

J ó z e f D u l a k

Terapie opierające się na komórkach macierzystych – możliwości, oczekiwania, ograniczenia

Słowa kluczowe: dorosłe komórki macierzyste, zarodkowe komórki macierzyste, zastosowanie medyczne, metody pobierania, niekonieczne ograniczenia

Wstęp

Komórki macierzyste mają zdolność powielania się, a także przekształcania w komórki różnych rodzajów. Komórki macierzyste mogą zatem regenerować uszkodzone narządy, a potencjalnie tworzyć je od podstaw.

Komórki macierzyste od dawna używane są w leczeniu chorób i w tej dziedzinie medycyna odniosła spektakularne sukcesy. Komórki macierzyste to bowiem nie tylko zarodkowe (embrionalne) komórki macierzyste (ESCs – ang. *embryonic stem cells*), izolowane z zarodka składającego się z 50–200 komórek (w tym stadium zarodek nazywany jest blastocystą) (Ryc. 1). Komórki macierzyste to również tzw. dorosłe komórki, występujące najliczniej w szpiku kostnym. To właśnie te komórki macierzyste krwi wykorzystywane są z powodzeniem w leczeniu chorób krwi, podobnie jak komórki macierzyste skóry w leczeniu oparzeń. Komórki macierzyste obecne są także w jelicie, mózgu, mięśniu sercowym, tkance tłuszczowej i zapewne innych narządach. Bogatym ich źródłem jest krew pępowinowa oraz łożysko.

Z pojedynczej komórki (blastomeru), izolowanej z kilkukomórkowego zarodka, może się rozwinąć cały organizm – tak więc podobnie jak zygota uzyskane tak ESCs są totipotencjalne („wszystko mogą”). Zarodkowe komórki macierzyste blastocysty mogą dać początek praktycznie każdej komórce organizmu, choć być może pojedyncza komórka nie potrafi odtworzyć całego organizmu. Te komórki nazywane są więc multipotencjalnymi (Ryc. 2). Dorosłe komórki macierzyste, podobnie jak komórki izolowane z płodów mają w odróżnieniu od komórek zarodkowych znacz-

nie mniejszy potencjał rozwojowy (Ryc. 2). Dlatego wiele z nich, szczególnie te zlokalizowane w narządach, określa się mianem komórek progenitorowych, gdyż mogą dać początek tylko jednemu rodzajowi komórek (Tabela 1, Ryc. 2).

Terapia genowa komórek macierzystych w złożonych niedoborach odporności

Przeszczepy szpiku to uznane metody terapeutyczne. Problemy pojawiają się jednak przy połączeniu terapii komórkowej z terapią genową, w której dokonuje się modyfikacji komórek pacjenta, wprowadzając do nich brakujące geny.

Wykorzystanie szpiku kostnego, czyli w rzeczywistości hematopoetycznych komórek macierzystych do leczenia białaczek jest powszechnie znane. Mniej wiadomo, także i ze względu na rzadsze występowanie tych chorób, o zastosowaniu komórek macierzystych w leczeniu złożonych niedoborów odporności. Dzieci z upośledzoną odpornością przychodzą na świat pozbawione jednego z genów kluczowych dla rozwoju układu obronnego. Jeden z niedoborów wywołany jest brakiem prawidłowego genu deaminazy adenozykowej (ADA) i jest chorobą bardzo rzadką, występującą u obu płci. Choroba ta była także obiektem pierwszej próby terapii genowej, przeprowadzonej w roku 1990 w USA. Terapia ta polegała na pobraniu krwi od dwóch pacjentek, wyizolowaniu z niej białych ciałek i wprowadzeniu *in vitro* nośnika (wektora) zawierającego prawidłowy gen ADA oraz gen znacznikowy (bakteryjny). Następnie tak zmodyfikowane komórki wstrzyknięto z powrotem do żył dzieci. Leukocyty (białe krwinki) zawierające gen znacznikowy wykrywano we krwi pacjentów kilka lat po zabiegu, co świadczy o skuteczności metody. Osoby te, obecnie już dorosłe, prowadzą normalne życie. Nie możemy jednak przypisać tego terapii genowej, gdyż przez lata dzieci otrzymywały stałe zastrzyki gotowego enzymu ADA i to jemu zawdzięczają zdrowie.

Ulepszenie metod hodowli komórek macierzystych szpiku pozwoliło na wprowadzanie także do nich prawidłowego genu ADA. Wyniki kilkunastoletnich badań zostały niedawno opublikowane (1). Lekarze i badacze z Mediolanu modyfikują komórki macierzyste krwi takich dzieci chorych na niedobór ADA, u których nie można zastosować przeszczepu szpiku ze względu na brak odpowiedniego dawcy. Efekt terapii można bez przesady uznać za rewelacyjny – spośród poddanych leczeniu 10 dzieci u 9 nastąpiła naprawa układu immunologicznego. Można więc mówić o 90% skuteczności, znacznie wyższej aniżeli obserwowana w przypadku przeszczepów szpiku od niespokrewnionych dawców. Dzieci poddane takiej połączonej terapii genowej i komórkowej żyją już osiem lat po zabiegu i wszystko wskazuje na to, że metoda jest także bezpieczna.

Skuteczność połączonej terapii genowej i komórkowej wykazano także w leczeniu znacznie częstszego niedoboru odporności zwanego X-SCID. Ta choroba występuje tylko u chłopców, którzy nie posiadają prawidłowego genu receptora

cytokin – substancji pobudzających różnicowanie komórek układu odpornościowego. Jeżeli dla takich chłopców nie znajdzie się dawcy szpiku, to są oni również narażeni na śmierć z powodu błahych infekcji i czeka ich perspektywa życia w sterylnych warunkach, w foliowym namiocie. Takim, w jakim spędził 12 lat David Vetter, słynny chłopca z „bańki”, pokazywany wielokrotnie w telewizji w latach 70. XX wieku. W tym niedoborze brakujące białko nie może być tak jak ADA podawane z zewnątrz, musi być produkowane w komórce. Chorzy mają więc mniej możliwości aniżeli pacjenci z niedoborem ADA.

W roku 2000 badacze francuscy opublikowali w „Science” wyniki eksperymentu polegającego na modyfikacji komórek macierzystych pacjenta wektorem wirusowym zawierającym prawidłowy gen brakującego receptora. Wyniki tych wstępnych oraz kontynuowanych następnie badań – zarówno w Paryżu, jak i niezależnie w Londynie – były spektakularne, gdyż u niemal wszystkich spośród poddanych leczeniu dwudziestu chłopców nastąpiło przywrócenie funkcji układu immunologicznego. Kolejny niewątpliwý dowód skuteczności terapii genowej. Niestety, w ciągu kilku lat po terapii u czterech Francuzów i jednego Brytyjczyka rozwinęła się białaczka. Jak wykazały skrupulatne badania, została ona wywołana wbudowaniem się wektora wirusowego w obręb jednego z onkogenów, czyli genów stymulujących niekontrolowane podziały komórek, prowadzące do rozwoju nowotworu. Mimo leczenia jeden z chłopców zmarł, a próby kliniczne zostały wstrzymane.

Przedstawione powyżej problemy medyczne rodzą niewątpliwie pytania etyczne. Czy metoda terapeutyczna, która jest niemal stuprocentowo skuteczna, ale wywołuje tak poważne efekty uboczne u ¼ pacjentów, powinna być stosowana? Z drugiej strony, czy w przypadku tak dużej skuteczności i braku alternatywnej metody lekarze mają prawo odmawiać jej zdesperowanym rodzicom dzieci, dla których nie można znaleźć dawcy szpiku (2)?

Skuteczność terapii genowej komórek macierzystych jest, jak przekonują badania, bardzo wysoka, większa aniżeli przeszczepów szpiku od niespokrewnionych dawców. Ryzyko efektów ubocznych wydaje się być skojarzone jednak nie tylko z modyfikacją genetyczną komórek, ale i z rodzajem wprowadzanego genu – w tym przypadku receptora – gdyż białaczka nie rozwinęła się u żadnego z leczonych dzieci z niedoborem ADA.

Jak widać z reakcji na opisane wydarzenia – zawieszenia prób klinicznych po wystąpieniu białaczek – od terapii genowej oczekuje się, jak się wydaje, znacznie większego marginesu bezpieczeństwa aniżeli przy innych metodach leczenia. Tymczasem po pierwszych przeszczepach szpiku przeżywało 10% pacjentów, ale próby były kontynuowane. Chemioterapia stosowana w leczeniu nowotworów dzieci jest bardzo skuteczna, ale u wielu osób wywołuje po latach konsekwencje, które często są także bardzo dramatyczne. Nikt jednak nie myśli o jej zakazaniu. Czy zatem efekty uboczne, jakie były wynikiem terapii genowej w niedoborze X-SCID, są wystarczającym powodem wstrzymania prób klinicznych?

Wykorzystanie komórek macierzystych do leczenia innych chorób

Zastosowanie autologicznych (własnych) komórek macierzystych nastręcza najmniej problemów medycznych, gdyż nie grozi odrzuceniem przeszczepu, jakim są przecież komórki macierzyste. Dlatego m.in. w ostatnich kilku latach przeprowadzono także kilkanaście dużych prób klinicznych, w których pacjentom po zawale serca podawano własne komórki szpiku. Badania te oparte są na założeniu, że w szpiku kostnym znajdują się komórki prekursorowe mięśnia, mogące regenerować uszkodzone serce. Badania wskazują, że metoda taka jest bezpieczna, czasem osiąga się poprawę, niemniej jednak wyniki nie są spektakularne. Efekt jest zazwyczaj krótkotrwały, często nie obserwuje się istotnych zmian, a mechanizmy odpowiedzialne za przypuszczalne efekty terapeutyczne są słabo poznane.

Nie ulega ponadto wątpliwości, że w większości przypadków podawanie autologicznych komórek szpikowych czy innych komórek macierzystych nie stwarza większych problemów etycznych. Badania takie i wynikające z nich terapie podlegają normalnej procedurze oceny przez komisje etyczne i są powszechnie akceptowane.

Zarodkowe komórki macierzyste

Dorośle komórki macierzyste, wbrew temu, co twierdzą przeciwnicy badań na komórkach zarodkowych, mają jednak ograniczony potencjał rozwojowy. Ze znajdujących się w szpiku tzw. mezenchymalnych komórek macierzystych można przez odpowiednie warunki hodowli uzyskać komórki chrząstki, kości, naskórka czy nabłonka naczyń krwionośnych, a także komórki nerwowe. Niektórzy twierdzą jednak, iż efekt terapeutyczny dorosłych komórek macierzystych jest spowodowany wydzielaniem przez nie substancji wzrostowych, które pobudzają lokalnie komórki znajdujące się w narządach (np. kardiomiocyty w sercu), bądź też jest wynikiem fuzji takich komórek macierzystych z komórkami w narządzie. Być może duże zdolności różnicowania mają bardzo nieliczne komórki, tzw. multipotencjalne, odkryte w szpiku kostnym, jak np. tzw. małe zarodkowe komórki macierzyste (VSELs – ang. *very small embryonic-like stem cells*) opisane przez zespół Mariusza Ratajczaka z University of Louisville. Możliwe, iż komórki takie w przyszłości będą wykorzystywane w medycynie regeneracyjnej – i oby tak się stało. Ponieważ jednak zastosowanie terapeutyczne takich komórek to bardziej problem techniczny niż etyczny, nie będę tego zagadnienia tutaj szerzej rozwijał. Skoncentrujemy się na zarodkowych komórkach macierzystych (ESCs) i związanych z nimi oraz ich zastosowaniem w terapii wątpliwościami.

