility storage cupboards are temperature mapped, temperature and humidity monitored and access-controlled.</li> <li>- Requirements for each equipment item maintenance, cleaning and sterilisation are outlined in equipment- specific procedures (SOP).</li> <li>- Production facility maintenance requirements are outlined and recorded in separate documents that may be directly linked to the Batch Record Form or cross-referenced (by using date, production ID, unique product identifier or similar).</li> </ul>
<b>Environmental monitoring:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Environmental monitoring shall at a minimum include temperature, humidity and microbial contamination. Acceptable limits (alert vs. action limits) are set according to historical data and/or literature data.</li> <li>- Environmental monitoring data outside the acceptable limits are considered to be a non-conformance with the QMS requirements and addressed as such (including root cause analysis, corrective and preventative action implementation).</li> </ul>
<b>Labelling:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Labels and related procedural documents are document controlled. A label reconciliation process is implemented for each production run. Unique identifiers are devised and no numbers can be repeated in any other production process. Patient confidentiality is maintained throughout the process.</li> <li>- Accurate labelling of products is an important component of Good Clinical Practice (GCP) and is required to ensure compliance with the local Quality Management System Process. Labels must be compatible with the use/handling and storage conditions of the labelled sample and must not detach when stored in incubators or in the vapour phase of liquid nitrogen, or if immersed in water (e.g. use cryovials labels that can be stored at -180°C and remain attached to the cryovial).</li> <li>- Labels should be affixed in such a way as to allow all information to be read clearly. Labels must detail that it is label X of Y e.g. 4 of 12, to allow traceability; labels must be used in sequential number order.</li> <li>- Extra copies of labels must be destroyed or defaced. Copies of labels should be attached to the label reconciliation form and where possible to batch records, storage logs etc as a confirmation of the identity of the product that was being handled.</li> </ul>
<b>Production approval and decision making:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Requirements for production approval are outlined in a separate procedure; cGMP requirements are followed in terms of responsibilities and Quality Assurance staff and production staff act independently (“arm’s length” - production nominee vs. quality nominee). The ultimate decision-maker is the Director (both production and quality staff independently report to the Director). This also provides a relevant Risk Management framework and decision making structure.</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Conditions of the cryostorage should be clearly defined and action limits set. Cryostorage conditions should be continuously monitored and alarmed. Cellular product specifications have been devised in order to provide a defined set of parameters for their storage, transport and testing prior to use. Maintenance of the vapour phase liquid N<sub>2</sub> tank is required, including regular refill of the liquid N<sub>2</sub> by an</li> </ul>

**Cryostorage,  
cell release and  
dispatch:**

approved supplier.

- The cell release process consists of two phases. The first step is production release according to production release criteria (Table 2). These tests are obtained in an accredited Pathology laboratory and it is recommended to outsource them rather than doing in-house testing for release criteria purposes. The second step is release prior to infusion obtained at the clinical site, externally or internally, with the testing of sterility by 14-day microbiology culture and viability >70% by Trypan Blue exclusion. Cells have to pass both of these tests in order to be administered to a patient.

- Dispatch of cells is by an approved courier only, in a validated and approved dry shipper (that maintains required temperature during the entire transport process). Accompanying documentation (instruction for handling, storage and testing of the cells) is required and regular liaison with clinical site staff, externally or internally, occurs.

## Prilog 15: Primer liste za GMP inspekciju

### 1. QUALITY SYSTEM

#### Rationale and General

Completed  Review Required  Partially Completed  Not Completed

#### Quality Objectives

Completed  Review Required  Partially Completed  Not Completed

#### Organisational Structure

Completed  Review Required  Partially Completed  Not Completed

##### General

- Director
- QA and Production Nominees
- Resources and Personnel

#### Quality System requirements

Completed  Review Required  Partially Completed  Not Completed

- Documentation is mostly completed or under review
- Change Control is not implemented

#### Monitoring Systems

Completed  Review Required  Partially Completed  Not Completed

- General
- Internal Audit
- Corrective Action

#### Management Review

Completed  Review Required  Partially Completed  Not Completed

### 2. PERSONNEL AND TRAINING

#### Rationale

Completed  Review Required  Partially Completed  Not Completed

#### General

Completed  Review Required  Partially Completed  Not Completed

#### Training

Completed  Review Required  Partially Completed  Not Completed

#### Records

Completed  Review Required  Partially Completed  Not Completed

### 3. BUILDINGS AND FACILITIES

#### Rationale and General

Completed  Review Required  Partially Completed  Not Completed

#### Environmental Control

Completed  Review Required  Partially Completed  Not Completed

#### Floors, Walls and Fittings

Completed  Review Required  Partially Completed  Not Completed

#### Cleaning

Completed  Review Required  Partially Completed  Not Completed

#### Goods receipt and Storage Areas

Completed  Review Required  Partially Completed  Not Completed

#### Manufacturing Areas

Completed  Review Required  Partially Completed  Not Completed

- General
- Donor areas
- Despatch
- Mobile blood collection sites

### 4. EQUIPMENT

#### Rationale and General

Completed  Review Required  Partially Completed  Not Completed

#### Qualification and Validation

Completed  Review Required  Partially Completed  Not Completed

#### Preventative Maintenance

Completed  Review Required  Partially Completed  Not Completed

#### Calibration and Validation

Completed  Review Required  Partially Completed  Not Completed



**Specific Equipment**

Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed   
 • Refrigeration equipment  
 • Irradiation equipment  
 • Barcode equipment

