

prawo do legalnego użycia marihuany. Chory na jaskrę Robert C. Randall został w 1976 roku uniewinniony z zarzutu hodowania na balkonie marihuany, której używał aby leczyć jaskrę. Sędzia James A. Washington, ogłaszając wyrok stwierdził, że zło, którego Randall chciał uniknąć, ślepotą, jest większym złem niż hodowanie marihuany.

Rak

W latach 70. stwierdzono, że kanabinoidy hamują rozmnażanie komórek nowotworowych. Badania wykazały, że działają one na różne linie komórkowe i na różne sposoby. Wiedza na temat przeciwnowotworowego działania marihuany powiększa się szybko. Kanabinoidy hamują angiogenezę (tworzenie naczyń krwionośnych) i inwazję nowotworów. Aktywne są różne kanabinoidy syntetyczne, niezależnie od posiadanych własności psychotropowych. Badania wykazały na przykład, że komórki ludzkiego czerniaka (przeszczepione na myszy) noszą receptory CB1 i CB2, których pobudzenie hamuje wzrost, proliferację, angiogenezę i przerzuty, oraz nasila śmierć apoptotyczną. Aktywując receptory CB2, THC hamuje proliferację ludzkiego raka sutka. Lista nowotworów, których rozwój hamuje THC stale się wydłuża, i można mieć nadzieję, że badania na tym polu zaowocują powstaniem nowych, skutecznych metod leczenia raka.

Podsumowując wydaje się, że potencjał leczniczy marihuany, zawartych w niej kanabinoidów

i syntetycznych leków o podobnej budowie, jest olbrzymi. Równie olbrzymi, chociaż nieuzasadniony, jest społeczny lęk i opór przed szerszym sięgnięciem do tego naturalnego źródła potencjalnie wspaniałych a niedrogich leków. We współczesnej medycynie stosuje się wiele leków o znacznie większym potencjale uzależniającym i znacznie większej toksyczności, żeby wspomnieć opioidy, takie jak morfinę czy kodeinę, kokainę (obecnie tylko do znieczulenia miejscowego w okulistyce i laryngologii), benzodiazepiny (jak relanium czy Xanax), barbiturany, ketaminę, amfetaminy, antagonistów dopaminowych itp., a społeczeństwo akceptuje używanie w celach rekreacyjnych alkoholu i nikotyny, powodujących pośrednio i bezpośrednio śmierć setek tysięcy ludzi na świecie. W tym stanie rzeczy utrzymywanie nielegalnego statusu preparatów z konopi wydaje się wyjątkowym absurdem.

Istnieje wciąż wiele ludzi przekonanych o tym, że używanie konopi jest złem, za które należy surowo karać. Sądzę, że za trzydzieści lat będziemy na nich patrzyli z takim samym politowaniem, jak dzisiaj patrzymy na tych, którzy 30 lat temu wsadzali do więzień ludzi trzymających w domu dolary i funty, święcie wierząc, że posiadanie tzw. dewiz jest złem płynącym ze zgniłych krajów kapitalistycznych. Przed tą zgnilizną moralną uchronić nas mogło tylko przetrzymywanie paszportów w komendach wojewódzkich Milicji Obywatelskiej i wydawanie ich *po uważaniu* jedynie osobom zasługującym na wiarę. Miejmy nadzieję, że społeczne opory przed marihuaną upadną tak samo, jak lęk przed imperialistami, i że podobnie upadek tego lęku wyjdzie nam tylko na dobre.

Prof. dr hab. Jerzy Vetulani, neuropsychofarmakolog, członek PAU, PAN i EDAB, jest profesorem MWSZ im. Józefa Dietla i Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie. E-mail: nfvetula@cyfronet.pl.

CZY MOŻNA ZROBIĆ MÓZG ZE SKÓRY?

Ewa Liszewska, Jacek Jaworski (Warszawa)



