

# Potencjalne zastosowania komórek macierzystych w medycynie regeneracyjnej i transplantologii

## STRESZCZENIE

W organizmie człowieka zlokalizowano komórki, które mają zdolność do samoodnawiania oraz różnicowania w określony typ komórek. Są klasyfikowane ze względu na źródło pozyskiwania oraz zdolność do różnicowania. Prowadzone są badania laboratoryjne zmierzające do ukierunkowanego programowania komórek macierzystych w tworzeniu określonego typu komórek, a także przeprogramowanie komórek somatycznych do indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych. Może to w przyszłości nieść nadzieję na opracowanie nowych sposobów leczenia chorób dając szansę na ich całkowite wyleczenie (szczególnie nowotworów). Komórki macierzyste znajdują także zastosowanie w medycynie regeneracyjnej umożliwiając naprawę uszkodzonych lub niefunkcyjnych tkanek z wykorzystaniem komórek pochodzących od pacjenta. Obecność komórek macierzystych stwierdzono w tkankach nowotworowych. Zdolność do samoodnowy i nieograniczonej proliferacji może być powodem nabywania cech predysponujących komórki nowotworowe do przerzutowania oraz do nawrotu chorób nowotworowych. Poznanie szlaków sygnalizacyjnych oraz mechanizmów ich działania wydaje się być kluczowe i prowadzi do opracowania efektywnych terapii antynowotworowych.

## WPROWADZENIE

Komórki macierzyste (SC, ang. *stem cells*) są komórkami prekursorowymi wykazującymi zdolność do proliferacji, utrzymywania swojej liczby na stałym poziomie oraz wytwarzania zróżnicowanych i funkcjonalnych komórek potomnych charakterystycznych dla narządu, z którego pochodzą. Mogą występować w postaci niezróżnicowanej; mieć wpływ na wzrost prawidłowych tkanek oraz ich naprawę w przypadku zaistniałego uszkodzenia. Komórki te wykazują zdolność do samoodnawiania w wyniku podziałów oraz ukierunkowaną możliwość różnicowania w odpowiedni typ komórek. Dzięki swoim unikalnym właściwościom są częstym przedmiotem badań biomedycznych [1]. Różnicowanie komórek macierzystych rozpoczyna się od podziału pojedynczej komórki prekursorowej. Z powstałych dwóch komórek siostrzanych wyprowadzić można dwie linie komórek. Z pierwszej powstaje samoodnawiająca komórka macierzysta. Natomiast druga komórka mogąca odbierać sygnały do różnicowania staje się prekursorem do tworzenia komórek pluripotencjalnych mogących się różnicować. Powstałe w efekcie różnicowania komórki pluripotencjalne w wyniku przeprowadzonych podziałów zwiększają znacząco swoją liczbę, by w kolejnych cyklach mogło dojść do ich różnicowania w określony typ komórki (Ryc. 1) [2].

Głównym materiałem w badaniach dotyczących komórek macierzystych są obecnie somatyczne komórki macierzyste (ASC, ang. *adult stem cells*). W przeciwieństwie do embrionalnych komórek macierzystych (ESC, ang. *embryonic stem cells*), które można pozyskać z ludzkich zarodków, komórki ASC są ogólnodostępne w organizmie. Należy przy tym podkreślić, że wykorzystując w badaniach komórki ASC pozyskane z tkanek omijamy aspekt natury etycznej związany z prowadzeniem badań na ludzkich blastocystach [3]. Komórki ASC odpowiedzialne są także za regenerację uszkodzonych tkanek. Ich obecność w określonych miejscach w organizmie tzw. niszach ma wpływ na zapewnienie homeostazy tkankowej [1].

Poznanych zostało kilka rodzajów komórek somatycznych, jednak do badań biomedycznych wykorzystywane są najczęściej mezenchymalne komórki macierzyste (MSC, ang. *mesenchymal stem cells*). Komórki MSC mają zdolność do samoodnowy i różnicowania w szereg rodzajów komórek, m.in. w chondrocyty, adipocyty czy komórki szpiku kostnego. Komórki MSC wydzielają szereg czynników (np. czynniki wzrostu), które wpływając na otaczające środowisko mogą sprzyjać angiogenezie, zmniejszaniu stanu zapalnego oraz naprawie uszkodzonych tkanek. Nie stwarzają ryzyka tworzenia potworniaków, a

Aleksandra Szustka

Małgorzata Rogalińska ✉

Katedra Cytobiochemii, Uniwersytet Łódzki, Łódź

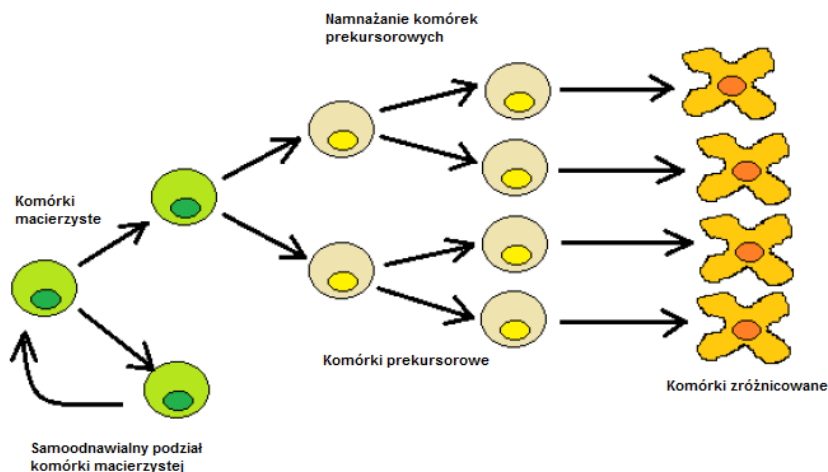
✉Katedra Cytobiochemii Uniwersytet Łódzki, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź; tel.: (42) 653 44 89, e-mail: małgorzata.rogalińska@biol.uni.lodz.pl

Artykuł otrzymano 9 maja 2017 r.

Artykuł zaakceptowano 17 maja 2017 r.

**Słowa kluczowe:** komórki macierzyste, nowotworowe komórki macierzyste, szlaki sygnalizacyjne, leczenie oparzeń, medycyna regeneracyjna, transplantologia

**Wykaz skrótów:** ASC (ang. *adult stem cells*) – somatyczne komórki macierzyste; CSC (ang. *cancer stem cells*) – nowotworowe komórki macierzyste; DVL (ang. *Dishevelled*) – białko cytoplazmatyczne szlaku Wnt; ESC (ang. *embryonic stem cells*) – embrionalne komórki macierzyste; iPSC (ang. *induced pluripotent stem cells*) – indukowane pluripotencjalne komórki macierzyste; MSC (ang. *mesenchymal stem cells*) – mezenchymalne komórki macierzyste; PCTH (ang. *Patched*) – rodzina białek receptorowych szlaku Hedgehog; SC (ang. *stem cells*) – komórki macierzyste; WNT (ang. *wingless/integration signaling*) – białko aktywujące szlak sygnałowy Wnt



Rycina 1. Schemat przedstawiający samoodtworzenie oraz różnicowanie komórek macierzystych.

ich wykorzystanie nie jest sprzeczne z normami etycznymi. Komórki macierzyste znaleziono w wielu tkankach m.in. w tkance tłuszczowej, wątrobie, a także we krwi pępowinowej [4,5].

