

# Komórki macierzyste... przyjaciel czy wróg?

\*Paweł Kowalczyk<sup>1</sup>, Katarzyna Hulka<sup>2</sup>, Dorota Dziuban<sup>3</sup>, Maciej Filocha<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Interdyscyplinarne Centrum Modelowania Matematycznego i Komputerowego Uniwersytetu Warszawskiego  
Dyrektor Placówki: prof. dr hab. Marek Niezgódka

<sup>2</sup>Wydział Biologii Uniwersytetu Warszawskiego  
Dziekan Wydziału: prof. dr hab. Joanna Pijanowska

<sup>3</sup>Zakład Biologii Molekularnej, Instytut Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk  
Dyrektor Placówki: prof. dr hab. Piotr Zielenkiewicz

## STEM CELLS... FRIEND OR ENEMY?

The development of modern technologies in the fields of genetics, biology and medicine can learn new unexplored mechanisms of human diseases. The ideal model for this type of study are stem cells. Thanks to them, it becomes possible to treat diseases such as various types of leukemia, brain, extensive burns, or the culturing of organs for transplantation. Stem cells are present in the human body throughout his life. The first distinguishing feature stem cells from the other is their ability to differentiate into different cell types, either during embryonic development (embryonic stem cells), whether a particular tissue – tissue stem cells, occurring mainly in those tissues in which there is a need to constantly produce new cells, such as bone marrow, intestine, epidermis, present also in peripheral blood and cord blood, and adult tissues of the human body, including tissue nerve, blood, retina of the eye. Stem cells have the ability to never-ending the number of divisions. From these beginnings arise all tissues in the body. They May also to differentiate into other cell types, serving as renewable source of cells for transplantation and therapy cell. Another very important feature of is asymmetric division. During normal cell mitosis nonnative produced two daughter cells both are identical to each other and with stem cell. So they are replicas of genetic and physical distribution is called a symmetrical.

Key words: stem cells, cancer disease, leukemia

## KOMÓRKI MACIERZYTE

Komórki macierzyste występują w organizmie człowieka przez całe jego życie. Pierwszą cechą wyróżniającą komórki macierzyste spośród innych jest ich zdolność do różnicowania w różne typy komórek, czy to podczas rozwoju zarodkowego (komórki macierzyste embrionalne), czy określonej tkanki – komórki macierzyste tkanek, występujące przede wszystkim w tych tkankach, w których istnieje konieczność stałego wytwarzania nowych komórek, jak np. w szpiku, jelitach, naskórku. Obecne są również w krwi obwodowej i krwi pępowinowej oraz w tkankach dorosłego organizmu człowieka, m.in. tkance nerwowej, krwi, siatkówce oka.

Komórki macierzyste posiadają zdolność do niekończącej się liczby podziałów. Z nich powstają zaczątki wszystkich tkanek w ludzkim organizmie. Mogą także różnicować się do innych typów komórek, służąc jako odnawialne źródło komórek do transplantacji i terapii komórkowych (1). Spektrum różnicowania zawęża się wraz z powstawaniem kolejnych pokoleń komórkowych, wyróżnia się zatem komórki: totipotentne, pluripotentne, ultipotentne i unipotentne. Kolejną bardzo ważną cechą jest asymetryczny podział. Podczas zwykłej mitozy komórek niemacierzystych powstające dwie komórki potomne są identyczne zarówno względem siebie, jak i względem komórki macierzystej. Są więc replikami genetycznymi i fizycznymi, podział taki nazywany jest symetrycznym.

### Charakterystyka komórek macierzystych

Totipotencjalność jest zdolnością pojedynczej komórki do zróżnicowania się w każdy typ komórkowy

organizmu. Z definicji komórką totipotencjalną jest zygota. U ssaków totipotencjalnością charakteryzują się komórki macierzyste i komórki zarodkowe wężła zarodkowego blastocysty tworzących łożysko (1). U roślin własność totipotencji mają komórki merystematyczne, choć potencjalnie każda komórka roślinna posiadająca kompletny materiał genetyczny może ulec odróżnicowaniu w procesie regeneracji do kallusa i osiągnąć stan toti- lub pluripotencji (1) (wyjątkiem są silnie wyspecjalizowane komórki, które w trakcie różnicowania utraciły część bądź całość materiału genetycznego, np. komórki przyszparkowe).