**5. DOCUMENTATION****Rationale and General**

Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed

**Control of Documentation**

Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed

**Storage and Retention**

Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed

**6. RECORDS****Rationale and General**

Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed

**Donor sessions**

Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed

**Collection/Retrieval and Processing Records**

Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed

**Final Product**

Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed

**Storage, retention and Archiving**

Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed

**Product Complaints and Recall**

Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed

**Donor Deferral**

Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed

**Corrective Action**

Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed

**Security**

Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed

**Computer Records**

Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed   
 • General  
 • Documentation  
 • Validation Data  
 • Data Control

**7. CONTROL OF MATERIEL****Rationale and General**

Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed

**Suppliers and Sub-Contractors**

Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed

**Starting Materiel**

Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed   
 • General  
 • Reagents  
 • Collection Packs  
 • Labels

**In-Process Materiel**

Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed

**Non-Conforming Materiel**

Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed

**Recall of Products**

Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed

**8. DONOR SELECTION, DONATION AND TESTING****Rationale and General**

Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed   
 • Pre-Donation  
 • Donation  
 • Post Donation

**Whole Blood Donors – N/A****Apheresis Donors**

Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed

• Donation

**Tissue Donors**  
 Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed   
 • Pre-Donation  
 • Donation  
 • Post Donation

**Testing of Donor Samples**  
 Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed   
 • General  
 • Contracted Laboratories

**9. PROCESS CONTROL**

**Rationale**  
 Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed

**General**  
 Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed

**Validation**  
 Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed   
 • General  
 • Quality Control  
 • Monitoring

**Product release**  
 Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed

**10. STORAGE, PACKAGING AND TRANSPORT**

**Rationale**  
 Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed

**Storage**  
 Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed   
 • General  
 • Labelling  
 • Quarantine  
 • Discard

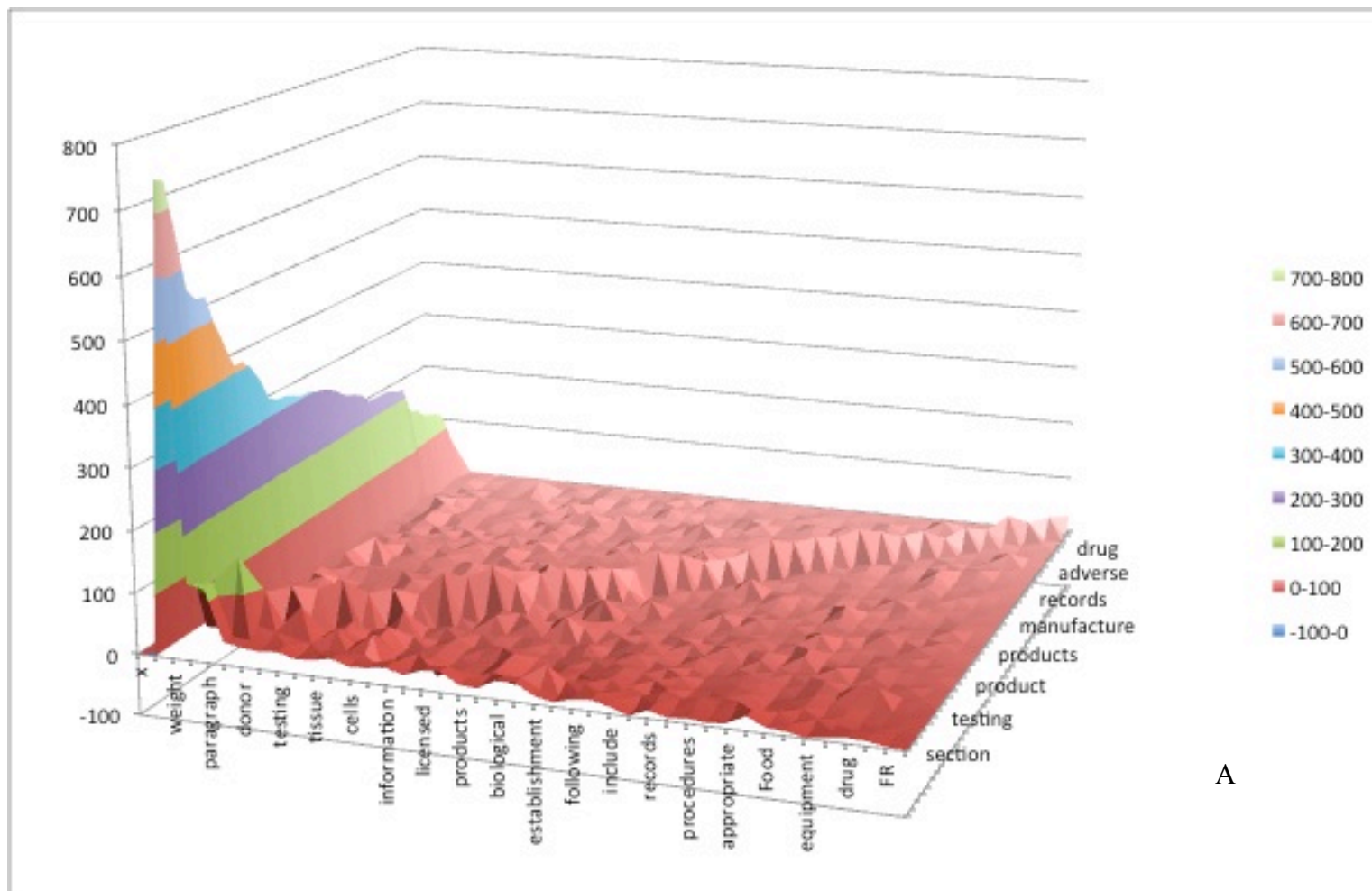
**Packaging**  
 Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed   
 • General  
 • Labelling  
 • Records

**Transport**  
 Completed       Review Required       Partially Completed       Not Completed

## Prilog 16: Rezultati korelacione analize dokumenata.

Konceptualni parovi i učestalost njihovog zajedničkog pojavljivanja u tekstu dokumenata su prikazani za dokumenta agencije FDA (A).

