

Razvoj matičnih celic in njihova uporaba v medicini

Možnosti, meje, perspektive, zlorabe

Maša Koče

Letos mineva tristošestdeset let, odkar je Robert Hooke med mikroskopskim opazovanjem rezine plute odkril in poimenoval celico. Odkritje osnovne gradbene enote organizmov je naznanilo začetek razvoja obsežne panoge – biologije celice oziroma citologije. V sledečih treh stoletjih so številni znanstveniki prispevali ogromno znanja k razumevanju zgradbe in delovanja celic.

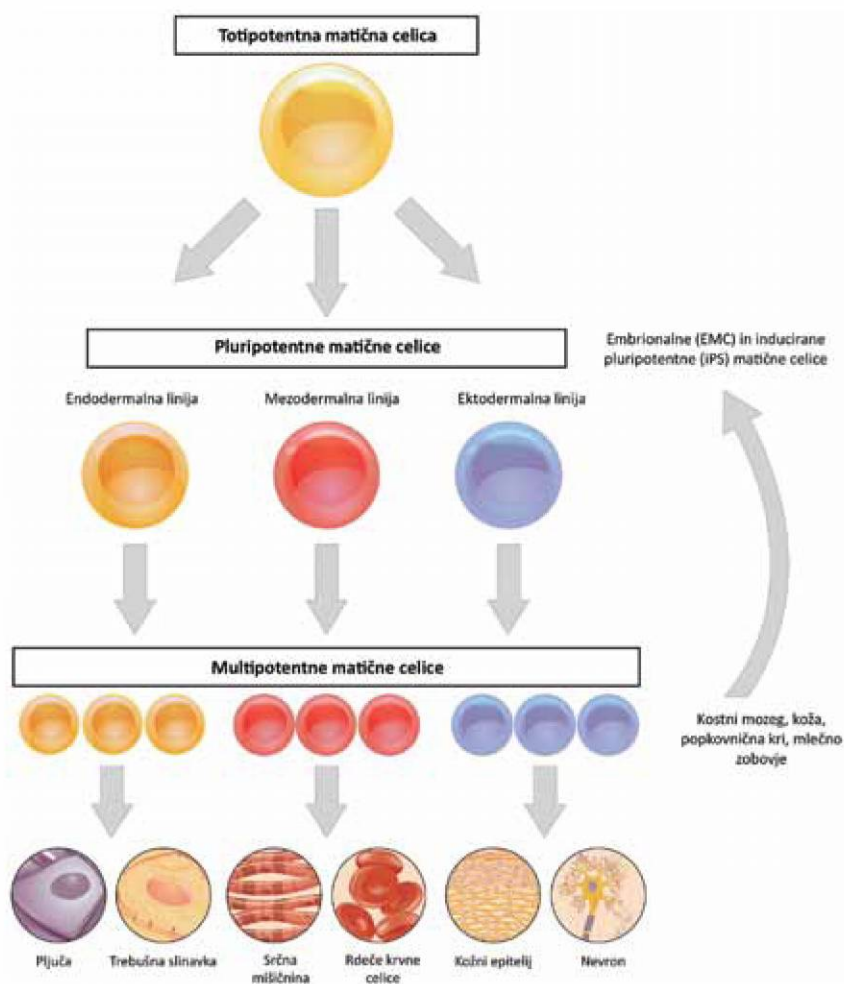
Izraz »stammzelle« - v slovenščini *matična celica* - je leta 1868 prvič uporabil Nemec Ernst Haeckel. Z njim je opisal predniško celico, iz katere izvirajo vsi mnogocelični organizmi, izraz pa je pripisal tudi oplojeni jajčni celici, ki lahko tvori vse celice enega organizma. Konec devetnajstega stoletja sta Theodor Boveri in Valentin Häcker sledila izvoru živalskih spolnih celic in opredelila matične celice kot celice, ki kasneje proizvajajo oocyte v gonadah. Izraz je pravzaprav obsegal več različnih razvojnih stopenj in linij zarodnih celic, v množično rabo pa ga je vpeljal Anglež Edmund B. Wilson, ki je ohranil Bovarjevo in Häckerjevo opredelitev nespecializiranih celic.