Ze względu na zdolność do różnicowania komórki macierzyste dzielimy na:

- komórki totipotencjalne - wykazujące zdolność transformacji we wszystkie rodzaje komórek występujących w organizmie, także w komórki pozazarodkowe (łożysko, sznur pępowinowy). Komórki totipotencjalne pozyskiwane są zwykle z ludzkich zarodków na etapie rozwoju w stadium blastomeru;

- komórki pluripotencjalne - mogą różnicować się w każdy typ komórek z wyjątkiem komórek pozazarodkowych; powstają zwykle z węzła zarodkowego blastocysty;

- komórki multipotencjalne - mają zdolność do tworzenia kilku rodzajów komórek, różnicują się w obrębie jednego z trzech listków zarodkowych: ektodermy, endodermy i mezodermy;

- komórki unipotencjalne - różnicować się mogą w jeden określony typ komórek [1,3].

## INDUKOWANE PLURIPOTENCJALNE KOMÓRKI MACIERZYSTE

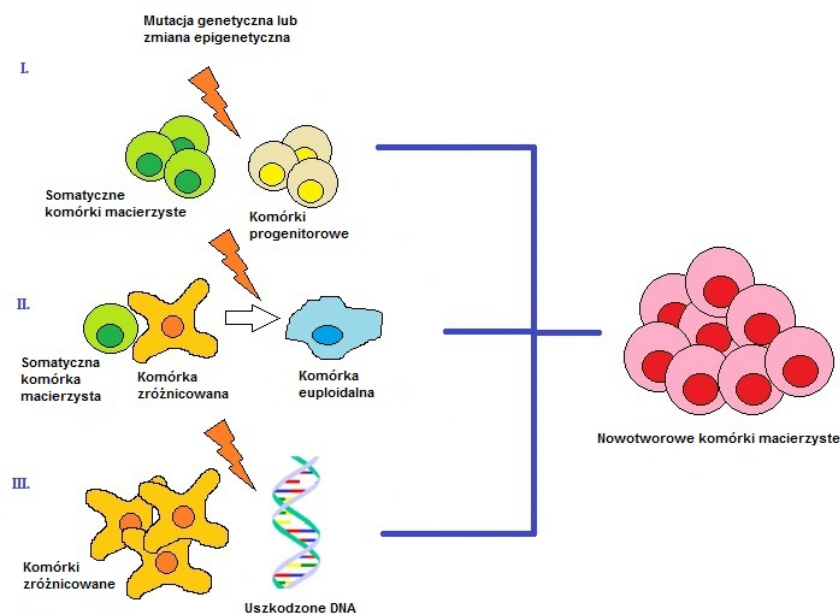
Dużym postępowaniem terapeutycznym związanym z wykorzystaniem komórek macierzystych było odkrycie indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych (ang. *induced pluripotent stem [iPS] cells*) przez zespół Yamanaki [6,7], co zostało uhonorowane w 2012 roku Nagrodą Nobla w dziedzinie medycyny i fizjologii. Komórki iPS uzyskiwano transfekując mysie fibroblasty przy użyciu retrowirusowego wektora pMXs zawierającego sekwencję kodującą czynniki transkrypcyjne (np. Oct3/4, Sox2, Klf4 i onkogenu c-myc) w celu reprogramowania komórek do stanu wyjściowej embrionalnej komórki macierzystej [6-9]. Oprócz tego do regulacji zmian poziomu ekspresji czynników transkrypcyjnych

wykorzystuje się także mikroRNA [10,11]. Różne typy komórek somatycznych (hematopoetyczne komórki macierzyste, komórki jednojądrzaste izolowane ze szpiku, komórki krwi obwodowej i krwi pępowinowej, keratynocyty czy hepatocyty) [12] przeprogramowano do stanu pluripotencji, z możliwością włączania cyklu komórkowego. Ze względu na dostępność i łatwe pozyskiwanie komórek, w badaniach zazwyczaj stosuje się fibroblasty i komórki krwi obwodowej. Należy jednak podkreślić, że mechanizm leżący u podstaw reprogramowania pluripotencjalnego jest nadal poznawany [10].

## NOWOTWOROWE KOMÓRKI MACIERZYSTE

Dane epidemiologiczne wskazują, że nowotwory stanowią corocznie ok. 15% wszystkich zgonów w Europie [13]. Natomiast w obrębie tej grupy ok. 90% pacjentów z guzami litymi umiera w wyniku przerzutów nowotworu [13]. Podczas przerzutowania komórki nowotworowe pokonują barierę epithelialno-mezenchymalną (EMT, ang. *epithelial-mesenchymal transition*) [13,14] co umożliwia im przemieszczanie w kierunku naczyń krwionośnych. Nowotworowe komórki macierzyste (CSC, ang. *cancer stem cells*) stanowią niewielką subpopulację komórek nowotworowych. Charakteryzują się wysokim potencjałem do samoodnowy, możliwością różnicowania w różne typy komórek oraz przerzutowania [15,16]. Komórki te oddziałują ze składnikami mikrośrodowiska, co wpływa na ich rozwój i przetrwanie. Odbywa się to w miejscach określanych jako nisze przedprzerutowe (ang. *premetastatic niche*). W tym miejscu komórki macierzyste adaptują się do panujących warunków oraz egzystują zapewniając potencjalną możliwość odnowy komórek. Wydaje się to być niezbędne podczas przerzutowania (metastazy) do rozwoju nowego wtórnego ogniska nowotworu w miejscu, do którego nowotworowe komórki macierzyste przedostały się głównie drogą krwi [17].