Pluripotencjalność jest zdolnością pojedynczej komórki do zróżnicowania się w dowolny typ komórek somatycznych poza komórkami trofoblastu, które w późniejszych stadiach rozwoju tworzą łożysko. Z pluripotencjalnych komórek macierzystych pochodzących z najwcześniejszego stadium zarodka – 5-dniowej blastocysty, biorą początek komórki wszystkich tkanek i narządów (2, 3). Zaledwie 30-35 tych komórek, z których składa się węzeł zarodkowy blastocysty „gromadzi” instrukcje dla 100 bilionów (10<sup>14</sup>) komórek tworzących ludzki organizm. Najnowsze badania wykazały, że pluripotencjalne są również dojrzałe komórki macierzyste szpiku. Przykładem pluripotencjalnych komórek są komórki wątroby hepatocyty (podstawowe komórki mięszu wątrobowego), wyhodowane z komórek macierzystych iPS przez badaczy z Japonii (2, 3). Komórki te nie były jeszcze zorganizowane tak, jak naturalne hepatocyty, ale posiadały już funkcjonującą sieć naczyń krwionośnych i zadziałały, kiedy wszczepiono je

myszom chorym na anemię sierpowatą. W przyszłości prawdopodobnie będziemy w stanie wyhodować cały organ z odpowiednio „przeprogramowanych” komórek pacjenta. Dawcy organów nie będą już potrzebni, a każdy nowy lek będzie można przetestować *in vitro* na zwierzętach albo na sztucznie stworzonej tkance. Stąd też organy hodowane *in vitro* z komórek iPS mogą stać się przyszłością medycyny (2, 3).

Multipotencjalność to zdolność komórek niezróżnicowanych do różnicowania się w różne typy komórek, ale wyłącznie ściśle określonej tkanki (np. komórki szpiku kostnego mogą różnicować się w komórki krwi). Ich linie potomne występują w tkankach organizmów młodocianych i dojrzałych, uczestnicząc w procesach wzrostu i regeneracji (3).

Unipotencjalność komórek prekursorowych to zdolność różnicowania się jednego rodzaju komórek w ściśle określony inny rodzaj komórek (3). Istnieje szansa osiągnięcia celów terapeutycznych przy wykorzystaniu komórek macierzystych z tkanek, w celu dalszego rozwijania badań w tym kierunku. Podobne cele można osiągnąć, wykorzystując komórki obecne w krwi pępowinowej, a także w tkankach dorosłego organizmu człowieka (m.in. w szpiku, jelitach, naskórku, tkance nerwowej, krwi, siatkówce oka).

Komórki o nowych cechach, będące pośrednimi komórkami przejściowymi pomiędzy macierzystymi a w pełni zróżnicowanymi, nazywa się progenitorowymi (ang. *progenitory cells*). Mają właściwości multipotentne, po aktywnych podziałach mitotycznych ich liczba jest wystarczająca do zastąpienia komórek starych lub uszkodzonych w tkance. Komórki progenitorowe ludzkie, w odróżnieniu od mysich, dzielą się tylko określoną liczbę razy (4).

Komórki macierzyste pochodzące z krwi pępowinowej mają większą dynamikę proliferacyjną w porównaniu z komórkami macierzystymi pozyskiwanymi od człowieka dorosłego ze szpiku lub krwi obwodowej (4). Pobranie krwi pępowinowej jest bezbolesne dla dziecka i dla jego matki. Krew zdeponowana w Banku Komórek Macierzystych jest dostępna w każdej chwili, kiedy tylko jest potrzebna. Komórki krwi pępowinowej z reguły nie zawierają komórek nowotworowych, które powstają w późniejszym okresie życia pod wpływem środowiska zewnętrznego (4). Komórki te charakteryzują się obniżoną aktywnością immunologiczną, dzięki czemu ich przeszczepienie powoduje mniej powikłań u biorcy. Mogą one być wykorzystane przy przeszczepie autologicznym, gdzie dawcą komórek macierzystych jest sam chory, a także przy przeszczepie allogenicznym, gdzie dawcą może być członek rodziny. Aktualnie wskazania do stosowania przeszczepienia komórek macierzystych są w leczeniu około 70 chorób. W zależności od choroby, a czasem jej stanu zaawansowania, wykonuje się przeszczepienie autologiczne lub allogeniczne (4). W przypadku przeszczepu allogenicznego mniejsze jest ryzyko odrzucenia. Teoretycznie brak jest odrzucenia przeszczepu w przypadku przeszczepów autologicznych, kiedy dawcą i biorcą jest ten sam organizm (4).