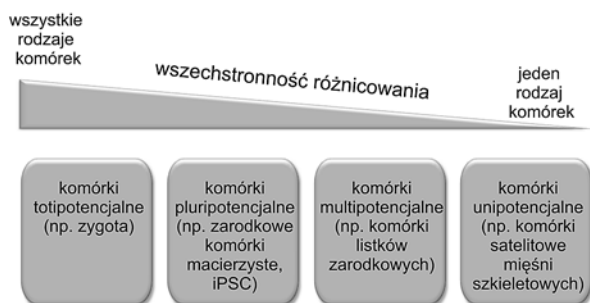
Czy można zrobić mózg ze skóry? To pytanie brzmi jak zadane przez kilkuletnie dziecko, które jest ciekawe wszystkiego i jeszcze nie zna ograniczeń otaczającego go świata. Z kolei dorosły od razu zapytałby po co? A jeśli znalazłby wystarczająco dobry powód, to na pewno chciałby wiedzieć, jak mielibyśmy to zrobić. W niniejszym artykule postaramy się odpowiedzieć na te pytania, a przy okazji przedstawić błyskawiczny postęp, jaki dokonał się w badaniach nad komórkami macierzystymi oraz medycyną

regeneracyjną układu nerwowego w ostatnich latach. Dynamiczny rozwój tych dziedzin był możliwy dzięki uzyskaniu tzw. indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych (iPSC, ang. *induced pluripotent stem cells*). Opracowanie technologii „produkcji” iPSC, czyli tzw. reprogramowanie komórek zostało wyróżnione w roku 2012 Nagrodą Nobla w dziedzinie fizjologii lub medycyny. Warto podkreślić, iż była to nagroda przyznana błyskawicznie, gdyż zaledwie 6 lat po publikacji pierwszych wyników o iPSC przez

Prof. Shinyi Yamanakę na łamach czasopisma *Cell*. Ponieważ zrozumienie podstaw reprogramowania komórek jest kluczowe dla odpowiedzi na postawione powyżej pytania, niniejszy tekst rozpoczynamy od omówienia tego zjawiska.

Profesor Yamanaka, komórki iPSC i „neurony ze skóry”

Co musielibyśmy zrobić z komórkami skóry, aby uzyskać z nich komórki budujące inne narządy np. mózg? Zarówno fibroblasty, jak i neurony są komórkami zróżnicowanymi, czyli już ostatecznie wyspecjalizowanymi i zmiana jednych w drugie wydaje się przeczyć naszej podstawowej wiedzy biologicznej. Jednak w organizmach zwierząt istnieje grupa komórek o różnym stopniu zdolności do różnicowania w inne rodzaje komórek. Należą do nich tzw. komórki toti-, pluri-, multi- oraz unipotentne (Ryc. 1). Różnią się one od siebie poziomem wszechstronności różnicowania. Komórki pluripotencjalne (np. komórki węzła zarodkowego blastocysty, embrionalne komórki macierzyste czy komórki iPSC), których dotyczy

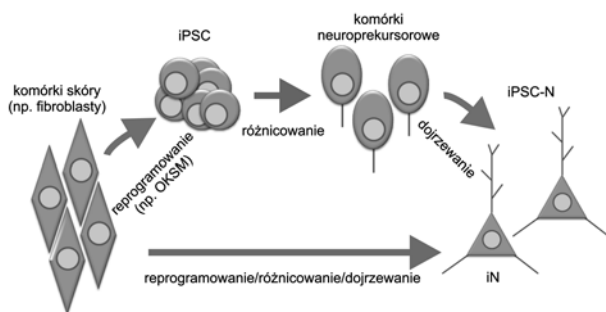


Ryc. 1. W organizmach żywych istnieją komórki macierzyste zdolne do zmiany w inny rodzaj komórek. Wśród komórek zarówno rozwijającego się jak i dojrzałego organizmu wstępują komórki o różnej zdolności zmiany w inne typy komórek (wszechstronność różnicowania). Najbardziej „uzdolnione komórki” występują we wczesnych etapach rozwoju zarodka i mogą wytworzyć zarówno wszystkie rodzaje komórek budujących organizm, jak i tkanki pozazarodkowe.

poniższy artykuł mogą wytworzyć wszystkie rodzaje komórek budujących organizm, m.in. – neurony i komórki gładkie. Czytelników zainteresowanych bardziej dogłębnym opisem różnic pomiędzy wymienionymi powyżej komórkami zachęcamy do lektury artykułu przeglądowego Prof. Jacka Kubiaka i Prof. Marii Ciemerych opublikowanego w 2013 roku na łamach specjalnego numeru *Postępów Biochemii* poświęconego komórkom macierzystym, bioinżynierii i regeneracji (tom 59, nr 2). Warto w tym miejscu wspomnieć, iż już od wielu lat trwają badania nad optymalizacją różnicowania komórek pluripotencjalnych, zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*, do neuronów i gleju, podstawowych elementów tkanki nerwowej. W ostatnim okresie coraz odważniej i na szerszą

