

KAMIL WARTALSKI, GABRIELA GORCZYCA, MAŁGORZATA DUDA

*Zakład Endokrynologii
Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych
Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
Gronostajowa 9, 30-387 Kraków
E-mail: kamil.wartalski@uj.edu.pl*

W POSZUKIWANIU CZĘŚCI ZAMIENNYCH – CZY DOROSŁE KOMÓRKI MACIERZYSTE OKAZA SIĘ KAMIENIEM MIŁOWYM MEDYCYNY REGENERACYJNEJ?

CHARAKTERYSTYKA KOMÓREK MACIERZYSTYCH

W komórkach macierzystych, zwłaszcza tych izolowanych z tkanek dorosłego organizmu, pokłada się ogromne nadzieje związane z ich potencjalnym wykorzystaniem w terapii komórkowej, transplantologii czy medycynie regeneracyjnej. Obecnie jest to jeden z najdynamiczniej rozwijających się obszarów wiedzy. Chcąc zdefiniować komórki macierzyste (ang. stem cells, SCs), możemy powiedzieć, że są to pierwotne, niezróżnicowane komórki cechujące się praktycznie nieograniczoną zdolnością do podziałów i plastycznością (WEISSMAN 2000a). Co to oznacza? Komórki rozwijającego się organizmu ulegają stopniowej specjalizacji, dzięki czemu mogą pełnić określone funkcje. Przykładowo, neurony przekazują impulsy nerwowe, eryocyty z kolei odpowiadają za transport tlenu i dwutlenku węgla w organizmie. Tej stopniowej specjalizacji komórek towarzyszy ograniczenie lub wręcz utrata zdolności do proliferacji i różnicowania. Komórki macierzyste, nawet te obecne w dorosłym organizmie, zachowują swój niezróżnicowany charakter i zdolność samoodnowy, chociaż należy zaznaczyć, że z upływem czasu tracą swoje własności (KÖRBLING i ESTROV 2003). W odpowiednich warunkach, pod wpływem pewnych czynników, komórki te mogą przekształcać się w komórki wyspecjalizowane. Cecha ta określa potencjał komórek macierzystych do różnicowania, czyli plastyczność. Badania z ostat-

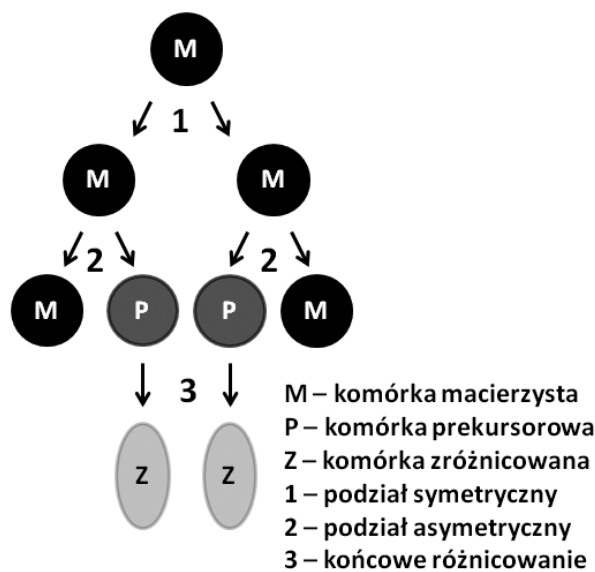
nich lat dowodzą, że SCs w niewielkiej liczbie występują w większości tkanek i narządów jako małe komórki z dużym jądrem i otaczającym go wąskim rąbkim cytoplazmy (WEISSMAN 2000b).

Ze względu na zdolność do różnicowania możemy podzielić komórki macierzyste na:

- totipotencjalne – o nieograniczonej zdolności do różnicowania;
- pluripotencjalne – posiadające zdolność do różnicowania w komórki każdego z trzech listków zarodkowych (endodermi, ektodermi i mezodermi);
- multipotencjalne – posiadające zdolność do różnicowania w komórki tylko jednego listka zarodkowego;
- unipotencjalne – odtwarzające tylko jeden rodzaj komórek (SCHOLER 2007).

Przyjmując jako kryterium podziału miejsce ich pochodzenia, możemy wyróżnić:

- zarodkowe (embrionalne) komórki macierzyste (ang. embryonic stem cells, ESCs) obecne w zarodkach na wczesnych etapach rozwoju. Na początku mają charakter totipotencjalny jednak wraz z rozwojem zarodka zmieniają się w pluripotencjalne;
- płodowe komórki macierzyste (ang. fetal stem cells, FSCs), komórki multipotencjalne obecne m.in. w krwi pępowinowej;
- dorosłe (inaczej dojrzałe lub somatyczne) komórki macierzyste (ang. adult stem cells, ASCs), obecne w niewielkiej liczbie w większości tkanek i narządów. Zasiedlają w nich specjalne nisze. ASCs mają zwykle charakter unipotencjalny, jednak jak wska-



Ryc. 1. Różnicowanie komórek macierzystych.

zują liczne doniesienia, mogą być również multipotencjalne (KÖRBLING i ESTROV 2003).

Komórki macierzyste mają zdolność do różnicowania, która opiera się na dwóch typach podziałów: symetrycznym i asymetrycznym. W wyniku podziału symetrycznego powstają dwie identyczne komórki macierzyste. Jest to jedna z cech charakterystycznych tych komórek. Natomiast w wyniku podziału niesymetrycznego, jedna z komórek pozostaje komórką macierzystą, która uzupełnia pulę komórkową (samoodnowa), a druga przekształca się w komórkę prekursorową. W wyniku dalszych podziałów komórka prekursorowa różnicuje w komórkę danej tkanki lub narządu (Ryc. 1). Komórka prekursorowa ma zdolność do ostatecznego zróżnicowania, ale nie wykazuje zdolności do samoodnowy (MORRISON i współaut. 1997).

Przedstawiona klasyfikacja komórek macierzystych jest klasyfikacją uproszczoną, która nie oddaje w pełni ich różnorodności. Trudność w klasyfikacji wynika z dużej plastyczności SCs, rozumianej jako pewnego rodzaju niestabilność fenotypowa, przez wielu uznawana za najbardziej charakterystyczną cechę tych komórek.

ŹRÓDŁA KOMÓREK MACIERZYSTYCH

W wyniku połączenia komórki jajowej i plemnika powstaje zygota, która ulega licznym podziałom. W jej rozwoju wyróżniamy kolejne stadia: moruli, blastuli i gastruli. Do pierwszego różnicowania dochodzi na etapie blastuli. Komórki zaczynają się oddzielać od siebie i tworzą listki zarodkowe. Zarodkowe komórki macierzyste (ESCs) do momentu wyróżnicowania się listków zarodkowych

mają charakter totipotencjalny, stanowiąc niezwykle cenny materiał badawczy. Jednak ich wyizolowanie z zarodków, zwłaszcza ludzkich, jest niezwykle trudne i kontrowersyjne. Wynika to głównie z różnic postrzegania zarodka, jako „istoty żywej”. Wielu etyków, stosując tzw. kryterium genetyczne, za człowieka uznaje istotę, której genom różni się od genomu osobników rodzicielskich (HOŁUB 2007). Jak wspomniano wcześniej, aby powstała zygota muszą połączyć się plemnik i komórka jajowa. Połączenie tych dwóch genomów daje zupełnie nowy zestaw genów. W odniesieniu do tego kryterium, zarodek jest uznawany za pełnoprawną osobę, więc jakiegokolwiek procedury prowadzące do jego śmierci są niedopuszczalne (HOŁUB 2007). Jednym ze sposobów uzyskania totipotencjalnych ESCs jest wyizolowanie jednego z powstających blastomerów. Usunięta komórka zostaje bardzo szybko zastąpiona. To co budzi kontrowersje, to fakt ingerencji w rozwijający się zarodek, której konsekwencji w organizmie dorosłego osobnika nie jesteśmy w stanie przewidzieć (BANAS i współaut. 2010). Pluripotencjalne ESCs można wyizolować z węzła zarodkowego blastocysty, co jest jednoznaczne ze zniszczeniem zarodka. Powyższa ingerencja zaburza „ciągłość szlaku rozwojowego”, co wyklucza tę metodę do pozyskiwania ludzkich ESCs (HOŁUB 2007).