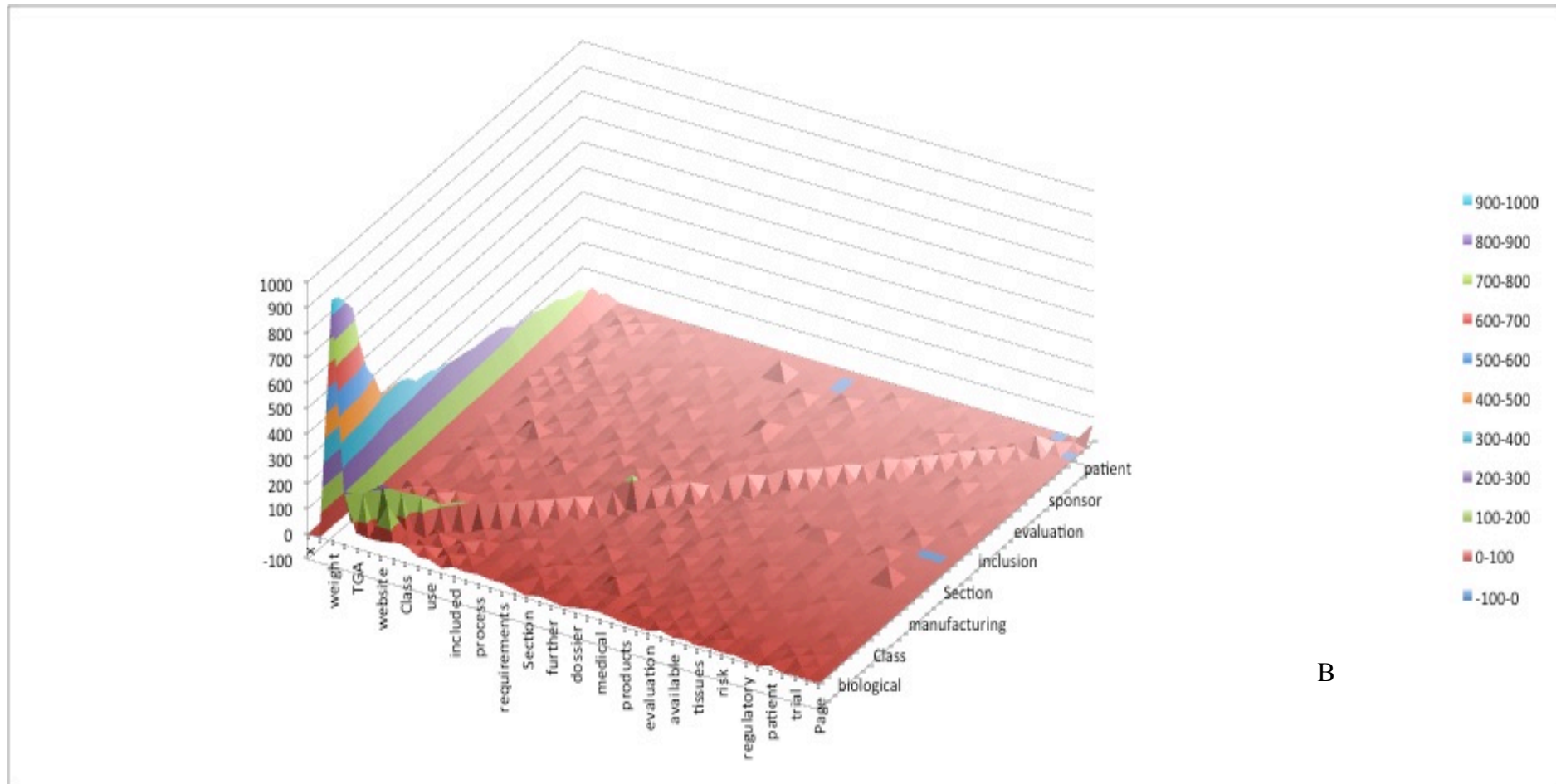
Različite boje na grafičkom prikazu reprezentuju relativne frekvencije koncepata koji se zajedno pojavljuju kroz tekst.



Slika 4.5: Korelaciona analiza (3D grafički prikaz) odnosa između koncepata. Lista svih dokumenata je prikazana u Tabeli 3.2 u poglavlju: Materijali.