skalę wykorzystuje się je w medycynie regeneracyjnej układu nerwowego, np. w terapii uszkodzonego rdzenia kręgowego. A zatem, nawiązując do pytania postawionego w tytule, gdyby udało się zmienić fibroblasty w komórki pluripotencjalne byłoby możliwe uzyskanie z nich neuronów. Pytanie o odwracalność procesu różnicowania nurtuje badaczy już od prawie 80 lat. Pierwszy eksperyment, tzw. „fantastisch Experiment” zasugerował w latach 30 embriolog i laureat Nagrody Nobla Hans Spemann. Zaproponowane przez niego doświadczenie miało polegać na przeszczepieniu jądra komórkowego zróżnicowanej komórki somatycznej do pozbawionego własnego materiału genetycznego oocyta. Gdyby powstały w ten sposób zarodek zaczął się rozwijać dowodziłoby to, iż materiał genetyczny zawarty w zróżnicowanych komórkach nie traci bezpowrotnie zdolności do sterowania rozwoju różnych rodzajów komórek i może zostać przeprogramowany przez cytoplazmę komórki totipotencjalnej. Pierwsze doświadczenia dowodzące słuszności tej hipotezy przeprowadził wiele lat później John Gurdon, za co w roku 2012 otrzymał Nagrodę Nobla wspólnie z Shinyi Yamanaką. Podejście to, zwane transferem jądrowym, pozwoliło także Wilmutowi i Campbellowi na uzyskanie w roku 1997 pierwszego klonu ssaka – sławnej owieczki Dolly. Jednak wspomniane doświadczenia nie dostarczyły bezpośredniego dowodu na istnienie możliwości przeprogramowywania komórek zróżnicowanych do komórek pluripotencjalnych. Trzeba było na niego czekać dużo dłużej, gdyż wymagało to zdobycia dogłębnej wiedzy na temat molekularnych mechanizmów utrzymania pluripotencji i różnicowania komórek. W efekcie wieloletnich badań stało się oczywiste, iż w trakcie różnicowania komórek somatycznych zachodzą równocześnie dwa ważne procesy: wyciszenie genów pluripotencji i aktywacja produkcji białek tkankowo specyficznych. Jednocześnie zidentyfikowano białka, które były konieczne dla utrzymania pluripotencji zarodkowych komórek macierzystych. Wiedzę tę wykorzystał zespół Yamanaki – wprowadzając do mysich fibroblastów 24 spośród nich. Były to wyłącznie czynniki transkrypcyjne, czyli białka odpowiedzialne za regulację ekspresji genów. W tym eksperymencie były one charakterystyczne dla komórek macierzystych. W efekcie zespół Yamanaki, jako pierwszy na świecie, uzyskał z komórek zróżnicowanych – komórki o charakterystyce zarodkowych komórek macierzystych. Dalsze badania pozwoliły zredukować liczbę koniecznych białek do czterech (Oct4, Klf4, Sox2 i c-Myc, w skrócie OKSM) oraz wykazać, iż podobnie można przeprogramować ludzkie fibroblasty. Uzyskane metodą Yamanaki komórki nazwano

indukowanymi pluripotencjalnymi komórkami macierzystymi (Ryc. 2, 3). Badania innych zespołów pokazały, iż do uzyskiwania komórek iPSC można w podobny sposób wykorzystywać inne rodzaje komórek np., keratynocyty czy limfocyty. Ważną cechą iPSC, niezależnie od pochodzenia, jest ich zdolność do różnicowania do komórek charakterystycznych dla wszystkich trzech listków zarodkowych, w tym do komórek neuralnych, takich jak neurony oraz komórki glejowe (Ryc. 2, 3). Badania ostatnich kilku lat, bazujące na wieloletnim doświadczeniu badaczy w hodowli i różnicowaniu komórek neuroprekursorowych w warunkach *in vitro*, udowodniły także, iż uzyskane z iPSC neuroprekursory można ukierunkować w rozwoju tak, aby powstały z nich neurony (iPSC-N) o pożądanej charakterystyce neurochemicznej np. glutamatergiczne, GABA-ergiczne, dopaminergiczne, czy też serotonergiczne (Ryc. 3). Warto na koniec zaznaczyć, iż iPSC-N mogą rozwijać się nie tylko w szalkach hodowlanych, ale także po wszczepieniu uzyskanych z iPSC neuroprekursorów w układzie nerwowym ssaków (Ryc. 3).