Jednak komórek macierzystych nie pozyskuje się wyłącznie z zarodków. Ich bogatym źródłem jest krew pępowinowa. Można z niej wyizolować mezenchymalne komórki macierzyste (ang. mesenchymal stem cell, MSCs), które mają charakter multipotencjalny. Ze względu na ich duże możliwości naprawcze, najczęściej stosuje się je w zabiegach regeneracyjnych. Innym znanym źródłem SCs jest szpik kostny (OLSZEWSKA-SŁONINA i współaut. 2006). Powszechnie wiadomo, że jego przeszczep jest często stosowaną terapią u osób chorych na białaczkę. W szpiku znajdują się hematopoetyczne komórki macierzyste (ang. hematopoietic stem cells, HSCs). To z nich wywodzą się komórki układu krwionośnego i odpornościowego. Przy odpowiedniej stymulacji z HSCs można uzyskać także komórki innych tkanek, dlatego określa się je niekiedy jako pluripotencjalne. Pobieranie komórek z krwi pępowinowej i szpiku jest prostą procedurą. W przypadku szpiku jest ona niezbyt przyjemna. SCs są również obecne w krwi obwodowej. Choć w normalnych warunkach ich liczba jest niewielka, to stosunkowo łatwo można ją zwiększyć podając środki farmakologiczne, głównie czynniki wzrostu. Stosując sortery komórkowe wykorzystujące technikę aferezy oddziela się komórki macierzyste od pozostałych elementów morfotycznych krwi (ROSIEK i współ-

aut. 2011). Tkanka tłuszczowa jest kolejnym źródłem pozyskiwania komórek macierzystych. Najczęściej izolację MSCs z tkanki tłuszczowej wykonuje się w trakcie operacji plastycznych okolic brzucha, czy liposukcji. Wykazano, że MSCs pobrane z tkanki tłuszczowej mogą różnicować w tkankę kostną, chrzęstną i mięśniową (JEZIEŃSKA-WOŹNIAK i współaut. 2010).

Przedstawione powyżej źródła komórek macierzystych pochodzących z dojrzałego organizmu (ASCs), to tylko niektóre z wielu wykorzystywanych do badań nad ich naturą i możliwościami. Ograniczenia stosowania ASCs związane są głównie z ich niewielką liczbą i trudnościami technicznymi występującymi podczas izolacji i oczyszczenia przed hodowlą. Co więcej, ASCs znacznie wolniej mnożą się i różnicują w hodowli, w porównaniu do ESCs, co wynika z ich charakteru. Do niewątpliwych zalet ASCs należy fakt, że sposób ich pozyskania nie wywołuje kontrowersji. Co więcej, mając mniejszą zdolność do różnicowania, ich potencjalne stosowanie zdecydowanie zmniejsza ryzyko utworzenia tzw. potworniaków (teratom) w miejscu przeszczepu. Teratomy to guzy, które charakteryzują się tym, że w ich budowie obecne są komórki pochodzące z trzech listków zarodkowych. W strukturach tych obserwuje się występowanie tkanek mięśniowych, włosów, czasami zębów. Prawdopodobieństwo powstania potworniaków stanowi poważną konsekwencję zastosowania terapii z udziałem ESCs. Wspomniane wcześniej ich duże możliwości różnicowania są obarczone pewnym ryzykiem. Nieznane dotąd mechanizmy organogenezy zachodzącej na wczesnych etapach rozwoju, mogą „wymknąć się spod kontroli”, gdy ESCs zostaną przeszczepione do dojrzałych tkanek. Dlatego ASCs stanowią alternatywę dla ESCs, mimo tego, że mają mniejszy potencjał do różnicowania. Do ASCs zalicza się również komórki macierzyste charakterystyczne dla narządów, np. mózgu, skóry, czy rogówki (LARRŪ 2001).

DOSKONAŁA ALTERNATYWA – INDUKOWANE PLURIPOTENCJALNE KOMÓRKI MACIERZYSTE

Dorosłe komórki macierzyste mogą być wykorzystywane w badaniach zamiast komórek embrionalnych. To co sprawia, że nie są one tak popularne jak ESCs, to ich zdecydowanie mniejszy potencjał do różnicowania. Ich izolacja wymaga zastosowania bardziej skomplikowanych metod, a dodatkowo, ich liczba nie jest zbyt duża. Dlatego naukowcy starali się znaleźć alternatywę dla ESCs, czyli takie komórki, które byłyby tak samo plastyczne jak ESCs, ale których wykorzysty-

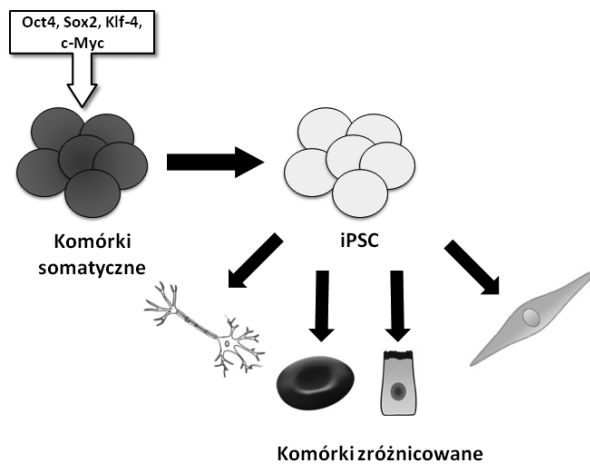
wanie nie wywoływałoby kontrowersji. Jedną z najczęściej stosowanych metod uzyskiwania pluripotencjalnych komórek jest transfer jądra komórkowego. W tym przypadku wyizolowane jądro komórki somatycznej wprowadza się do oocyta pozbawionego jądra (WAWRZYŃSKI 2012). Po transferze oocyt jest hodowany do momentu osiągnięcia stadium blastocysty. Uzyskane w ten sposób komórki mają szeroki wachlarz możliwości różnicowania.

Jednak prawdziwym przełomem okazała się metoda opracowana w 2006 r. przez Yamanakę i Takahashi. Udało im się otrzymać pluripotencjalne komórki z fibroblastów, w procesie ich odróżnicowywania. Procedura ta zakłada wprowadzenie za pomocą wirusa czynników pluripotencjalności, które „wywołują” stan pluripotencji. Otrzymane w ten sposób komórki nazwano indukowanymi pluripotencjalnymi komórkami macierzystymi (iPSC). Zespół Yamanaki wskazał cztery kluczowe dla tego procesu czynniki (Tabela 1), są to: Oct-4, Sox2, Klf-4 i c-Myc (TAKAHASHI i YAMANAKA 2006, TAKAHASHI i współaut. 2007). Pierwsze dwa są markerami pluripotencjalności, Klf-4 odpowiada za utrzymanie macierzystego charakteru komórek, przez hamowanie ich różnicowania. c-Myc jest czynnikiem transkrypcyjnym regulującym cykl komórkowy i apoptozę, odgrywa też dużą rolę w transformacji nowotworowej (GeneCards).

Mechanizm indukowania pluripotencji polega na aktywowaniu odpowiednich czynników wewnątrz komórki. Egzogenne Oct-4 i Sox2 powodują „wylączenie” genów regulujących różnicowanie, w wyniku czego aktywowane są ich endogenne odpowiedniki. Wprowadzone geny muszą ulegać ekspresji przez co najmniej 12 dni, aby mogły nastąpić zmiany w genomie komórki. W wyniku

Tabela 1. Charakterystyka czynników pluripotencjalności.