Źródłem ESCs, izolowanych najczęściej z blastocysty (Ryc. 1), są zarodki powstałe drogą zapłodnienia *in vitro* względnie uzyskane przez tzw. klonowanie terapeutyczne. Zapłodnienie *in vitro* zazwyczaj przeprowadzane jest dla uzy-

skania potomstwa i pozostałe nadliczbowe zarodki mogą być wykorzystywane do celów badawczych, stanowiąc źródło komórek macierzystych. Ten sposób uzyskiwania zarodkowych komórek macierzystych jest najczęstszy. W wielu krajach (w Europie w Belgii, Szwecji i Wielkiej Brytanii) dozwolone jest ponadto tworzenie zarodków *in vitro* z przeznaczeniem do celów badawczych.

Komórki macierzyste z tak otrzymanych zarodków mogą być potencjalnie wykorzystane w terapii. W roku 1997 James Thomson z University of Wisconsin uzyskał po raz pierwszy ludzkie ESCs (3). Wyprowadzone przez niego linie takich komórek oraz kilkanaście innych otrzymanych później w wielu krajach świata jest wykorzystywanych w badaniach (ale nie w Polsce). Doświadczenia nad jedną z takich linii stały się podstawą do opracowania metody leczenia uszkodzenia rdzenia kręgowego. Komórki nerwowe wyprowadzone z takich komórek macierzystych mają, jak wskazują wyniki doświadczeń na zwierzętach, duże zdolności regeneracji uszkodzonego rdzenia. Na podstawie takich badań firma Geron Corporation z Kalifornii wystąpiła do FDA (*Food and Drug Administration*) z wnioskiem o zgodę na przeprowadzenie pierwszych prób klinicznych u pacjentów po ciężkim uszkodzeniu rdzenia. Po kilku latach dyskusji w styczniu tego roku FDA udzieliła pozwolenia na rozpoczęcie badań klinicznych.

Olbrzymi potencjał rozwojowy zarodkowych komórek macierzystych stwarza jednak zagrożenie, którego opanowanie jest kluczowe dla sukcesu terapii (Tabela 1). Z komórek tych w organizmie mogą się bowiem rozwijać nowotwory – potworniaki. Dla ograniczenia tego ryzyka w terapii przewiduje się zatem podawanie nie samych komórek macierzystych, ale uzyskanych z nich komórek określonego rodzaju, jak np. wspomnianych wyżej neuronów czy komórek wysepek trzustki produkujących insulinę w przypadku terapii cukrzycy.

Powszechnie wiadomo, że badania nad ludzkimi ESCs oraz możliwość ich zastosowania wzbudzają gorące debaty. Jednak nawet zgoda na uzyskiwanie i stosowanie zarodkowych komórek macierzystych nie oznacza zniknięcia problemów etycznych. Po pierwsze, tych dotyczących kobiet – dawczyń komórek jajowych. Dawstwo komórek jajowych jest bowiem poważniejszym problemem aniżeli oddawanie plemników (to wzbudza tylko sprzeciw Kościoła katolickiego ze względu na niemoralny jego zdaniem charakter masturbacji). Wiąże się bowiem z terapią hormonalną i wynikającym z niej dyskomfortem dla kobiety oraz dodatkowo inwazyjną procedurą pobierania komórek jajowych. Czy dopuszczalne jest uzyskiwanie komórek jajowych za opłatą, czy też, jeśli już wolno wykorzystywać zarodki nadliczbowe po zapłodnieniu *in vitro*, należy ograniczyć się tylko do takiego źródła ESCs? Prawdopodobne jest jednak, że uzyskiwanie komórek jajowych jedynie do wytwarzania ESCs może pozwolić na otrzymanie lepszych zarodków niż powstałych po zapłodnieniu *in vitro* czynionym z zamiarem reprodukcyjnym, gdyż w tym drugim przypadku te najlepsze po prostu będą wszczepione do macicy. Wykorzystanie nadliczbowych zarodków może się więc odbić na jakości uzyskanych ESCs.

Transfer jądra komórki somatycznej (SCNT) – tzw. klonowanie terapeutyczne

Zarodkowe komórki macierzyste pochodzące z zarodków uzyskanych przez zapłodnienie *in vitro*, nawet jeśli znajdą zastosowanie w terapii, stwarzają inny problem medyczny. Otóż różnić się one będą genetycznie od komórek pacjenta, co grozi odrzuceniem przeszczepu takich komórek i może pociągać za sobą konieczność stosowania środków hamujących działanie układu odpornościowego. Najlepszym rozwiązaniem byłoby zatem posiadanie takich, które byłyby identyczne z biorcą. Możliwość taką stwarza tzw. klonowanie terapeutyczne.

Klonowanie powszechnie kojarzy się z uzyskiwaniem identycznie wyglądających dzieci i jest typowym przykładem horroru, jakim rzekomo grozi stosowanie inżynierii genetycznej. Istotnie, uzyskanie owieczki Dolly, a następnie innych sklonowanych zwierząt – myszy, królików, szczurów, krów, świń, kóz, kotów, psów czy ostatnio wielbłądów – sugeruje, że potencjalnie możliwe jest uzyskanie klonów człowieka. Nie ulega jednak wątpliwości, iż taka metoda reprodukcji, zarówno ze względu na duże ryzyko poważnych uszkodzeń tak uzyskanych potomków, jak i powszechne zastrzeżenia etyczne całego świata medycznego i naukowego nie jest w ogóle brana pod uwagę. Celowo użyłem tutaj określenia „całego”, gdyż nie zamierzam wdawać się w dyskusje nad sensownością i możliwością realizacji działań podejmowanych rzekomo przez niektóre sekty czy żadnego sławy ginekologa Michaela Zavosa.

Możliwość uzyskania zarodkowych komórek macierzystych identycznych genetycznie z biorcą zwiększałaby szansę wykorzystania takich komórek w terapii. Obawy i obiekcje co do tzw. klonowania terapeutycznego nie są już zatem tak powszechne. Właściwie nie powinno się używać w tym przypadku określenia „klonowanie”, lecz poprawnego terminu, jakim jest „transfer jądra komórki somatycznej (do komórki jajowej)” (ang. *somatic cell nuclear cell transfer* – SCNT) (2). Komórki wytworzone na drodze transferu jądra w żadnym wypadku nie są bowiem klonami dawcy przeniesionego jądra komórkowego. Słowo „terapeutyczne” jest także użyte na wyrost, gdyż tak uzyskane komórki zarodkowe długo jeszcze nie będą miały takiego zastosowania.

Zarodki powstałe drogą SCNT, w których np. jądro komórki skóry przenosi się do pozbawionej jądra komórki jajowej (Ryc. 3), są w znacznym stopniu podobne genetycznie do dawcy jądra komórkowego. Musimy jednak pamiętać, że mitochondria w komórce jajowej zawierają odrębny materiał genetyczny, który w tym przypadku będzie taki sam jak DNA mitochondrialne dawczyni komórki jajowej. Dawczynią komórki jajowej może być jednak także matka dawcy jądra komórki somatycznej i wtedy powstałe zarodki, a w konsekwencji otrzymane z nich zarodkowe komórki somatyczne będą identyczne jak przyszły biorca. Sytuacja taka mogłaby się np., zdarzyć wówczas, gdyby matka dziecka

chorego na ciężką chorobę dziedziczną, np., dystrofię mięśniową Duchenn'a, została dawcą komórki jajowej. Upřednia korekta genetyczna mutacji mogłaby pozwolić uzyskać prawidłowe komórki macierzyste, które posłużyłyby następnie do otrzymania np. komórek nerwowych (w przypadku chorób neurologicznych) czy mięśniowych (w dystrofii) (Ryc. 4).

W roku 2004 koreański badacz Woo Suk Hwang poinformował w „Science”, iż uzyskał zarodkowe komórki macierzyste z zarodków powstałych na drodze SCNT. Niewątpliwie, gdyby tak było rzeczywiście, to mielibyśmy do czynienia z olbrzymim osiągnięciem. Niestety, pod koniec 2005 roku okazało się, że wyniki w publikacji w znacznej części były sfałszowane, a komórki macierzyste przedstawiane przez Hwanga jako uzyskane drogą klonowania terapeutycznego okazały się pochodzić z zarodków uzyskanych przez zapłodnienie *in vitro*. Odkrycie tego oszustwa rzuciło duży cień na badania nad SCNT, a przez przeciwników było wykorzystywane wielokrotnie także jako argument przeciwko ludzkim zarodkowym komórkom macierzystym w ogóle (patrz niżej „Szczególny obszar nieuczciwości”).

W roku 2004 pozwolenie na klonowanie terapeutyczne otrzymali badacze brytyjscy. Brak jednak dotychczas informacji o powodzeniu tych zabiegów. Jeżeli niemożliwe okaże się uzyskiwanie ESCs poprzez SCNT, to sposobem na rozwiązanie problemu niezgodności genetycznej komórek macierzystych i biorcy będzie stworzenie odpowiednio dużego banku ESCs, wśród których zawsze znajdą się takie, które będą pasować do biorcy.

Innym źródłem komórek macierzystych są tkanki płodów (Ryc. 1; Tabela 1). Np. ludzkie płody powyżej 8 tygodnia po zapłodnieniu są uważane za szczególnie dobre źródło neuronalnych komórek macierzystych, ponieważ w tym czasie tworzy się bardzo dużo neuronów w rozwijającym się mózgu. Komórki takie, jak można przekonać się z informacji na stronach internetowych, wykorzystuje się w tzw. klinikach medycyny regeneracyjnej (patrz niżej). Kilka lat temu w Szwecji przeprowadzona została także, zgodna ze standardami medycznymi, pierwsza próba zastosowania komórek płodowych u pacjentów z chorobą Parkinsona.

