Tutoring Gedanensis

Tutoring Gedanensis **3**(1) 16-23 (2018) ISSN 2451-1862

Czy nowe technologie medycyny molekularnej będą skutecznym remedium przeciwko chorobom przewlekłym i nowotworom?

Anna Kubiak
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Biologii
E-mail: anna.kubiak01@gmail.com

Tutor dr hab. Robert Nawrot
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Biologii,
Instytut Biologii Eksperymentalnej, Zakład Wirusologii Molekularnej

Słowa kluczowe - *Choroby przewlekłe, terapia genowa, komórki macierzyste*

1. Wprowadzenie

Choroby przewlekłe dotyczą dużej części społeczeństwa. Terapia większości z nich ciągle kojarzy się z nieustannym zażywaniem leków, które w głównej mierze łagodzą objawy, nie wpływając na ich przyczyny. Należą do nich między innymi choroby autoimmunologiczne, które związane są z produkcją przeciwciał rozpoznających własne komórki organizmu jako obce, w konsekwencji - niszczących je. Niektóre z nich dotyczą wyłącznie narządów, a inne całych układów. Niezależnie od typu, problem leży wciąż w zaburzonej autotolerancji komórek układu odpornościowego. Przyczyn takiego zachowania się komórek odpornościowych może być wiele i nadal nie wszystkie zostały dokładnie scharakteryzowane. Jedną z nich są nieprawidłowości komórek macierzystych, które produkując wadliwe limfocyty T i B prowadzą do zaburzeń ich funkcjonowania. Częstym czynnikiem zwiększającym prawdopodobieństwo rozwoju choroby autoimmunologicznej są predyspozycje genetyczne, ale autoagresja może zostać również wywołana przez drobnoustroje - przykładem takiego zjawiska jest powiązanie między wirusem Coxsackie B3, a cukrzycą typu I. Choroby autoimmunologiczne stanowią bardzo zróżnicowaną grupę, która ciągle jest badana i poznawana, a do wyleczenia na pewno potrzebny będzie ogromny nakład pracy badaczy i nowoczesne technologie (Głowacki, 2017).

Kolejny rodzaj schorzenia, które dotyczy coraz większej liczby osób, to nowotwory. Nie da się jednoznacznie określić przyczyny ich powstawania - do czynników stanowiących źródło nowotworzenia należą zarówno czynniki fizyczne, chemiczne, jak i biologiczne Zjawiskiem przyczyniającym się do inicjacji procesów nowotworzenia są m.in. wirusy, należące do czynników biologicznych. Wirusy onkogenne mogą wpływać na komórki, na przykład poprzez zaburzanie procesów ich apoptozy, a także poprzez regulację ekspresji białek odpowiedzialnych za proliferację, czym prowadzą do nadmiernego jej zachodzenia i powstawania mutacji. Zjawiska te z kolei leżą u podstaw procesów nowotworzenia. Niektóre mutacje mogą prowadzić do przekształcenia protoonkogenów w onkogeny, które ulegając zwiększonej ekspresji powodują nadmierny wzrost i namnażanie się komórek, co prowadzi do przekształcenia się prawidłowych komórek

w nowotworowe. Stanowi to kolejną okoliczność sprzyjającą rozwojowi nowotworów. Zostały przeprowadzone badania nad zależnością między onkogenami, a nowotworami przez nie zainicjowanymi - u myszy dezaktywowano konkretne onkogeny. Wyniki tych badań były obiecujące - zahamowanie ekspresji jednego onkogenu, np. MYC lub RAS często skutkowało regresją nowotworu. Symptomem tej regresji było zatrzymanie proliferacji, zróżnicowanie się komórek nowotworu, starzenie, a nawet proces apoptozy (Głowacki, 2017; Khan i in., 2013).