Każdy typ komórek macierzystych charakteryzuje się specyficznym profilem białkowym, który umożliwia ich

wyróżnienie spośród innych komórek. Podobieństwo spokrewnionych komórek tkanki jest tak duże, że na podstawie zwykłej obserwacji nie można ich odróżnić. Profil białkowy komórek macierzystych można stworzyć na podstawie markerów identyfikacyjnych. Markerami są antygeny, białka powierzchniowe charakterystyczne dla każdego typu komórek. Przykładem mogą być błonowe białka, przekaźniki rodziny ABC. Charakteryzują się występowaniem regionu wiążącego i hydrolizującego ATP. Wykorzystują one różnice w gradiencie stężeń po obu stronach błony do uzyskania energii potrzebnej do transportu substratu. Ten fakt został wykorzystany przez Goodell, która wykryła nową metodę izolacji komórek hemopoetycznych (ang. *hematopoietic stem cells* – HSC) opartą na zdolności wiązania barwnika fluorescencyjnego (5). Markerami mogą być również specyficzne czynniki transkrypcyjne, których występowanie cechuje komórki macierzyste. Przykładem może być czynnik Nanog, który bierze udział w rozwoju zarodkowym, jego udział jest krytyczny w samoodnowie niezróżnicowanych komórek macierzystych (6). Kolejnymi markerami są czynniki Oct3/4, które biorą udział w regulacji pluripotencji podczas normalnego rozwoju zarodkowego (7).

#### Ocena etyczna badań nad komórkami macierzystymi

Wykorzystanie embrionalnych komórek macierzystych dla celów naukowych i medycznych budzi wiele kontrowersji natury etycznej. Ocena negatywna wobec wykorzystywania ludzkich zarodków do celów badawczych nie oznacza jednak odrzucenia wszelkich badań nad ludzkimi komórkami macierzystymi. Istnieją szanse, że cele terapeutyczne uda się zrealizować, prowadząc badania komórek macierzystych, pobieranych od dorosłych. Dzięki nim można osiągnąć te same cele, jak przy zastosowaniu zarodkowych komórek macierzystych. W te badania nie tylko można, ale i powinno się zaangażować wszystkie swe siły naukowe i środki finansowe. Ta forma terapii stanowi autentyczne źródło nadziei dla ludzi chorych i cierpiących (8).

#### Przyszłość komórek macierzystych z krwi pępowinowej – badania kliniczne

W celu ratowania życia i zdrowia pacjentów wykonano ponad 21 tysięcy przeszczepień krwi pępowinowej. Na całym świecie toczą się wciąż badania nad nowym zastosowaniem komórek macierzystych z krwi pępowinowej, a ich przyszłość wydaje się bardzo obiecująca. Komórki macierzyste z krwi pępowinowej wykorzystuje się w leczeniu licznych chorób (8, 9) (tab. 1)

Liczne badania przeprowadzane na komórkach macierzystych dowiodły, że odgrywają one niewątpliwie kluczową rolę w rozwoju wielokomórkowych organizmów, ale również w rozwoju nowotworów. Komórki biologicznie, odrębne od zróżnicowanych komórek nowotworowych, udało się zaobserwować m.in. w obrębie nowotworów układu krwiotwórczego, mózgu i piersi (10).

Rozważania na temat komórek macierzystych jako przypuszczalnego źródła chorób nowotworowych zapoczątkowały badania Leroya i Stevensa. Prowadzili oni badania m.in. na myszach w instytucie Jackson

Tabela 1. Zastosowanie komórek macierzystych w leczeniu chorób układu krwiotwórczego.