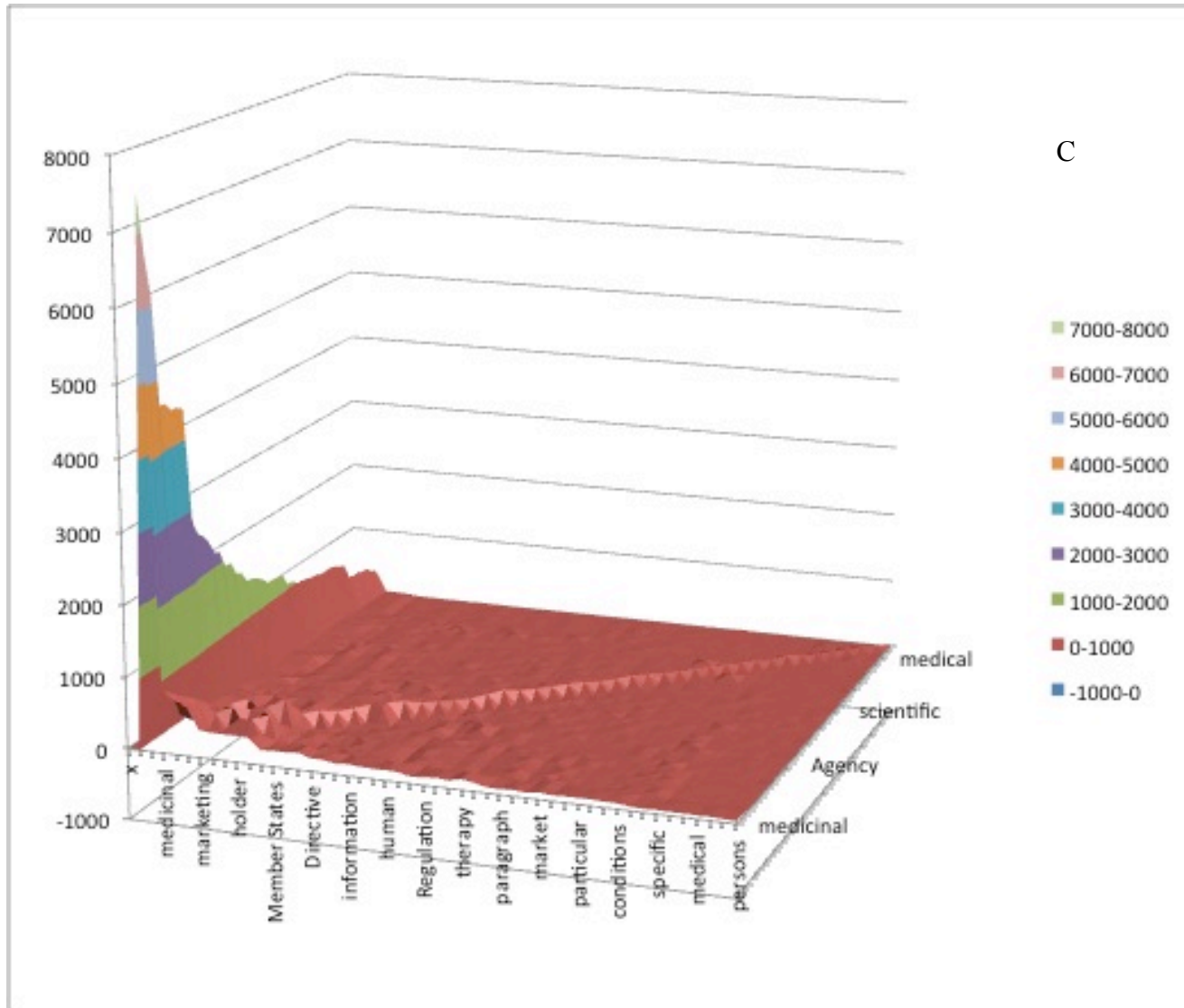
Konceptualni parovi i učestalost njihovog zajedničkog pojavljivanja u tekstu dokumenata su prikazani za dokumenta agencije TGA (B).

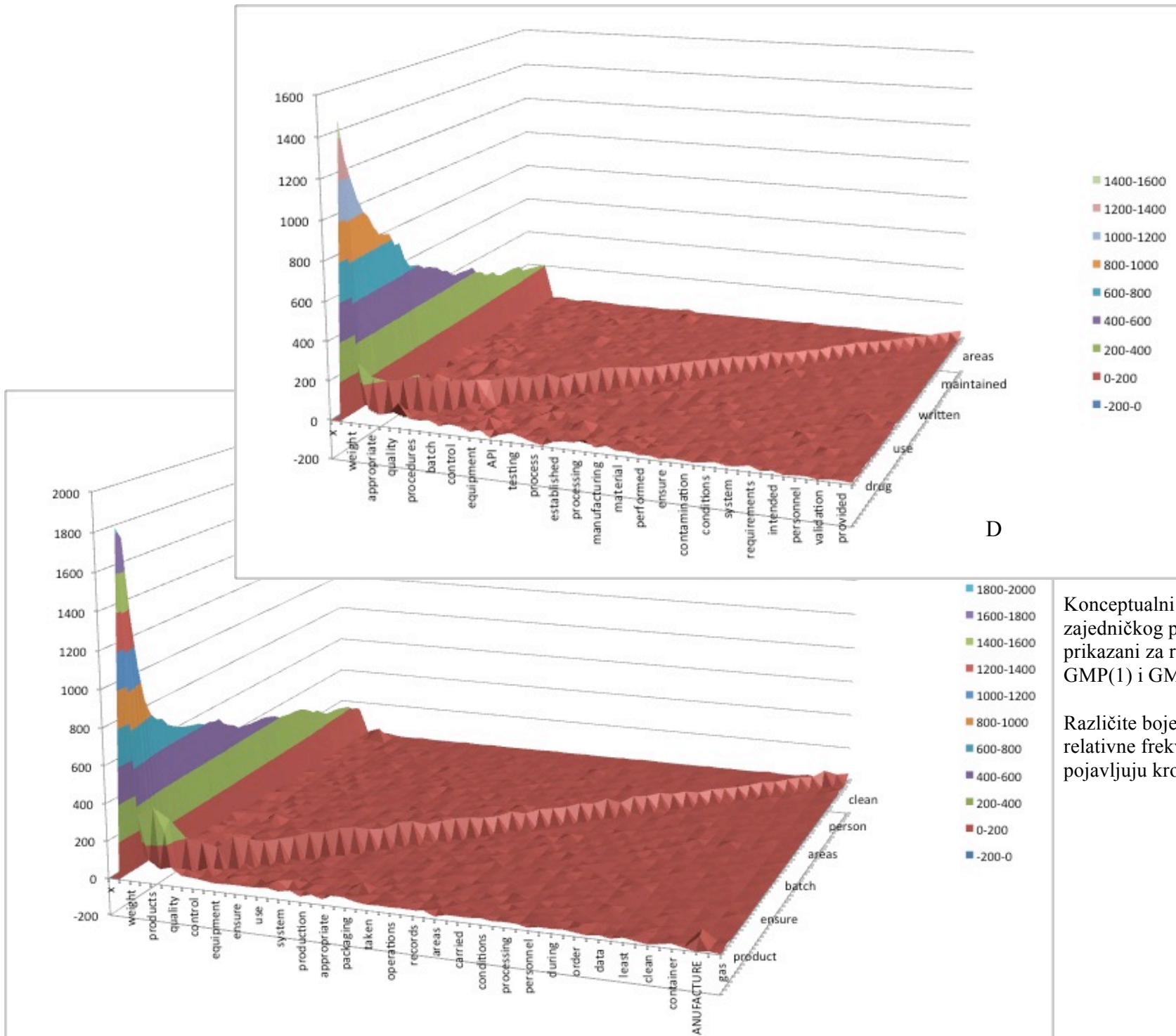
Različite boje na grafičkom prikazu reprezentuju relativne frekvencije koncepata koji se zajedno pojavljuju kroz tekst.