2. Przykłady terapii

2.1 Wirusoterapia

Mimo, że wirusy przyczyniają się do rozwoju zarówno chorób autoimmunologicznych, jak i nowotworów, to niektóre z nich posiadają również właściwości, które pozwalają na walkę z tego typu chorobami. Taka terapia ma wielkie szanse na to, by okazała się remedium przeciwko wielu dolegliwościom. Przeprowadzone badania zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*, wykazują skuteczność różnych rodzajów wirusów przeciwko poszczególnym chorobom. Jako przykład może posłużyć tutaj wspomniany już wirus Coxsackie B3 (CVB3), który wykazuje właściwości onkolityczne przeciwko niedrobnokomórkowemu rakowi płuc (*non-small-cell lung carcinoma* - NSCLC). Oznacza to, że wirus ten atakuje komórki nowotworowe, a następnie prowadzi do ich destrukcji. Po infekcji tym wirusem komórki nowotworu wydzielają białka uczestniczące w immunogennej apoptozie. CVB3 prowadzi również do aktywacji komórek NK i granulocytów, które uczestniczą w reakcji immunologicznej organizmu przeciwko temu rodzajowi raka. Badania te wykazały aktywność CVB3 jako dobrze tolerowanego przez organizm czynnika onkolitycznego, który dodatkowo stymuluje układ odpornościowy w walce z nowotworem (Inoue i in., 2012).

Innym wirusem mającym onkolityczne właściwości jest genetycznie zmodyfikowany wirus choroby Newcastle (rNDV). Działa on przeciwko nowotworowym komórkom macierzystym raka prostaty (*prostate cancer stem cells* - PSCs). Komórki tego typu nazywane są również komórkami inicjującymi nowotwór (*tumor initiating cells*), ponieważ uważa się, że to od nich zaczyna się inicjacja i progresja nowotworu. Mają one właściwości bardzo zbliżone do normalnych komórek macierzystych - przeprowadzają proces samoodnowy, są pluripotencjalne oraz posiadają mechanizmy chroniące komórkę. To właśnie przez istnienie tych mechanizmów, działanie konwencjonalnej terapii cytotoksycznej jest w stosunku do tych komórek macierzystych raka nieskuteczne. Wirusy onkolityczne umożliwiają korzystanie z innych sposobów niszczenia nowotworowych komórek macierzystych, które różnią się od mechanizmów, stosowanych w dotychczas znanych terapiach konwencjonalnych. Ponadto, rekombinowany rNDV aktywowany swoistym antygenem sterczowym (*prostate-specific antigen* - PSA) jest selektywnie cytotoksyczny dla komórek inicjujących nowotwór prostaty (DU145) (Allen i in., 2017). Ten typ komórek nowotworowych - w tym przypadku u glejaka - jest również celem kolejnego wirusa onkolitycznego - Zika (ZIKV). Należy on do flawiwirusów i w rozwijającym się centralnym układzie nerwowym prowadzi do różnicowania się prekursorowych komórek nerwowych, które w takim momencie tracą zdolność do proliferacji i umierają. U dorosłych natomiast, efekty infekcji tym wirusem są znacznie mniej poważne. Badania wykazały, że wirus ten w przeciwieństwie do innych flawiwirusów, które zabijały zarówno nowotworowe, jak i zdrowe komórki nerwowe, doprowadza do śmierci komórek macierzystych glejaka pobranych od pacjenta, pozostawiając zdrowe komórki nienaruszone. Jego działanie zostało zbadane także u myszy z glejakiem, u których stwierdzono dłuższą przeżywalność, kiedy zostały zakażone odpowiednio dostosowanym do tych zwierząt wirusem Zika (Chai i in., 2017).