Chimery ludzko-zwierzęce

Ograniczona dostępność ludzkich komórek jajowych, problemy związane z uzyskiwaniem takich komórek do celów badawczych są powodem poszukiwania alternatywnych sposobów. Jedną z możliwości jest wykorzystanie zwierzęcych komórek jajowych, do których po usunięciu jądra komórkowego wprowadza się jądro ludzkiej komórki somatycznej, np. naskórka. Jest to więc odmiana klonowania terapeutycznego. Powstałe w ten sposób komórki zawierają w olbrzymiej większości ludzki materiał genetyczny, za wyjątkiem DNA mitochondrialnego zwierzęcej komórki jajowej. Podnoszą się głosy sprzeciwiające się tworzeniu takich chimer, określanych często katastroficznie jako kozo-człowiek czy krowo-czło-

wiek. Zarzuty takie są całkowicie bezpodstawne, gdyż nikt rozsądny ze środowiska naukowego nie bierze pod uwagę nie tylko klonowania reprodukcyjnego ludzkich zarodków, a co dopiero chimer. Oczywiście nie trzeba zaznaczać, że prawdopodobieństwo, iż w rękach jakiegoś szarlatana mogłoby do czegoś takiego dojść, jest praktycznie zerowe ze względu na barierę gatunkową. Udało się uzyskać chimery kozy i owcy, ale nikt nie bierze poważanie pod uwagę możliwości stworzenia chimery ludzko-szympansej i jest powszechna zgoda, że takie próby nie powinny być nigdy przeprowadzone.

Na uzyskiwanie chimer drogą somatycznego transferu jądrowego uzyskały zgodę dwa zespoły brytyjskie. Pozwolenie zostało wydane tylko na jeden rok i jak dotychczas nie ma informacji, czy udało się uzyskać w ten sposób ESCs i jakie właściwości posiadają powstałe w taki sposób komórki macierzyste.

Jednak pewne odmiany chimer ludzko-zwierzęcych istnieją i są stosowane w badaniach. To np. myszy, u których ich własny układ obronny został zastąpiony komórkami ludzkimi. Powszechnie wykorzystuje się myszy z upośledzeniem odporności do badania w nich wzrostu np. ludzkich nowotworów. Z kolei pewne tkanki zwierzęce są wszczepiane ludziom, jak np. świńskie zastawki serca. Nie budzą one jednak znacznych wątpliwości etycznych, chociaż ze względu na brak obecnie skutecznych metod zapobiegających odrzucaniu zwierzęcych narządów obowiązuje zaproponowane przez badaczy moratorium na wykonywanie przeszczepów międzygatunkowych (ksenoprzeszczepów). Wydaje się jednak, że takie wykorzystanie chimer, w tym potencjalne zastosowanie zwierzęcych komórek macierzystych do odbudowy niektórych ludzkich narządów, nie wywoła większych sprzeciwów, także w przyszłości.

Rzecz jednak ma się inaczej, gdy w grę wchodzi mózg czy narządy rozrodcze. Takimi budzącymi wątpliwości badaniami może być wprowadzanie do zwierzęcych zarodków (np. mysiej blastocysty) ludzkich ESC, np. w celu śledzenia rozwoju układu nerwowego. Badania takie budzą obawy. Czy mysz zawierająca w mózgu ludzkie komórki nerwowe może zyskać w jakimś stopniu świadomość swego istnienia i posiadać niedostępne jej normalną drogą wyższe czynności nerwowe? Jest oczywiście wręcz nieprawdopodobne, by tak się stało – mysz z ludzkimi neuronami w mózgu będzie nadal myszą. Pewnie dlatego przepisy w krajach, w których takie badania są uregulowane ustawowo, nie zakazują całkowicie umieszczania ludzkich komórek macierzystych w mózgu zwierząt, ale ostrzegają o konieczności zachowania ostrożności, im bliższy genetycznie jest nam gatunek zwierzęcia. Dlatego wprowadzanie ludzkich ESC do blastocysty małp naczelnych jest zakazane.

Można przypuszczać, że uzyskanie dobrego modelu zwierzęcego posiadającego w mózgu ludzkie komórki nerwowe mogłoby się okazać bardzo pomocne w zrozumieniu mechanizmów i opracowaniu metod leczenia np. choroby Parkinsona czy Alzheimerera. Czy takie działania są jednak dopuszczalne? Czy bardziej etyczne jest przeprowadzanie badań na małpach naczelnych i czy uzyskanie myszy

z „ludzkim” mózgiem będzie wystarczające, by opracować metody leczenia, które będą mogły być następnie testowane u ludzi?

Problemy etyczne

Badania nad ESC niewątpliwie obarczone są dużym poziomem trudności etycznych, choć nie jest on zapewne taki sam w przypadku każdego z koniecznych lub planowanych wyborów. Badania nad zwierzęcymi komórkami macierzystymi, czy to zarodkowymi czy dorosłymi, nie wywołują sprzeciwów (Tabela 2). Klonowanie zwierząt także nie wzbudza kontrowersji, chociaż u niektórych rodzi obawy możliwość używania takich zwierząt do produkcji żywności. Amerykańska agencja weterynaryjna uznała jednak ostatnio, że nic nie wskazuje, by np. mięso pochodzące od sklonowanych krów było w jakikolwiek sposób mniej bezpieczne niż mięso zwierząt rozmnażanych naturalnie. To samo dotyczy produktów zwierzęcych, np. mleka. W Europie sprawa nie jest już jednak tak jednoznaczna. Jedni będą przypisywać to lepszemu przestrzeganiu przez Europejczyków i Komisję Europejską zasady przezorności, inni powszechnej w Europie antygenetycznej fobii i nieuzasadnionym lękom, wyrażającym się np. sprzeciwem wobec organizmów genetycznie zmodyfikowanych.

Naukowcy i bioetycy zgadzający się na badania nad ludzkimi zarodkami oraz uzyskiwanie ESC są zgodni, że problemy z tym związane mają wysoki poziom złożoności. Przyjmuje się powszechnie, że zarodki ludzkie wymagają większej uwagi i mają większe prawa, niezależnie od tego, czy uznaje się bądź nie istnienie osoby od momentu połączenia gamet. Do kategorii problemów o podwyższonym poziomie uwagi etycznej należy zatem uzyskiwanie i hodowla ludzkich ESC z nadliczbowych zarodków. Podobnie jest z wykorzystywaniem płodowych komórek macierzystych pobieranych po aborcji. Do tego samego poziomu skomplikowania wyborów etycznych należą uzyskiwanie zarodków wyłącznie do celów badawczych, w tym także tworzenie zarodków drogą SCNT, oraz taka modyfikacja uzyskanych w ten sposób zarodków, by nie miały one szansy rozwijać się poza stadium blastocysty. Innym zagadnieniem niewątpliwie obciążonym wysokim poziomem zastrzeżeń etycznych jest tworzenie chimer ludzko-zwierzęcych i wreszcie wykorzystanie ESC do celów terapeutycznych.

Przeciwnicy badań na ludzkich ESC powołują się na wyjątkowy ich zdaniem status ludzkiego zarodka, który uważany jest za pełnoprawną istotę ludzką. W takim rozumieniu wszelkie manipulacje prowadzone na zarodku i powodujące jego unicestwienie (a do tego prowadzi otrzymanie komórek macierzystych) są traktowane jak zabójstwo człowieka. Stanowisko takie, w szczególności reprezentowane przez Kościół katolicki usiłuje się narzucać innym i rozszerzać w sposób ograniczający stosowanie uznanych metod genetycznej diagnostyki preimplantacyjnej (PGD – ang. *preimplantation genetic diagnostics*). PGD jest szczególnie

kluczowa dla rodziców posiadających dziecko obciążone ciężką, nieuleczalną chorobą dziedziczną. W metodzie tej z kilkukomórkowego zarodka pobiera się jeden blastomer, z którego izoluje się materiał genetyczny, poddawany następnie analizie pod kątem występowania mutacji powodującej chorobę. Wykrycie takiej mutacji eliminuje zarodek z dalszej procedury wszczepienia do macicy, a rodzicom pozwala na wybranie zarodków, które nie odziedziczyły zmiany wywołującej ciężką chorobę. Pamiętać należy, że PGD wykonywana jest w taki sposób, iż zarodek, z którego pobrano jedną komórkę, jest zdolny do dalszego rozwoju. Metoda taka jest stosowana do wykrywania mutacji powodujących np. ciężkie schorzenia neurologiczne, mukowiscydozę czy dystrofię mięśniową Duchenna.

Przeciwników takich badań nie przekonuje fakt, iż zarodek, z którego pobrano komórkę do PGD, rozwija się normalnie. Tym bardziej nie przekonują ich zatem też takie badania, które pokazały, iż z pojedynczego blastomeru można uzyskać linie komórek macierzystych bez zabijania zarodka. Nie przekonują ich też takie doświadczenia, w których dla zapewnienia, iż uzyskane drogą klonowania terapeutycznego zarodki nie zostaną użyte do celów reprodukcyjnych, wprowadza się do nich mutację blokującą rozwój zarodka poza stadium blastocysty. Nie zadowala ich także próba uzyskania zarodków partenogenetycznych, powstałych z pobudzonej do rozwoju bez zapłodnienia komórki jajowej. W tym miejscu pojawia się jednak pytanie: czy próby opracowania takich metod powinny być podejmowane tylko dlatego, by zaspokoić żądania wyznawców jakiegokolwiek religii (4)? Badania naukowe nie powinny być sterowane wierzeniami.

Spory na gruncie światopoglądowym wydają się być trudne czy wręcz niemożliwe do rozstrzygnięcia. Argumenty racjonalne nie przekonają osób, uważających że do zarodka w momencie jego powstania wstępuje dusza i dlatego wymaga on tak szczególnego traktowania jak każdy człowiek. Przytaczane przez naukowców pytania, na które odpowiedź jest oczywista, np. czy z pożaru kliniki leczenia niepłodności należałoby ratować najpierw kilkadziesiąt zamrożonych w azocie zarodków czy też zagrożone nim dziecko, nie stanowią powodu do zmiany stanowiska. Wiemy powszechnie, jaka argumentacja jest przytaczana w kontekście dyskusji nad zapłodnieniem *in vitro*. Sprzeciw istnieje także wobec badania zarodkowych komórek macierzystych uzyskanych poprzez SCNT, chociaż jest to sposób niewystępujący naturalnie w przyrodzie i trudno uznać powstałe w wyniki SCNT zarodki za takie same jak uzyskane w zapłodnieniu *in vitro*. Mają one oczywiście teoretyczny potencjał rozwoju w człowieka, ale czy to oznacza, że są tym samym, co zarodki uzyskane przez połączenie komórki jajowej i plemnika?

Tymczasem możliwość wykorzystania ESCs do celów terapeutycznych mogłaby prowadzić do ograniczenia diagnostyki prenatalnej wykonywanej w celu wyboru nie zarodka zdrowego (jak to się czyni dla uniknięcia choroby dziedzicznej), ale zarodka posiadającego określone cechy, np. w celu wykorzystania szpiku lub krwi pępowinowej takiego „zaprojektowanego” dziecka do leczenia chorej siostry

czy brata. Taka stosowana obecnie (jeszcze nie w Polsce) procedura doboru zarodków jest krytykowana jako rodzaj tworzenia dzieci na „zamówienie” i ich instrumentalne wykorzystywanie.

