

reaktorů finančně významně podílí, není takové zjištění jistě povzbudivé a vybízí k opatrnosti i ostatní firmy s obdobným programem.

O klonování člověka byla již na začátku uvedena krátká zmínka s vyjádřením negativního postoje zasvěcené vědecké komunity k vytváření kopií dárce jádra a oznámení o probíhajících těhotenstvích po přenosu klonovaných embryí je třeba přijímat s krajní nedůvěrou. Není podstatné, zda přicházejí od Richarda Seeda z USA, Severina Antinoriho z Itálie či od náboženské sekty Clonaid. Skutečností zůstává, že neexistuje jediný důkaz o pravdivosti podobných zpráv a o případném narození dítěte vzniklého z embryonální nebo somatické buňky. Po zvážení všech rizik, kterým jsou klonovaná embrya vystavena, by nikdo z odborníků k reprodukci člověka touto metodou nepřistoupil. A jen těžko si lze představit reakci veřejnosti po narození dítěte s vážným zdravotním poškozením.

Ze zcela odlišného pojetí vycházejí experimenty zaměřené na produkci lidských embryí s cílem získat buňky využitelné v humánní medicíně. Jsou motivovány poznáním schopnosti některých buněk embryoblastu dělit se po izolaci ve vhodném médiu, aniž dochází k jejich diferenciaci. Setkáváme se s nimi pod názvem embryonální kmenové buňky (ESC — Embryonic Stem Cells) a ví se, že se nejen dělí, ale v přítomnosti specifických růstových faktorů diferencují na žádané buněčné typy. Jejich existence byla již před lety popsána u myši a od té doby bylo věnováno jejich získání u jiných savců, včetně člověka, velké úsilí. Publikované výsledky se dařilo však jen obtížně opakovat, a proto každá

další zpráva byla přijímána s oprávněnou nedůvěrou. Přesvědčivé důkazy o existenci embryonálních kmenových buněk u člověka podali teprve A. J. Thomson a spolupracovníci v r. 1998 a J. Gearhart také v r. 1998. První skupina použila ve svých experimentech nadbytečná lidská embrya vniklá oplazením *in vitro* při asistované reprodukci, druhá izolovala kmenové buňky z plodů získaných po přerušení těhotenství. Početné následné studie naznačily, že by humánní medicína mohla získat účinný nástroj na léčení chorob, s nimiž se až dosud obtížně bojovalo. Nejčastěji jsou zmiňovány degenerativní změny mozku jako Parkinsonova či Alzheimerova choroba, poškození míchy, diabetes, poruchy krvetvorby a mnohé další. Hrubou představu o současných zdrojích kmenových buněk a o manipulaci s nimi nabízí přiložené schéma. Povzbudivé výsledky při ošetření myši diferencovanými ESC skutečně prokázaly ústup typických syndromů u řady jmenovaných chorob a naznačily tak i využitelnost plasticity některých buněk ve prospěch člověka.

Neukončené dosud zůstávají diskuse o etických problémech spojených s použitím lidských embryí pro tyto účely. Ani mezi jednotlivými skupinami odpůrců nepanuje shoda, jaká vývojová stadia by mohla být ještě tolerována a kdy se embryo stává již nedotknutelné. Za úvahu také stojí posoudit, zda embryo vzniklé oplazením a připravené na ukončení vývoje má stejnou hodnotu jako embryo klonované se značně omezenou vývojovou schopností. Odlišné pohledy budou bezesporu zastávat erudovaní biologové a představitelé různých náboženství. Ve většině zemí vstupují do těchto rozepří zákonodárci a stanovují

se pro využití lidských embryí přísná, ne však zcela shodná pravidla. I u nás k podobným opatřením nedávno došlo. Je ale třeba připomenout, že jen soustředěné úsilí povede k rychlejšímu přiblížení slibných vlastností ESC k pacientovi. Jak ukazují mnohé příklady, na řadě pracovišť se o to pokouší. Svědčí o tom již zmíněná práce W. S. Hwanga a kol. (2005). Podařilo se nejen vytvořit lidská klonovaná embrya a ustavit z nich definované linie ESC, ale získat i buňky, které nevyvolají imunitní reakci a odmítnutí příjemcem. Tato stručná zmínka jen zcela povrchně naznačuje, jak nečekané perspektivy klonování nabízí, avšak lze jen těžko předvídat, jestli se zdaří jejich naplnění. Navíc, ESC mají velkého konkurenta v kmenových buňkách nalezených v řadě tkání, kde slouží jako záloha pro obnovu již odumírajících buněk. Před embryonálními kmenovými buňkami mají významnou výhodu v tom, že svou podstatou nejsou z etického hlediska tak zajímavé pro širokou veřejnou diskusi.

Na závěr by bylo vhodné uvést, že se v zahraniční i domácí literatuře objevují průběžně nové, často nečekané poznatky o využití různých typů buněk ku prospěchu lidí i zvířat. Je jen potěšitelné, že i v České republice se v této oblasti intenzivně bádá v řadě výzkumných zařízení za úzké spolupráce s předními zahraničními ústavami. Zejména na úseku aplikace vybraných buněk k léčebným účelům si udržuje ČR dobré postavení a má cíleně rozpracované postupy na experimentálních modelech. Již povrchní pohled naznačuje propastný rozdíl mezi původní představou o využití klonování v chovu zvířat, ale takové posuny nejsou v historii ojedinělé.