2.2 Terapia genowa

Już w 2001 roku, Food and Drug Administration (FDA) zaakceptowała terapię przeciwko przewlekłej białaczce szpikowej przy pomocy innowacyjnego leku (imatinib). Lek ten jako pierwszy na rynku skierowany był przeciwko konkretnemu białku - kinazie tyrozynowej BCR-ABL. Kinaza ta jest zmutowaną wersją protoonkogenu *ABL*, a jej ekspresja prowadzi między innymi do niekontrolowanej proliferacji, zaburzeń w różnicowaniu komórek i uszkodzeń materiału genetycznego. Dopuszczenie tego leku do użytku stanowiło swego rodzaju przełom, gdyż zapoczątkowało odkrycia kolejnych terapii celowanych (*targeted agents*). Komórki nowotworowe mogą „uzależnić" się od zaburzonych sygnałów ze strony onkogenów (*aberrant oncogenic signaling pathways*), stąd ich wrażliwość na zatrzymanie procesu przekazywania tego typu informacji jest bardzo wysoka. Od imatinibu rozpoczął się rozwój kolejnych leków przeciwnowotworowych, o podobnym mechanizmie działania, co doprowadziło do tego, że obecnie istnieją leki skierowane przeciwko różnym rodzajom kinaz. Odkryto ponad 50 onkogenów, które częściowo już są celem terapii albo leki hamujące ich ekspresję są w fazie badań (Khan i in., 2013).

Terapia genowa to sposób leczenia polegający na modyfikacji ekspresji genów w komórkach pacjenta lub wprowadzeniu do jego komórek nowych sekwencji genetycznych. W przypadku nowotworów może być ona również skierowana przeciwko genom supresorowym. Ich uszkodzenia są najczęstszym genetycznym czynnikiem identyfikowanym w nowotworach u ludzi. Modyfikacja, mająca na celu wprowadzenie prawidłowych wersji genów supresorowych do komórek nowotworu może zostać przeprowadzona wewnątrznowotworowo (*intra-tumor*) przy użyciu wektora adenowirusowego. Badania kliniczne oparte na adenowirusie, który prowadził do ekspresji supresora nowotworów p53 (Onyx-015), niestety rozczarowały i zostały przerwane. Jednak badania nad kolejnymi terapiami wewnątrznowotworowymi, opartymi na wprowadzaniu wektora bezpośrednio do guza są dalej prowadzone, np. z użyciem OncoVex GM-CSF. Terapia ta daje obiecujące wyniki w badaniach klinicznych u pacjentów chorujących na czerniaka. Wspomniany wirus onkolityczny, oprócz kodowania tp53, przynosi również inne korzyści w walce z chorobą, indukując odpowiedź immunologiczną organizmu przeciwko komórkom nowotworowym (Khan i in., 2013).

Terapia genowa daje obiecujące efekty również w mysim modelu pląsawicy Huntingtona (*Huntington's disease* - HD). Choroba ta spowodowana jest mutacją genów warunkujących ekspresję białka - huntingtyny (wtHtt), która normalnie bierze udział w wielu ważnych procesach zachodzących w komórkach. Należą do nich między innymi regulacja transkrypcji, utrzymywanie równowagi wapniowej, czy też synaptyczne przekazywanie sygnałów. Zmutowana wersja wtHtt - mHtt oprócz tego, że nie wykonuje prawidłowo swoich zadań, zaczyna dodatkowo oddziaływać z elementami komórek, co ma bardzo toksyczne działanie, skutkujące zaburzeniami w proteolizie, komunikacji międzykomórkowej, aktywności synaps i innych procesach komórkowych. Takie nieprawidłowe działanie mHtt jest przyczyną choroby Huntingtona, do której objawów należą problemy z motoryką, funkcjami poznawczymi oraz utrata wagi i zaburzenia psychiczne. Późne pojawianie się objawów HD sprawia, że istnieją szerokie możliwości związane z leczeniem presymptomatycznym, a to, że w ujęciu genetycznym choroba ta stosunkowo nie jest skomplikowana powoduje, że rozwój terapii genowej w jej przypadku powinien być szybki i skuteczny. Choroba Huntingtona prowadzi do degeneracji neuronów, co było jednym z celów opracowanej terapii genowej (Patterson i in., 2011). W badaniach próbowano uzupełnić utracone neurony poprzez podawanie czynnika wzrostu nerwów (*nerve growth factor* - NGF), który oprócz wspomagania przetrwania komórek nerwowych, ogranicza ekspresję Htt. Drugim celem terapii genowej było zredukowanie poziomu mHtt, do czego wykorzystano między innymi przeciwciała anti-Htt. Badania te wykazały, że w przyszłości powstanie wiele możliwości związanych z terapią genową zarówno w odniesieniu do zapobiegania, jak i leczenia symptomów,

w przypadku tej choroby oraz innych chorób neurodegeneracyjnych, związanych z nieprawidłowościami w białkach (Patterson i in., 2011).