Czynnik	Charakterystyka
Klf-4	onkogen hamuje procesy różnicowania
c-Myc	czynnik transkrypcyjny reguluje cykl komórkowy reguluje proces apoptozy
Oct-4	kluczowy w rozwoju embrionalnym odpowiedzialny za utrzymanie pluripotencjalności SCs
Sox2	kluczowy w rozwoju embrionalnym rozwój układu nerwowego



Ryc. 2. Indukowane pluripotencjalne komórki macierzyste.

transferu czynników pluripotencjalności dochodzi do syntezy alkalicznej fosfatazy, enzymu charakterystycznego dla komórek pluripotencjalnych. Następnie dochodzi do syntezy SSEA-1 (ang. stage-specific embryonic antigen-1). Jest to glikoproteina powierzchniowa obecna w komórkach embrionalnych. Oct-4 i Nanog kodowane przez DNA komórki ulegają ekspresji dopiero w szesnastym dniu procedury. Ich aktywacja powoduje wyciszenie wprowadzonych czynników (BRAMBRINK i współaut. 2008). W wyniku tych procesów komórka somatyczna zaczyna się odróżnicowywać i nabiera macierzystego charakteru. Za opracowanie tej metody w 2012 r. Yamanka otrzymał Nagrodę Nobla w dziedzinie medycyny lub fizjologii.

Odkrycie iPSC otworzyło nowe możliwości dla nauki. Stosunkowo prosta metoda (Ryc. 2) ich otrzymywania sprawiła, że od momentu opublikowania i potwierdzenia wyników pracy, liczba badań wykorzystujących iPSC wzrasta lawinowo. W 2009 r. było ich 434, rok później już prawie dwa razy więcej (833), a w 2016 r. liczba prac osiągnęła poziom prawie dwóch tysięcy (dane pochodzą z bazy PubMed; wyszukiwana fraza „induced pluripotent stem”). O swoistej popularności iPSC decyduje fakt, że można je uzyskać praktycznie z każdej komórki somatycznej organizmu. Dzięki temu są one pożądanym modelem w stosowanym w medycynie regeneracyjnej (SCUDELLARI 2016).

Być może, że właśnie zastosowanie iPSC zapoczątkuje rozwój medycyny spersonalizowanej. Ich zastosowanie umożliwi utworzenie planu leczenia dostosowanego do konkretnego pacjenta. Dzięki wykorzystaniu iPSC istnieje możliwość poznania etiologii chorób dziedzicznych, które są trudne do zidentyfikowania. Jest to możliwe przez stworzenie

modelu *in vitro* konkretnej choroby. Ułatwia to badanie mechanizmów jej powstawania i rozwoju. Stosunkowo łatwy dostęp do źródła komórek, pomaga w precyzyjnym opracowaniu terapii dostosowanych do pacjenta (MEDVEDEV i współaut. 2010). Z racji swojego podobieństwa do zarodkowych komórek macierzystych, iPSC stanowią doskonały model do badań wczesnych etapów organogenezy. Dzięki nim poznano mechanizm powstawania małogłowia u dzieci, których matki były zakażone wirusem Zika (SCUDELLARI 2016). Wykorzystując iPSC naukowcy stworzyli *in vitro* model ludzkiego mózgu, który następnie zainfekowano wirusem. Pozwoliło to na ustalenie, że Zika atakuje nerwowe komórki macierzyste zmniejszając ich liczbę. Skutkiem tego jest występowanie małogłowia u dzieci. Stosując iPSC udało się uzyskać także komórki wątroby (TAKEBE i współaut. 2014) i skóry (PETROVA i współaut. 2014). Trwają badania, które mają sprawić, że stosowanie iPSC będzie jeszcze bardziej precyzyjne, a przede wszystkim bezpieczne. Głównym elementem stwarzającym potencjalne zagrożenie jest stosowanie czynników onkogennych, tj. Klf-4 i c-Myc. Czynniki te, niekontrolowane, mogą aktywować szlaki transformacji nowotworowej. Same komórki iPSC mogą wejść w organizmie pacjenta na drogę nowotworzenia zaraz po przeszczepie. W dorosłym organizmie komórki macierzyste są zlokalizowane w niszach. To one odpowiadają za utrzymanie równowagi pomiędzy procesami różnicowania a utrzymaniem statusu komórki nieróżnicowanej. Ryzyko nowotworzenia jest także związane z użyciem retrowirusów jako wektorów. Niekontrolowane wbudowanie genów może spowodować aktywację onkogenów obecnych w DNA komórki. Wadą procedury otrzymywania iPSC jest jej bardzo niska wydajność. Z dużej liczby użytych komórek, tylko 0,01–0,1% stanowią uzyskane iPSC.

Niewątpliwie iPSC to przyszłość i jednocześnie wyzwanie dla ośrodków naukowych, a także dla przemysłu farmaceutycznego, medycznego i organizacji rządowych. Współpraca naukowców z wielu dziedzin pozwoli na przyspieszenie prac nad wykorzystaniem komórek iPSC (SCUDELLARI 2016).

CIĄGŁA SAMOODNOWA – CZYLI KILKA SŁÓW O KOMÓRKACH MACIERZYSTYCH SKÓRY

Skóra codziennie ulega drobnym uszkodzeniom. Stale jest narażana na działanie czynników, które mogą osłabić jej strukturę. Zadaniem skóry jest przede wszystkim obrona organizmu. Stanowi ona barierę dla różnych drobnoustrojów chorobotwórczych. Chroni organizm zarówno przed przegrzaniem

(wydzielanie potu), jak i niskimi temperaturami. W przypadku ran, uszkodzenia powinny być jak najszybciej naprawione, aby nie dopuścić do wniknięcia groźnych patogenów. Szybka i skuteczna odnowa jest możliwa dzięki działaniu komórek macierzystych. W skórze wyróżniamy trzy warstwy: naskórek, skórę właściwą i tkankę podskórną. Naskórek jest zbudowany z trzech warstw (podstawnej, kolczystej i zrogowaciałej), tworzą go komórki zwane keratynocytami. W głębszej warstwie znajdują się torebki włosów, części wydzielnicze gruczołów potowych i łojowych. Ostatnia warstwa zbudowana jest z tkanki łącznej, gdzie zlokalizowane są komórki tłuszczowe (SAWICKI i MALEJCZYK 2012).

SCs obecne w skórze mają charakter multipotencjalny i mogą tworzyć kilka typów komórek (JOACHIMIAK i współaut. 2012). Możemy wyróżnić: epidermalne komórki macierzyste (regenerują naskórek), komórki macierzyste mieszkające włosowego (odnawiają mieszek włosowy), komórki macierzyste melanocytów (wytwarzają melanocyty, komórki zawierające barwnik). Wyróżnia się jeszcze MSCs zlokalizowane w skórze właściwej (EuroStemCell) (SAWICKI i MALEJCZYK 2012). Tak duża różnorodność komórek macierzystych skóry sprawia, że w tkance tej występuje kilka rodzajów nisz. Nisze zlokalizowano w przedziałach międzymieszkowych, gdzie obecne są SCs naskórka. W samym mieszku włosowym znajdują się komórki progenitorowe melanocytów (UZARSKA i współaut. 2013). MSCs zasiedlają torebkę włóknistą i brodawkę włosa (JOACHIMIAK i współaut. 2012). Skóra stanowi doskonałe źródło SCs, ponieważ jest ich tam bardzo dużo, są różnorodne i łatwo dostępne. Umożliwiają autologiczny przeszczep (dawca i biorca to ta sama osoba) skóry w przypadku osób z silnymi poparzeniami (III stopień) czy trudno gojącymi się ranami. Najczęściej w terapii autologicznej stosowane są epidermalne SCs, które pobiera się od pacjenta i hoduje *in vitro* w postaci cienkiego płata. Następnie taki fragment jest przeszczepiany pacjentowi w miejsce oparzenia/rany. Jednak w ten sposób lekarze są w stanie zregenerować tylko naskórek (EuroStemCells). Takiego ograniczenia nie mają MSCs. U osób, które zostały poddane terapii z wykorzystaniem MSCs, rany szybciej się goiły, a nowa skóra była grubsza. W odbudowanej warstwie obecne były mieszkki włosowe i gruczoły potowe (LEE i współaut. 2016).