Istnieją 3 hipotezy wyjaśniające powstawanie nowotworowych komórek macierzystych (Ryc. 2). Pierwsza z nich dotyczy somatycznych lub progenitorowych komórek macierzystych pochodzących z tkanek prawidłowych, które mogą przekształcać się w CSC w wyniku mutacji w materiale genetycznym lub zmian o naturze epigenetycznej. Hipoteza ta jest najbardziej popularna. Poznawanie różnic między komórkami macierzystymi a CSC może dać szansę na modyfikacje stosowanych obecnie terapii przeciwnowotworowych zmierzających do całkowitego wyleczenia pacjentów. Druga hipoteza opisuje możliwość tworzenia hybryd na drodze fuzji komórek zróżnicowanych z komórkami macierzystymi w wyniku czego tworzone są komórki euploidalne. Powstanie komórek euploidalnych wywołane jest najczęściej nabytą niestabilnością genetyczną, która prowadzi do powstawania np. genów fuzyjnych o zmienionej ekspresji lub jej braku. Trzecią możliwością jest pobieranie egzogenego DNA pochodzącego z komórek nowotworowych przez zróżnicowane prawidłowe komórki somatyczne. DNA integruje się z prawidłowym



Rycina 2. Drogi powstawania nowotworowych komórek macierzystych.

genomem, prowadząc do supresji lub nadekspresji niektórych genów powodując transformację nowotworową w obrębie komórki macierzystej (CSC). Należy przy tym podkreślić, że ze względu na złożoność procesów zachodzących w komórce oraz dużą ilość czynników wpływających na funkcjonowanie komórek, sposoby tworzenia nowotworowych komórek macierzystych nie zostały dotychczas w pełni poznane [13].

Po raz pierwszy istnienie nowotworowych komórek macierzystych opisali w 1997 roku Dominique Bonnet i John E. Dick [18]. Zidentyfikowali oni populację białaczkowych komórek macierzystych u chorych z ostrą białaczką szpikową (AML, ang. *acute myeloid leukemia*). Udowodnili także, że przeszczepione komórki CS mogą inicjować białaczkę u myszy NOD/SCID. W 2003 roku Al-Hajj i współautorzy [16,19] jako pierwsi wykazali istnienie komórek CS w nowotworze piersi. Następnie wykryto je także w innych nowotworach litych, m.in. guzach mózgu [20], prostaty [21], płuc [22], wątroby [23] czy trzustki [24].

Nowotworowe komórki macierzyste lokalizowane są na podstawie obecności specyficznych markerów powierzchniowych. W celu fenotypowania tych komórek wykorzysty-

Tabela 1. Wykaz markerów powierzchniowych zlokalizowanych na nowotworowych komórkach macierzystych.

Typ nowotworu	Markery obecne na nowotworowych komórkach macierzystych	Źródło
Białaczka	CD43+ / CD38-	[18]
Piersi	CD24-/CD44+	[19,26]
Prostaty	CD44+/CD133+	[21,27,28]
Mózgu	CD133+	[20]
Trzustki	CD24+/CD44+/CD133+/ESA+	[24,29,30]
Płuc	CD133+	[22,31,32]
Wątroby	CD90+	[23,33,34]

wane są specyficzne przeciwciała rozpoznające charakterystyczny profil antygenów na powierzchni komórki. Mogą one być także przydatne do izolacji komórek (Tab. 1). Te specyficzne antygeny powierzchniowe są uznanymi molekularnymi markerami walidacji nowotworowych komórek macierzystych. Przy czym należy jednak pamiętać, że fenotyp komórek CS, nawet w przypadku tego samego nowotworu, może wykazywać różnice w obecności markerów powierzchniowych, na co mogą wpływać np. zmiany epigenetyczne [19,25].

## SZLAKI SYGNALIZACYJNE ZWIĄZANE Z CSC

Nowotworowe komórki macierzyste mogą przetrwać klasyczną terapię antynowotworową, prowadząc do nawrotu choroby i zwiększonej oporności na leczenie. Wyeliminowanie tych komórek może być kluczowe w doborze skutecznego leczenia antynowotworowego. W tym celu podjęto kroki zmierzające w kierunku poznania mechanizmów sygnalizacji mających wpływ na samoodnowę i różnicowanie CSC. Ścieżki

sygnalizacyjne Wnt, Hedgehog i Notch są szlakami związanymi z embriogenezą i hemostazą. Zaburzenia funkcjonowania tych szlaków, spowodowane obecnością mutacji w genach kodujących białka zaangażowane w przekazywanie sygnałów, zostały zaobserwowane w wielu typach nowotworów (Ryc. 3).

Inicjacja szlaku Wnt odbywa się poprzez przyłączenie rozpoznającego receptor FZD liganda WNT. Skutkiem tego jest fosforylacja białka wewnątrzblonowego DVL, które następnie oddziałuje z kompleksem APC/Axin. Połączenie to wywołuje hamowanie działania kinaz GSK-3 $\beta$  i CK1 $\alpha$ , które w normalnych warunkach odpowiadają za fosforylację  $\beta$ -kateniny, by mogła ulec degradacji. Aktywna  $\beta$ -katenina przenika do jądra komórkowego aktywując syntezę czynników transkrypcyjnych Tcf/Lef. Ma to wpływ na indukcję ekspresji genów docelowych odpowiedzialnych za proliferację, apoptozę i indukcję cyklu komórkowego. Nieprawidłową aktywację szlaku Wnt obserwuje się w szeregu nowotworów np. jelita grubego, piersi czy skóry. W przypadku nowotworu jelita grubego, zaburzenia regulacji ścieżki sygnalizacyjnej indukowanej przyłączeniem Wnt są łączone z występowaniem mutacji w genach kodujących białka APC i  $\beta$ -kateninę. Zmiany w strukturze białka APC wykryto u 80% pacjentów z tym typem nowotworu. Mutacje te inaktywują funkcję tego polipeptydu blokując fosforylację i degradację  $\beta$ -kateniny prowadząc do aktywacji ścieżki Wnt [1,35].

W ścieżce Hedgehog przyłączenie aktywnej formy białka Shh do receptora PCTH doprowadza do aktywacji receptora SMO, czego wynikiem jest rozszczepienie i przemieszczenie do jądra komórkowego białka Gli. Ma to bezpośredni wpływ na aktywację ekspresji genów docelowych. Nieprawidłową aktywację szlaku Hedgehog wy-

## POTENCJALNE ZASTOSOWANIE KOMÓREK MACIERZYSTYCH

Rozwój medycyny regeneracyjnej wykorzystującej komórki macierzyste do celów badawczych jest bardzo szybki. Odnotowano szereg przypadków ich zastosowania w praktyce klinicznej. Doniesienia wskazują, że komórki macierzyste szpiku kostnego mogą być z sukcesem stosowane w terapiach antynowotworowych. Są również wykorzystywane w poszukiwaniu leków w terapiach innych schorzeń [4].