CRISPR/Cas9 to narzędzie służące do edycji genomu. Jego odkrycie stworzyło nowe możliwości w technikach modyfikacji materiału genetycznego, ponieważ metoda ta okazała się lepsza od swoich poprzedników, głównie ze względu na to, że jest tańsza i bardziej efektywna. Mechanizm jej działania pochodzi od bakterii, które dzięki CRISPR bronią się przed wirusami. Bakterie podczas infekcji pobierają DNA wirusowy i dzięki temu przy jego następnym pojawieniu się, rozpoznają wirusa i wytwarzają fragmenty RNA na podstawie pobranego wcześniej materiału genetycznego. Uczestniczy w tym procesie także enzym Cas9, który po ukierunkowaniu przez wytworzone RNA, unieczynnia wirusa. Białko Cas9 zostało również wykorzystane przez naukowców do edycji genomu. W celu jego zastosowania, tworzy się krótkie odcinki RNA (gRNA), które są komplementarne do wybranego odcinka genomu, a co za tym idzie przyłączają się do niego, jednocześnie wiążąc enzym. Następnie Cas9 rozcina DNA w określonym miejscu. Proces ten umożliwia wykonanie pożądanej modyfikacji materiału genetycznego. Mimo wielu zalet CRISPR/Cas9, metoda ta niestety również jest obarczona ryzykiem błędów, do których przede wszystkim należą mutacje w niezamierzonej lokalizacji. Takie zmiany mogą skutkować nawet śmiercią komórki, dlatego bardzo ważne są działania mające na celu udoskonalenie tej metody (Guo i in., 2014).

W przypadku zespołu nabytego upośledzenia odporności (*Acquired Immunodeficiency Syndrome* - AIDS), metoda CRISPR/Cas9 została wykorzystana do zmodyfikowania limfocytów T w taki sposób, aby zwiększyć ekspresję genu kodującego białko CCR5, co powoduje zwiększoną podatność takich limfocytów na zakażenie HIV-1. W ten sposób otrzymano komórki Jurkat-KI-R5. Będą one bardzo użyteczne zarówno w rozwoju metod terapii genowej AIDS, jak i badaniach nad HIV. Intensywnie wyczekiwaną i badaną strategią terapii genowej infekcji HIV, jest zaburzenie ekspresji CCR5 w limfocytach T $CD4^+$, które miałoby zapewnić ich odporność na infekcję HIV oraz pomóc w eliminacji zainfekowanych komórek. Złożoność infekcji tym wirusem powoduje, że komórki Jurkat-KI-R5 są potrzebne, aby za ich pomocą badać mechanizmy rządzące samym wirusem, chorobą przez niego powodowaną – AIDS, oraz możliwości terapii. Należą do nich odporność wirusa na leki, efektywność terapii antyretrowirusowej oraz rozwój terapii genowej. Komórki te stanowią również doskonałe pole do dopracowania użycia metody CRISPR/Cas9 w przypadku modyfikowania genu *CCR5* (Fu i in., 2017).