Ostre białaczki, m.in.	bifenotypowa i białaczki przewlekłe szpikowa (CML) i limfatyczna (CLL)
Spowodowane defektem komórki macierzystej	niedokrwistość (anemia) Fanconiego anemia ciężka
Zespoły rozrostowe układu chłonnego	białaczka prolimfocytowa ziarnica złośliwa
Choroby fagocytów	zespół Chediaka-Higashiego niedobór aktywny neutrofilowej
Choroby związane z zaburzeniami lub brakiem funkcji enzymów	zespół Sanfilippo (MPS-III) zespół Scheie'a (MPS-IS) adrenoleukodystrofia choroba Krabbego zespół Maroteaux-Lamy'ego (MPS-VI) zespół Hurler (MPS-IH) niedobór beta-glukuronidazy (MPS-VII) mukopolisacharydoza (MPS) zespół Huntera (MPS-II) mukolipidoza II zespół Morquio
Dziedziczne zaburzenia układu odpornościowego	ataksja-telangiektazja zaburzenia adhezji leukocytów zespół nagich limfocytów zaburzenie proliferacji limfocytów sprzężone z chromosomem X zespół DiGeorge'a
Inne choroby dziedziczne	zespół Lescha-Nyhana hipoplazja chrząstek i włosów trombastenia Glanzmanna osteopetroza (marmurkowatość kości)
Dziedziczne zaburzenia krwinek płytkowych	amegakariocytoza (wrodzona małopłytkowość)
Choroby komórek plazmatycznych	szpiczak mnogi, białaczka plazmacytowa, makroglobulinemia Waldenströma
Wszystkie nowotwory złośliwe, m.in.	rak piersi, mięsak Ewinga neuroblastoma (zwojak zarodkowy) rak nerki

Laboratories (11). U jednej z myszy zaobserwowali duży guz, po dalszych badaniach okazało się, że budują go różne struktury, takie jak: skóra, zęby, włosy, mięśnie i kości. Po wszczepieniu kawałka guza do organizmów zdrowych myszy Stevens zaobserwował rozwój komórek i tkanek różnego pochodzenia. Wśród nich można było również wyróżnić komórki o jednolitej strukturze, małe, nieodróżniane, powielające siebie same. Stevens na tej podstawie wysnuł teorię, że przyczyną powstawania guza może być pojedyncza, zmutowana, embrionalna komórka macierzysta. Komórki takie nazwano nowotworowymi komórkami macierzystymi – CSC (ang. *cancer stem cells*). Od tego wydarzenia liczne laboratoria zaczęły prowadzić badania na komórkach macierzystych, a przede wszystkim udoskonalały techniki umożliwiające ich hodowlę *in vitro* (12).

W styczniu 2010 roku w „Nature” opublikowano pracę o bezpośrednim (bez cofnięcia komórek do stanu komórek macierzystych) wytworzeniu sprawnych neuronów z mysich fibroblastów, wprowadzając do nich trzy geny. W sierpniu 2011 udało się to także z ludzkimi komórkami. Przekształcono także mysie fibroblasty w komórki wątroby i mięśnia sercowego oraz ludzkie fibroblasty w komórki hematopoetyczne. Procesy te miały wydajność 8%, a wywoływanie indukowanej pluripotencji iPS'ów przeważnie nie ma jej wyższej od kilku promili (7, 8). W 2010 roku zaczęła się pierwsza próba kliniczna wykorzystująca ESC do ograniczenia paraliżu wywołanego urazem rdzenia kręgowego. Opracowano też ukierunkowaną transdycję (zmianę rodzaju komórki bez

indukowanej pluripotencji) (6, 13). W lipcu 2011 roku w „Science” ogłoszono zidentyfikowanie markerów ułatwiających znalezienie komórek macierzystych krwi (pierwotnych komórek hematopoetyzy) (6, 13). W ciągu tego samego miesiąca sąd federalny w USA orzekł, że legalne są tylko finansowane ze środków prywatnych doświadczenia z istniejącymi już liniami zarodkowymi komórek macierzystych. Takie zrównanie pod względem prawnym aktywowanych partenogenetycznie oocytów z zarodkami opóźni badania nad tymi pierwszymi (6, 13). W styczniu 2012 roku Południowokoreańska Agencja ds. Leków jako pierwsza na świecie dopuściła do sprzedaży lek z ludzkimi komórkami macierzystymi (6, 13). W lutym 2012 roku odkryto, że komórki raka piersi po poddaniu ich radioterapii przekształciły się w nowotworowe komórki macierzyste, które były od nich bardziej odporne i złośliwe (6, 13). W marcu 2012 roku wszczepiono komórki macierzyste osobom po transplantacji nerek. Nie potrzebowały one leków, które normalnie podaje się po tej operacji (6, 13). W ostatnich latach ośrodki uniwersyteckie (np. Duke University, Medical College of Georgia w Stanach Zjednoczonych) uruchomiły kontrolowane badania kliniczne, zmierzające do ustalenia optymalnego sposobu leczenia komórkami macierzystymi mózgowego porażenia dziecięcego czy cukrzycy typu 1. Tego typu badania trwają również w Polsce. W Warszawie przeszczepiano własne komórki macierzyste kilkunastu pacjentom z cukrzycą typu 1, a w Katowicach pracuje się nad zastosowaniem komórek macierzystych w krwionośnych chorobach układu krążenia (6, 13).