Ryc. 2. Ludzkie neurony można uzyskać z łatwo dostępnych komórek skóry metodą przeprogramowywania. Metoda przeprogramowywania komórek opracowana przez laureata Nagrody Nobla Shinyi Yamanakę umożliwiła produkcję ludzkich pluripotencjalnych komórek macierzystych, a z nich neuroprekursorów i neuronów (iPSC-N). Dalsze prace badaczy umożliwiły także uzyskiwanie neuronów (iN) bezpośrednio z fibroblastów z pominięciem iPSC (tzw. transdyferencjacja). Bardziej szczegółowe objaśnienia w tekście.

Obserwacja poczyniona przez zespół Yamanaki, że komórki można reprogramować poprzez genetyczną zmianę repertuaru znajdujących się w nich czynników transkrypcyjnych pozwoliła także na opracowanie alternatywnej metody produkcji neuronów z fibroblastów. Werning i współpracownicy (Uniwersytet Stanforda, USA) wykazali, iż wprowadzenie do fibroblastów koktajlu czynników transkrypcyjnych istotnych dla rozwoju neuronów (*Brn2*, *Ascl1* i *Myt1l*, określanych wspólnie skrótem BAM) prowadzi do ich bezpośredniej zmiany w neurony (tzw. indukowane neurony, iN), bez konieczności uzyskiwania iPSC. Jest to proces przeprogramowania bezpośredniego, zwany także transdyferencjacją (Ryc. 2). Co ciekawe,

manipulując odpowiednio zestawem wprowadzanych do fibroblastów czynników transkrypcyjnych i małych RNA (tzw. mikroRNA) można było uzyskiwać iN o pożądanej charakterystyce np. neurony dopaminergiczne lub neurony motoryczne. Więcej szczegółowych informacji na temat procesu transdyferencji czytelnicy mogą znaleźć w naszym artykule przeglądowym we wspomnianym powyżej numerze *Postępów Biochemii*.

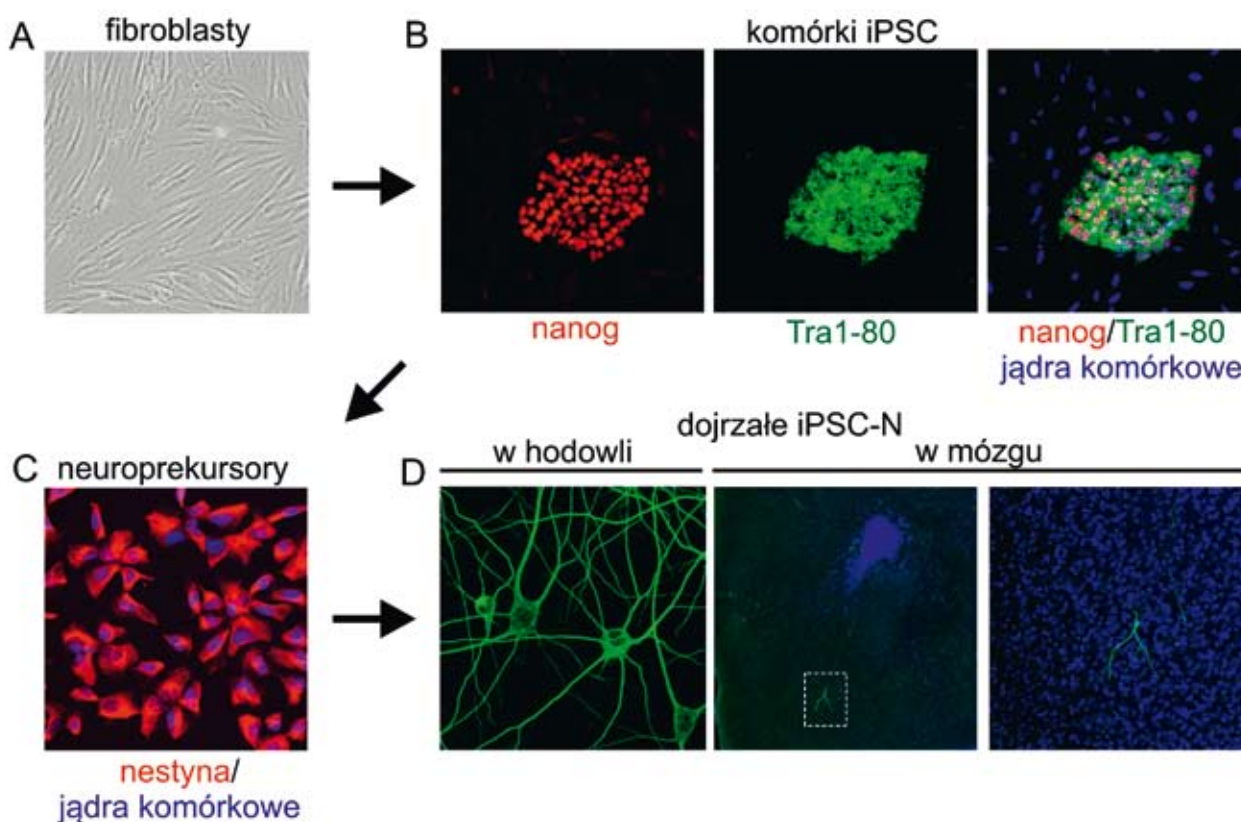
Po co nam neurony ze skóry?