Konceptualni parovi i učestalost njihovog zajedničkog pojavljivanja u tekstu dokumenata su prikazani za dokumenta agencije EMA (C).

Različite boje na grafičkom prikazu reprezentuju relativne frekvencije koncepata koji se zajedno pojavljuju kroz tekst.



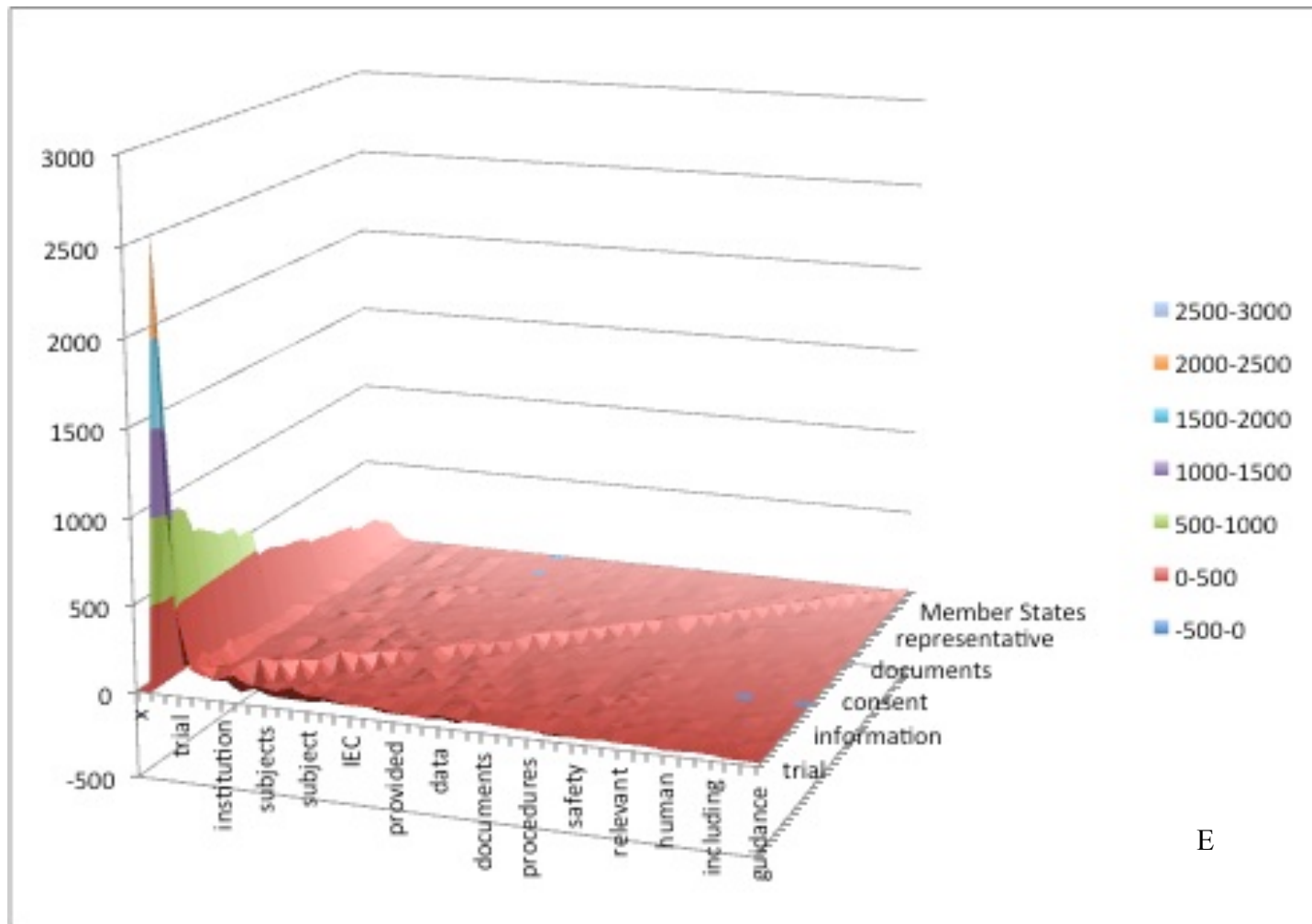


Konceptualni parovi i učestalost njihovog zajedničkog pojavljivanja u tekstu dokumenata su prikazani za regulatorne okvire GMP(1) i GMP(2) (D).