Możliwość różnicowania ESC do potrzebnych w terapii komórek hematopoetycznych czy w przyszłości zapewne komórek innych narządów zniosłaby potrzebę takiej selekcji zarodków. Zastosowanie SCNT do uzyskania zarodkowych komórek macierzystych stworzyłoby ponadto możliwość podania komórek całkowicie (lub niemal całkowicie) dopasowanych genetycznie. Spośród stosowanych dotychczas możliwości – decyzji o poczęciu i urodzeniu dziecka bez doboru najbardziej odpowiadającego genetycznie zarodka bądź selekcji zarodków najbardziej dopasowanych genetycznie do oczekującego na przeszczep brata czy siostry – to opcja z ESCs wydaje się najbardziej optymalna. Nie mamy bowiem w niej do czynienia z dzieckiem powstałym niejako na „zamówienie”, a jedynie z komórkami.

Do problemów bioetycznych o największej wadze, wzbudzających przekonanie o niedopuszczalności takich postępowań, należy hodowanie zarodków ludzkich powyżej 14 dnia po zapłodnieniu, transfer jądrowy w celach reprodukcyjnych oraz aborcja płodów „na zamówienie” jako dawców narządów, uzyskiwanie hybryd ludzko-ludzkich, czyli wprowadzanie ESCs do innej blastocysty i doprowadzenie do urodzenia dziecka, jak i wreszcie produkcja chimer ludzko-zwierzęcych (Tabela 2). Trzeba w tym miejscu zaznaczyć, że graniczny dla manipulacji na zarodkach ludzkich 14 dzień po zapłodnieniu nie został ustalony arbitralnie. Do tego bowiem dnia możliwe jest jeszcze podzielenie się zarodka i powstanie bliźniąt. Trudno więc mówić o odrębnej istocie ludzkiej, jeśli możliwe jest pojawienie się dwóch. Ponadto, co zapewne ważniejsze, dopiero w 14 dniu zaczynają się pojawiać pierwsze zaczątki układu nerwowego i dopiero po przekroczeniu tej bariery w zarodku może się pojawić zdolność odczuwania bólu.

Różne próby rozwiązania problemu ludzkich zarodkowych komórek macierzystych

Przeciwnicy badań nad ESCs uważają, że pobieranie komórek prowadzące do zniszczenia zarodka jest zabójstwem. W tej sytuacji pojawiły się pewne próby rozwiązania problemu, choć z góry trzeba zastrzec, że są one nie do zaakceptowania przez przeciwników jakichkolwiek badań na zarodkach czy wręcz zapłodnienia *in vitro*. Procedura jest analogiczna do diagnostyki prenatalnej, gdy z kilkukomórkowego zarodka pobiera się jedną komórkę dla wykonania analizy genetycznej, co nie powoduje uszkodzenia zarodka. Podobnie próbuje się uzyskiwać zarodkowe komórki macierzyste. Badacze amerykańscy pokazali, że możliwe jest otrzymanie ESCs z pojedynczej komórki pobranej z zarodka. Ponieważ jednak każda z takich komórek może się rozwinąć w człowieka, więc i taki sposób jest przez radykalnych przeciwników traktowany jako zabójstwo.

Uzyskiwanie zarodków drogą somatycznego transferu jądrowego (SCNT) do pozbawionej jądra komórki jajowej nie występuje w naturze, można by więc uznać go za sposób pozwalający na uniknięcie zastrzeżeń związanych z pracą na zarodkach powstałych w wyniku zapłodnienia *in vitro*. Jak jednak wiadomo klonowanie terapeutyczne budzi sprzeciw i powstałe tą drogą zarodki są także traktowane jako istoty ludzkie, mające potencjał rozwoju w pełny organizm. Nie znajdzie więc zrozumienia propozycja badaczy amerykańskich, którzy opracowali metodę polegającą na wprowadzaniu do uzyskanych drogą klonowania terapeutycznego zarodków takiej modyfikacji genetycznej, która uniemożliwia rozwój zarodka powyżej stadium blastocysty. Strategia taka, zwana ANT (ang. *altered nuclear transfer*), oparta jest na SCNT i polega na wyciszeniu w jądrze komórki somatycznej, przed jego wprowadzaniem do komórki jajowej, jednego z kluczowych genów niezbędnych dla rozwoju. Takie zarodki nigdy nie mogłyby się więc stać ludźmi. Nie jest to jednak żaden argument dla przeciwników badań na zarodkach.

Co ciekawe, takie podejście spotyka się także ze sprzeciwem naukowców, zwolenników badań ESCs. Ich zdaniem takie manipulacje są nadużyciem inżynierii genetycznej, czynionym tylko po to, by zadowolić Kościół (4).

Terapia spersonalizowana – komórki „szyte na miarę”, czyli indukowalne pluripotencjalne komórki macierzyste

Od połowy roku 2006 problemy związane z zarodkowymi komórkami macierzystymi wydawać by się mogły rozwiązać. Zespołowi badacy japońskich pod kierunkiem Shinya Yamanaka udało się odróżnicować komórki somatyczne do komórek macierzystych (5). Stało się to możliwe przez wprowadzenie do takich komórek kilku genów. Genów zidentyfikowanych podczas badań nad ESCs jako kluczowych dla ich funkcjonowania. Przez wykorzystanie wektorów retrowirusowych jako nośników genów Oct-3/4, Klf4, c-Myc i Sox2 pewna niewielka liczba tak zmodyfikowanych komórek somatycznych, np. fibroblastów skóry, nabiera właściwości typowych dla ESC. Jedna na kilka tysięcy komórek zaczyna się dzielić i tworzy struktury nazywane ciałkami embrionalnymi. Powstają w ten sposób tzw. indukowalne pluripotencjalne komórki macierzyste (iPS – ang. *induced pluripotent stem cells*). W roku 2007 procedurę tę zespoły Yamanaki (6) i Thomsona (7) z powodzeniem zastosowały do komórek ludzkich.

Badania nad iPS stanowią jedną z najbardziej dynamicznych dziedzin biologii regeneracyjnej w ostatnich latach. Postęp, jaki zanotowano, jest olbrzymi. W ciągu kilkudziesięciu miesięcy udało się opracować metody uzyskiwania iPS najpierw bez wektorów integrujących do genomu komórki (dzięki czemu zmniejsza się potencjalnie ryzyko mutagenezy, jakie opisano w przypadku terapii niedoborów odporności), następnie ograniczono liczbę genów niezbędnych do odróżnicowa-

nia, w końcu udaje się już uzyskiwać iPS bez wprowadzania genów, stosując same białka czy też drobnocząsteczkowe substancje aktywujące ekspresję wymaganych genów (8, 9).

Uzyskanie iPS wydaje się znosić problemy etyczne związane ze stosowaniem ES. Nie używa się do badań embrionów, znikają zastrzeżenia co do uzyskiwania komórek jajowych. Jeżeli w terapii będziemy mogli wykorzystywać iPS wyprodukowane z własnych komórek pacjenta, to nie trzeba się będzie obawiać przeniesienia chorób z dawcy na biorcę (np. chorób infekcyjnych czy zależnych od mitochondrialnego DNA). Znika problem zgodności genetycznej komórek macierzystych i pacjenta, chociaż oczywiście wcześniej należy zbadać, czy zwiększona ekspresja genów niezbędnych do odróżnicowania komórki nie spowoduje uaktywnienia genów mogących wpływać na oddziaływanie iPS i komórek układu odpornościowego pacjenta.

Duży potencjał tych komórek jest jednak, podobnie jak w przypadku ESCs, okupiony ryzykiem rozwoju nowotworu. Jeżeli porównamy ESCs pochodzące z zarodków powstałych w wyniku zapłodnienia *in vitro* z iPS utworzonymi z komórek własnych pacjenta, to ryzyko rozwoju potworniaków może być po zastosowaniu iPS nawet większe niż po użyciu ESCs, gdyż w przypadku iPS nie ma bariery immunologicznej, która pomaga zwalczyć powstające nowotwory. Ponadto jeden z genów stosowanych do odróżnicowania to c-myc, onkogen, co dodatkowo zwiększa zagrożenie nowotworem. Długotrwała hodowla iPS (podobnie jak i ESCs) zwiększa ryzyko gromadzenia się mutacji. Pamiętać należy także, że iPS otrzymywane z dorosłych komórek, mimo że odróżnicowane, mogą mieć mniejszy potencjał aniżeli ESC, gdyż w takich komórkach z wiekiem dawcy mogły się nagromadzić mutacje czy też zmiany epigenetyczne (zmiany materiału dziedzicznego niemające charakteru zamiany sekwencji DNA). Reprogramowanie komórek somatycznych w iPS może być zatem niepełne.

Wydaje się, że stosowanie iPS nie wzbudza problemów etycznych większych aniżeli związane są z normalnymi procedurami medycznymi. Żałować jednak należy, że badania nad iPS przeciwstawia się ESCs. Odróżnicowanie komórek somatycznych to fantastyczny temat naukowy i stwarzający nadzieję na opracowanie w przyszłości skutecznych narzędzi terapeutycznych. Otrzymywanie iPS chociaż wciąż jeszcze niezbyt wydajne, jest technicznie znacznie prostsze niż SCNT, a tak samo pozwala na dopasowanie genetyczne. Niedobrze jednak by się stało, gdyby badania na ESCs miały być ograniczane na korzyść iPS z powodu obiekcji religijnych. Ponadto, przyjmując konsekwentnie punkt widzenia zakładający, iż wykorzystanie ESCs jest zabijaniem człowieka, należałoby przyjąć, że podobnie jest w przypadku iPS. Jeżeli bowiem tym, co decyduje o człowieczeństwie, jest ten wyjątkowy genom zygoty/zarodkowej komórki macierzystej, znajdujący się w takim stanie, iż może dać początek całemu organizmowi, to tylko względy techniczne ograniczają obecnie takie same możliwości iPS. Opra-

cowanie niebudzących wątpliwości procedur uzyskiwania „wszystko mogących” komórek macierzystych ze zwykłych komórek skóry czy krwi wymaga jeszcze lat badań. Badań, w których nie obejdzie się bez sięgania po zarodki. Lepiej więc, by badania nad komórkami macierzystymi nie były realizowane pod dyktando jakiegokolwiek religii.

Istnieją jednak istotne problemy etyczne dotyczące iPS. Otóż dawcy komórek wykorzystanych jako źródło iPS powinni być uprzedzeni o przyszłym możliwym zastosowaniu iPS. Uważa się, że zgoda dawców komórek odróżnicowanych następnie do iPS w celach terapeutycznych ma taki charakter, jak zgoda na potencjalne wykorzystanie narządów w przypadku śmierci. Ponieważ jednak iPS mogą być wykorzystane do różnych badań, np. tworzenia chimer ludzko-zwierzęcych, dlatego konieczne będzie uprzedzenie dawcy o także takiej możliwości oraz uzyskanie jego zgody. Komórki iPS mogą być także wykorzystane do tworzenia gamet, które posłużą do badań nad mechanizmami rozmnażania, zatem takie przyszłe eksperymenty również powinny być przedstawione dawcy do zaakceptowania. Możliwość różnicowania się iPS do praktycznie wszystkich komórek organizmu stwarza także prawdopodobieństwo wykorzystania ich do klonowania reprodukcyjnego, które według powszechnej opinii powinno być zabronione.