Stwardnienie rozsiane (*multiple sclerosis* - MS) powoduje znaczne ubytki neurologiczne. Rozwój tej choroby rozpoczyna się od atakowania osłonki mielinowej przez układ immunologiczny, co prowadzi do problemów ze wzrokiem, mową, koordynacją ruchową i do osłabienia mięśni. Stosując model mysi, naukowcy dowiedli, że możliwe jest wyleczenie stwardnienia rozsianego, poprzez hamowanie reakcji odpornościowej, za pomocą kombinacji terapii genowej i leków immunosupresyjnych, stosowanych u biorców przeszczepów narządów. Gen kodujący białko budujące osłonkę mielinową (*myelin oligodendrocyte glycoprotein* - MOG) dostarczono do wątroby myszy, używając jako wektora wirusa związanego z adenowirusami (*adeno-associated virus* - AAV). Wątroba ma tutaj znaczenie, ponieważ celowanie terapii genowej w nią, zwiększa tolerancję immunologiczną. Terapeutycznie wprowadzone białko - MOG, efektywnie odwracało postęp choroby, a także zapobiegało jej wystąpieniu u myszy, które nie wykazywały objawów nawet po siedmiu miesiącach od przejścia takiej terapii. Jeszcze lepsze efekty odnotowano przy kombinacji terapii genowej z immunoterapią za pomocą rapamycyny. Lek ten stymuluje proliferację limfocytów T regulatorowych, przy hamowaniu limfocytów T efektorowych, które w przypadku tej choroby są niepożądane, ponieważ to one atakują komórki układu nerwowego. Badania te wykazały, że immunoterapia genowa po przeprowadzeniu badań, które poszerzą wiedzę na jej temat, może stanowić

skuteczny sposób leczenia zarówno stwardnienia rozsianego, jak i innych chorób autoimmunologicznych (Bennet, 2017).

2.3 Komórki macierzyste

Pęcherzowe oddzielanie się naskórka (*Junctional epidermolysis bullosa* - JEB) ta choroba genetyczna spowodowana mutacjami w genach kodujących lamininę-332 - białko będące składnikiem błony podstawnej. Choroba ta ma ostry przebieg i często prowadzi do śmierci pacjenta. Wywołuje ona chroniczne rany skóry i błony śluzowej w odpowiedzi na nawet drobne urazy mechaniczne. Prowadzą one do przewlekłych infekcji i blizn, a także znacznie zwiększają ryzyko wystąpienia nowotworu skóry. Terapia dostępna obecnie polega na leczeniu objawowym, ponieważ nie ma lekarstwa na tę chorobę i ponad 40% chorych umiera jeszcze przed okresem dojrzewania. Bardzo ciekawym przypadkiem połączenia terapii za pomocą komórek macierzystych, czyli posiadających zdolność do podziałów i różnicowania się w różne typy komórek organizmu, oraz terapii genowej, jest przypadek 7-letniego chłopca, chorującego na JEB. Za pomocą transgenicznych kultur keratynocytów zregenerowano naskórek na powierzchni całego ciała tego pacjenta. W trakcie 21-miesięcznego okresu obserwacji, zregenerowany naskórek pozostał zdrowy i wytrzymały na uszkodzenia mechaniczne. Nie wystąpiły także pęcherze ani inne związane z tą chorobą uszkodzenia. Jest to w pełni funkcjonalny naskórek, utrzymywany przez ograniczoną liczbę transgenicznych komórek macierzystych, które potrafią się samodzielnie odnawiać. Ponadto wizualnie nie różni się on od normalnego naskórka (Bauer i in., 2017).

Przy okazji leczenia trudno gojących się ran, warto wspomnieć o pomyśle polskiej badaczki - dr Honoraty Kraśkiewicz i jej zespołu z Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. L. Hirszfelda PAN, którzy prowadzą badania nad stworzeniem opatrunku hydrożelowego, który ma dodatkowo zawierać substancje lecznicze pochodzące z komórek macierzystych. Komórki te zostaną jednorazowo pobrane od zdrowego dawcy i hodowane w warunkach laboratoryjnych, tworząc linię komórkową. Ma to stanowić złoty środek pomiędzy kosztowną i problematyczną izolacją komórek macierzystych pacjenta, a trudnym procesem gojenia się rozległych ran bez użycia czynników terapeutycznych pochodzących z tych komórek (Krajczyńska, 2017).