NOWE OKNO NA ŚWIAT – KOMÓRKI MACIERZYSTE W OKU

Wzrok jest zmysłem dominującym w życiu człowieka. W dużej mierze to dzięki niemu możemy odbierać bodźce ze świata. Oko

działa na zasadzie soczewki skupiającej. Pierwszym i najważniejszym elementem tego układu jest rogówka. Rogówka ma największą zdolność skupiającą. Jest to struktura przezroczysta i bezbarwna. Z zewnątrz rogówkę pokrywa tzw. nabłonek przedni, który jest silnie unerwiony. Dzięki temu rogówka może silnie reagować na wszelkie uszkodzenia mechaniczne (piasek, kurz), wysychanie czy kontakt z substancjami chemicznymi. W odpowiedzi na te bodźce powieki zostają odruchowo zamknięte i zwiększa się łzawienie (MICHAJLIK i RAMOTOWSKI 2009). Nabłonek przedni rogówki ma duże zdolności regeneracyjne. W tej warstwie zlokalizowane są komórki macierzyste (SAWICKI i MALEJCZYK 2012). Większość tych komórek jest zlokalizowana w rąbku rogówki (łac. *limbus cornea*), w miejscu łączenia się rogówki i twardówki. Jego budowa decyduje o tym, że jest to doskonała nisza. Komórki macierzyste (ang. limbal epithelial stem cells, LESC) są zlokalizowane w tzw. palisadach Vogta fałdów spojówki, które są silnie unaczynione (SECKER i współaut. 2009). Zlokalizowana jest tam duża liczba melanocytów, komórek barwnikowych, których zadaniem jest obrona SCs przed szkodliwym działaniem promieniowania UV. Przymuszczalnie za kontrolę proliferacji odpowiada niski poziom tlenu w niszy. Silnie rozwinięta sieć naczyń krwionośnych umożliwia transport czynników wzrostu i czynników różnicujących, np. TGF- β , Notch. LESC należą do grupy komórek macierzystych pochodzących z dojrzałego organizmu, mają małe rozmiary i stosunkowo duże jądro komórkowe (SECKER i współaut. 2009). Utrzymywanie puli LESC umożliwia dobrą pracę oka. Zaburzenia związane z utratą zdolności regeneracyjnych rogówki są jedną z najważniejszych przyczyn utraty wzroku. Obecnie choroby zwyrodnieniowe rogówki leczy się za pomocą przeszczepów tkanki. Z powodu lokalizacji LESC przeszczep rogówki powinien zawierać jak największy obszar rąbka, co zmniejszy ryzyko odrzucenia (SAWICKI i MALEJCZYK 2012). Rozwijające się techniki hodowli *in vitro* i szerokie możliwości pozyskiwania komórek macierzystych dają nadzieję na ich wykorzystanie w przypadku leczenia chorób rogówki. W sytuacjach, gdzie liczba LESC nie jest wystarczająca, żeby naprawić powstałe uszkodzenia, pacjentom przeszczepia się komórki embrionalne. Po zabiegu rogówka ulega regeneracji (HANSON i współaut. 2013). Istnieje także możliwość wykorzystania LESC pobranych z drugiego oka (BASU i współaut. 2014) albo od zmarłego dawcy (GALLAGHER i współaut. 2014). Komórki macierzyste mogą być hodowane *in vitro* na wyizolowanej błonie owodniowej, która stanowi szkielet dla

namnażających się SCs. Materiał, który stanowiłby szkielet można pobrać nie tylko od człowieka, ale też od innych gatunków ssaków, takich jak: świnia, krowa czy kot. Bardzo ważne w przygotowaniu takiego materiału jest usunięcie wszystkich komórek i pozostawienie samej macierzy zewnątrzkomórkowej, którą będzie można wykorzystać jako szkielet. Na tak uzyskanym rusztowaniu hoduje się LESC's (LÜTZ DE ARAUJO i współaut. 2015).

KOMÓRKI MACIERZYSTE MÓZGU

Powszechnie uznaje się, że w dojrzalym mózgu nie zachodzi proces neurogenety, czyli powstawania komórek nerwowych. Oznacza to, że uszkodzone neurony nie są zastępowane przez nowe. A jednak procesy uczenia się i zapamiętywania powodują zmiany w budowie sieci neuronalnej. W latach 60. XX w. ukazała się praca, która rzuciła nowe światło na możliwości regeneracyjne mózgu. Jej autorzy wykazali, że w pewnych rejonach obecne są komórki, które mogą się dzielić. Ich aktywność zbadano mierząc ilość wbudowanej, znakowanej trytem tymidyny do nici DNA (ALTMAN i DAS 1965). Komórki te nazwano nerwowymi komórkami macierzystymi (ang. neural stem cells, NSCs). Obecnie uważa się, że NSCs są zlokalizowane w strefie podziarnistej hipokampa (ang. subgranular zone, SGZ) i strefie podkomorowej (ang. subventricular zone, SVZ) (LLORENS-BOBADILLA i MARTIN-VILLALBA 2017).

Komórki macierzyste mózgu to komórki multipotentjalne. Mogą różnicować w astrocycy, oligodendrocyty i neurony (KRIEGSTEIN i ALVAREZ-BUYLLA 2009). Dzięki temu, NSCs stanowią podstawę do zachowania prawidłowej budowy mózgu (YAMAGUCHI i współaut. 2016). Charakteryzują się asymetrycznym podziałem. Te zlokalizowane w hipokampie różnicują w komórki zakrętu zębatego hipokampa, natomiast NSCs w strefie podkomorowej migrują do opuszki węchowej i tam przekształcają się w interneurony (PALASZ i współaut. 2010).

Za utrzymywanie nieodróżnionego statusu NSCs i aktywację procesów różnicowania odpowiada nisza, w której się znajdują. W ośrodkowym układzie nerwowym nisze są zlokalizowane w strefie podkomorowej (SVZ) i strefie podziarnistej hipokampa (SGZ). W hipokampie nisze utworzone są przez astrocycy i komórki śródbłonka. Śródbłonek i astrocycy działają przeciwstawnie: śródbłonek hamuje procesy różnicowania i utrzymuje nieodróżniony status NSCs, a czynniki wydzielane przez astrocycy stymulują NSCs do różnicowania w komórki ner-

wowe (PALASZ i współaut. 2010). W strefie podkomorowej mózgu najważniejszą składową niszy są komórki wyściółki (ependymocyty), które razem z NSC tworzą struktury przypominające rozetę. W centrum znajdują się NSC, konkretnie prekursorzy astrocytów, otoczone przez ependymocyty (PALASZ i współaut. 2010). NSCs strefy podkomorowej pochodzą z gleju promienistego, który jest formą przejściową obecną podczas rozwoju embrionalnego. Aktywność komórek macierzystych jest kontrolowana przez bezpośredni kontakt z naczyniami krwionośnymi, komórkami wyściółki, neuronami i innymi NSCs (LLORENS-BOBADILLA i MARTIN-VILLALBA 2017). Procesy różnicowania i samoodnowy komórek są kontrolowane przez utrzymywanie odpowiedniego mikrośrodowiska w niszy. Wpływ mają tutaj różne związki chemiczne (np. czynniki wzrostu) wydzielane przez elementy składowe niszy.