A zatem odpowiedź na jedno z postawionych powyżej pytań – czy da się uzyskać neurony z fibroblastów lub innych zróżnicowanych komórek – brzmi: tak, jest to możliwe. W tej części artykułu chcielibyśmy odpowiedzieć na drugie z postawionych na samym początku pytań, czyli, po co w ogóle to robić. Aby zrozumieć powody sankcjonujące ogromne nakłady finansowe, jak i wysiłek badaczy wkładany w ostatnich kilku latach w ten właśnie kierunek badań, trzeba sobie uświadomić, iż wcześniej ludzkie komórki neuroprekursorowe oraz ludzkie neurony były praktycznie niedostępne. Ograniczało to znacznie postęp badań podstawowych nad schorzeniami układu nerwowego, ocenę toksyczności różnych substancji na ludzkie komórki nerwowe oraz rozwój medycyny regeneracyjnej. Pojawienie się technologii przeprogramowywania komórek zupełnie zmieniło tę sytuację. Komórki iPSC-N i iN mogą być wykorzystywane do wszystkich tych zastosowań, przy czym najczęściej służą do opracowywania, zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*, modeli komórkowych ludzkich patologii układu nerwowego. Tylko w ostatnich 3-ach latach, w czołowych czasopismach naukowych, takich jak *Nature*, *Science* i *Cell*, opublikowano ponad dwadzieścia prac opisujących opracowanie modeli komórkowych bardzo różnych ludzkich chorób układu nerwowego. Są wśród nich zarówno choroby neurodegeneracyjne, jak i neurodegeneracyjne, mono- i wielogenowe. Jednym z pierwszych przykładów choroby, do badania której użyto iPSC-N był rdzeniowy zanik mięśni wywołany przez mutację genu *SMN1*. Wykorzystując iPSC-N Ebert i współpracownicy z Uniwersytetu Wisconsin w Madison (USA) wykazali, iż uzyskane motoneurony wykazują zmiany morfologiczne i biochemiczne spójne z obrazem klinicznym (np. przedwczesna degeneracja). Z kolei pierwsze iN zostały uzyskane zostały z fibroblastów pacjentów z chorobą Alzheimera przez grupę Asy Abeliovicha z Centrum Medycznego Uniwersytetu Columbia w USA. Do chwili obecnej opisano już uzyskanie kolejnych przeprogramowanych neuronów z fibroblastów pacjentów m.in., ze stwardnieniem zanikowym bocznym,

zespołem Retta, zespołem Downa, chorobą Parkinsona, chorobą Huntingtona, schizofrenią. Z kolei w naszej pracowni, we współpracy z prof. Sergiuszem Józwiakiem i prof. Katarzyną Kotulską z Centrum Zdrowia Dziecka w Warszawie, prowadzone są badania nad uzyskaniem komórkowego modelu neuronów pacjentów ze stwardnieniem guzowatym. Jest to choroba genetyczna związana z mutacjami w genach *TSC1* i *TSC2*, objawiająca się u części pacjentów między innymi występowaniem lekoopornych napadów padaczkowych, autyzmem, opóźnieniem umysłowym oraz występowaniem łagodnych guzów mózgu. Mamy nadzieję, iż uzyskane przez nas ostatnio iPSC-N od pacjentów z mutacją w genie *TSC1* pozwolą lepiej zrozumieć podłoże molekularne

dla neuroprekursorów uzyskanych z iPSC pacjentów z chorobą Parkinsona spowodowaną mutacją w genie *LRRK2* (ang. *leucine-rich repeat kinase 2*) zespół prof. Belmonte (Centrum Medycyny Regeneracyjnej w Barcelonie oraz Instytut Salka w Kalifornii) wykazał zahamowanie ich zdolności do samoodnawiania, co następnie potwierdzono badając odpowiednie markery białkowe w tkance mózgu pobranej postmortem od zmarłych pacjentów. Na razie jednak nie wiadomo, jakie ma to znaczenie dla rozwoju choroby. Postuluje się jednak, iż może to mieć związek z problemami poznawczymi obserwowanymi u pacjentów z tą mutacją.