Leta 1901 je Claudius Regaud v študiji spermatogeneze uporabil izraz »matični spermatogonij« in s tem v znanosti populariziral rabo pridevnika »matični«. Skoraj istočasno je skupina znanstvenikov s Franzem Weidenreichom na čelu predstavila idejo, da krvne celice v procesu hematopoeze nastanejo iz skupne predniške oziroma matične celice hemocitoblasta.

Danes besedna zveza opisuje nediferencirane celice z nizko frekvenco proliferacije, ki so sposobne samoobnavljanja in diferenciacije

v katerekoli celice organizma (*prolifercija* je lastnost celice, da raste in se mitotsko deli). Glede na širino spektra fenotipov, ki jih lahko celice izražajo, ločimo totipotentne, pluripotentne, multipotentne in unipotentne matične celice zarodka. Po oploditvi se oplojena jajčna celica med brazdanjem namnoži v totipotentne celice zarodka na stopnji morule, ki se lahko kasneje diferencirajo v katerekoli celice zarodka ali posteljice (placente). Na stopnji blastociste so celice pluripotentne in se lahko diferencirajo v vse celice zarodka, to je v celice vseh treh zarodnih plasti, vendar pa ena sama izolirana pluripotentna celica v primerjavi s totipotentno ne more več tvoriti novega organizma. Multipotentne celice imajo še nekoliko bolj omejene možnosti diferenciacije in se lahko specializirajo v tkivno specifične celične tipe, torej celice istega kličnega lista. Iz najbolj notranje plasti zarodka oziroma endoderma se v procesu organogeneze razvijejo epitelij gastrointestinalnega trakta in derivati prebavil (na primer trebušna slinavka), epitelij dihal, srednjega ušesa in ušesne troblje, sečnega mehurja in sečnice ter endokrine žleze in organi, na primer ščitnica. Najnižjo diferenciacijsko zmožnost imajo unipotentne matične celice, ki se lahko razvijejo v eno samo točno določeno linijo celic. Z vsako novo delitvijo je torej celica bolj diferencirana in bolj omejena glede zmožnosti proliferacije.

Drugo merilo ločevanja matičnih celic je glede na izvor. Poznamo embrionalne oziroma zarodne in odrasle matične celice, na primer hematopoetske matične celice. Zaro-



Razlikovanje matičnih celic glede na stopnjo diferenciacije.

Vir: <http://ocpub.gitbuib.io/epubjs-demo-book/content/m46036.xhtml>.

Grafični prikaz odvisnosti stopnje diferenciacije in sposobnosti proliferacije od časa.
Narisala: Maša Koc.

stopnja diferenciacije

spodobnost proliferacije

dne matične celice lahko pridobimo iz zgodnje stopnje zarodka, medtem ko se odrasle matične celice nahajajo v skoraj vseh tkivih odraslega organizma. Za te celice je značilna multipotentnost, nahajajo se v tako imenovanih nišah, kjer služijo samoobnavljanju tkiva, v katerem se nahajajo, zato imajo v primerjavi z zarodnimi matičnimi celicami omejeno diferenciacijsko zmožnost.

Američan James Thomson je leta 1998 prvič uspešno izoliral človeške zarodne matične celice in skupaj s kolegi ogromno prispeval k razumevanju in spodbujanju celične diferenciacije *in vitro*. Devet let kasneje je uspešno opisal postopek pridobivanja induciranih pluripotentnih matičnih celic (iPMC), tretje vrste matičnih celic glede na izvor. To so popolnoma diferencirane celice, ki po umetno sproženem reprogramiranju pridobijo lastnosti zarodnih matičnih celic. Thomson se trenutno ukvarja s preučevanjem in razumevanjem mehanizmov celične diferenciacije in nadzora razvoja ter iskanjem novih metod pridobivanja induciranih pluripotentnih matičnih celic.