Različite boje na grafičkom prikazu reprezentuju relativne frekvencije koncepata koji se zajedno pojavljuju kroz tekst.

Konceptualni parovi i učestalost njihovog zajedničkog pojavljivanja u tekstu dokumenata su prikazani za GCP dokumenta (E).

Različite boje na grafičkom prikazu reprezentuju relativne frekvencije koncepata koji se zajedno pojavljuju kroz tekst.





## Prilog 17: Dodatni rezultati iz analize intervjuja.

**Tabela P17.1:** Rezultati vezani za razvojne pristupe kao što su obuka osoblja, usvajanje novih tehnologija ili novih ideja kao i za značajne pouke nastale u procesu razvoja i saradnju sa partnerima (engl. *Staff Training & Access to New People, New Technology, New Ideas; Important Lessons Learned; On Partnerships*).

KNOWLEDGE, PRACTICE & EXPERIENCE		VIEW, PERCEPTION & OPINION	
<i>Excerpts from the interview transcripts related to the topic</i>			
Staff Training & Access to New People, New Technology, New Ideas	<p>- “conferences, publishing; a formal training and assessing program which is actually sub-contracted [CTE01]. -follow medical literature; stem cell meetings and conferences; team meetings, seminars, publishing” [CTE02].</p> <p>- there's a very conscious effort to stay in touch; it's staying in touch, continuous dialogue ... it's a two-way street; regular meeting at conferences, the participation on committees, in societies ... give you that opportunity to swap stories, learn, play catch up and, on the academic sense, quite often it'll lead to joint papers being written” [CTE03].</p> <p>- “one external education opportunity per year ... also an internal staff training programme (ongoing) [and] an intra-company education programme, divisions and individuals present on what they're doing, what their challenges are and what they face on a daily basis ... so that everyone is continuing to be educated at a professional level but also at a company level [formal and informal]” [CTE05].</p> <p>- “predominantly we try and hire staff who have a basic skill set in this industry or certainly have a skill set working within the GMP environment. From there we take people and mould them into what we do within this organisation ... we have a particular culture that requires that we gel together pretty well. Our training and development tends to be group based where we, team building in essence, in order to keep the group together. In doing so keep them multi-skilled and keep them up to date with GMP so that we have as much flexibility as we possibly can have within a facility of this size” [CTE22].</p>	Important Lessons Learned	<p>- “keeping consistency, aiming above the regulatory minimum” [CTE01].</p> <p>- “team work is essential” [CTE02].</p> <p>- “independence, speed of response and key personnel are success factors; not to take the exemptions [since many] have attempted to take every exemption they could in order not to have to be compliant; in doing so, they ended up with a research capability that had an inability to move forward” [CTE03].</p> <p>- “ability to interact [with] different sector, from businessmen to top scientist, from regulatory body to patients” [CTE04].</p> <p>- “cost economies [understanding and application]” [CTE05].</p> <p>- “business models are not yet clearly defined, there are not really so many big successes, but we have to be realistic, nothing goes so fast if you're dealing with drugs... so this industry is now, I think, in the beginning of the higher growth and in [the next]15 years, we can see some major disappointments and also some major successes, we have to adapt our curve all the time” [CTE11].</p> <p>- “have contingency planning, for example, double the time and multiply the cost by four or the other way around – for a successful completion of a project” [CTE13].</p> <p>- “the main thing that's really critical to taking scientific advancement forward is the relationship between the scientists and the clinicians... no scientific development will really make it through without clinical champions (ones who know the patient and understand the benefit to their patient, but also can understand the science, not just accept the word) ... without that strong relationship, the regulatory environment is really just - it doesn't even come into the equation” [CTE19].</p> <p>- “scientists are figuring out, okay well this cell if we add this chemical to it in vivo we can make this cell do something else ... it is a massively innovative space ... people from all different disciplines are attracted to the field and are coming into it bringing different points of view and their own expertise which is really driving things forward” [CTE23].</p>

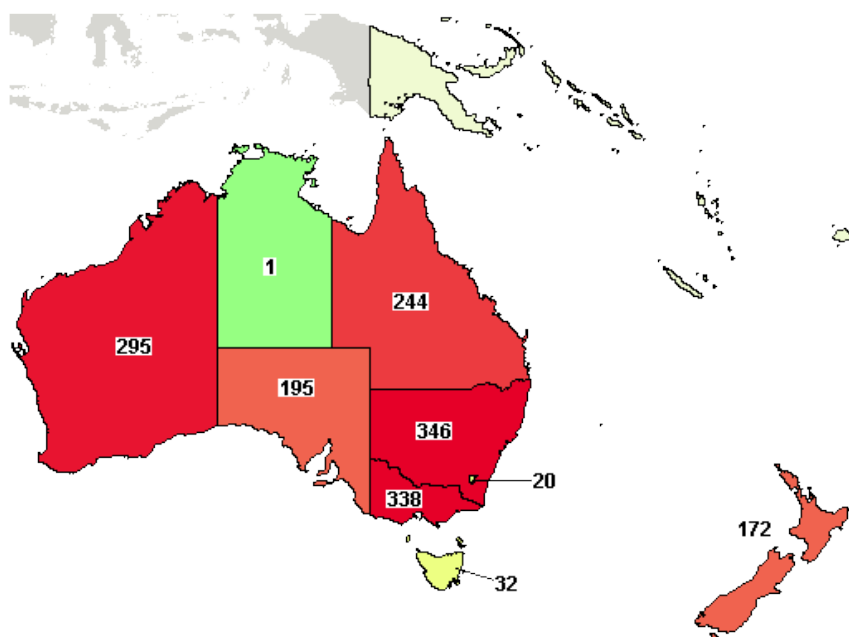


On partnerships:

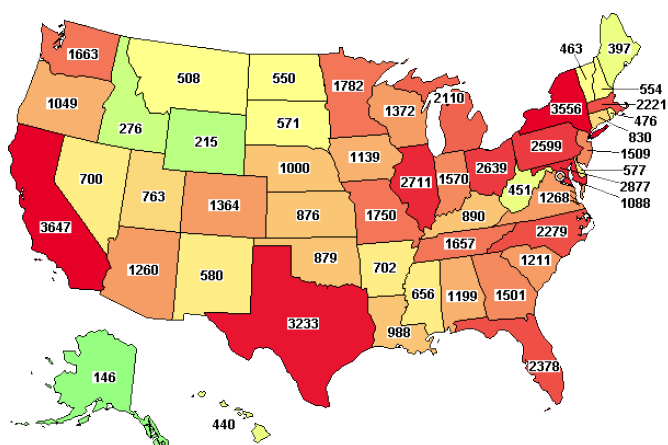
- “The word serendipity comes to mind. I'm not sure that it's appropriate but I'm of the ilk that if you are in and around the marketplace on a regular basis and, if you're relatively open, those opportunities come. You have to recognise them and grab them with both hands when they're there. So you need to put yourself in the right place, and that's the planned bit. The unplanned bit is what happens. So we make sure that we are in and around and regularly exposed, and rely on our purely opportunistic capabilities and the fact that it's a dynamic field. It's not a stagnant field.” [CTE03]
- “Our partnerships have matured as our company matured. So from scientific collaborations and partnerships to clinical [research] collaborations and partnerships and now we're moving more towards corporate collaborations and relationships.” [CTE05]
- “There were [always] partnerships and alliances, they were on a smaller scale. Now we need to scale them up because there are areas of great expertise, which could theoretically help and influence like the nanotechnology groups may be able to help. The materials groups, the smart surface groups and so on. So you can sort of start to conceive of groups with different disciplines, backgrounds and expertise coming together to create new institutions that have feet in the more traditional universities and research institutes. [It all appears to be] very positive and people are much more accepting today of these cross-institutional arrangements.” [CTE14]
- “There's a lot of unknowns, so that whole scenario, around developing a cell therapy pipeline platform(s) – we're making that up as we go along because nobody really knows what is needed. The regulatory bodies are looking at this, not quite sure what a cell production facility would look like and what you would have to have in place in terms of safety and composition; a lot of it is a work in progress and the other thing that makes it really interesting is people are approaching it from a whole variety of different perspectives.” [CTE21]

Oznake za učesnike u istraživanju: CTE01 - CTE24.

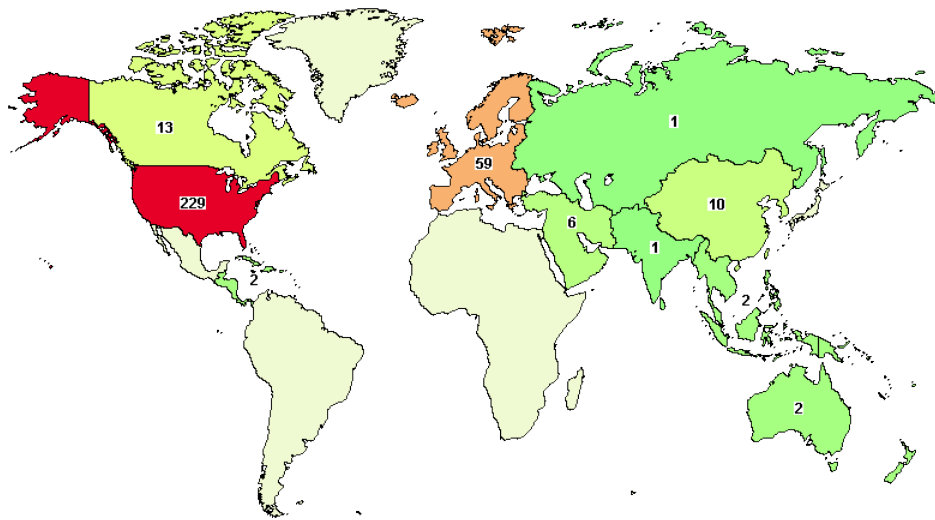
## Prilog 18: Dodatne mape iz pretrage podataka.



**Slika P18.1:** Mapa kliničkih istraživanja uz upotrebu ćelijskih terapija u Australiji (pretraga uz ključne reči “cell therapies”) u januaru 2011. godine.



**Slika P18.2:** Mapa kliničkih istraživanja uz upotrebu ćelijskih terapija u SAD-u (pretraga uz ključne reči “cell therapies”) u januaru 2011. godine.



**Slika P18.3:** Mapa kliničkih istraživanja uz upotrebu dendritičnih ćelija na svetskom nivou (pretraga uz ključne reči “*cell therapies AND dendritic cells*”) u januaru 2011. godine.