## USZKODZENIA MIĘŚNIA SERCOWEGO

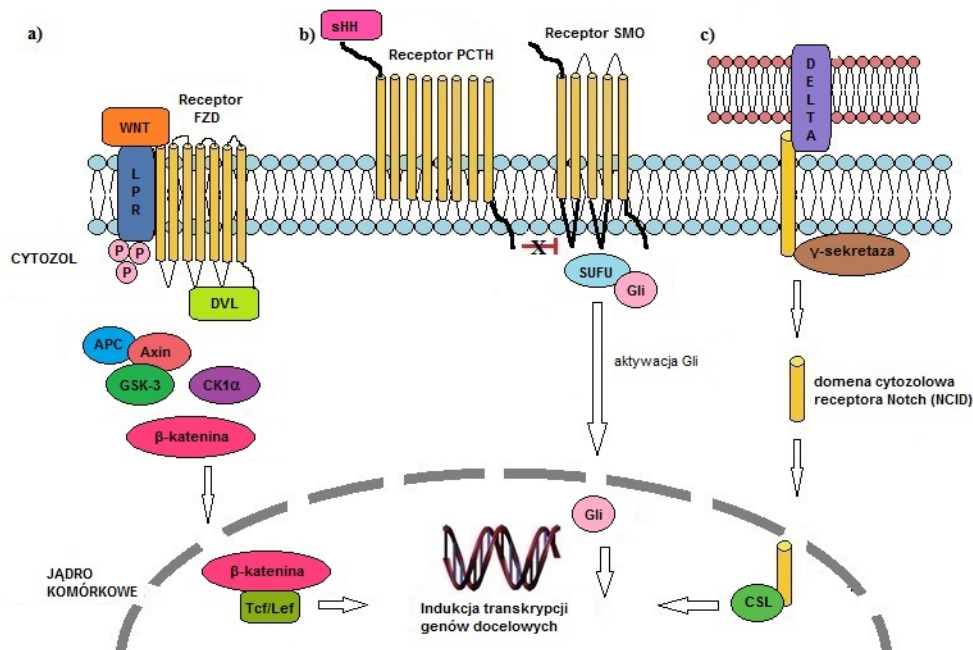
Choroby układu sercowo-naczyniowego są najczęstszą przyczyną zgonów w Polsce, a także na świecie. W przeciwieństwie do niższych kręgowców [13,37], dorosłe ssaki nie posiadają zdolności do naturalnej odnowy tkanek wchodzących w skład serca, a co za tym idzie możliwości regeneracji komórek mięśnia sercowego [37,38].

Pierwsze kliniczne próby zastosowania komórek macierzystych w leczeniu chorób serca sięgają 10 lat. W fazie badań klinicznych znajdują się terapie wykorzystujące komórki macierzyste w leczeniu niektórych chorób mięśnia sercowego. Badania prowadzone w ramach medycyny regeneracyjnej serca skierowane są głównie w kierunku stymulacji endogennych mechanizmów regeneracji uszkodzeń z wykorzystaniem komórek macierzystych [39]. W badaniach wykorzystywane są najczęściej mezenchymalne komórki macierzyste pozyskiwane z tkanek somatycznych (np. szpiku kostnego, tkanki tłuszczowej, mięśni szkieletowych) lub pochodzące od noworodków (np. krew pępowinowa, łożysko) [37,40].

Należy przy tym podkreślić, że przeszczep komórek szpiku kostnego do uszkodzonych tkanek najczęściej przywraca prawidłowe funkcjonowanie mięśnia sercowego [41]. Ze względu na zdolność do proliferacji w tym celu wykorzystuje się komórki mezenchymalne szpiku kostnego. Wykazują one potencjał w naprawie mięśnia sercowego [37,39,42]. Jest to związane przede wszystkim z redukcją rozmiaru bliznowateń np. po zawale lub innym uszkodzeniu mięśnia sercowego [43,44].

## LECZENIE RAN I OPARZEŃ

Proces gojenia się ran jest złożony i angażuje: różne typy komórek, czynniki wzrostu, cytokiny oraz elementy macierzy zewnątrzkomórkowej. Ważną rolę odgrywają komórki macierzyste naskórki, skórne prekursorzy fibroblastów, a także komórki macierzyste tkanki tłuszczowej czy szpiku kostnego [45]. W ostatniej dekadzie terapie z wykorzystaniem komórek macierzystych uznano jako obiecujące w go-



Rycina 3. Szlaki sygnalizacyjne: Wnt (a), Hedgehog (b) i Notch (c).

kryto w nowotworze piersi, szpiczaku mnogim czy przewlekłej białaczce szpikowej [35]. Wysoką ekspresję genów kodujących białka SMO i Gli obserwowano w nowotworowych komórkach macierzystych. Natomiast aktywacja szlaku HH poprzez przyłączenie liganda prowadzi zwykle do zwiększenia ekspansji komórek CS. Dodatkowe dane potwierdzają, że ścieżka HH sprzyja samoodnowie nowotworowych komórek macierzystych oraz ich proliferacji [1,35].

W kolejnym szlaku przekazywania sygnału z udziałem receptora Notch przyłączenie liganda zlokalizowanego na sąsiedniej komórce wywołuje oddziaływanie z domeną przez błonową receptora doprowadzając do uwolnienia domeny cytosolowej. Jest ona transportowana do jądra, gdzie oddziałuje z białkiem CSL indukując ekspresję genów docelowych istotnych dla procesu samoodnowy nowotworowych komórek macierzystych (np. Oct4, Sox2, Nanog, c-myc) [35]. U ssaków zidentyfikowano cztery receptory Notch (Notch 1-4) oraz pięć ligandów (Jagged 1 i 2 oraz Delta 1, 3 i 4) [36]. Zaburzone funkcjonowanie ścieżki sygnałowej Notch odgrywa kluczową rolę w nowotworze piersi, trzustki i mózgu (glejak). U pacjentów z glejakiem obserwowano podwyższoną ekspresję kinazy białkowej C, a jej wyciszenie prowadziło do apoptozy i zmniejszenia szybkości proliferacji nowotworowych komórek macierzystych *in vitro*. W przypadku pacjentów z rakiem trzustki wykryto wzrost ekspresji ligandów oraz genu *Hes1* w komórkach CS [1,35].

Przeprowadzone badania wskazują, że nowotworowe komórki macierzyste pełnią ważną rolę w powstawaniu i przerzutowaniu nowotworów oraz oporności na leczenie. Dużą rolę pełnią w tym szlaki sygnalizacyjne, a szczególne poznanie mechanizmów ich działania ma kluczowy wpływ na rozwój skutecznej terapii antynowotworowej.