Prvi, ki je uspešno reprogramiral somatsko celico v inducirano pluripotentno matično

celico, je Nobelov nagrajenec Šinja Jama-naka. Ugotovil je, da s ponovno aktivacijo določenih prepisovalnih dejavnikov (transkripcijskih faktorjev), ki so v odrasli celici utišani, dokončno diferencirani celici lahko povrnemo morfološke in razvojne lastnosti pluripotentne matične celice. S tem je dokazal, da je pluripotentne matične celice mogoče pridobivati brez poseganja v spolne in zarodne celice. Do leta 2007 je bil namreč najbolj znan način reprogramiranja celice z metodo, ki vključuje prenos jedra iz odrasle celice v brezjedrno jajčno celico ali zarodno matično celico – način, ki je v očeh javnosti preveč sporen.

Pojem »matične celice« je tesno povezan z regenerativno medicino in tkivnim inženirstvom.

Osnova tkivnega inženirstva je kloniranje, ki se množično uporablja v regenerativne namene. Matične celice imajo edinstveno značilnost – zaradi neomejene proliferacijske zmožnosti in nediferenciranosti so se sposobne samoobnavljati. Ko se matična celica deli, je teoretično ena izmed dveh hčerinski celic nekoliko bolj diferencirana od druge, ki je popolna kopija materinske celice. Iz-



Primer človeškega mehurja, vzgojenega in vitro.

Vir: <http://theoutlook.com.ua/article/326/pomenyat.html>.

med dveh hčerinskih celic torej tista, ki je identična materinski celici, omogoča, da se populacija matičnih celic kljub celičnim delitvam ohranja. Izkoriščanje narave matičnih celic v znanstvene namene je torej pomembno tudi z vidika namnoževanja celic v kulturi, saj so matične celice edine celice v odraslem organizmu, ki imajo dovolj visoko proliferacijsko zmožnost, da jo človek lahko izkoristi. Na namnoženih zarodnih celicah lahko spremljamo razvojne procese zarodka in opazujemo genski in molekularni nadzor teh procesov. Slednje nam omogoča globlje razumevanje nekaterih prirojenih bolezni, ki so posledica nenormalne proliferacije in diferenciacije, kar vodi do odkrivanja novih načinov zdravljenja. Poleg tega je dokazano, da se celica diferencira v odvisnosti od okolja, ki mu je izpostavljena. S posnemanjem ustreznih oziroma izbranih okoliščin jo zato lahko usmerjeno diferenciramo v želeni tip celice, to pa naprej uporabljamo v zdravstvene ali raziskovalne namene. V regenerativni medicini pa niso uporabne le pluripotentne zarodne celice, temveč tudi inducirane pluripotentne matične celice, ki jih je mnogo

lažje pridobiti od prejšnjih. S tega stališča se zdijo v praksi bolj uporabne inducirane pluripotentne matične celice – veliko enostavneje je dobiti vzorec na primer epitelija, kot pa v strogo nadzorovanih razmerah in ob točno določenem času odvzeti celico iz blastociste, poleg tega je poseganje v zarodne celice v mnogih državah nezakonito.

Danes si prizadevamo za čim bolj osebno zdravljenje, to je zdravljenje, ki je prilagojeno genetski sliki vsakega posameznika. Ker so inducirane pluripotentne matične celice specifične za vsakega posameznika, dopuščajo razmeroma enostavno opazovanje prizadetih celičnih mehanizmov na molekularni ravni, s pomočjo česar lahko postavimo odziv pacienta na določen način zdravljenja, to pa je glavno vodilo osebne medicine.

Pereči problem, ki se poraja pri induciranih pluripotentnih matičnih celicah, je dejanska starost celice. Kljub ponastavljenim celičnim mehanizmom in njihovim funkcijam se v odraslih celicah v letih nakopičijo mutacije, katerih posledica je lahko nenadzorovana proliferacija in rast celic, to pa lahko vodi v tumorsko rast.