TERAPIA KOMÓRKAMI MACIERZYSTYMI

Komórki macierzyste, ze względu na swoje cechy, stanowią idealny środek terapeutyczny w przypadku wielu chorób. Dzięki temu, że posiadają możliwość różnicowania w różne typy komórek, są niezwykle cennym materiałem wykorzystywanym w medycynie regeneracyjnej. Powszechnie stosuje się przeszczep komórek szpiku kostnego w leczeniu białaczki. Hodowane są fragmenty skóry, które są używane jako bio-opatrunek w przypadku poważnych poparzeń/uszkodzeń skóry. Natomiast nerwowe komórki macierzyste mogłyby być wykorzystane do odtworzenia zniszczonych neuronów dopaminergicznych (ang. dopaminergic, DA) u pacjentów z chorobą Parkinsona (CAVE i współaut. 2014).

Choroba Parkinsona (ang. Parkinson's disease, PD) jest jedną z najczęstszych chorób neurodegeneracyjnych, czyli chorób, w których dochodzi do zaniku neuronów. W przypadku PD zniszczeniu ulegają neurony DA istoty czarnej mózgu. Przyczyny obserwowanych zmian zwyrodnieniowych nie są do końca poznane. Jednak uznaje się, że część z nich ma podłoże genetyczne. Jedną z mutacji powodujących PD jest mutacja genu dla białka α -synukleiny (ASN). Jest to białko, które występuje głównie w układzie nerwowym, w zakończeniach neuronów DA, odpowiedzialnych za syntezę dopaminy. Nieprawidłowa struktura ASN powoduje powstanie oligomerów, które mają zdolność do tworzenia nierozpuszczalnych agregatów. Ich nagromadzenie tworzy tzw. ciała Lewy'ego. Zbyt duża ilość nagromadzonego, nieprawidłowego białka powoduje śmierć komórki (GAWEL i POTULSKA-CHROMIK 2015).

Najpopularniejszą formą leczenia PD jest podawanie pacjentom lewodopy (L-DOPA), naturalnego aminokwasu. Dzięki temu, że jest ona prekursorem dopaminy, może przechodzić przez barierę krew-mózg. L-DOPA powstaje w wyniku hydroksylacji tyrozyny, a w ośrodkowym układzie nerwowym jest metabolizowana do dopaminy. Stanowi alternatywę dla ograniczonego endogennego źródła. Uzyskana w ten sposób dopamina stymuluje receptory dopaminergiczne i w konsekwencji ogranicza występowanie objawów choroby. L-DOPA oprócz tego, że stanowi źródło dopaminy, pobudza NSCs do podziałów komórkowych, przez co zwiększa się ich liczba (O'SULLIVAN i współaut. 2011). Innym sposobem leczenia choroby Parkinsona może być wykorzystanie komórek macierzystych.

Przy przeszczepie NSCs szczególną uwagę zwraca się na odpowiednie stężenie prawidłowego ASN. Niski poziom tego białka w rozwoju embrionalnym może zwiększyć ryzyko wystąpienia PD. Natomiast duże ilości ASN obserwuje się w mózgach osób, u których choroba występuje. Jego optymalne stężenie działa stymulująco na rozwój neuronów DA (CHOU i współaut. 2015). Jak wspomniano wcześniej, NSCs są zlokalizowane w niszach, które kontrolują ich aktywność. Terapia opierająca się na odtworzeniu zniszczonej tkanki powinna wziąć pod uwagę nie tylko docelową tkankę, ale i komórki ją otaczające. Co więcej, w przypadku wykorzystania NSCs, przeszczep powinien zawierać dodatkowo także astrocyty i komórki wyściółki. W tym celu do przeszczepu powinny być wybrane komórki, które są już w odpowiednim stopniu zróżnicowane (CHOU i współaut. 2015), po to by ułatwić integrację „nowych” neuronów ze „starymi”.

KOMÓRKI MACIERZYSTE MACICY I ICH NIEZWYKŁA ZDOLNOŚĆ REGENERACYJNA

Macica to pojedynczy narząd zbudowany z mięśni, w którym znajdują swe ujście jajowody. Ściana macicy składa się z kilku błon: błon śluzowych (endometrium i endocervix), błony mięśniowej (myometrium) i błony surowiczej (perimetrium). Endocervix wyściela tylko szyjkę macicy i trzon. Endometrium natomiast wyściela całą jamę macicy. Jest to niezwykle interesująca tkanka. Wykazuje ponadprzeciętne zdolności do regeneracji, szczególnie widoczne po porodzie. Dodatkowo, warstwa funkcjonalna endometrium przechodzi w ciągu okresu rozrodczego ponad 400 cykli złuszczenia, odbudowy i różnicowania komórek (MIERNIK i KARASINSKI 2012). Zdolności regeneracyjne wynikają właśnie z obecności komórek ma-

cierystych o odmiennym potencjale do różnicowania: od komórek unipotencjalnych, po komórki pluripotencjalne. Przypuszcza się, że komórki macierzyste endometrium mogą mieć większą zdolność do różnicowania niż komórki krwi pępowinowej czy szpiku kostnego. Komórki te charakteryzują się również większym tempem podziałów i podobnie jak inne komórki endometrialne wydzielają znaczną ilość czynników wzrostu. Do tej pory naukowcom udało się różnicować komórki macicy w kierunku komórek tłuszczowych – adipocytów, kostnych – osteocytów, mięśniowych, w tym komórek mięśni szkieletowych i kardiomiocytów, wątrobowych – hepatocytów, nerwowych – neuronów oraz komórek trzustki, śródbłonna naczyń i nabłonka oddechowego (MENG i współaut. 2007). Większość komórek macierzystych macicy to MSCs, wykazujących obecność specyficznych białek markerowych komórek macierzystych: CD29, CD44, CD105, CD140b i CD144. Komórki te posiadają także białka markerowe proliferacji takie jak PCNA i Ki-67 (MIERNIK i KARASINSKI 2012).

KOMÓRKI MACIERZYSTE W JAJNIKU I ICH POTENCJALNA ROLA W PROCESACH NEO-OOGENEZY I NOWOTWORZENIA

Do niedawna jajnik ssaków uważany był za tkankę zróżnicowaną, pozbawioną komórek macierzystych. Dodatkowo uważano, że pula wszystkich żeńskich komórek jajowych, oocytów, jest stała i została ustalona w czasie życia płodowego. Według tej teorii w jajnikach pourodzeniowych nie mogą powstawać oocyty *de novo*, gdyż nie występują w nich komórki macierzyste linii zarodkowej.

Liczne badania prowadzone w ostatnich latach przez zespoły z całego świata dostarczają wielu nowych informacji, na podstawie których możemy poddać w wątpliwość dotychczas obowiązujące paradygmaty. Coraz częściej postuluje się obecność dorosłych komórek macierzystych także w jajnikach ssaków, określając takie komórki jako domniemane komórki macierzyste (ang. putative stem cells, PSCs) (BUI i współaut. 2014). PSCs w jajnikach to heterogenna populacja drobnych i okrągłych komórek o średnicy 5-7 μm i dużym jądrze wypełniającym prawie całą cytoplazmę. Została ona zdefiniowana na podstawie ekspresji receptora c-Kit i markerów komórek macierzystych, jak np. SSEA-4 i CD34 (VIRANT-KLUN i współaut. 2009). Sugeruje się, że agresywne nowotwory jajnika wywodzą się z PSCs, które zaczynają intensywnie się dzielić w sposób niekontrolowany. Komórki, które wyizolowano ze zmienionych nowotworowo jajników

Tabela 2. Odkrycia związane z komórkami macierzystymi jajnika (wg YAZDEKHASTI i współaut. 2016).