**Tabela 2.** Wykaz czynników produkowanych przez mezenchymalne komórki macierzyste

Czynniki wzrostu oraz cytokiny związane z mezenchymalnymi komórkami macierzystymi	
Transformujący czynnik wzrostu $\beta$	(ang. transforming growth factor-beta, TGF- $\beta$ )
Transformujący czynnik wzrostu $\alpha$	(ang. transforming growth factor-alpha, TGF- $\alpha$ )
Czynnik wzrostu śródbłonna naczyń	(ang. vascular endothelial growth factor, VEGF)
Angiopoetyna-1	(ang. angiopoietin-1, Apo-1)
Czynnik wzrostu naskórka	(ang. epidermal growth factor, EGF)
Czynnik wzrostu fibroblastów	(ang. basic fibroblast growth factor, bFGF)
Czynnik wzrostu keratynocytów	(ang. keratinocyte growth factor, KGF)
Czynnik martwicy nowotworów $\alpha$ stymulujący białko 6	(ang. tumor necrosis factor- $\alpha$ , [TNF- $\alpha$ ] stimulated protein 6 [TSG-6])
Insulinopodobny czynnik wzrostu	(ang. insulin-like growth factor, IGF)
Interleukiny: -6, -8, -1, -4, -10	(ang. interleukin: -6, -8, -1, -4, -10, IL)

jeniu ran czy zapobieganiu tworzenia blizn, ponieważ zwykle mają wpływ na zwiększenie dynamiki procesu gojenia. Komórki macierzyste mogą zastępować zniszczone komórki (fibroblasty, keratynocyty), a zaburzenia w ich funkcjonowaniu stymulują tworzenie blizn przerostowych [46,47]. Mogą także wykazać właściwości immunomodulujące oraz sprzyjające angiogenezie prowadząc do wydzielania interleukin i białek (Tab. 2) [46,48,49].

Różnicowanie komórek macierzystych wydaje się być miejscowo-specyficzne. Lokalnie wprowadzone komórki macierzyste oddziałują z macierzą zewnątrzkomórkową (ECM, ang. *extracellular matrix*) poparzonej tkanki. Oddziaływanie te indukują zmiany w ekspresji genów specyficznych markerów komórek macierzystych wpływając na ich różnicowanie. Oparzenia wywołują odpowiedź immunologiczną w miejscu uszkodzenia, co może mieć wpływ na działanie całego organizmu. Komórki macierzyste wydzielając czynniki wzrostu mogą być efektywnymi stymulatorami syntezy angiopoetyny-1 oraz czynnika wzrostu śródbłonna naczyń, co wpływa na stymulację powstawania naczyń krwionośnych [46,50].

Lokalne podawanie do uszkodzonej tkanki komórek macierzystych indukuje także wydzielanie interleukiny-10 oraz czynnika martwicy nowotworów  $\alpha$ , który działa na białko 6 (TSG-6). TSG-6 następnie hamuje aktywację makrofagów osłabiając rozwój stanu zapalnego. Natomiast obniżenie produkcji dimeru TGF- $\beta$ 1/TGF- $\beta$ 3 może mieć wpływ na spowolnienie tworzenia blizn [46,51].

## URAZ RDZENIA KRĘGOWEGO

Urazy rdzenia kręgowego towarzyszą zwykle ciężkim urazom kręgosłupa. Przyjmuje się, że rocznie mogą one dotyczyć nawet 15-40 milionów ludzi na świecie [52]. Schorzenia kręgosłupa mogą być spowodowane wypadkami komunikacyjnymi, upadkami, aktywnością sportową, infekcjami czy obecnością chorób nowotworowych. W większości przypadków uraz rdzenia kręgowego dotyczy osób młodych, dlatego też rozwój metod wykorzystujących komórki

macierzyste, umożliwiających odbudowanie powstałego uszkodzenia jest niezwykle ważne. Komórkami macierzystymi znajdującymi zastosowanie w leczeniu schorzeń związanych z rdzeniem kręgowym są: nerwowe oraz embrionalne komórki macierzyste, komórki macierzyste szpiku kostnego oraz komórki iPS [52].

Wykorzystanie komórek macierzystych w leczeniu urazów rdzenia kręgowego opiera się na:

a) próbach zastąpienia uszkodzonych neuronów w rdzeniu kręgowym komórkami macierzystymi. Po przeszczepie komórki macierzyste mogą różnicować się w neurony i komórki glejowe. Powstałe nowe połączenia między neuronami wpływają na odbudowanie ciągłości rdzenia kręgowego

[52,53].

b) ochronie neuronów pierwotnie występujących w rdzeniu i zapobieganiu indukcji apoptozy. Udowodniono, że przeszczepianie komórek macierzystych po uszkodzeniu rdzenia może wpływać na obniżenie ekspresji genów związanych z regulacją stanu zapalnego i programowaną śmiercią komórki. Może także zwiększyć ekspresję genów odpowiedzialnych za funkcje obronne neuronów, co może zapobiegać ponownemu ich uszkodzeniu [52,54].

c) pobudzaniu regeneracji aksonów i tworzeniu synaps. Po przeszczepie komórki macierzyste oddziałują z otaczającymi tkankami, stymulując m.in. produkcję czynnika wzrostu nerwów (NGF, ang. *nerve growth factor*) czy czynnika wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF, ang. *vascular endothelial growth factor*). Doprowadza to do zmiany składników mikrośrodowiska w obrębie urazu, co przyspiesza wzrost aksonów, wpływając na połączenie uszkodzonej części dystalnej z proksymalną rdzenia [52,55,56].

d) pobudzeniu tworzenia osłonki mielinowej dookoła nieuszkodzonych i nowo powstałych aksonów. Przeszczepione komórki macierzyste mogą różnicować się w oligodendrocyty oraz komórki glejowe. Doprowadza to do stymulacji tworzenia otoczki mielinowej i przyspiesza powrót do zdrowia pacjentów z urazem rdzenia kręgowego [52,57-59].

Należy przy tym podkreślić, że zanim te metody będą mogły zostać wprowadzone do praktyki klinicznej muszą zostać rozwiązane przeszkody proceduralno-etyczne. Najważniejszą z nich jest ograniczona dostępność komórek macierzystych oraz problemy natury etycznej związane z przeszczepianiem nerwowych i embrionalnych komórek macierzystych. Natomiast te problemy nie wydają się być tak ważne w przypadku przeszczepiania hodowanych *in vitro* komórek szpiku kostnego. Komórki te zwykle wymagają od 2 do 4 tygodni hodowli *in vitro* zanim zostaną przeszczepione w celach terapeutycznych [52].

Kolejnym źródłem komórek macierzystych mogą być komórki iPS. Potrzeba jednak długoterminowych badań na zwierzętach zanim będą mogły zostać wprowadzone do zastosowań klinicznych. Ponadto istnieją także między pacjentami znaczne różnice w zakresie stopnia i miejsca urazu rdzenia kręgowego. Trudno więc znaleźć wystarczającą liczbę podobnych przypadków do przeprowadzenia badań klinicznych [52,60]. Z uwagi na niewystarczającą liczbę chorych z podobnymi urazami porównywanie reakcji pacjentów w kierunku leczenia urazów rdzenia kręgowego jest obecnie utrudnione.