Szczególny obszar nieuczciwości?

Oskarżanie badaczy zajmujących się ludzkimi zarodkowymi komórkami macierzystymi o złe zamiary jest dość powszechne. W tej dziedzinie te oskarżenia płyną jednak czasem także ze środowiska naukowego i są tym bardziej niesprawiedliwe. 15 marca 2006 roku na stronie Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego ukazało się oświadczenie rady ds. etyki w nauce w sprawie badań na ludzkich zarodkowych komórkach macierzystych. Oświadczenie to pojawiło się w kilka miesięcy po odkryciu oszustwa Hwanga. Kategoryczne stwierdzenia, jakie zostały w nim zawarte, sugerowały, że badania nad ludzkimi ESC stanowią obszar szczególnej nieuczciwości. Arbitralność takiego stwierdzenia nie została jednak niczym poparta, bo czyż możemy podobnie za dowód szczególnej nieuczciwości fizyków ciała stałego uznać słynne parę lat temu oszustwa Jana Hendrika Schona z Laboratorium Bella? Ten młody człowiek wyprodukował w ciągu kilkunastu miesięcy kilkadziesiąt prac, publikując je w tak renomowanych czasopismach jak „Nature” czy „Science”. Wszystkie były sfabrykowane. Po tym wydarzeniu nikt nie zamierza jednak przypisywać fizykom niższego zmysłu moralnego, tym bardziej więc żałować należy, że tak niesprawiedliwe zarzuty wobec badaczy komórek macierzystych wychodzą ze środowiska naukowego.

W świetle takich dywagacji nie dziwią zatem, choć budzą zdecydowany sprzeciw, opinie zawarte w projektowanej w Polsce ustawie bioetycznej. Mówi się w niej o zagrożeniach, jakie rzekomo ma stwarzać dla człowieka biologia i medy-

cyna, stwierdzając, że „postęp nauki prowadzi do coraz większej dehumanizacji medycyny i badań naukowych, zagrażając autonomii pacjenta i czyniąc z niego przedmiot, a nie podmiot rozmaitych oddziaływań”. Czyżby autorzy tych słów pragnęli powrócić do XIX-wiecznych szpitali, w których aż kipiało od humanizmu? Czy autonomia pacjenta, tak rzekomo zagrożona przez biotechnologię, była większa 50 czy 20 lat temu? Na jakiej podstawie wysuwa się tak głośne oskarżenia?

„Komórkowa” turystyka

Nie ulega wątpliwości, że możliwe zastosowania komórek macierzystych budzą wiele emocji i wiele nadziei. Badania w tym zakresie prowadzą tysiące naukowców, powstało wiele firm biotechnologicznych zajmujących się komercjalizacją wyników badań. Atmosfera tworząca się wokół komórek macierzystych zdaje się stwarzać wrażenie, że nowe terapie są na wyciągnięcie ręki, że już niedługo możliwe będzie leczenie praktycznie każdej choroby.

Wykorzystuje to wiele osób. Oprócz rzetelnych firm biotechnologicznych jak grzyby po deszczu powstają tzw. kliniki medycyny regeneracyjnej oferujące leczenie za pomocą komórek macierzystych niemal wszystkich chorób. Szczególnie wiele na Dalekim Wschodzie, w Chinach czy Tajlandii, ale nie tylko. W naszym regionie takie instytucje istnieją na Ukrainie i w Rosji, a w sieci możemy znaleźć oferty z Holandii, Szwajcarii czy Stanów Zjednoczonych. Wachlarz schorzeń, których terapia jest oferowana, jest bardzo szeroki – począwszy od choroby Parkinsona czy Alzheimerza, uszkodzenia rdzenia kręgowego, stwardnienia zanikowego bocznego, przez zawał serca, a skończywszy na autyzmie i zaburzeniach erekcji. Koszty takich terapii są olbrzymie – sięgają 10–20 tys. euro lub dolarów za jedną serię „komórek macierzystych” podawanych pacjentom. Właściciele tych instytucji oferują zdesperowanym chorym i rodzinom „cudowne” leki, powołując się na rzekomą skuteczność podawanych komórek, a jako dowód podają relacje pacjentów. Nie jest to wiarygodny sposób. Np. klinika w Kijowie, popularna w Polsce (m.in. wśród cierpiących na dystrofię mięśniową Duchenna) oferująca, jak twierdzi, skuteczne leczenie kilkudziesięciu chorób, opiera swoją ofertę na komórkach macierzystych pobranych z płodów po aborcji. Wśród informacji na stronie internetowej nie znajdziemy jednak informacji na temat pochodzenia tych komórek, badań wykluczających zakażenie wirusami ani sposobów, które miałyby ograniczać odrzucenie komórek przez organizm pacjenta. Niedawno w polskiej prasie ukazały się doniesienia o alpinistach chorych na ataksję mózdkowo-rdzeniową, który zbiera wśród przyjaciół i znajomych pieniądze, by uzyskać 100 tys. dolarów, umożliwiających przeprowadzenie w Chinach kuracji komórkami macierzystymi, gwarantującej rzekomo niemal pewne wyleczenie. Trudno dziwić się desperacji chorych, którzy gotowi są sięgać po niesprawdzone meto-

dy. Niemniej, na badaczach zajmujących się komórkami macierzystymi ciąży trudny obowiązek informowania o rzeczywistych celach takich ofert i braku ich skuteczności. Należy raz jeszcze podkreślić, iż skuteczne zastosowanie komórek macierzystych dotyczy do tej pory „jedynie” leczenia chorób krwi, niedoborów immunologicznych oraz stymulacji gojenia ran (Tabela 1).

Oprócz tworzenia złudnej nadziei działalność „klinik” komórek macierzystych może zaszkodzić pacjentom, a pośrednio przyszłemu zastosowaniu rzeczywiście skutecznych komórek. Niedawno badacze izraelscy poinformowali o wykryciu nowotworu mózgu (glejaka) u chłopca cierpiącego na ataksję mózdkowo-rdzeniową, któremu kilka lat wcześniej podano komórki macierzyste w jednej z klinik rosyjskich. Dokładana analiza genetyczna komórek nowotworu wykazała, iż różni się od DNA komórek chłopca i ponadto wywodzi się prawdopodobnie z komórek dwóch różnych dawców, co wskazuje, że chłopcu podano mieszaninę komórek od co najmniej dwóch płodów. Z jednej strony sytuacja ta pokazuje, że w podawanym pacjentom materiale mogły rzeczywiście znajdować się zarodkowe komórki macierzyste, o czym świadczy rozwój nowotworu. Z drugiej strony nie dowodzi, że zastosowane podejście było skuteczne w usunięciu choroby.

Trzeba jednoznacznie stwierdzić, iż dotychczas brak przekonujących dowodów na skuteczność terapii komórkami pochodzenia płodowego. Kilka lat temu w Szwecji przeprowadzono opisaną w piśmiennictwie naukowym próbę podania neuronów pobranych z płodów po aborcji do mózgu pacjentów cierpiących na chorobę Parkinsona. Badania pokazały, iż komórki zagnieździły się w mózgu i podjęły produkcję dopaminy, neurotransmitera wytwarzanego w niewystarczających ilościach przez chorych. Ze względu na ograniczony zakres próby trudno jednak mówić o skuteczności terapeutycznej.

Etyka metodologii terapii komórkami macierzystymi

Jak widać, oczekiwania czy wręcz naciski ze strony pacjentów oraz ich rodzin, pragnących szybkiego zastosowania terapii, o której potędze krążą legendy, rodzą ryzyko dróg na skróty. Pojawia się tutaj problem etyczny dotyczący sposobu informowania przez lekarzy o możliwościach ESC oraz wynikach przeprowadzonych prób klinicznych. Nie ulega wątpliwości, że w olbrzymiej większości chorób, dla których rozważa się czy – jak widać z opisu powyżej – wręcz oferuje terapię, określenie rzeczywistej skuteczności wymaga przeprowadzenia odpowiednio dużych liczbowo, tzw. randomizowanych badań klinicznych, z wykorzystaniem podwójnej ślepej próby. W badaniach takich część pacjentów otrzymuje zamiast komórek macierzystych placebo, czyli substancję obojętną, a pacjenci oraz personel medyczny obserwujący bezpośrednio pacjentów i notujący zmiany po terapii nie wiedzą, jakie leczenie zastosowano u konkretnej osoby. Po zebraniu wyników odtajnia się dane i wtedy dopiero, poprzez żmudną analizę statystyczną, możliwe

jest określenie, czy terapia przyniosła efekty. Oczywiście jest, że ślepej próby nie stosuje się w pierwszej fazie badań klinicznych, której zadaniem jest określenie bezpieczeństwa metody. Olbrzymia większość z dotychczas przeprowadzonych prób zastosowania komórek macierzystych w leczeniu chorób neurodegeneracyjnych miała właśnie charakter badań I fazy. Trudno więc na ich podstawie wnioskować o rzeczywistej efektywności i nie ulega wątpliwości, że badania takie nie mogą być podstawą do rozgłaszania wszem i wobec skuteczności terapii.

Nieco inna sytuacja jest w przypadku omówionej wcześniej terapii genowej komórek macierzystych w złożonych niedoborach odporności. W myśl metodologii badań klinicznych próby te miały charakter I lub co najwyżej II fazy. Mimo iż zarówno pacjenci, ich rodzice, jak i lekarze byli świadomi, że wszyscy chorzy otrzymywali taką samą terapię, to jednak w tym przypadku spektakularne efekty nie sposób przypisać placebo. Gdyby terapia genowa u tych dzieci nie zadziałała, nie byłyby one w stanie prowadzić normalnego życia, gdyż ich układ immunologiczny nie poradziłby sobie z infekcjami. Wykluczyć więc można przypadkowe zmiany i badania te dowodzą skuteczności terapii.