Matične celice se lahko uspešno delijo tudi zunaj organizma, saj so se sposobne deliti v nedogled. Za ohranitev pri življenju jim moramo zagotoviti »le« ustrezne in natančno določene kemijske in fizikalne razmere, na primer točno določeno mešanico rastnih dejavnikov in ustrezno koncentracijo hranil, zagotoviti jim je treba dovolj prostora, s čimer preprečimo intaktno inhibicijo, to je prenehanje delitve celic zaradi pomanjkanja prostora, optimalni pH, temperaturo in tako dalje.

Podobne lastnosti kot matične celice imajo tudi rakave celice, primer je celična linija HeLa. Potomke rakave celice, ki so jo pred štiriinšestdesetimi leti izolirali iz biološkega vzorca materničnega vratu Henriette Lacks, so se zaradi svoje agresivne narave uspešno namnožile do te mere, da nešteto teh celic

Odvzem zarodne matične celice z mikropipeto.

Vir: <https://www.sba-list.org/suzy-b-blog/first-embryonic-stem-cell-treatment-humans-approved>.



še danes kroži po vsem svetu. George Gey, ki je pridobil in *in vitro* vzgojil celično kulturo HeLa, se je nedvomno zapisal v zgodovino kot prvi, ki mu je celice zunaj organizma uspelo ohraniti pri življenju več kot le nekaj dni. Henriettine celice se od tedaj množično uporabljajo v različne raziskovalne namene, predvsem za testiranje prototipov bodočih zdravil, kot »poskusni zajčki« pa so uporabne tudi v kozmetični industriji. Rakave celice imajo namreč spremenjen metabolizem in se lahko na učinkovino odzovejo precej drugače, kot bi se odzvala zdrava (nerakava) celica. Zato za potrebe razvojnih raziskav znanstveniki v laboratorijski medicini pogosteje uporabljajo matične celice, ki so se v nasprotju z odraslimi popolnoma diferenciranimi celicami še vedno sposobne deliti in na ta način ustvariti zadostne količine potrebnega »materiala« za različne študije. Z usmerjeno diferenciacijo matičnih celic lahko teoretično dokaj enostavno vzgojimo tkivne kulture, ki jih nato lahko dalje uporabimo v regenerativne namene. Na matičnih celicah lahko raziskujemo tudi prizadete celične mehanizme in posledično odkrivamo genetske vzroke številnih bolezni. Poleg tega omogočajo boljše razumevanje razvoja bolezni, saj lahko s tkivnimi kulturami obsežno razpolagamo. Uporabne so še z vidika biomedicinske znanosti in razvoja zdravil. Koristne so namreč kot modeli za številne laboratorijske teste. Ti omogočajo natančnejše študije delovanja zdravilnih učinkovin, ki specializirano delujejo na celične mehanizme. Terapevtske zmožnosti induciranih pluripotentnih matičnih celic pomenijo velik obet tako v predkliničnih raziskavah kot tudi v klinični rabi, predvsem v regenerativni terapiji.

Kljub temu, da je uporaba matičnih celic prihodnost medicine in zdravstva, so mnenja o pridobivanju teh celic precej deljena. Ker izolacija zarodnih matičnih celic zahteva uničenje zarodka, se nasprotniki zaradi verskih prepričanj nad takšno znanostjo zgražajo, saj po njihovem mnenju krši eno