3. Podsumowanie

Terapia genowa wymaga użycia narzędzi, za pomocą których można zmodyfikować wybraną część genomu. Rozwój takich metod rozpoczął się od białek zawierających palce cynkowe - *Zinc-Fingers*, które stanowiły pierwszą ukierunkowaną endonukleazę, za pomocą której można było edytować sprecyzowany fragment genomu ludzkiego. Na przestrzeni lat tego typu narzędzia bardzo dynamicznie się rozwijały, co doprowadziło do odkrycia technologii CRISPR/Cas9, która dzięki swojej uniwersalności, stała się jedną z najpopularniejszych narzędzi dzisiejszej biotechnologii. Wadą tej techniki jest to, iż powoduje ona mutacje prowadzące do zmiany ramki odczytu, co nie jest wykrywane w trakcie transkrypcji i może skutkować powstaniem skróconych wersji białek, które będą nieprawidłowo funkcjonowały. Istniejące strategie naprawy niepożądanych mutacji wywołanych przez nukleazę typu "dzikiego" SpCas9 nie są całkowicie skuteczne, stworzono jednak zmodyfikowaną SpCas9-HF1, która powoduje znacznie mniej mutacji niepożądanych niż SpCas9. Różnica występująca pomiędzy tymi dwoma typami nukleaz, polega głównie na ograniczeniu zbędnego kontaktu pomiędzy SpCas9-HF1, a DNA. Dokonano tego, poprzez obniżenie energii kompleksu w taki sposób, że w pełni wystarczy jej na prawidłowy kontakt pomiędzy odcinkiem genomu,

stanowiącym cel działania, a nukleazą, ale zdolność do interakcji z fragmentem DNA spoza określonego celu jest zdecydowanie niższa. Alternatywnym sposobem *knock outu* genów jest metoda łącząca CRISPR/Cas9 z CRISPR-Trap, która zapobiega powstawaniu problematycznych produktów ubocznych edycji genów, poprzez całkowite zahamowanie transkrypcji, za pośrednictwem usunięcia lub zastąpienia endogennej ramki odczytu (Benitez i in., 2017; Joung i in., 2016).

Wiele rodzajów terapii genowej daje obiecujące efekty zarówno *in vitro*, jak i na modelach zwierzęcych. Gdy jednak dochodzi do badań klinicznych z udziałem ludzi, często zdarza się, że wyniki zupełnie rozczarowują. Dlatego istotne jest, aby stosować jak najwięcej różnych rodzajów terapii genowej, ponieważ nie wiadomo, która z tych skutecznych u zwierząt okaże się równie efektywna u ludzi (Patterson i in., 2011).

Terapie z użyciem wirusów wykazują skuteczność przeciwko różnym chorobom. Wirusy onkolityczne prowadzą do zahamowania progresji nowotworów, a także indukują apoptozę komórek nowotworowych. Nie można jednak pomijać roli immunoterapii w takich procesach, ponieważ te dwa rodzaje leczenia, w połączeniu mogą dawać naprawdę niesamowite efekty. Dokładne zrozumienie udziału układu immunologicznego w mechanizmach terapeutycznych, może w przyszłości skutkować stworzeniem skutecznego remedium przeciwko wielu chorobom. Wykorzystanie wirusów onkolitycznych w immunoterapii daje nadzieje na nowe możliwości, ponieważ ze względu na zaburzanie przez nie struktury guzów, uważa się, że wirusy te mogą podwyższać skuteczność różnych immunoterapii. Ponadto, większość z nich pobudza układ immunologiczny do działania przeciwko komórkom nowotworowym, co brzmi obiecująco, biorąc pod uwagę potencjał, jaki może występować w różnych rodzajach leczenia, w których w jakikolwiek sposób może uczestniczyć układ odpornościowy. Jest to szansa na zrewolucjonizowanie terapii antynowotworowej, jednak najpierw trzeba dokładnie poznać interakcje pomiędzy komórkami układu immunologicznego, a wirusami onkolitycznymi, których mechanizmy działania są bardzo złożone (Boisgerault i in., 2017).