Jednak opracowanie modeli chorób na bazie iPSC-N i iN wzbudziło wielkie nadzieje także ze względów praktycznych, ponieważ stwarza to nową i unika-



Ryc. 3. Przykładowe mikrofotografie komórek na wszystkich etapach przeprogramowywania ludzkich fibroblastów do neuronów metodą Yamanaki. W Pracowni Neurobiologii Molekularnej i Komórkowej Międzynarodowego Instytutu Biologii Molekularnej i Komórkowej w Warszawie już ponad dwa lata temu wdrożono protokół przeprogramowania fibroblastów do iPSC metodą Yamanaki w celu pozyskiwania iPSC-N do celów naukowych. Na mikrofotografiach przedstawiono komórki uzyskiwane w trakcie kolejnych etapów procedury. (A) ludzkie fibroblasty w hodowli; zdjęcie z mikroskopu kontrastowo-fazowego. (B) Zdjęcie kolonii komórek iPSC w hodowli, w których wykrywano znaczniki pluripotencji (Nanog i Tra1-80); wykonano przy pomocy mikroskopu konfokalnego. (C) Zdjęcie hodowanych komórek neuroprekursorowych uzyskanych z iPSC, w których wykrywano znacznik neuroprogenitorów (nestyna); wykonano przy pomocy mikroskopu konfokalnego. (D) Zdjęcia dojrzałych komórek nerwowych uzyskanych z iPSC w hodowli i po transplatacji do mózgu myszy.

larne tworzenia wadliwie zróżnicowanych komórek w mózgu chorych. Warto podkreślić, że modelowanie wybranych chorób przy użyciu iPSC-N i iN nie tylko pozwoliło na odtworzenie *in vitro* znanych aspektów schorzeń, ale także doprowadziło do zupełnie niespodziewanych odkryć, które mogą rzucić nowe światło na mechanizm badanych patologii. Na przykład

ową możliwość testowania potencjalnych leków w fazach przedklinicznych. Jest to ważne między innymi dlatego, że takie komórki odzwierciedlają bardzo złożone interakcje pomiędzy uszkodzonym genem i całym ludzkim genomem. Tego aspektu nie można odtworzyć w modelach zwierzęcych. Z drugiej strony badania oparte na łatwo dostępnych

komórkach pacjentów (np. fibroblastach czy komórkach krwi) nie uwzględniają złożoności komórek nerwowych i ich specyficznej funkcji, jaką jest np. przetwarzanie informacji czy generowanie potencjałów czynnościowych. W niniejszym podrozdziale skupimy się na omówieniu kilku przykładów testowania leków z użyciem iPSC-N.

W licznych pracach badawczych opublikowanych dotychczas z wykorzystaniem komórek iPSC-N czy iN pochodzących od pacjentów cierpiących na schorzenia układu nerwowego starano się sprawdzić skuteczność substancji farmakologicznych w odwracaniu komórkowego „fenotypu” choroby. Próby te można podzielić na dwie zasadnicze grupy. Do pierwszej zaliczamy testowanie substancji znanych, wcześniej sprawdzonych w modelach zwierzęcych, zarówno w hodowlach *in vitro*, jak i *in vivo*. Przykładem może być wykorzystanie inhibitorów γ -sekreazy w przypadku reprogramowanych neuronów uzyskanych od pacjentów z chorobą Alzheimera spowodowaną mutacjami w genach *PSEN1* i *PSEN2*. Do drugiej grupy zaliczylibyśmy te badania, w których badacze pokusili się o testowanie nowych substancji, które wytypowano na podstawie wyników badań wielkoskalowych (np. analiz transkryptomu iPSC-N pacjentów) lub niezwyfikowanych hipotez badawczych. Czytelników zainteresowanych bardziej szczegółowo tym fascynującym zagadnieniem namawiamy ponownie do lektury naszego artykułu przeglądowego we wspomnianym tomie *Postępów Biochemii*. Natomiast w niniejszym omówieniu skupimy się tylko na dwóch szczególnie ciekawych przykładach poszukiwania nowych leków w modelach komórek iPSC-N. W pierwszym przypadku Brennand i współpracownicy z Instytutu Salka w Kalifornii uzyskali komórki iPSC-N od pacjentów chorych na schizofrenię i wykazali istotne obniżenie liczby połączeń synaptycznych pomiędzy iPSC-N osób chorych w porównaniu z iPSC-N osób kontrolnych. Następnie autorzy przetestowali pięć standardowo stosowanych w klinice leków antypsychotycznych o różnym mechanizmie działania i wykazali, że spośród nich tylko loksapina w sposób istotny poprawiała „łączność” pomiędzy iPSC-N pacjentów. W drugim z wybranych przez nas przykładów Egawa i współpracownicy (Uniwersytet w Kioto) uzyskali szereg linii iPSC-N od pacjentów chorych na stwardnienie zanikowe boczne w związku z mutacją w genie kodującym białko TDP-43 (ang. *TAR DNA-binding protein 43*). Wielkoskalowa analiza ekspresji genów wykazała wzrost aktywności genów istotnych dla procesów transkrypcji lub składania eksonów. Dlatego też w dalszych badaniach skupiono się na sprawdzeniu efektywności 4 substancji