## USZKODZENIA WĄTROBY

W odpowiedzi na uszkodzenia wątroby spowodowane m.in. współistnieniem długotrwałych stanów zapalnych, nadużywaniem alkoholu i narkotyków, chorobami metabolicznymi czy chorobami autoimmunologicznymi wątroby lub dróg żółciowych, może dochodzić do zwłóknienia wątroby co najczęściej powoduje niewydolność jej pracy i zwykle prowadzi do marskości. W powyższych przypadkach w celach leczniczych wykorzystuje się przeszczep wątroby. Stosowanie jednak tej procedury jest ograniczone ze względu na konieczność oczekiwania na odpowiedniego dawcę. Alternatywą dla transplantacji mogłoby być także przeszczepianie hepatocytów. Jednak do stosowania tego sposobu terapii w praktyce klinicznej jest wymagana duża ich liczba. Dlatego też konieczne jest poszukiwanie nowych źródeł pozyskiwania komórek do celów transplantacyjnych [61]. Nowym podejściem mogącym pomóc w leczeniu chorób wątroby wydaje się być przeszczepianie komórek macierzystych. Wyniki badań prowadzonych eksperymentów wskazują potencjalną możliwość różnicowania embrionalnych komórek macierzystych w hepatocyty. Badania te wykonywano na komórkach pochodzących z krwi pępowinowej oraz somatycznych (mezenchymalnych) komórkach macierzystych, a także komórkach iPS [61-66]. Obecnie prowadzi się badania kliniczne mające na celu opracowanie skutecznych metod wykorzystujących komórki macierzyste do regeneracji wątroby, jednak większość z nich jest we wczesnej fazie badań i potrzeba wielu lat, aby terapie z zastosowaniem komórek macierzystych wprowadzić do stosowania w praktyce klinicznej [67-69].

## PRZYSZŁOŚĆ TERAPII Z UDZIAŁEM KOMÓREK MACIERZYSTYCH

Komórki macierzyste mogą być wykorzystywane w leczeniu nowotworów, naprawie uszkodzonych tkanek, a także w leczeniu chorób neurodegeneracyjnych. Możliwości zastosowania komórek macierzystych do celów klinicznych związanych z regeneracją tkanek zauważono wiele lat temu, co doprowadziło do rozwoju transplantologii.

Przyjmuje się, że sukces działania komórek macierzystych zależy od następujących czynników: typu zastosowanej komórki, zdolności tej komórki do proliferacji i różnicowania, drogi i miejsca podawania czy zdolności do przeżycia przeszczepionych komórek. Potrzebna jest większa liczba badań by poznać szczegółowo mechanizmy działania komórek macierzystych w celu zwiększenia ich

terapeutycznej skuteczności oraz zapewnienia bezpieczeństwa ich stosowania w leczeniu pacjentów. Lepsze poznanie mechanizmów działania komórek macierzystych umożliwi docelowo efektywniejsze leczenie chorób, na które obecnie nie ma skutecznej terapii. Regeneracja tkanek i organów z wykorzystaniem komórek macierzystych jest i pozostanie wyzwaniem dla transplantologii i inżynierii tkankowej. Komórki macierzyste otrzymane z tkanek człowieka lub uzyskane z komórek płodowych (krwi pępowinowej, łożyska czy znajdujących się w owodni) są atrakcyjnym narzędziem w medycynie regeneracyjnej. Dla lepszego zrozumienia procesów biologicznych i molekularnych mechanizmów różnicowania komórek macierzystych potrzeba jeszcze wielu badań by umożliwić wykorzystanie komórek macierzystych w leczeniu chorób.

## PIŚMIENNICTWO

1. Pergo P, Nowak-Stępniewska A, Drela K, Padzik-Graczyk A (2013) Znaczenie komórek macierzystych w inicjacji i rozwoju nowotworów. *Postępy Biochem* 59: 45-52
2. Kapusta J, Pniewski T, Bal J (2013) *Biologia molekularna w medycynie. Elementy genetyki klinicznej.* Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa; 419-425
3. Kubiak JZ, Ciemierych MA (2013) Od Gurdon do Yamanaki, czyli krótka historia programowania. *Postępy Biochem* 59: 124-130
4. Liu S, Zhou J, Zhang X, Liu Y, Chen J, Hu B, Song J, Zhang Y (2016) Strategies to optimize adult stem cell therapy for tissue regeneration. *Int J Mol Sci* 17: 982
5. Park JS, Suryaparakash S, Lao YH, Leong KW (2015) Engineering mesenchymal stem cells for regenerative medicine and drug delivery. *Methods* 84: 3-16
6. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, Yamanaka S (2007) Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblast by defined factors. *Cell* 131: 861-872
7. Takahashi K, Yamanaka S (2006) Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126: 663-676
8. Stuart MJ, Pattavilakom A (2015) Clinically relevant aspects of stem cell technologies: current state of play. *ANZ J Surg* 85: 615-619
9. Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL, Tian S, Nie J, Jonsdottir GA, Ruotti V, Stewart R, Slukvin II, Thomson JA (2007) Induction of pluripotent stem cells lines derived from human somatic cells. *Science* 318: 1917-1920
10. Sproul AA (2015) Being human: The role of pluripotent stem cells in regenerative medicine and humanizing Alzheimer's disease models. *Mol Aspects Med* 43-44: 54-65
11. Wang T, Warren ST, Jin P (2013) Toward pluripotency by reprogramming: mechanisms and application. *Protein Cell* 4: 820-832
12. Archacka K, Grabowska I, Ciemierych MA (2010) Indukowane komórki pluripotenne - nadzieje, obawy i perspektywy. *Postępy Biol Kom* 37: 41-62
13. Gao XM, Zhang R, Dong QZ, Qin LX (2016) Properties and feasibility of using cancer stem cells in clinical cancer treatment. *Cancer Biol Med* 13: 489-495
14. Gupta GP, Massagué J (2006) Cancer metastasis: building a framework. *Cell* 127: 679-695
15. Shiozawa Y, Nie B, Pienta KJ, Morgan TM, Taichman RS (2013) Cancer stem cells and their role in metastasis. *Pharmacol Ther* 138: 285-293
16. Vicari L, Colarossi C, Giuffrida D, de Maria R, Memeo L (2016) Cancer stem cells as a potential therapeutic target in thyroid carcinoma. *Oncol Lett* 12: 2254-2260
17. Szaryńska M, Kmiec Z (2011) Rola nowotworowych komórek macierzystych w patogenezie i terapii chorób nowotworowych. *Forum Medycyny Rodzinnej* 5: 47-56