Uważa się, że komórki, które występują w nowotworach i są zdolne do samoodnowy oraz różnicowania się w różne typy komórek, odpowiadają za progresję nowotworu, a także jego przerzuty. Jest to na razie tylko hipoteza, ponieważ prowadzonym dotychczas badaniom brakuje jeszcze niektórych elementów, aby możliwe było naukowo udowodnienie występowania komórek o takich właściwościach w nowotworach. Mimo braku ostatecznego potwierdzenia tej teorii, takie komórki są coraz odważniej nazywane komórkami macierzystymi nowotworu lub też komórkami inicjującymi nowotwór. Dokładne zbadanie, a co za tym idzie zrozumienie ich potencjalnej roli w procesach nowotworzenia, stymulacji angiogenezy, a także w nadawaniu nowotworom charakteru złośliwego, daje duże możliwości na opracowanie skutecznych metod leczenia nowotworów (Sokołow, 2017).

Terapia z użyciem komórek macierzystych z jednej strony, daje nadzieje na wyleczenie wielu chorób, między innymi ortopedycznych, czy też neurologicznych. Jednak z drugiej strony, sugestie mówiące, że komórki te potrafią "wyczuć" środowisko, w którym się znajdują, czy też, że mogą naprawić każde uszkodzenie, nie są oparte na przekonujących dowodach, pochodzących z kontrolowanych badań klinicznych. Regulacje, które muszą zostać spełnione, aby taki proces mógł zostać uznany za kontrolowany, są zbyt wygórowane dla wielu małych instytucji przeprowadzających tego typu badania, stąd trudno jest zdobyć wystarczającą ilość wiarygodnych danych, aby terapia z użyciem komórek macierzystych mogła wejść do powszechnego użytku. Takie standardy są jednak zrozumiałe, chociażby ze względu na przypadki niepożądanych działań wywołanych przez komórki macierzyste, które miały miejsce. Za przykład może posłużyć próba leczenia zwyrodnienia plamki żółtej, za pomocą wprowadzenia komórek macierzystych bezpośrednio do oczu pacjentów. Po takiej terapii trzy osoby doświadczyły pogorszenia wzroku, z czego dwie stały się niewidome. Nie jest to

jednak powód, aby zupełnie zaprzestać badań nad nowymi technologiami medycznymi. Wręcz przeciwnie - takie przypadki dowodzą tego, jak istotne jest dokładne zrozumienie procesów, które zachodzą w organizmie ludzkim, który przecież jest niesamowicie złożony, a przewidzenie tego, jak poszczególne komórki zareagują na działanie z zewnątrz, jest ogromnym wyzwaniem, o ile w ogóle jest możliwe. Medycyna molekularna stanowi bardzo dynamicznie rozwijającą się gałąź z pogranicza biologii, biotechnologii i medycyny, która w przyszłości doprowadzi do powstania terapii dających możliwość całkowitego wyleczenia wielu chorób, które na chwilę obecną są nieuleczalne. Kierunków rozwoju jest wiele i co chwilę odkrywane są informacje owocujące nową gałęzią badań lub umożliwiające lepsze zrozumienie tych, które już istnieją, w konsekwencji ich - udoskonalenie (Califf i in., 2017).

Literatura:

Allen A., Biswas M., Pudupakam R. S., Raghunath S., Sriranganathan N., 2017. Genetically engineered oncolytic Newcastle disease virus mediates cytolysis of prostate cancer stem like cells. *Journal of Biotechnology*, 260, 91–97.

Bauer J. W., Bicciato S., Bondanza S., Carulli S., Contin R., De Luca M., De Rosa L., Enzo E., Fischer M., Hirsch T., Jacobsen F., Jurman I., Klausegger A., Kneisz D., Kueckelhaus M., Lehnhardt M., Luecke T., Morgante M., Pellegrini G., Quaglino D., Reichelt J., Romano O., Rothoeft T., Scaglione D., Seconetti A. S., Teig N., 2017. Regeneration of the entire human epidermis using transgenic stem cells. *Nature*, 551, 327–332.