Grupa badawcza	Rok	Odkrycie
JOHNSON i współaut.	2004	Szpik kostny i krew obwodowa jako potencjalne źródło komórek rozrodczych. Obecność białek markerowych komórek linii zarodkowej w szpiku kostnym.
JOHNSON i współaut.; BUKOVSKY i współaut.	2005	Mezenchymalne komórki prekursorowe jako źródło domniemanych komórek zarodkowych w nabłonku powierzchniowym (ang. ovarian surface epithelium, OSE) w pourodzeniowych jajnikach.
KERR i współaut.	2006	Odnawiająca się pula pęcherzyków w pourodzeniowych i dojrzałych jajnikach myszy - obserwowana stała liczba pęcherzyków.
RATAJCZAK i współaut.	2007	Populacja bardzo małych podobnych do zarodkowych komórek macierzystych (ang. very small embryonic-like stem cells, VSELS) w szpiku kostnym u myszy.
VIRANT-KLUN i współaut.	2008	VSELS jako źródło uzyskiwania <i>in vitro</i> komórek podobnych do oocytów, zdolnych do wytworzenia struktur podobnych do blastocysty. Komórki wykazujące ekspresję specyficznych markerów pluripotencji (Oct-4; Nanog; Sox-2; TERT)
NIKURA i współaut.	2009	Przeszczep tkanek z dorosłych jajników myszy do jajnika niedojrzałej płciowo myszy jako sposób tworzenia się premejotycznych komórek zarodkowych w dorosłej tkance
ZOU i współaut.	2009	Przeszczep komórek macierzystych izolowanych z jajników metodą magnetycznego sortowania komórek (ang. magnetic activated cell sorting, MACS) do jajników bezpłodnej myszy jako metoda wznowienia oogenezy i uzyskania potomstwa
PACCHIAROTTI i współaut.	2010	Komórki macierzyste z jajnika izolowane przy pomocy sortera (FACS) i hodowane długo wykazywały aktywność telomerazy oraz obecność markerów komórek zarodkowych i macierzystych (Oct-4)
PARTE i współaut.	2011	Opisanie dwóch różnych populacji domniemanych komórek macierzystych w jajniku znalezionych w OSE. VSELS i nieco większych od nich komórki macierzyste linii zarodkowej (ang. ovarian germ line stem cells, OGSCs)
WHITE i współaut.	2012	Izolacja rzadko występujących, mitotycznie aktywnych komórek ze względu na marker DDX4 z mysich i ludzkich jajników. Następnie generowane z nich <i>in vitro</i> oocyty wchodziły w stan podziału mejotycznego i uzyskano z nich zdrowe potomstwo.
HAYASHI i współaut.	2012	Przeszczepienie żeńskich, pierwotnych, podobnych do zarodkowych komórek (ang. primordial germ-like cells, PGCs) i embrionalnych gonadalnych komórek somatycznych do jajnika myszy biorczynie skutkuje formowaniem się podobnych do oocytów komórek, które następnie dojrzewały w pęcherzykach
WOODS i TILLY	2013	Stworzenie szczegółowego protokołu izolacji jajnikowych komórek macierzystych z mysich i ludzkich jajników w oparciu o obecność markerów takich jak MVH i Fragilis

(konkretnie z nabłonka powierzchniowego jajnika) wykazywały heterogenną morfologię. O tym, że mogły powstać z PSCs może świadczyć fakt, że obie populacje wykazują te same charakterystyczne markery tj. Oct-4 i Nanog (BAPAT i współaut. 2005, SZOTEK i współaut. 2006). Inne badania sugerują istnienie dorosłych komórek macierzystych linii zarodkowej, a także możliwość powstawania nowych oocytów w pourodzeniowych, a także w dojrzałych jajnikach. Proces ten, w przeciwieństwie do klasycznego powstawania oocytów w okresie płodowym (oogenezy),

będziemy nazywać neo-oogenezą. Zjawisko to samo w sobie nie jest nowe. Neo-oogeneza została potwierdzona wśród bezkręgowców u muszki owocowej *Drosophila melanogaster* oraz wśród kręgowców u niektórych ryb doskonałokostnych, np. ryżanki japońskiej *Oryzias latipes*, u niektórych gatunków ssaków, np. kilku gatunków nietoperzy, niektórych małpiatek i lemurowatych. U dorosłych osobników wspomnianych gatunków, w jajnikach obserwowano dzielące się komórki zarodkowe. Jednak nie ma dowodów, że przyczyniają się one do zwiększenia puli

oocytów i tym samym neo-oogenezy (GRIEVE i współaut. 2015). W przypadku większości ssaków, w tym ludzi, prowadzone badania nad komórkami macierzystymi jajnika przyczyniły się do wielu odkryć (Tabela 2) (YAZDEKHAZI i współaut. 2016).

U ludzi neo-oogeneza wciąż jest procesem hipotetycznym, niezgodnym z paradygmatem mówiącym, że pula oocytów ustala się w czasie życia płodowego i jest niezmienna. U kobiet podział mejotyczny zatrzymuje się w stadium oocytów I rzędu, czyli około szóstego miesiąca ciąży. Z szeregu badań dotyczących neo-oogenezy na szczególną uwagę zasługuje kontrowersyjna praca omawiająca przypadek zajścia w ciążę pacjentki, która na skutek chemioterapii utraciła zdolności rozrodcze. Stosowane w leczeniu onkologicznym cytostatyki mogą bowiem uszkadzać tkankę jajników lub obniżać poziom produkowanych przez nie hormonów. Autorzy tego doniesienia uważają, że dzięki przeszczepowi hematopoetycznych komórek macierzystych do tkanek jajnika udało się kobiecie odzyskać płodność. Kwestią sporną jest, czy powrót utraconej funkcji jest dziełem hematopoetycznych komórek macierzystych, czy faktu, że utrata płodności pod wpływem leków cytotoksycznych była tylko przejściowa. Nie da się jednak tego jednoznacznie zweryfikować. Szczególnie, że badania wskazują na znaczną poprawę płodności u kobiet z białaczką, którym przeszczepiono szpik kostny (OKTAY i OKTEM 2005).

Wydaje się, że komórki macierzyste jeszcze przez długie lata będą przedmiotem badań i sporów naukowców. Wielu oczekuje, że w końcu uda się dokładnie poznać i opisać mechanizm ostatecznego różnicowania komórek. Dopiero wówczas będzie można mówić o masowym i powszechnym zastosowaniu tych komórek w różnego rodzaju terapiach i medycynie regeneracyjnej. Mogłoby to hipotetycznie pozwolić na odnowę zużywających się narządów i tkanek, a tym samym na wydłużenie życia ludzi. Czy dorosłe komórki macierzyste będą przydatnymi narzędziami w naszym warsztacie - dopiero się okaże. Należy mieć nadzieję, że przyszłość przyniesie odpowiedź na większość nurtujących nas pytań.

Streszczenie

Zastosowanie komórek macierzystych w transplantologii czy medycynie regeneracyjnej budzi z jednej strony ogromne nadzieje, z drugiej zaś kontrowersje. W ostatnich latach szczególną uwagę poświęcono dorosłym komórkom macierzystym, zasiedlającym wyspecjalizowane nisze w większości organów. Komórki te mogą stanowić alternatywę dla problematycznych etycznie embrionalnych komórek macierzystych, izolowanych z zarodków. W niniejszym artykule przedstawiono główne kryteria podziału komórek macierzystych oraz podstawowe źródła

ich pozyskiwania. Osobny rozdział poświęcono przełomowym odkryciom, takim jak uzyskanie indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych, czy opracowanie rewolucyjnych terapii opartych na zastosowaniu komórek macierzystych. Informacje zawarte w artykule stanowią zaledwie fragment tego dynamicznie rozwijającego się obszaru wiedzy. Wiele aspektów dotyczących komórek macierzystych pozostaje w dalszym ciągu tajemnicą. Priorytetem jest znalezienie etycznych sposobów prowadzenia badań, dzięki którym komórki macierzyste będzie można bezpiecznie stosować w terapii, w której tkwi klucz do poprawy jakości życia i jego wydłużenia.