Przydatność poprawności politycznej

Problemem w dyskusjach nad etycznymi aspektami badań i zastosowania komórek macierzystych jest włączanie w nią pojęcia „Boga”. Argument taki, mający zdaniem jego zwolenników wyjątkową rangę, jest wytaczany przeciwko tym, którzy ośmielają bawić się w „pana boga”. Argument ten zakłada, że ktoś taki jak Bóg istnieje – i problemem nie jest status tej istoty, ale fakt sprzeciwiania się jej działaniom czy wręcz wkraczania na zastrzeżony dla tej istoty teren. Twierdzę, że argument taki nie powinien się w ogóle pojawiać w dyskusjach bioetycznych, że przydatna byłaby tutaj swego rodzaju poprawność polityczna, zakładająca, iż nie włączamy w dyskusję tego, do istnienia czego znaczna liczba ludzi ma poważne wątpliwości. Możemy dyskutować nad statusem embrionu, bo zarodek to coś rzeczywistego, materialnego, i mamy prawo spodziewać się różnych opinii, natomiast nie powinno mieć miejsca rozważanie na temat roli Boga czy „nieśmiertelnej duszy” tkwiącej w zygocie. Przy tych pojęciach nie można znaleźć wspólnego języka. Poza tym argumentacja teologiczna zakłada, że Bóg nigdy się nie myli i nawet jak coś mu się niespecjalnie uda, to nie zmienia to jego dobrej natury. Natomiast człowiek nie ma prawa do takich eksperymentów, nie wolno mu więc skazywać zarodków na śmierć. Czy jednak fakt, iż w organizmie każdej kobiety znaczna część zapłodnionych komórek jajowych obumiera i nigdy nie rozwija się w człowieka, nie jest wystarczającym dowodem, by nie traktować poważnie zakazu badań nad zarodkami w imię obrony istot ludzkich?

Czy to, co „nieetyczne” teraz, może stać się etyczne w przyszłości?

Wyobraźmy sobie sytuację, która ma szansę stać się realna za pewien, być może jeszcze trudno określony, czas. Otóż znajdujemy się w takim momencie rozwoju medycyny, w którym z zarodkowych komórek macierzystych można przez odpowiednie ukierunkowanie ich rozwoju uzyskać narządy, które będą w stanie zastąpić chore organy, można otrzymać odpowiednią liczbę komórek układu nerwowego, które mogą powstrzymać degenerację tej struktury. Jesteśmy w momencie, kiedy jest to możliwe. Mamy przed sobą konkretnego człowieka, cierpiącego na nieuleczalną chorobę, i mamy zarodek, np. pozostały po zapłodnieniu *in vitro*, zamrożony, który zapewne nigdy nie będzie wszczepiony do macicy, tak więc mimo zawartego w nim „potencjału” nigdy nie stanie się człowiekiem. Z takiego zarodka możemy pobrać komórki macierzyste i użyć je do leczenia tegoż chorego. Czy cofniemy się przed takim działaniem w imię ochrony pełnoprawnej istoty ludzkiej, jaką, zdaniem niektórych, jest ten zarodek? Zarodek, który nigdy nie rozwinie się w człowieka, który jeśli nie zostanie zniszczony, „na wieki” zniknie w oparach ciekłego azotu banku komórek. Czy pobranie komórek macierzystych związane ze zniszczeniem zarodka i użycie ich do wyleczenia pacjenta byłoby taką samą zbrodnią jak zabicie człowieka (dziecka czy dorosłego) w celu pobrania serca czy nerki do przeszczepu ratującego życie innemu człowiekowi? Czy zwolennicy tak rygorystycznej moralności skłonni są uznawać lekarza pobierającego komórki zarodkowe za takiego samego mordercę, jakim byłby niewątpliwie chirurg wycinający narządy ze zdrowego człowieka i powodujący jego śmierć dla uratowania innego?

Być może taki scenariusz stanie się mało prawdopodobny, a to z powodu możliwości uzyskiwania komórek macierzystych iPS z komórek pacjenta. Czy otrzymanie iPS rozwiązało jednak wszystkie bądź przynajmniej większość problemów etycznych związanych z zastosowaniem zarodkowych komórek macierzystych? Czy przeciwnicy badań na ESCs powinni się cieszyć ze znalezionej drogi wyjścia, zwolennicy zaś powinni jednak ustąpić dla świętego spokoju i skoncentrować się na takich badaniach, które nie budzą oporów moralnych?

Uzyskanie iPS to niewątpliwie olbrzymie osiągnięcie. Należy jednak raz jeszcze podkreślić, że nie byłoby możliwe bez badań na zarodkowych komórkach macierzystych. Swego rodzaju hipokryzją jest zatem przeciwstawianie badań iPS i ESCs. Ponadto, czy rzeczywiście nasza wiedza na temat mechanizmów rozwoju ESCs jest już tak bogata, że nie musimy sięgać po te komórki dla opracowania nowych, lepszych metod uzyskiwania tych, które problemów etycznych nie budzą?

W kilka lat po skandalu wywołanym oszustwami Hwanga, 29 kwietnia 2009 roku, Korea pozwoliła badaczom ponownie na uzyskanie klonów ludzkich zarodków. Klony posłużą do produkcji linii zarodkowych komórek macierzystych. Nauczone doświadczeniem agencje regulujące badania w Korei stawiają ostre warunki pragnącym rozpocząć takie badania. W szczególności podkreśla się

konieczność unikania stwarzania złudnych nadziei na szybkie kliniczne wykorzystanie wyników takich eksperymentów.

Jeżeli doświadczenia te zostaną rozpoczęte, to należy życzyć im powodzenia. Informacje, jakie będzie można uzyskać na temat mechanizmów odróżnicowania jąder komórek somatycznych w cytoplazmie komórki jajowej, mogą się okazać niezwykle przydatne dla ulepszenia procedury uzyskiwania i zwiększenia skuteczności metod tworzenia iPS. Przyczynić się mogą do opracowania skutecznych i bezpiecznych metod terapeutycznych z wykorzystaniem ESCs.

Ludzkie zarodki, podobnie jak ludzkie zwłoki, mają wartość moralną uzasadniającą specjalne traktowanie. Dlatego zwolennicy badań na ESCs nie twierdzą, iż ludzkie zarodki można traktować tak jak zarodki innych zwierząt. Uznanie takiej wyjątkowości ludzkich zarodków nie oznacza jednak, że zyskują one taki sam status moralny jak żywe dziecko. Zarodki są formą ludzkiego życia, ale nie są ludźmi. Będą nimi natomiast z pewnością dzieci, które w przyszłości zostaną uratowane przez zarodkowe komórki macierzyste, czy starcy, których schyłek życia będzie szczęśliwszy i mniej bolesny dzięki przeszczepowi neuronalnych komórek macierzystych. Zarodkowe komórki macierzyste powinniśmy bowiem uważać za przeszczep, który może ratować ludzkie życie. Czyż nie jest zatem godne najwyższej pochwały oddanie części siebie dla ratowania innych? Rodzice – dawcy komórek jajowych i plemników, które służą do uzyskania zarodków i ESC – oddają w ten sposób siebie dla innych. Wiemy, że terapeutyczne wykorzystanie ESC to dopiero przyszłość, ale trzeba ją tworzyć już teraz.

Podsumowanie

Sprzeciw wobec nowoczesnych, acz dla niektórych kontrowersyjnych procedur nie bierze pod uwagę sytuacji konkretnego człowieka. Rzeczywistego człowieka, a nie „poczętej istoty ludzkiej”. Nie uwzględnia się uczuć matki dziecka obciążonego ciężką chorobą genetyczną, której odmawia się prawa do zapłodnienia *in vitro* i diagnostyki preimplantacyjnej, nie oferując nic w zamian (bo nie ma czego), a jedynie zachętę do „cierpienia”. Nie sposób dyskutować z takimi stwierdzeniami. W państwie neutralnym światopoglądowo, a takim mam nadzieję jest Polska, każdy powinien mieć prawo dokonywania wyborów etycznych w zakresie metod medycznych zgodnie z własnymi przekonaniem. Ustawy muszą to prawo zapewnić.

Badania nad ludzkimi zarodkowymi komórkami macierzystymi budziły i będą wywoływać kontrowersje. Nie możemy oczekiwać, iż będzie inaczej, możemy tylko apelować, by dyskusja miała charakter merytoryczny i odwoływała się do faktów, a nie wierzeń. Pozostaje mieć nadzieję, że tak jak dotychczas postęp medycyny będzie się odbywać niezależnie od ideologicznych prób ograniczania wolności badań naukowych i przede wszystkim praw pacjenta. Oby z tego postępu mogli skorzystać także obywatele tych krajów, w których ideologia i niezważanie na osiągnięcia nauki i medycyny stanowią podstawę regulacji prawnych.

Niezależnie jednak od uzasadnionego entuzjazmu i oczekiwań związanych z terapeutycznymi możliwościami komórek macierzystych badacze i lekarze powinni zachować szczególną rozwagę. Stwarzanie złudnej nadziei, że terapie z wykorzystaniem komórek macierzystych, zwłaszcza ESCs, są na wyciągnięcie ręki, jest nieodpowiedzialne i może przynieść niepowetowane straty w przypadku, gdy próby leczenia rozpoczną się bez wystarczającego przygotowania i wyników badań przedklinicznych. Oczekiwanie, że badania prowadzone w laboratoriach już jutro znajdą zastosowanie w szpitalach, jest nieuzasadnione i niebezpieczne.

Nadzieje związane z ESCs nie mogą być zdominowane przez iluzje, które mogłyby zaszkodzić zarówno nauce, jak i – co gorsza – pacjentom. W przypadku wielu chorób terapie oparte na ESCs będą jedną z najbardziej złożonych i trudnych do zdefiniowania metod leczenia. Z tego powodu opracowanie skutecznych i bezpiecznych sposobów wymaga dłuższego czasu, liczonego nie w miesiącach, ale latach, być może kilkunastu lub nawet kilkadziesiątu. Pośpiech jest złym doradcą.

Bibliografia

1. Aiuti A., Cattaneo F., Galimberti S., Benninghoff U., Cassani B., Callegaro L., Scaramuzza S., Andolfi G., Mirolo M., Brigida I., Tabucchi A., Carlucci F., Eibl M., Aker M., Slavin S., Al-Mousa H., Al Ghonaium A., Ferster A., Duppenhaler A., Notarangelo L., Wintergerst U., Buckley R.H., Bregni M., Marktel S., Valsecchi M.G., Rossi P., Ciceri F., Miniero R., Bordignon C., Roncarolo M.G., „Gene therapy for immunodeficiency due to adenosine deaminase deficiency”. *„N Engl J Med.”* 2009 Jan. 29; 360 (5): 447–58.
2. Dulak J., „Czy powinniśmy się obawiać terapii genowej”. *„Diametros”* nr 19 (2009); 40–47.
3. Scott C.T., *Czas komórek macierzystych. Krótki wstęp do nadchodzącej medycznej rewolucji*. Centrum Kształcenia Akademickiego CKA, Gliwice 2008.
4. Steinbock B., „Moral status, moral value, and human embryos.: implications for stem cell research”. W: *The Oxford Handbook of Bioethics*. Steinbock B. (ed.), Oxford University Press, Oxford 2007, s. 417–440.
5. Takahashi K., Yamanaka S., „Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors”. *„Cell.”* 2006 Aug. 25; 126 (4): 663–76. Epub 2006 Aug. 10.
6. Takahashi K., Tanabe K., Ohnuki M., Narita M., Ichisaka T., Tomoda K., Yamanaka S., „Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors”. *„Cell.”* 2007 Nov. 30; 131 (5): 861–72.