## **Ostali prilozi tezi:**

**Prilog 19: Biografija autora**

**Prilog 20: Izjava o autorstvu**

**Prilog 21: Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorske disertacije**

**Prilog 22: Izjava o korišćenju**

## Biografija autora

Dragica KNEŽEVIĆ ILIĆ rođena je 03.12.1968. godine u Rumi. Osnovnu školu je pohađala u Rumi i Beogradu, a srednju medicinsku školu, farmaceutski smer, završila je 1987. godine u Beogradu. Diplomirala je 1995. godine na Biološkom fakultetu, studijska grupa molekularna biologija i fiziologija. Ovim je stekla stručni naziv diplomiranog molekularnog biologa i fiziologa. Poslediplomske studije na Biološkom fakultetu upisala je školske 1995/96. godine. Zvanje magistra bioloških nauka stekla je 1998. godine, odbranom teme „Identifikacija genoma hepatitis C virusa u humanim tkivima pomoću *RT PCR* metode“.

Zvanje *Medical Scientist* dodeljeno joj je od strane *Australian Institute of Medical Scientists* (AIMS) 2003. godine. Poslediplomske studije u oblasti menadžmenta na *University of Leicester* (UK) upisala je 2004/05. godine. Zvanje *Master of Business Administration, MBA* stekla je na istom univerzitetu 2008. godine. Poslediplomski kurs iz oblasti zakonskih regulativa u kliničkim istraživanjima (engl. *Regulatory Affairs*) završila je sa zapaženim rezultatima 2006. godine na *University of Queensland, School of Pharmacy, Brisbane, Australia*.

Radila je na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu kao stručni saradnik i asistent u nastavi. Bila je zaposlena na Vojnomedicinskoj akademiji u Beogradu kao molekularni biolog u Centralnoj laboratoriji na odeljenju za ispitivanja u oblasti virusologije, da bi u junu 2000. godine bila pozvana od strane *University of Malta* da učestvuje u radu njihovog tima kao saradnik (engl. *Research Fellow*) u istraživačkoj i dijagnostičkoj laboratoriji za molekularnu genetiku (engl. *Molecular Genetics Laboratory*). Nakon toga bila je zaposlena kao *Research Scientist* u tada novoosnovanoj kompaniji *Atheneum Biotechnology, Malta*, kasnije *Synergene Ltd, Malta*. Poslove tehničkog šefa laboratorije (engl. *Laboratory and Technical Manager*) obavljala je u istoj kompaniji za potrebe molekularne dijagnostike, genotipizacije i primene molekularne dijagnostike u sudskoj medicini. Od juna 2005. godine zaposlena je u univerzitetskoj bolnici *Mater Health Services (MHS), Brisbane, Australia*, kao viši menadžer za kvalitet i primenu zakonskih regulativa (engl. *Senior Quality and Regulatory Affairs Manager*) u unapređenju konvencionalnih i razvoju novih ćelijskih terapija za kliničke potrebe i klinička istraživanja. U međuvremenu je, godinu dana radila u timu za akreditaciju kao stručni savetnik jednog od izvršnih direktora u istoj univerzitetskoj bolnici.

Osim engleskog jezika koji fluentno piše, čita i govori, služi se italijanskim jezikom i poznaje i uspešno koristi niz programskih paketa (npr. *Microsoft, Macintosh, Leximancer, Nvivo, QPulse*).

U svom radu stekla je značajno iskustvo, pre svega, u primeni novih naučnih dostignuća u kliničkoj praksi (za potrebe dijagnostike i lečenja) kao i u oblasti zakonsko regulatornih principa i akreditacijskih sistema koji se primenjuju u proizvodnji bioterapeutskih sredstava u Evropi, Australiji i Americi.

Član je Nacionalne asocijacije za unapređenje i razvoj regenerativne medicine u Srbiji (NAURRM), Evropskog društva za genske i ćelijske terapije (engl. *European Society of Gene and Cell Therapy, ESGCT*), Internacionalnog udruženja za ćelijske terapije (engl. *International Society for Cellular Therapy, ISCT*) i Asocijacije za kliničke i regulatorne nauke u Australiji (engl. *Association of Regulatory and Clinical Scientists Australia, ARCS*).

Od 2005. godine sve radove i publikacije objavljuje pod svojim skraćenim imenom *Nina ILIC*.

## Изјава о ауторству

Потписани-а \_\_\_\_\_ mr Dragica Knežević Ilić \_\_\_\_\_

број индекса \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_

### Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

KOMPARATIVNA ANALIZA PROCESA, SISTEMA I REGULATIVA U IZRADI I  
PRIMENI MATIČNIH ĆELIJA I DRUGIH ĆELIJSKIH TERAPIJA

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

**Потпис докторанда**

У Београду, 15.10.2013. godine



---

**Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада**

Име и презиме аутора \_\_\_\_\_ mr Dragica Knežević Ilić \_\_\_\_\_

Број индекса \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_

Студијски програм \_\_\_\_\_ Farmacija \_\_\_\_\_

Наслов рада **KOMPARATIVNA ANALIZA PROCESA, SISTEMA I REGULATIVA U  
IZRADI I PRIMENI MATIČNIH ĆELIJA I DRUGIH ĆELIJSKIH TERAPIJA**

Ментор \_\_ Prof. dr Snežana Savić i Prof. dr Ljiljana Tasić, Farmaceutski fakultet \_\_

Потписани/а \_\_\_\_\_ mr Dragica Knežević Ilić \_\_\_\_\_

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

**Потпис докторанда**

У Београду, 15.10.2013. godine



---

## Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

KOMPARATIVNA ANALIZA PROCESA, SISTEMA I REGULATIVA U IZRADI I PRIMENI  
MATIČNIH ĆELIJA I DRUGIH ĆELIJSKIH TERAPIJA

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство

2. Ауторство - некомерцијално

3. Ауторство – некомерцијално – без прераде

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима

5. Ауторство – без прераде

6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

**Потпис докторанда**

У Београду, 15.10.2013. godine



---



1. Ауторство - Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.