LITERATURA

- ALTMAN J., DAS G. D., 1965. *Post-natal origin of microneurons in the rat brain*. *Nature* 207, 953-956.
- BANAŚ A., 2010. *Komórki macierzyste – perspektywy i zagrożenia*. *Przegląd Medyczny Uniwersytetu Rzeszowskiego* 2, 117-127.
- BAPAT S. A., MALI A. M., KOPPIKAR C. B., KURREY N. K., 2005. *Stem and progenitor-like cells contribute to the aggressive behavior of human epithelial ovarian cancer*. *Cancer Res.* 65, 3025-3029.
- BASU S., HERTSENBERG A. J., FUNDERBURGH M. L., BURROW M. K., MANN M. M., DU Y., LATHROP K. L., SYED-PICARD F. N., ADAM S. M., BIRK D. E., FUNDERBURGH J. L., 2014. *Human limbal biopsy-derived stromal stem cells prevent corneal scarring*. *Sci. Transl. Med.* 10, 1-22.
- BRAMBRINK T., FOREMAN R., WELSTEAD G. G., LENGNER C. J., WERNIG M., SUH H., JAENISCH R., 2008. *Sequential expression of pluripotency markers during direct reprogramming of mouse somatic cells*. *Cell Stem Cell* 2, 151-159.
- BUI H. T., THUAN N. V., KWON D. N., CHOI Y. J., KANG M. H., HAN J. W., KIM T., KIM J. H., 2014. *Identification and characterization of putative stem cells in adult pig ovary*. *Development* 141, 2235-2244.
- BUKOVSKY A., SVETLIKOVA M., CAUDLE M. R., 2005. *Oogenesis in cultures derived from adult human ovaries*. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 1, 17.
- CAVE J. W., WANG M., BAKER H., 2014. *Adult subventricular zone neural stem cells as a potential source of dopaminergic replacement neurons*. *Front. Neurosci.* 8, 1-8.
- CHOU C. H., FAN H. C., HUENG D. Y., 2015. *Potential of neural stem cell-based therapy for Parkinson's Disease*. *Parkinsons Dis.* 2015, 1-9.
- GALLAGHER C., CLARKE C., AHRENE S. T., KATIKIREDDY K. R., DOOLAN P., LYNCH V., SHAW S., BOBART-HONE A., MURPHY C., CLYNES M., POWER W., O'SULLIVAN F., 2014. *Comparative transcriptomic analysis of cultivated limbal epithelium and donor corneal tissue reveals altered wound healing gene expression*. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 55, 5795-5805.
- GAWĘŁ M., POTULSKA-CHROMIK A., 2015. *Choroby neurodegeneracyjne: choroba Alzheimera i Parkinsona*. *Post. Nauk Med.* 28, 468-476.
- GRIEVE K. M., MCLAUGHLIN M., DUNLOP C. E., TELFER E. E., ANDERSON R. A., 2015. *The controversial existence and functional potential of oogonial stem cells*. *Maturitas* 82, 278-281.
- HANSON C., HARDARSON T., ELLERSTRÖM C., NORDBERG M., CAISANDER G., RAO M., HYLLNER, STENEVI U., 2013. *Transplantation of human embryonic stem cells onto a partially wounded human cornea in vitro*. *Acta Ophthalmol.* 91, 127-130.

- HAYASHI K., OGUSHI S., KURIMOTO K., SHIMAMOTO S., OHTA H., SAITOU M., 2012. *Offspring from oocytes derived from in vitro primordial germ cell-like cells in mice*. *Science* 338, 971-975.
- HOLUB G., 2007. *Etyczna refleksja na temat komórek macierzystych*. *Sosnowieckie Studia Teologiczne* 8, 49-60.
- JEZIERSKA-WOŹNIAK K., NOSARZEWSKA D., TUTAS A., MIKOŁAJCZYK A., OKLIŃSKI M., JURKOWSKI M. K., 2010. *Wykorzystanie tkanki tłuszczowej jako źródła mezenchymalnych komórek macierzystych*. *Post. Hig. Med. Dosw.* 64, 326-332.
- JOACHIMIĄK R., BAJEK A., BREWA T., 2012. *Mieszki włosowe nowym źródłem komórek macierzystych*. *Post. Hig. Med. Dosw.* 66, 181-186.
- JOHNSON J., BAGLEY J., SKAZNIK-WIKIEL M., LEE H.-J., ADAMS G. B. i współpracownicy., 2005. *Oocyte generation in adult mammalian ovaries by putative germ cells in bone marrow and peripheral blood*. *Cell* 2, 303-315.
- JOHNSON J., CANNING J., KANEKO T., PRU J. K., TILLY J. L., 2004. *Germline stem cells and follicular renewal in the postnatal mammalian ovary*. *Nature* 6979, 145-150.
- KERR J. B., DUCKETT R., MYERS M., BRITT K. L., MLADENOVSKA T. i współpracownicy., 2006. *Quantification of healthy follicles in the neonatal and adult mouse ovary: evidence for maintenance of primordial follicle supply*. *Reproduction* 1, 95-109.
- KÖRBLING M., ESTROV Z., 2003. *Adult stem cells for tissue repair - a new therapeutic concept?* *N. Engl. J. Med.* 349, 570-582.
- KRIEGSTEIN A., ALVAREZ-BUYLLA A., 2009. *The glial nature of embryonic and adult neural stem cells*. *Annu. Rev. Neurosci.* 32, 149-184.
- LARRŪ M., 2001. *Adult stem cells: an alternative to embryonic stem cells?* *Trends Biotechnol.* 19, 487.
- LEE D. E., AYOUB N., AGRAWAL D. K., 2016. *Mesenchymal stem cells and cutaneous wound healing: novel methods to increase cell delivery and therapeutic efficacy*. *Stem Cell Res. Ther.* 7, 37.
- LLORENS-BOBADILLA E., MARTIN-VILLALBA A., 2017. *Adult NSC diversity and plasticity: the role of the niche*. *Curr. Opin. Neurobiol.* 42, 68-74.
- LÜTZ DE ARAUJO A., ÁLVARO J., GOMES P., LENTECOR C., 2015. *Corneal stem cells and tissue engineering: Current advances and future perspectives*. *World J. Stem Cells* 7, 806-814.
- MEDVEDEV S. P., SHEVCHENKO A. I., ZAKIAN S. M., 2010. *Induced pluripotent stem cells: problems and advantages when applying them in regenerative medicine*. *Acta Natur.* 2, 18-28.
- MENG X., ICHIM T. E., ZHONG J., ROGERS A., YIN Z., JACKSON J., THÉBAUD B., 2007. *Endometrial regenerative cells: a novel stem cell population*. *J. Translat. Med.* 5, 57.
- MICHAJLIK A., RAMOTOWSKI W., 2009. *Anatomia i fizjologia człowieka*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa.
- MIERNIK K., KARASINSKI J., 2012. *Porcine uterus contains a population of mesenchymal stem cells*. *Reproduction* 143, 203-209.
- MORRISON S. J., SHAH N. M., ANDERSON D. J., 1997. *Regulatory mechanisms in stem cell biology*. *Cell* 88, 287-298.
- NIKURA Y., NIKURA T., TILLY J. L., 2009. *Aged mouse ovaries possess rare premeiotic germ cells that can generate oocytes following transplantation into a young host environment*. *Ageing* 12, 971.
- O'SULLIVAN S. S., JOHNSON M., WILLIAMS D. R., REVESZ T., HOLTON J. L., LEES A. J., PERRY E. K., 2011. *The effect of drug treatment on neurogenesis in Parkinson's Disease*. *Mov. Disord.* 26, 45-50.
- OKTAY K., OKTEM O., 2005. *Sustained endocrine function and spontaneous pregnancies after subcutaneous transplantation of cryopreserved ovarian tissue in stem cell transplant recipients*. *Fert. Steril.* 84, 68.
- OLSZEWSKA-SŁONINA D., STYCZYŃSKI J., DREWA T. A., CZAJKOWSKI R., 2006. *Stem cells - Sources and plasticity*. *Adv. Clin. Exp. Med.* 15, 497-503.
- PACCHIAROTTI J., MAKI C., RAMOS T., MARH J., HOWERTON K. i współpracownicy., 2010. *Differentiation potential of germ line stem cells derived from the postnatal mouse ovary*. *Differentiation* 3, 159-170.
- PAŁASZ A., BOGUS K., BRYZEK A., KAMIŃSKI M., 2010. *Nisze komórek macierzystych i neurogeneza w mózgu dojrzałym*. *Neuropsychiatr. Neuropsychol.* 5, 49-63.
- PARTE S., BHARTIYA D., TELANG J., DAITHANKAR V., SALVI V. i współpracownicy., 2011. *Detection, characterization, and spontaneous differentiation in vitro of very small embryonic-like putative stem cells in adult mammalian ovary*. *Stem Cells Dev.* 8, 1451-1464.
- PETROVA A., CELLI A., JACQUET L., DAFOU D., CRUMRINE D., HUPE M., ARNO M., HOBBS C., CVORO A., KARAGIANNIS P., DEVITO L., SUN R., ADAME L. C., VAUGHAN R., MCGRATH J. A., MAURO T. M., ILIC D., 2014. *3D in vitro model of a functional epidermal permeability barrier from human embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells*. *Stem Cell Rep.* 2, 675-689.
- RATAJCZAK M., MACHALINSKI B., WOJAKOWSKI W., RATAJCZAK J., KUCIA M., 2007. *A hypothesis for an embryonic origin of pluripotent Oct-4+ stem cells in adult bone marrow and other tissues*. *Leukemia* 5, 860-867.
- ROSIEK A., ANTONIEWICZ-PAPIS J., LACHERT E., DZIECIĄTKOWSKA A., JANIK K., KUBIS J., PODSTAWKA U., RZYMKIEWICZ L., ŁETKOWSKA M., 2011. *Analiza retrospektywna zabiegów separacji komórek macierzystych krwi obwodowej wykonanych przy zastosowaniu separatorów komórkowych w Instytucie Hematologii i Transfuzjologii*. *J. Transf. Med.* 4, 23-31.
- SAWICKI W., MAŁEJCZYK J., 2012. *Histologia*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa.
- SCHOLER H. R., 2007. *The potential of stem cells: An inventory*. Human Biotechnology as Social Challenge, England, Ashgate Publishing, Ltd.
- SCUDELLARI M., 2016. *A decade of iPS cells*. *Nature* 534, 310-312.
- SECKER G. A., DANIELS J. T., SIGHT C., 2009. *Limbic epithelial stem cells of the cornea*. *Stembook.org*, 1-18.
- SZOTEK P. P., PIERETTI-VANMARCKE R., MASIAKOS P. T., DINULESCU D. M., CONNOLLY D., FOSTER R., DONAHOE P. K., 2006. *Ovarian cancer side population defines cells with stem cell-like characteristics and Müllerian Inhibiting Substance responsiveness*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 11154-11159.
- TAKAHASHI K., YAMANAKA S., 2006. *Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors*. *Cell* 126, 663-676.
- TAKAHASHI K., TANABE K., OHNUKI M., NARITA M., ICHISAKA T., TOMODA K., YAMANAKA S., 2007. *Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors*. *Cell* 131, 861-872.
- TAKEBE T., ZHANG R.-R., KOIKE H., KIMURA M., YOSHIZAWA E., ENOMURA M., KOIKE N., SEKINA