modulujących te procesy w obniżaniu wrażliwości komórek na stres wywołany podaniem arsenianu, która była znacząco podwyższona w iPSC-N pacjentów. Spośród tych substancji kwas 2-hydroxy-6-pentadecylobenzoowy (ang. *anacardic acid*), nie tylko ochraniał iPSC-N chorych przed śmiercią, ale także poprawiał ich morfologię. Pomimo tego, iż autorzy ostatecznie nie wyjaśnili, na czym dokładnie polegał efekt „terapeutyczny” wybranej substancji, opisywany przykład jest bardzo ważny. Pokazuje on, iż stosując najnowocześniejsze techniki badania ekspresji genów i zawartości białek w komórce można, dzięki wykorzystaniu iPSC-N, odkryć nowe substancje terapeutyczne, które w innym wypadku nie byłyby brane pod uwagę.

Czy wyhodujemy mózg ze skóry, czyli o ciekawości badaczy i obietnicach medycyny regeneracyjnej?

W ostatniej części niniejszego artykułu postaramy się w końcu odpowiedzieć na pytanie postawione w tytule oraz przedstawić perspektywy wykorzystania komórek iPSC-N i iN w medycynie regeneracyjnej. A zatem, czy można zrobić mózg ze skóry? Jak wiemy z opisanych powyżej badań, na pewno jesteśmy w stanie uzyskać z komórek skóry podstawowe elementy budujące mózg, np. neurony. Ale czy to jest wystarczające do odtworzenia tak skomplikowanego narządu, jakim jest mózg? Przy dzisiejszym stanie wiedzy i umiejętności badaczy odpowiedź na to pytanie jest jednoznaczna – nie. Jednak w zeszłym roku badacze z Instytutu Biotechnologii Molekularnej Austriackiej Akademii Nauk opublikowali wynik bardzo ciekawego eksperymentu. Postanowili sprawdzić co się stanie, jeśli uzyskane z iPSC neuroprekursory będą hodowane w odpowiednich warunkach *in vitro* w zawieszynie (zwykle hoduje się je na odpowiednio przygotowanych szalkach Petriego). Okazało się, że pozostawione same sobie neuroprekursory zaczęły wytwarzać struktury, które można by nazwać mini-mózgami (ich naukowa nazwa to organoidy korowe). Charakteryzowały się one występowaniem funkcjonalnych komórek neuralnych różnych typów, które samoczynnie były w stanie utworzyć struktury anatomiczne do złudzenia przypominające warstwową budowę kory mózgowej. Na obecnym etapie takie „mini-mózgi” można, podobnie jak komórki iPSC-N hodowane w szalkach, wykorzystywać do lepszego zrozumienia fizjologicznego rozwoju ludzkiego mózgu na poziomie komórkowym oraz mechanizmów chorób, którym towarzyszą zaburzenia prawidłowej budowy kory mózgowej. W omawianej pracy zespół Jurgena

Knoblich był w stanie uzyskać organoidy korowe z fibroblastów osób chorych na mikrocefalię.