7. Yu J., Vodyanik M.A., Smuga-Otto K., Antosiewicz-Bourget J., Frane J.L., Tian S., Nie J., Jonsdottir G.A., Ruotti V., Stewart R., Slukvin I.I., Thomson J.A., „Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells”. „Science” 2007 Dec. 21; 318 (5858): 1917–20. Epub 2007 Nov. 20.
8. Yamanaka S., „A fresh look at iPS cells”. „Cell.” 2009 Apr. 3; 137 (1): 13–7.
9. Kim D., Kim C.H., Moon J.I., Chung Y.G., Chang M.Y., Han B.S., Ko S., Yang E., Cha K.Y., Lanza R., Kim K.S., „Generation of human induced pluripotent stem cells by direct delivery of reprogramming proteins”. „Cell Stem Cell.” 2009 Jun. 5; 4 (6): 472–6. Epub 2009 May 28.

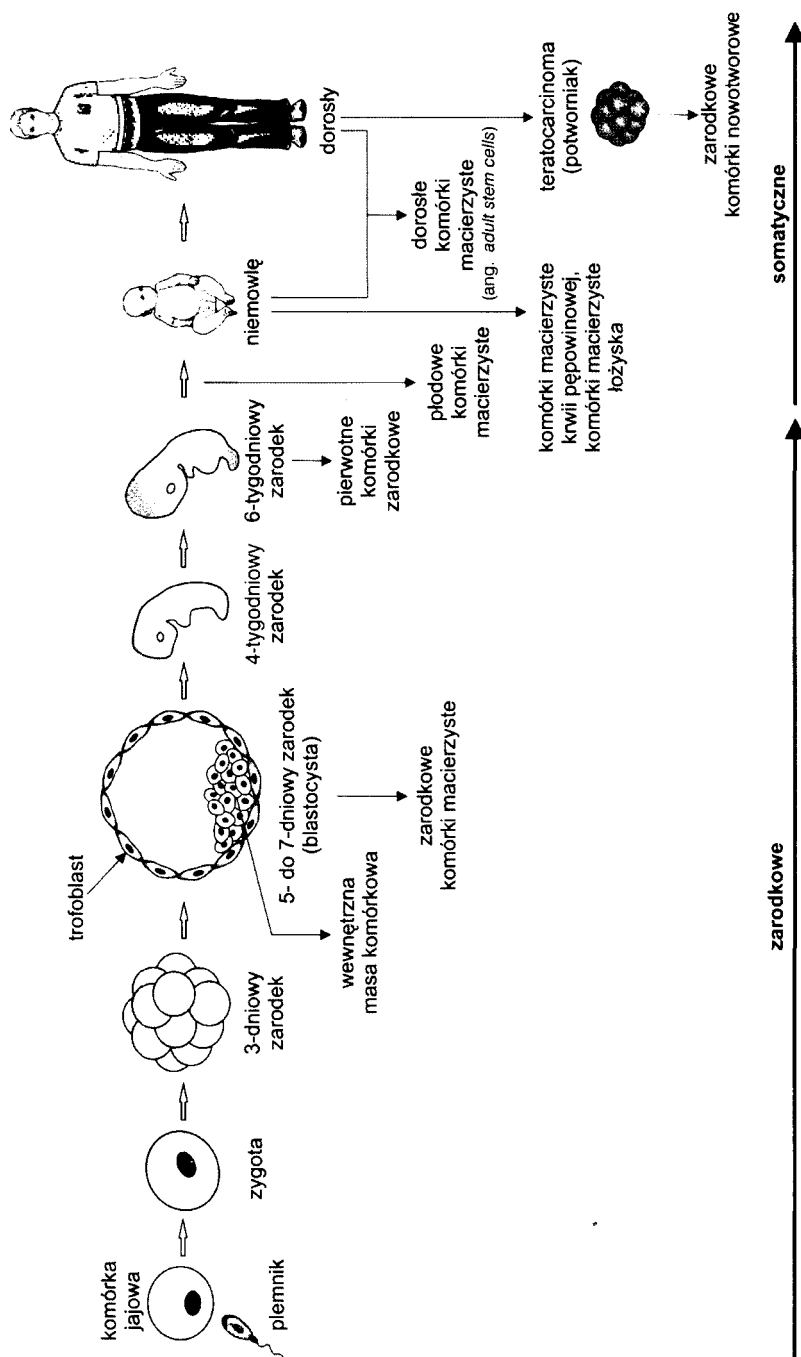
Tabela 1: Rodzaje komórek macierzystych oraz ich właściwości

Rodzaj komórki	Występowanie	Cechy	Zastosowanie terapeutyczne
Zarodkowe komórki macierzyste (ESCs – ang. <i>embryonic stem cells</i>)	– ESCs z pojedynczych blastomerów kilkukomórkowego zarodka – Komórki węzła zarodkowego (epiblastu) w blastocyscie	– komórki totipotencjalne – każda komórka może dać początek organizmowi – Komórki multipotencjalne – mogą różnicować się do każdego typu komórek	– dotychczas niebadane w próbach klinicznych – potencjalnie olbrzymie możliwości terapeutyczne – ryzyko rozwoju nowotworów (potworniaków)
Płodowe komórki macierzyste (EG – ang. <i>embryonic germ cells</i>)	5–9-tygodniowe płody	– komórki o ograniczonym potencjale; uważa się, że mogą być prekursorami co najwyżej kilku rodzajów komórek	– pojedyncze kontrolowane badania kliniczne – neurony uzyskane z komórek macierzystych płodów poddanych aborcji podawano pacjentom z chorobą Parkinsona – prawdopodobnie powszechnie stosowane w tzw. klinikach medycyny regeneracyjnej – brak wiarygodnych danych klinicznych – ryzyko rozwoju nowotworów
Komórki macierzyste krwi pępowinowej	– krew pępowinowa	– komórki macierzyste krwi – możliwe, że także komórki progenitorowe komórek innych organów	– leczenie chorób krwi; – brak ryzyka rozwoju potworniaków
Dorośle komórki macierzyste	– szpik kostny	– komórki macierzyste krwi: duży potencjał różnicowania się do różnych typów komórek krwi (niektórzy uważają, że także do innych komórek)	– leczenie chorób krwi: nowotworów i niedoborów odporności

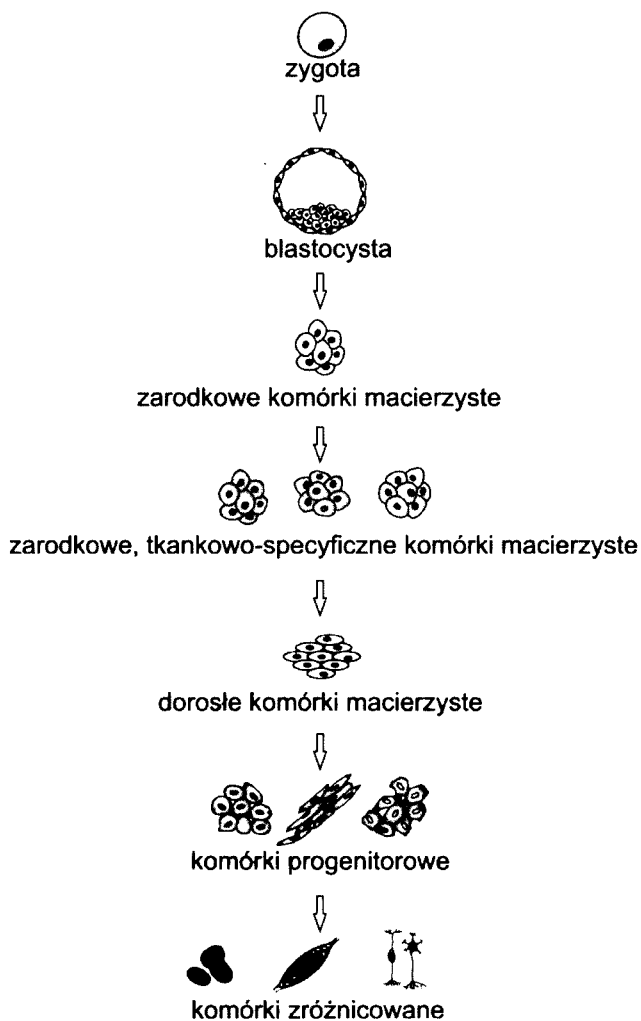
Rodzaj komórki	Występowanie	Cechy	Zastosowanie terapeutyczne
Dorosłe komórki macierzyste cd.	– szpik kostny cd. – skóra – inne narządy: jelito, mózg, serce, tkanka tłuszczowa	– komórki multipotencjalne: bardzo rzadkie populacje (np. VSELs – <i>very small embryonic like stem cells</i>) – potencjalnie możliwość różnicowania do każdego rodzaju komórek – komórki progenitorowe: śródbłonna naczyń krwionośnych, mięśnia sercowego, układu nerwowego – komórki macierzyste naskórka (unipotencjalne/progenitorowe – dają początek tylko jednemu rodzajowi komórek) – komórki progenitorowe: dają początek tylko jednemu rodzajowi komórek	– brak prób klinicznych; ryzyko rozwoju potworów może być ograniczone, minimalne – próby kliniczne u pacjentów po zawale – pewna poprawa; niejasny mechanizm działania – wykorzystanie w leczeniu oparzeń, niegojących się owrzodzeń – brak dobrze udokumentowanych wyników badań klinicznych
Indukowalne pluri-potencjalne komórki macierzyste (iPS – ang. <i>induced pluripotent stem cells</i>)	– uzyskiwanie poprzez reprogramowanie (odróżnicowanie) komórek somatycznych, np. fibroblastów, komórek krwi, komórek naskórka	– komórki totipotencjalne – mogą się z nich rozwijać komórki wszystkich rodzajów, mogą tworzyć chimery (po wprowadzeniu do blastocysty myszy)	– brak prób klinicznych; badania na myszach wykazały dużą skuteczność – wyleczenie z anemii sierpowatej i choroby Parkinsona; badania na zwierzętach pokazują duże ryzyko rozwoju potworów; potencjalnie możliwe wykorzystanie do leczenia rozmaitych chorób

Tabela 2: Poziom skomplikowania problemów etycznych związanych z badaniami nad komórkami macierzystymi