osnovnih človeških pravic – pravico do življenja. Četudi zarodek na tej stopnji ni prav nič več od skupka celic, še vedno pomeni izhodišče za razvoj novega življenja. V večini razvitih držav po svetu so vladne organizacije zato že oblikovale dokumente, ki se nanašajo na rabo zarodnih celic v znanstvene in raziskovalne namene. Podobne ukrepe so mnoge države vpeljale tudi proti zlorabi pluripotentnih matičnih celic. Prav zaradi polemike o etičnosti uporabe zarodnih celic so odrasle matične celice za znanost trenutno najbolj zanimive. Kljub temu, da odrasle matične celice še niso bile najdene v vseh tkivih, so primerne za uporabo v regenerativni medicini. Zaradi sposobnosti samoobnavljanja in visoke proliferacijske zmožnosti se že uporabljajo za zdravljenje degenerativnih bolezni s presaditvijo. Pri avtologni presaditvi, to je presaditvi s pacientu lastnimi celicami, načeloma ne pride do zavrnitvenega odziva presadka (transplantata). Imunogenost takšnih celic je namreč precej nižja kot pri homologni in heterologni presaditvi, zato zdravljenje na ta način teoretično poteka hitreje in predvsem z manj zapleti. Kljub možnostim, ki jih odpira zdravljenje z odraslimi matičnimi celicami, pa se znanstveniki srečujejo s problemom nenadzorovane proliferacije nekaterih celic, kar slej ko prej vodi v razvoj tumorja. Ker zaenkrat še ne poznamo univerzalnega zdravila za zdravljenje tumorskih rakavih obolenj, si znanost prizadeva najti uspešen način diferenciacije matičnih celic do želene stopnje in hkrati omejiti pretirano proliferacijo in rast omejenih celic.

Vprašanje o (ne)etičnosti pridobivanja zarodnih matičnih celic dviguje prah povsod po svetu. V nekaterih državah je uporaba zarodnih celic strogo prepovedana, dovoljeno ni niti oplojevanje *in vitro*. Vlade drugih držav dovoljujejo uporabo zarodnih celic v reproduktivne namene, vendar na njih prepovedujejo izvajanje bioloških poskusov oziroma je to ustavno dovoljeno pod strogim nadzorom posebnih organov. Nekatere države

pa celo dovoljujejo uporabo zarodnih celic, vendar izključno celic, ki pripadajo »višku« *in vitro* vzgojenih zarodkov, ki so jih starši podarili v raziskovalne namene. Z razvojem tehnologije je znanost začela napredovati z nepredstavljivo hitrostjo, zato jo je treba nadzorovati, vendar ne preveč omejiti, sicer bo trajalo predolgo, da bomo dosegli zastavljene cilje.

V Sloveniji je javnost o matičnih celicah zaenkrat še precej slabo seznanjena, četudi pri nas že obstajajo tako imenovane celične banke, ki posameznikom ponujajo shranjevanje matičnih celic iz mlečnega zobovja in popkovnične krvi. Odgovorni vladni organi v Sloveniji so oblikovali in sprejeli predpise, ki se ukvarjajo s kočljivimi posledicami, ki jih prinaša uporaba matičnih celic. Ministrstvo za zdravje je leta 2003 izdalo *Pravilnik o postopkih zbiranja, shranjevanja in uporabe krvotvornih matičnih celic*, ki je objavljen v *Uradnem listu Republike Slovenije*. Obstajajo še nekateri drugi akti, ki tudi vključujejo pravila za ravnanje z matičnimi celicami, na primer *Zakon o kakovosti in varnosti človeških tkiv in celic, namenjenih za zdravljenje*.

Največja skrb zbujajoča lastnost, ki jo zdravljenje z matičnimi celicami pomeni, je »nesmrtnost« teh celic, saj se lahko delijo v nedogled. Kljub stalnemu nadzoru lahko pride do hitre nenadzorovane proliferacije, kar se v kasnejših stadijih izrazi kot tumor in lahko vodi v rakavo obolenje. Slednje je tudi v mojih očeh najbolj problematična lastnost matičnih celic. Ker celični mehanizmi še niso do potankosti raziskani, je popoln nadzor nad dogajanjem v celici nemogoč. Še vedno pa je verjetnost, da bo prišlo do nenadzorovane delitve, precej majhna v primerjavi s prednostmi, ki bi jih omogočilo zdravljenje z matičnimi celicami. Matične celice so visoko cenjene predvsem v regenerativni medicini, saj pomenijo najnovejši način zdravljenja degenerativnih bolezni, denimo sladkorne bolezni (diabetesa), ki je najpogostejša bolezen enaindvajsetega stoletja. Prav tako znanstveniki v matičnih