Benitez J. A., Colombo M., Domanski M., Hedlund E., Jutzi D., Mechtersheimer J., Nasif S., Reber S., Ruepp M.D., 2017. CRISPR-Trap: A clean approach for the generation of gene knockouts and gene replacements in human cells. *Molecular biology of the cell*, 22(28).

Bennet D., 2017. Unique gene therapy prevents, reverses multiple sclerosis in animal model. *University of Florida Health* [online], https://ufhealth.org/news/2017/unique-gene-therapy-prevents-reverses-multiple-sclerosis-animal-model

Boisgerault N., Grégoire M., Fonteneau J. F., 2017. Viral cancer therapies: are they ready for combination with other immunotherapies?. *Future oncology*, 13(18), 1569–1571.

Califf R. M., Marks P. W., Witen C. M., 2017. Clarifying Stem-Cell Therapy's Benefits and Risks. *The New England journal of medicine*, 376(11), 1007–1009.

Chai J. N., Chheda M. G., Diamond M. S., Fernandez E., Gorman M. J., Hubert C. G., McKenzie L. D., Prager B. C., Rich J. N., Richner J. M., Shan C., Shi P. Y., Tycksen E., Wang X., Zhang R., Zhu Z., 2017. Zika virus has oncolytic activity against glioblastoma stem cells. *The Journal of experimental medicine*, 214(10), 2843–2857.

Fu X., He J., Zhang T., 2017. Using a novel cellular platform to optimize CRISPR/CAS9 technology for the gene therapy of AIDS. *Protein Cell*, 8(11), 848–852.

Głowacki Ł., 2017. Choroby autoimmunologiczne – mechanizmy powstawania, Wirusy i choroby nowotworowe. *Biotechnologia.pl* [online], http://biotechnologia.pl/biotechnologia/choroby-autoimmunologiczne-mechanizmy-powstawania,17211, http://biotechnologia.pl/biotechnologia/wirusy-i-choroby-nowotworowe,16813

Guo X., Wen Y., Zhang F., 2014. CRISPR/Cas9 for genome editing: progress, implications and challenges. *Human molecular genetics*, 23, R40-R46.

Inoue H., Marumoto T., Miyamoto S., Nakamura T., Nakanishi Y., Okazaki T., Sakamoto C., Shimizu H., Takahashi A., Takayama K., Tani K., Urata Y., Yamada M., 2012. Coxsackievirus B3 Is an Oncolytic Virus with Immunostimulatory Properties That Is Active against Lung Adenocarcinoma. *Cancer research*, 72(10), 2609–2621.

Joung J. K., Kleinstiver B. P., Nguyen N. T., Pattanayak V., Prew M. S., Tsai S. Q., Zheng Z., 2016. High-fidelity CRISPR–Cas9 nucleases with no detectable genome-wide off-target effects. *Nature*, 529(7587), 490–495.

Khan M., Pelengaris S., 2013 *The Molecular Biology of Cancer: A Bridge from Bench to Bedside,* Wiley-Blackwell

Krajczyńska E., 2017. Stem cells will help to treat hard-to-heal wounds. PAP - Science and Scholarship in Poland [online], http://scienceinpoland.pap.pl/en/node/25549

Patterson P. H., Southwell A. L., 2011. Gene Therapy in Mouse Models of Huntington Disease. *The Neuroscientist: a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry*, 17(2), 153–162.

Sokołow A., 2017. Nowotworowe komórki macierzyste. *Biotechnologia.pl* [online], http://biotechnologia.pl/biotechnologia/nowotworowe-komorki-macierzyste,17296

Krótka notka o autorze: *Studentka pierwszego roku studiów licencjackich na kierunku biotechnologia. Zainteresowana głównie medycznymi aspektami biotechnologii i genetyki człowieka.*