Niski poziom	Umiarkowany	Wysoki
<i>Pochodzenie komórek</i> – Zwierzęce ESCs – Komórki macierzyste od żyjących dawców (z krwi obwodowej, krwi pępowinowej, szpiku, tkanki tłuszczowej) – Komórki macierzyste od dawców nieżyjących (w tym także mózgu osób zmarłych) <i>Wykorzystanie komórek</i> – Badania <i>in vitro</i> nad ludzkimi komórkami dorosłymi – Wprowadzanie zwierzęcych ESCs do blastocysty tego samego zwierzęcia (metoda uzyskiwania zwierząt transgenicznych) – Klonowanie reprodukcyjne zwierząt	<i>Pochodzenie komórek</i> – Komórki macierzyste od płodów po aborcji – Uzyskiwanie ESCs z nadliczbowych zarodków otrzymanych przez zapłodnienie <i>in vitro</i> – Tworzenie zarodków wyłącznie do celów badawczych, w tym klonowanie terapeutyczne – Dawstwo komórek jajowych do celów badawczych <i>Zastosowanie komórek macierzystych</i> – Wprowadzanie ludzkich komórek macierzystych do organów zwierząt (np. ludzkich neuronalnych komórek macierzystych do mózgu płodów myszy) – Wprowadzanie zwierzęcych komórek macierzystych do ludzi (ksenoprzeszczy) – Wykorzystanie ludzkich ESCs do celów terapeutycznych	<i>Wykorzystanie komórek macierzystych</i> – Hodowla ludzkich zarodków powyżej 14 dnia od zapłodnienia – Wprowadzanie ludzkich ESCs do zwierząt poza okres rozwoju embrionalnego jako komórek linii płciowej (które potencjalnie mogą utworzyć ludzkie komórki rozrodcze w organizmie zwierzęcia) – Klonowanie w celu uzyskania ludzkich płodów jako dawców organów – Klonowanie reprodukcyjne – Wprowadzanie ludzkich ESCs do blastocyst ludzkich – tworzenie chimer ludzko-ludzkich – Wprowadzanie zwierzęcych ESCs do ludzkich blastocyst lub ludzkich ESCs do zwierzęcych blastocyst: tworzenie hybryd ludzko-zwierzęcych

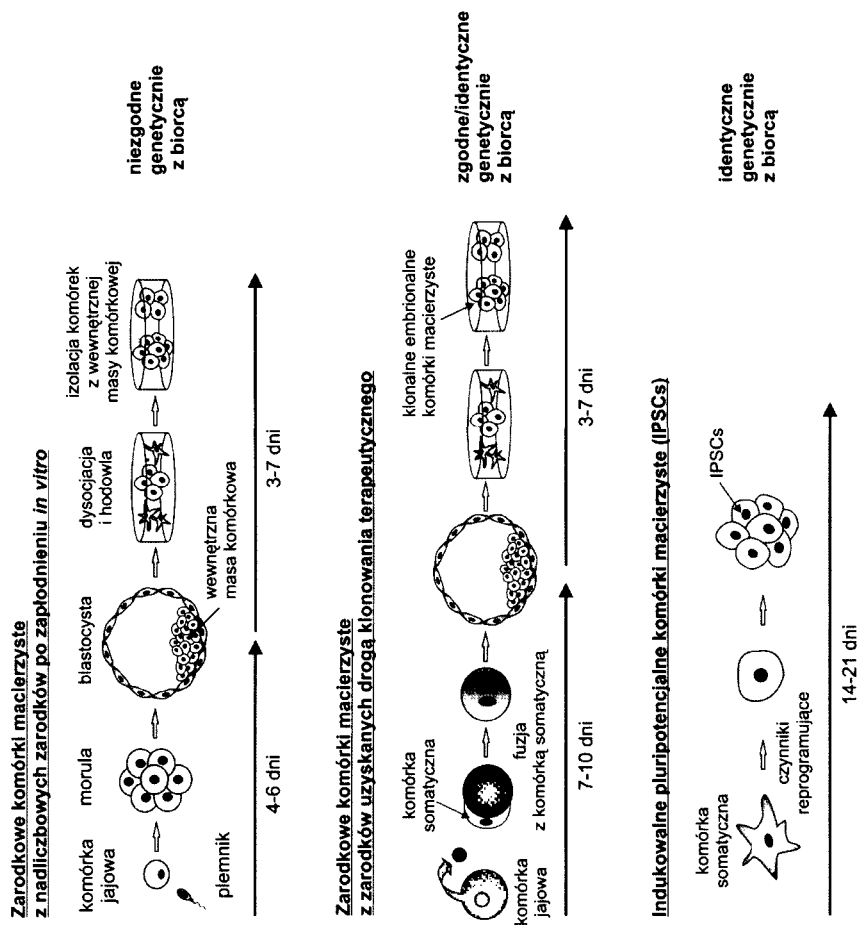


Ryc. 1. Rodzaje komórek macierzystych. Autor Krzysztof Szade

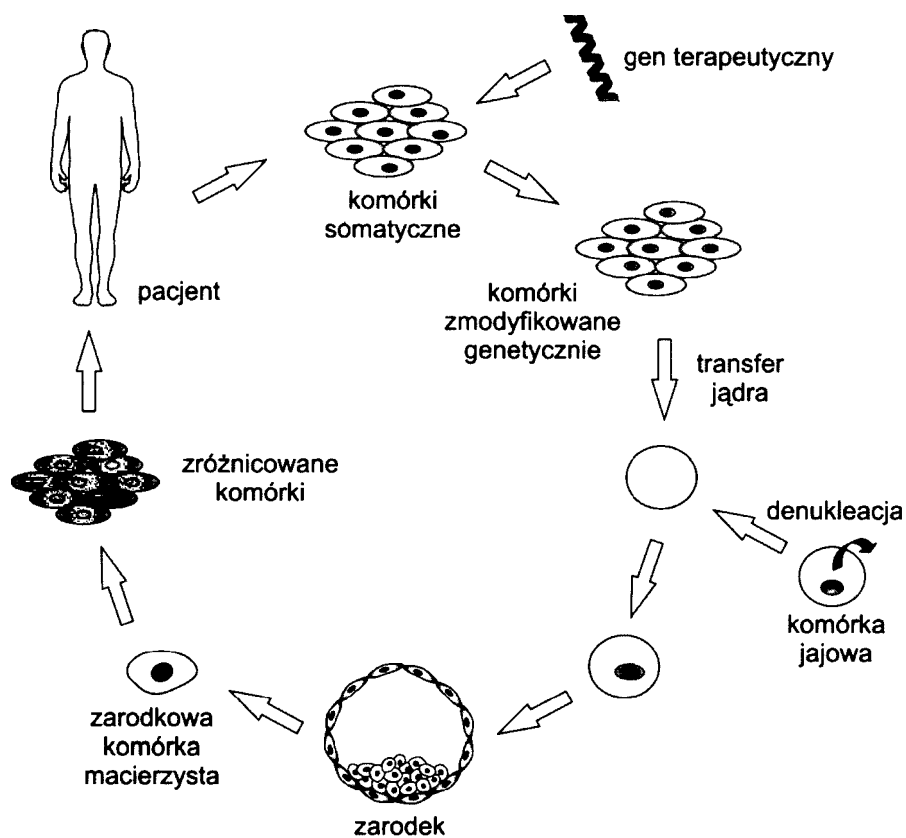


Ryc. 2. Zdolność odróżnicowania (tworzenia różnych typów komórek) jest największa w przypadku ESCs, a najmniejsza dla dorosłych komórek macierzystych.

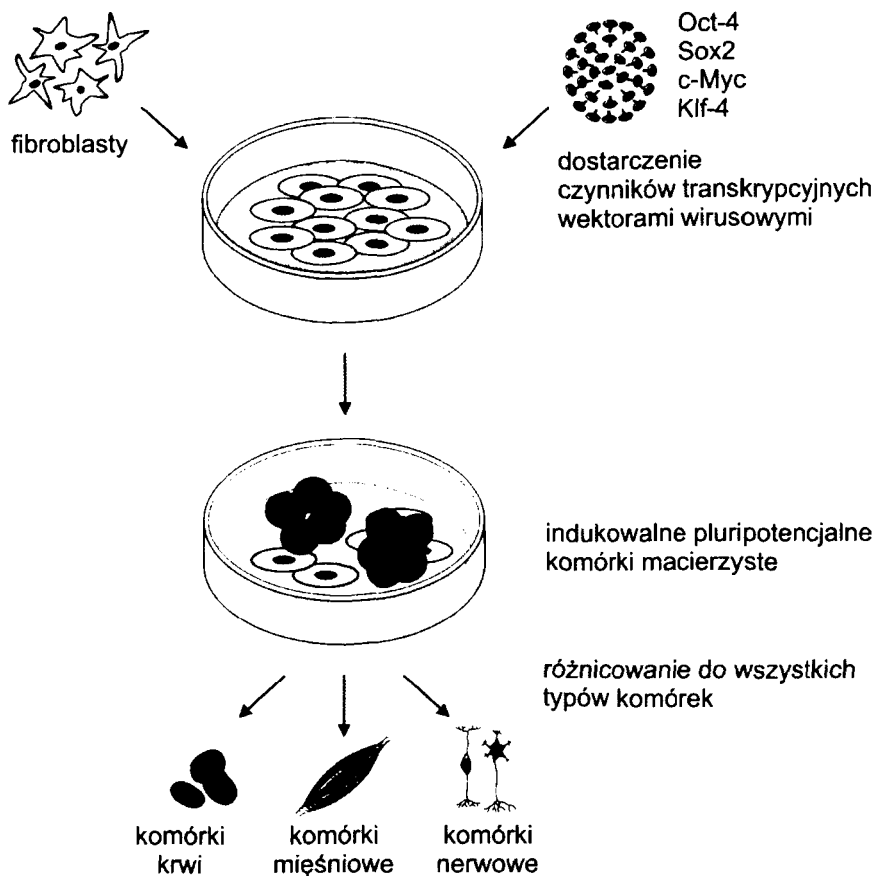
Autor Krzysztof Szade



Ryc. 3. Sposoby uzyskiwania zarodkowych komórek macierzystych oraz komórek iPS. Autor Krzysztof Szade



Ryc. 4. Przykład zastosowania transferu jądra komórki somatycznej (SCNT) do uzyskania komórek macierzystych dla leczenia ciężkiej choroby dziedzicznej.
Autor Krzysztof Szade



Ryc. 5. Otrzymywanie indukowalnych pluripotencjalnych komórek macierzystych.
Autor Krzysztof Szade

Therapies Based on Stem Cells – Options, Expectations, Limits

Keywords: *adult stem cells, embryonic stem cells, medical application, methods of acquisition, unnecessary restrictions*

Stem cells have been used in therapy for more than 30 years. Their practical application has started with bone marrow transplants in leukaemia and other blood diseases. Skin stem cells have also been used for treatment of burns and unhealing wounds. But in a common parlance stem cells are associated with embryonic stem cells and elicit much interest and strong emotions. Undoubtedly, embryonic stem cells possess the highest differentiation capabilities and can give rise to every cell type, being therefore potentially the best source for therapy. Their use must be subjected to ethical reservations, however, and in numerous countries, including Poland, their application not only in therapy but also in research is exceedingly restricted or even forbidden. In the past few years great interest was aroused by studies demonstrating the possibility of reprogramming somatic cells, eg. skin fibroblasts, to the primitive stage equivalent to the condition of embryonic stem cells. Therapeutic potential of such induced pluripotent stem cells appears to be as high as of the embryonic cells. In this paper ways of obtaining embryonic and adult stem cells are described together with their properties and modes of application. The ethical aspects connected with some usage of stem cells are also discussed and the possibilities and limitations of more effective and safer therapeutic strategies are presented.