18. Bonnet D, Dick JE (1997) Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med* 3: 730-737
19. Al-Hajj M, Wicha MS, Bonito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF (2003) Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 3983-3988
20. Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, Squire JA, Bayani J, Hide T, Henkelman RM, Cusimano MD, Dirks PB (2004) Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature* 432: 396-401
21. Collins AT, Berry PA, Hyde C, Stower MJ, Maitland N (2005) Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells. *Cancer Res* 65: 10946-10951
22. Eramo A, Lotti F, Sette G, Pillozzi E, Biffoni M, Di Virgilio A, Conticello C, Ruco L, Peschle C, De Maria R (2008) Identification and expansion of the tumorigenic lung cancer stem cell population. *Cell Death Differ* 15: 504-514
23. Yang ZF, Ngai P, Ho DW, Yu WC, Ng MN, Lau CK, Li ML, Tam KH, Lam CT, Poon RT, Fan ST (2008) Identification of local and circulating cancer stem cells in human liver cancer. *Hepatology* 47: 919-928
24. Li C, Heidt DG, Dalerba P, Burant CF, Zhang L, Adsay V, Wicha M, Clarke MF, Simeone DM (2007) Identification of pancreatic cancer stem cells. *Cancer Res* 67: 1030-1037
25. Oh J, Hlatky L, Jeong YS, Kim D (2016) Therapeutic effectiveness of anticancer phytochemicals on cancer stem cells. *Toxins* 8: 199
26. Ginestier C, Hur MH, Charafe-Jauffret E, Monville F, Dutcher J, Brown M, Jacquemier J, Viens P, Kleer C, Liu S, Schott A, Hayes D, Birnbaum D, Wicha MS, Dontu G (2007) ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome. *Cell Stem Cell* 1: 555-567
27. Vander Griend DJ, Karthaus WL, Dalrymple S, Meeker A, DeMarzo AM, Isaacs JT (2008) The role of CD133 in normal human prostate cancer stem cells and malignant cancer-initiating cells. *Cancer Res* 68: 9703-9711
28. Williamson SC, Hepburn AC, Wilson L, Coffey K, Ryan-Munden CA, Pal D, Leung HY, Robson CN, Heer R (2012) Human  $\alpha 2 \beta 1^{hi}$  CD133<sup>+</sup> epithelial prostate stem cells express low levels of active androgen receptor. *PLoS One* 7: 48994
29. Fitzgerald TL, McCubrey JA (2014) Pancreatic cancer stem cells: association with cell surface markers, prognosis, resistance, metastasis and treatment. *Adv Biol Regul* 56: 45-50
30. Hermann PC, Huber SL, Herrlet T, Aicher A, Ellwart JW, Guba M, Bruns CJ, Heeschen C (2007) Distinct populations of cancer stem cells determine tumor growth and metastatic activity in human pancreatic cancer. *Cell Stem Cell* 1: 313-323
31. Bertolini G, Roz L, Perego P, Tortoreto M, Fontanella E, Gatti L, Pratesi G, Fabbri A, Andriani F, Tinelli S, Roz E, Caserini R, Lo Vullo S, Camerini T, Mariani L, Delia D, Calabrò E, Pastorino U, Sozzi G (2009) Highly tumorigenic lung cancer CD133<sup>+</sup> cells display stem-like features and are spared by cisplatin treatment. *Proc Natl Acad Sci USA* 106: 16281-16286
32. Tirino V, Camerlingo R, Franco R, Malanga D, La Rocca A, Viglietto G, Rocco G, Pirozzi G (2009) The role of CD133 in the identification and characterization of tumour-initiating cells in non-small-cell lung cancer. *Eur J Cardiothorac Surg* 36: 446-453
33. Tomuleasa C, Soritau O, Rus-Ciucu D, Pop T, Todea D, Mosteanu O, Pintea B, Foris V, Susman S, Kacso G, Irimie A (2010) Isolation and characterization of hepatic cancer cells with stem-like properties from hepatocellular carcinoma. *J Gastrointest Liver Dis* 19: 61-67
34. Yang ZF, Ho DW, Ng MN, Lau CK, Yu WC, Ngai P, Chu PW, Lam CT, Poon RT, Fan ST (2008) Significance of CD90<sup>+</sup> cancer stem cells in human liver cancer. *Cancer Cell* 13: 153-166
35. Koury J, Zhong L, Hao J (2017) Targeting signaling pathways in cancer stem cells for cancer treatment. *Stem Cells Int* 2017: 2925869
36. Miele L (2006) Notch signaling. *Clin Cancer Res* 12: 1074-1079
37. Singh A, Singh A, Sen D (2016) Mesenchymal stem cells in cardiac regeneration: a detailed progress report of the last 6 years (2010-2015). *Stem Cells Res Ther* 7: 82
38. Choi WY, Poss KD (2012) Cardiac regeneration. *Curr Top Dev Biol* 100: 319-344
39. Lin X, Peng P, Cheng L, Chen S, Li K, Li ZY, Mo YH, Zhou Z, Li M (2012) A natural compound induced cardiogenic differentiation of endogenous MSCs for repair of infarcted heart. *Differentiation* 83: 1-9
40. Hass R, Kasper C, Bohm S, Jacobs R (2011) Different populations and sources of human mesenchymal stem cells (MSC): a comparison of adult and neonatal tissue-derived MSC. *Cell Commun Signal* 9: 12
41. Tomita S, Li RK, Weisel RD, Mickle DA, Kim EJ, Sakai T, Jia ZQ (1999) Autologous transplantation of bone marrow cells improves damaged heart function. *Circulation* 100: 247-256
42. Wen Z, Zheng S, Zhou C, Wang J, Wang T (2011) Repair mechanisms of bone marrow mesenchymal stem cells in myocardial infarction. *J Cell Mol Med* 15: 1032-1043
43. Rahbarghazi R, Nassiri SM, Ahmadi SH, Mohammadi E, Rabbani S, Araghi A, Hosseinkhani H (2014) Dynamic induction of pro-angiogenic milieu after transplantation of marrow-derived mesenchymal stem cells in experimental myocardial infarction. *Int J Cardiol* 173: 453-466
44. Zhao JJ, Liu XC, Kong F, Qi TG, Cheng GH, Wang J, Sun C, Luan Y (2014) Bone marrow mesenchymal stem cells improve myocardial function in a swine model of acute myocardial infarction. *Mol Med Rep* 10: 1448-1454
45. Pikula M, Langa P, Kosikowska P, Trzonkowski P (2015) Komórki macierzyste i czynniki wzrostu w gojeniu ran. *Postepy Hig Med Dosw* 69: 874-885
46. Ozturk S, Karagoz H (2015) Experimental stem cell therapies on burn wound: do source, dose, timing and method matter? *Burns* 41: 1133-1139
47. Phinney DG, Orockop DJ (2007) Concise review: mesenchymal stem/multipotent stromal cells: the state of transdifferentiation and models of tissue repair-current views. *Stem Cells* 25: 2896-2902
48. Jackson WM, Nesti LJ, Tuan RS (2012) Mesenchymal stem cell therapy for attenuation of scar formation during wound healing. *Stem Cell Res Ther* 3: 20
49. Le Blanc K (2003) Immunomodulatory effects of fetal and adult mesenchymal stem cells. *Cytotherapy* 5: 485-489
50. Kinnaird T, Stabile E, Burnett MS, Shou M, Lee CW, Barr S, Gutsch S, Epstein SE (2004) Local delivery of marrow-derived stromal cells augments collateral perfusion through paracrine mechanisms. *Circulation* 109: 1543-1549
51. Qi Y, Jiang D, Sindrilaru A, Stegemann A, Schatz S, Treiber N, Rojewski M, Schrezenmeier H, Vender Beken S, Wlasczek M, Bohm M, Seitz A, Scholz N, Durselen L, Brinckmann J, Ignatius A, Scharffetter-Kochanek K (2014) TSG-6 released from intradermally injected mesenchymal stem cell accelerates wound healing and reduces tissue fibrosis in murine full-thickness skin wounds. *J Invest Dermatol* 134: 526-537
52. Muheremu A, Peng J, Ao Q (2016) Stem cell based therapies for spinal cord injury. *Tissue Cell* 48: 328-333
53. Stenudd M, Sabelström H, Frisén J (2014) Role of endogenous neural stem cells in spinal cord injury and repair. *JAMA Neurol* 72: 235-237
54. Oliveri RS, Bello S, Biering-Sørensen F (2014) Mesenchymal stem cells improve locomotor recovery in traumatic spinal cord injury: systematic review with meta-analyses of rat models. *Neurobiol Dis* 62: 338-353
55. Dalous J, Larghero J, Baud O (2012) Transplantation of umbilical cord-derived mesenchymal stem cells as a novel strategy to protect the central nervous system: technical aspects, preclinical studies, and clinical perspectives. *Pediatr Res* 71: 482-490
56. De Feo D, Merlini A, Laterza C, Martino G (2012) Neural stem cell transplantation in central nervous system disorders: from cell replacement to neuroprotection. *Curr Opin Neurol* 25: 322-333
57. Cusimano M, Bizziato D, Brambilla E, Donegà M, Alfaro-Cervello C, Snider S (2012) Transplanted neural stem/precursor cells instruct phagocytes and reduce secondary tissue damage in the injured spinal cord. *Brain* 135: 447-460
58. Lu P, Woodruff G, Wang Y, Graham L, Hunt M, Wu D, Tuszynski MH (2014) Long-distance axonal growth from human induced pluripotent stem cells after spinal cord injury. *Neuron* 83: 789-796