Obecnie trwają badania nad leczeniem za pomocą komórek macierzystych z krwi pępowinowej m.in. cukrzycy typu 1, mózgowego porażenia dziecięcego, stwardnienia rozsianego, toczenia czy udaru mózgu. Szczególnym obszarem zainteresowania cieszy się medycyna regeneracyjna, w której można wykorzystać zdolność mezenchymalnych komórek macierzystych do zastępowania uszkodzonych w wyniku choroby komórek i tkanek. □

#### Piśmiennictwo

1. The Leading Edge of Stem Cell Therapeutics – Annual Review of Medicine 2007; 58 (1): 313-328. 2. Wernig M, Meissner A, Foreman R et al.: *In vitro* reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state. Nature 2007; 448 (7151): 318-324. 3. Takahashi K, Yamanaka S: Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. Cell 2006; 126 (4): 663-676. 4. Okita K, Ichisaka T, Yamanaka S: Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. Nature 2007; 448 (7151): 313-317. 5. Goodell, M. J Exp Med 1996; 183: 1797-1806. 6. Santostefano KE, Hamazaki T, Pardo CE et al.: Fibroblast Growth Factor Receptor 2 homodimerization rapidly reduces

transcription of the pluripotency gene Nanog without dissociation of activating transcription factors. Journal Biological Chemistry 2012 [Epub ahead of print]. 7. Okumura-Nakanishi S, Saito M, Niwa H, Ishikawa F: Oct-3/4 and Sox2 Regulate Oct-3/4 Gene in Embryonic Stem Cells. The Journal of Biological Chemistry 2005; 280: 5307-5317. 8. Maherali N, Sridharan R, Xie W et al.: Directly Reprogrammed Fibroblasts Show Global Epigenetic Remodeling and Widespread Tissue Contribution. Cell Stem Cell 2007; 1 (1): 55-70. 9. Klimanskaya I, Chung Y, Becker S et al.: Human embryonic stem cell lines derived from single blastomeres. Nature 2006; 444 (7118): 481-485. 10. Jordan CT, Guzman ML, Noble M: Cancer Stem Cells. The New England Journal of Medicine 2006; 355: 1253-1261. 11. Stevens A, Zuliani T, Olejnik C et al.: Human dental pulp stem cells differentiate into neural crest-derived melanocytes and have label-retaining and sphere-forming abilities. Stem Cells Dev 2008; 17 (6): 1175-1184. 12. Parsons P, Butcher A, Hesselden K et al.: Platelet-rich concentrate supports human mesenchymal stem cell proliferation, bone morphogenetic protein-2 messenger RNA expression, alkaline phosphatase activity, and bone formation in vitro: a mode of action to enhance bone repair. Journal Orthop Trauma 2008; 22 (9): 595-604. 13. Leeper NJ, Hunter AL, Cooke JP: Circulation. Stem cell therapy for vascular regeneration: adult, embryonic, and induced pluripotent stem cells 2010; (5): 517-526.

otrzymano/received: 15.07.2012  
zaakceptowano/accepted: 13.08.2012

Adres do korespondencji:  
\*Paweł Kowalczyk  
Interdyscyplinarne Centrum  
Modelowania Matematycznego i Komputerowego UW  
ul. Pawińskiego 5a, 02-106 Warszawa  
tel.: +48 728-864-717  
e-mail: pawelk@ibb.waw.pl