Prace zespołu Knoblich są skrajnym przykładem ilustrującym plastyczność komórek neuroprekursorowych, m.in. tych uzyskanych z komórek iPSC. Jest to cecha, o której wiadomo już od kilkunastu lat i którą próbuje się wykorzystywać w eksperymentalnym podejściu do medycyny regeneracyjnej. Jednak dotychczas uzyskanie dużej liczby komórek macierzystych potrzebnych do naprawy uszkodzonej tkanki mózgowej było bardzo trudne i budziło szereg kontrowersji natury etycznej. Pojawienie się technologii reprogramowania oraz wykazanie, że uzyskane z iPSC neuronalne komórki macierzyste są w stanie wytworzyć funkcjonalne neurony po wszczepieniu do centralnego układu nerwowego (UN) gryzoni laboratoryjnych zmieniło diametralnie sytuację i wzbudziło ogromne nadzieje wśród badaczy na przełom w leczeniu uszkodzeń UN. W efekcie w ostatnich kilku latach prowadzono bardzo intensywne badania nad transplantacją komórek neuroprekursorowych uzyskanych z iPSC w zwierzęcych modelach uszkodzeń rdzenia kręgowego, udaru oraz wybranych chorób neurodegeneracyjnych. Szczególnie w dwóch pierwszych przypadkach grupy japońskich badaczy odniosły duże sukcesy. Grupa badaczy kierowanych przez prof. Okano wykazała, iż uzyskane z mysich iPSC neuroprogenitory po transplantacji do rdzenia kręgowego myszy różnicowały się zarówno do różnych rodzajów neuronów, jak i astrocytów oraz oligodendrocytów. Powstałe komórki nerwowe były funkcjonalne, tworzyły właściwe połączenia i wspomagały powrót właściwej motoryki u zwierząt z urazem rdzenia kręgowego. Następny ważny krok grupa profesora Okano zrobiła w 2011 roku potwierdzając możliwość wykorzystania progenitorów neuronalnych wyprowadzonych z ludzkich iPSC w terapii uszkodzenia rdzenia kręgowego w modelu mysim. Ostatnio ten sam zespół udowodnił, iż transplantacja ludzkich neuroprogenitorów pozwala na poprawę funkcjonalną po urazie rdzenia kręgowego marmozety. W 2013 roku równolegle w Japonii i w USA dokonano pierwszych udanych przeszczepów neuroprekursorów uzyskanych z komórek iPSC do mózgów małych naczelnych (w tym z zaindukowaną farmakologicznie chorobą Parkinsona). Opisane badania mają na celu jak najszybsze wprowadzenie do praktyki klinicznej przeszczepów opartych o komórki iPSC. Pierwsze próby w przypadku

terapii uszkodzeń rdzenia kręgowego są spodziewane w Japonii w nadchodzącym roku. Planowane są także próby regeneracji komórek siatkówki. Należy jednak pamiętać, iż wciąż nie do końca rozwiązane pozostają problemy produkcji iPSC w sposób bezpieczny, tj. eliminujący ryzyko nowotworzenia oraz znalezienia sposobów zwiększających szansę przetrwania „zdrowych” komórek w patologicznie zmienionym środowisku tkanki docelowej. Warto wspomnieć, że równolegle trwają prace nad wykorzystaniem zjawiska transdiferencjacji w medycynie regeneracyjnej. Pomimo, iż są one mniej zaawansowane udało się już uzyskać, manipulując środowiskiem zewnątrzkomórkowym i programem genetycznym komórek glejowych (astrocytów), ich bezpośrednie przeprogramowanie do neuronów w mózgu *in vivo*. Można zatem wyobrazić sobie sytuację, w której zamiast transplantacji stosowana będzie transdiferencjacja jako metoda szybsza i niewymagająca żmudnego procesu pozyskiwania komórek iPSC i neuroprekursorów z łatwo dostępnych komórek pacjenta.

Podsumowanie

Pomimo tego, iż odpowiedź na pytanie postawione w tytule jest i pewnie jeszcze przez długi czas będzie negatywna warto podkreślić, iż nagrodzona Nagrodą Nobla technologia przeprogramowywania, która umożliwiła, między innymi, pozyskanie neuronów z łatwo dostępnych komórek pacjentów, przyniosła już szereg korzyści naukowych. Co więcej, metodologia ta zaczyna mieć coraz większe znaczenie praktyczne w nowoczesnej farmacji i medycynie eksperymentalnej. A zatem, chociaż nie można zrobić mózgu ze skóry, to produkcja iPSC-N jest już możliwa i jako dziedzina nauki i medycyny rozwija się bardzo dynamicznie.

Podziękowania: Badania prowadzone przez autorów niniejszej pracy przeglądowej są finansowane z grantu ERA-NET NEURON/06/2011 „AMRePACELL” (współfinansowany przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju) (JJ) oraz w ramach programu HOMING PLUS (HOMING PLUS/2012-5/6) Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka (EL).