59. Yang N, Zuchero JB, Ahlenius H, Marro S, Ng YH, Vierbuchen T, Wernig M (2013) Generation of oligodendroglial cells by direct lineage conversion. *Nat Biotechnol* 31: 434-439
60. Okano H, Nakamura M, Yoshida K, Okada Y, Tsuji O, Nori S, Miura K (2013) Steps toward safe cell therapy using induced pluripotent stem cells. *Circ Res* 112: 523-533
61. Stoltz JF, de Isla N, Li YP, Bensoussan D, Zhang L, Huselstein C, Chen Y, Decot V, Magdalou J, Li N, Reppel L, He Y (2015) Stem cells and regenerative medicine: myth or reality of the 21st Century. *Stem Cells Int* 2015: 734731
62. Jozefczuk J, Prigione A, Chavez L, Adjaye J (2011) Comparative analysis of human embryonic stem cell and induced pluripotent stem cell-derived hepatocyte-like cells reveals current drawbacks and possible strategies for improved differentiation. *Stem Cells Dev* 20: 1259-1275
63. Ramasamy TS, Yu JS, Selden C, Hodgson H, Cui W (2013) Application of three-dimensional culture conditions to human embryonic stem cell-derived definitive endoderm cells enhances hepatocyte differentiation and functionality. *Tissue Eng* 19: 360-367
64. Rashid ST, Corbineau S, Hannan N, Marciniak SJ, Miranda E, Alexander G, Huang-Doran I, Griffin J, Ahrlund-Richter L, Skepper J, Semple R, Weber A, Lomas DA, Vallier L (2010) Modeling inherited metabolic disorders of the liver using human induced pluripotent stem cells. *J Clin Invest* 120: 3127-3136
65. Si-Tayeb K, Noto FK, Nagaoka M, Li J, Battle MA, Duris Ch, North PE, Dalton S, Duncan SA (2010) Highly efficient generation of human hepatocyte-like cells from induced pluripotent stem cells. *Hepatology* 51: 297-305
66. Zhao Q, Ren H, Li X, Chen Z, Zhang X, Gong W, Liu Y, Pang T, Han ZC (2009) Differentiation of human umbilical cord mesenchymal stromal cells into low immunogenic hepatocyte-like cells. *Cytotherapy* 11: 414-426
67. Cen P, Chen J, Hu C, Fan L, Wang J, Li L (2016) Noninvasive in-vivo tracing and imaging of transplanted stem cells for liver regeneration. *Stem Cell Res Ther* 7: 143
68. Margini C, Vukotic R, Brodosi L, Bernardi M, Andreone P (2014) Bone marrow derived stem cells for the treatment of end-stage liver disease. *World J Gastroenterol* 20: 9098-9105
69. Trounson A, McDonald C (2015) Stem cell therapies in clinical trials: progress and challenges. *Cell Stem Cell* 17: 11-22

## Potential application for stem cells in regenerative medicine and transplantology

Aleksandra Szustka, Małgorzata Rogalińska 

Department of Cytobiochemistry, University of Lodz, 141/143 Pomorska St, 90-236 Łódź, Poland

 e-mail: malgorzata.rogalinska@biol.uni.lodz.pl

**Key words:** stem cells, cancer stem cells, signaling pathways, burn wound healing, regenerative medicine, transplantology

### ABSTRACT

There are some cells in human body which have an ability to self-renewal and differentiation into particular type of cell. They are classified according to the source of gain and ability to differentiate. Several studies carry on directed stem cells programming toward formation of particular type of cells and also reprogramming somatic stem cells for induced pluripotent stem cells. In the future it could bring hope in elaboration of new ways of disease curing that will give a chance for getting healthy (especially cancers). Stem cells display application in regenerative medicine. They facilitate in repair of damaged or dysfunctional tissues using cells derived from patients. In many cancer types the presence of cancer stem cells was observed. Their ability to self-renewal and unlimited proliferation might be the reason of metastasis and relapse of cancer. The knowledge on complexed signaling pathways and mechanisms of their regulation may be crucial and should lead to elaboration of effective anticancer therapies.