- K., TANIGUCHI H., 2014. *Generation of a vascularized and functional human liver from an iPSC-derived organ bud transplant*. Nat. Protoc. 9, 396-409.
- UZARSKA M., POROWINSKA D., BAJEK A., DREWA T., 2013. *Komórki macierzyste naskórka - biologia i potencjalne zastosowanie w medycynie regeneracyjnej*. Post. Biochem. 59, 219-227.
- VIRANT-KLUN I., ZECH N., ROZMAN P., VOGLER A., CVJETIČANIN B. i współaut., 2008. *Putative stem cells with an embryonic character isolated from the ovarian surface epithelium of women with no naturally present follicles and oocytes*. Differentiation 8, 843-856.
- VIRANT-KLUN I., ROZMAN P., CVJETIČANIN B., VRTACNIK-BOKAL E., NOVAKOVIC S., RÜLICHE T., MEDEN-VRTOVEC H., 2009. *Parthenogenetic embryo-like structures in the human ovarian surface epithelium cell culture in postmenopausal women with no naturally present follicles and oocytes*. Stem Cells Devel. 18, 137-150.
- WAWRZYŃSKI A., 2012. *Czym różni się klonowanie terapeutyczne od reprodukcyjnego?* www.swiatnauki.pl.
- WEISSMAN I. L., 2000a. *Translating stem and progenitor cell biology to the clinic: barriers and opportunities*. Science 287, 1442-1446.
- WEISSMAN I. L., 2000b. *Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution*. Cell 100,157-168.
- WHITE Y. A., WOODS D. C., TAKAI Y., ISHIHARA O., SEKI H. i współaut., 2012. *Oocyte formation by mitotically active germ cells purified from ovaries of reproductive-age women*. Nat. Med. 3, 413-421.
- WOODS D. C., TILLY J. L., 2013. *Isolation, characterization and propagation of mitotically active germ cells from adult mouse and human ovaries*. Nat. Protoc. 5, 966-88.
- YAMAGUCHI M., SEKI T., IMAYOSHI I., TAMAMAKI N., HAYASHI Y., TATEBAYASHI Y., HITOSHI S., 2016. *Neural stem cells and neuro/gliogenesis in the central nervous system: understanding the structural and functional plasticity of the developing, mature, and diseased brain*. J. Physiol. Sci. 66, 197-206.
- YAZDEKHAZI H., RAJABI Z., PARVARI S., ABBASI M., 2016 *Used protocols for isolation and propagation of ovarian stem cells, different cells with different traits*. J. Ovar. Res. 9, 68.
- ZOU K., YUAN Z., YANG Z., LUO H., SUN K. i współaut., 2009. *Production of offspring from a germline stem cell line derived from neonatal ovaries*. Nat. Cell Biol. 5, 631-636.

KOSMOS Vol. 67, 3, 529-539, 2018

KAMIL WARTALSKI, GABRIELA GORCZYCA, MAŁGORZATA DUDA

Department of Endocrinology, Institute of Zoology and Biomedical Research, Jagiellonian University in Kraków, 9 Gronostajowa Str., 30-387 Kraków, E-mail: kamil.wartalski@uj.edu.pl

IN SEARCH FOR SPARE PARTS. WOULD ADULT STEM CELLS PROVE TO BE A MILESTONE FOR REGENERATIVE MEDICINE?

Summary

Application of stem cells in regenerative medicine or transplantology still offers high hopes but their actual use is limited. In recent years, stem cells have been extensively studied, especially those deriving from fully differentiated tissues. Such cells populate specialized niches in most organs and may be an alternative to ethically controversial stem cells derived from embryos. In this article, the reader will get acquainted with the current state of knowledge on the different types of stem cells and their potential uses. For this purpose we focused on stem cells characterization and methods of their acquisition. Particular attention has been paid to milestones such as introduction of induced pluripotent stem cells or the development of new stem cell-based therapies. The reader will also be able to learn about the importance of the so-called adult stem cells present in fully developed organs. However, the readers should be aware that the information provided in this article represents only a small piece of knowledge from this rapidly growing area of science.

Key words: adult stem cells, brain, multipotency, ovaries, regeneration