celicah vidijo prihodnost za zdravljenje degenerativnih bolezni živčevja in srčno-žilnih bolezni, zaenkrat neozdravljivih bolezni, ki so danes najpogostejši vzrok smrti na svetu. Znano je, da se v predelu hipokampusa nahajajo nevronske matične celice, ki se v primeru možganske kapi, nekaterih nevroloških bolezni, pri katerih pride do ishemije možganskega tkiva, pa tudi pri nekaterih oblikah duševnih motenj (na primer depresiji) začnejo hitreje deliti in diferencirati v funkcionalne nevrone. Umetno spodbujena aktivacija omenjenih matičnih celic bi izzvala povečano proliferacijo teh celic, kar bi teoretično povečalo hitrost samoobnavljanja in povrnitve funkcije možganskega tkiva (Hucklenbroich in sod., 2014).

Prahu ne dvigujejo zgolj metode pridobivanja matičnih celic, temveč tudi dejstvo, da lahko s kombiniranjem človeških matičnih celic z nečloveškimi celicami ustvarjamo hibride, kar zastavlja pereča vprašanja identitete in dostojanstva človeka. Poleg tega je strah vzbujajoče kloniranje človeka kljub vsem zakonom, ki omejujejo hitro napredujočo znanost, že precej blizu urenitve. Po kloniranju prvega sesalca, ovce Dolly leta 1996, se je javnost zavedala strahanskega napredka znanosti in tehnologije, vodilni organi pa potencialne nevarnosti, ki jo hitro razvijajoča panoga tkivnega inženirstva pomeni za sodobno družbo. Vladne organizacije so bile prisiljene sprejeti omejitvene ukrepe, saj bi znanost lahko ušla izpod nadzora, napredek pa bi lahko ogrozil človeštvo. Zaradi strogega nadzora nad novimi raziskovalnimi projekti so danes znanstveniki z zakonodajo precej omejeni – konec koncev se ukvarjajo s osnovno enoto življenja in neetični poskusi na človeški vrsti niso več daleč od zlorabe. Kljub temu ne smemo pozabiti Armstrongovih modrih besed: »Majhen korak za človeka, velik skok za človeštvo,« saj bomo le s skupnimi močmi, sodelovanjem in grajenjem na že doseženem znanju dosegli to, za kar si zdravstvo in medicina prizadevata od vsega

začetka – uspešno osebno zdravljenje s čim manj negativnimi stranskimi učinki. Navsezadnje morda revolucionarni izidi poskusov in (ob tem) novo pridobljeno znanje le odtehtajo ceno, ki bi jo plačali z žrtvovanjem zarodnih celic za predklinične raziskave.

Zahvala

Posebej bi se rada zahvalila prof. Zvonki Zupanič Slavec, dr. med., brez katere bi ta članek ostal neopažen.

Literatura:

Gebron Robey, P., 2000: *Series Introduction: Stem cells near the century mark*. JCI: 1489–1491.

Hucklenbroich, J., in sod., 2014: *Aromatic-tumeronone induces neural stem cell proliferation in vitro and in vivo*. *Stem Cell Research & Therapy*.

Petrovič, D., in sod., 2012: *Embriologija*. Ljubljana: *Medicinska fakulteta*.

Pravilnik o postopkih zbiranja, shranjevanja in uporabe krvotvornih matičnih celic: *Uradni list RS*, št. 104/03.

Ramalho-Santos, M., Willenbring, H., 2007: *On the Origin of the Term "Stem Cell"*. *Cell Stem Cell*: 35–38.

Skloot, R., 2011: *Nesmrtno življenje Henriette Lacks*. Ljubljana: *Mladinska knjiga*.

Takahashi, K., Yamanaka, S., 2006: *Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors*. *Cell*: 663–676.

Thomson, J. A., 1998: *Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts*. *Science*: 1145–1147.



Maša Koce, rojena februarja leta 1996 v Ljubljani, je študentka drugega letnika Medicinske fakultete na Univerzi v Ljubljani. Že od nekdaj jo zanimata molekularna genetika in celična biologija, zaradi česar se je navsezadnje odločila za študij medicine. V prostem času je zvesta ljubiteljica športa in gledališča ter tujih dežel in kultur.