Postavení českých vědeckých týmů v klonování a buněčné terapii

Jan Motlík

Bez ohledu na nespočetné experimenty zůstává efektivita klonování stále velmi nízká a ani v posledních letech se nedařilo vyloučit výskyt nepředvídatelných selhání obecně užívaných postupů. Jen u skotu lze zaznamenat patrnější pokrok a občas se objeví i potěšující obrázky, kdy vedle dárce stojí deset i více naklonovaných identických potomků. S velkým oceněním se setkalo také oznámení, když se konečně podařilo naklonovat prase, kterému se zejména v biomedicíně přikládá značná důležitost. Organizování takových experimentů je však velmi nákladné, nemožou si je často dovolit ani bohaté farmaceutické společnosti, pokud není zaručena návratnost vložených finančních zdrojů. A zdá se, že to byl i důvod k útlumu produkce prasečích klonů. Ve většině menších zemí, k nimž patří i ČR, si mohou jen těžko dovolit experimenty na velkých zvířatech v potřebném rozsahu, a proto se jejich výzkumné kapacity sdružují v ustavování cílené mezinárodní spolupráce. Její poslání spočívá ve využití zkušeností a nákladného přístrojového vybavení

při studiu pochodů s očekávaným pozitivním vlivem na tvorbu a vývoj rekonstruovaných embryí.

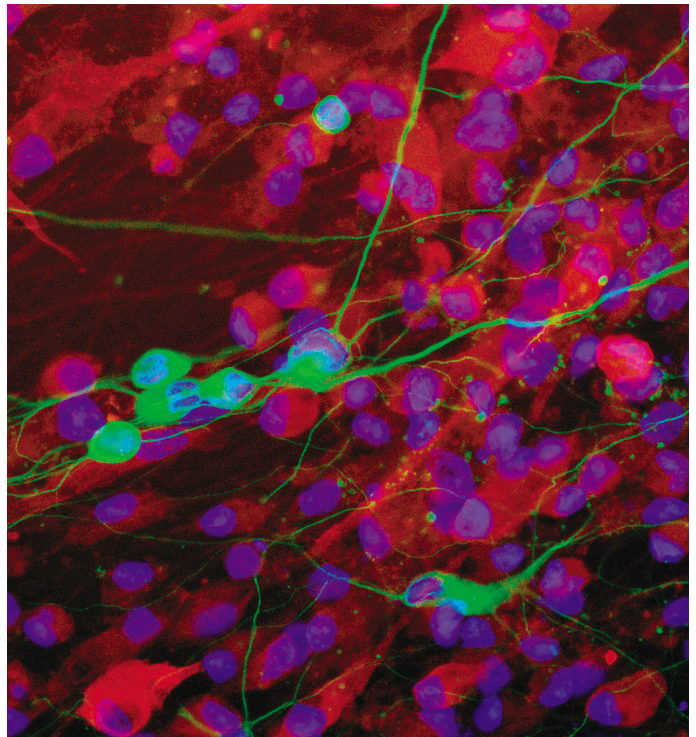
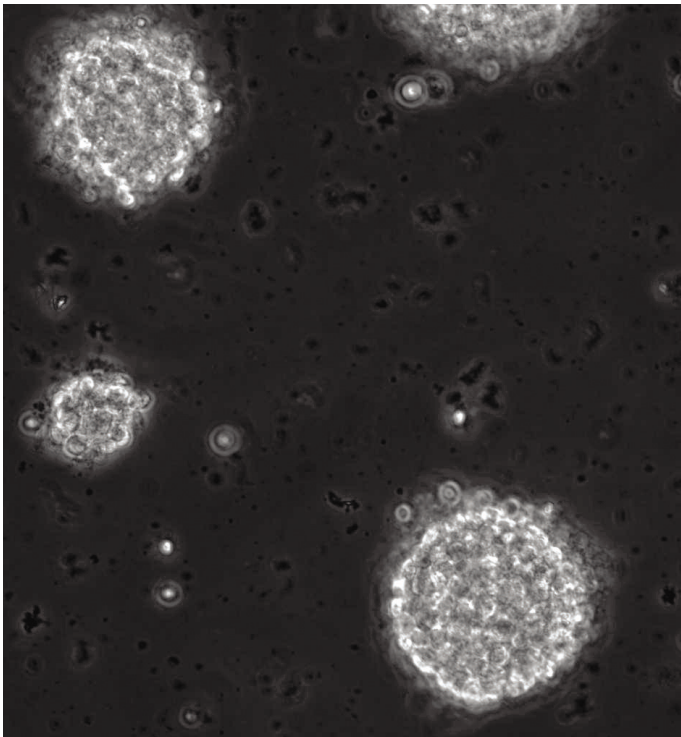
V příštích letech se domácí pracovníci budou věnovat tématům, ve kterých dosáhli již v minulosti některých zajímavých výsledků. Patří k nim hledání a optimalizace vztahů mezi ooplástem a jádrem s cílem zajistit remodelaci a reprogramaci chromatinu a tím normální vývoj rekonstruovaného embrya. Významné poznatky se už dříve podařilo získat také při studiu mechanismů růstu a zrání ovariálních oocytů savců. Vzhledem k nezastupitelnému poslání ooplástu pro regulaci strukturálních a molekulárních změn po přenosu jádra budou dostupné poznatky sloužit k vytváření prostředí pro jejich pokud možno bezchybnou realizaci. V poslední době se povedlo posílit personálně i metodicky pracovní skupinu a položit dobrý základ pro studium pochodů rozhodujících o vzniku funkčního oocytu u savců.

K dalším úlohám vědců z týmů, které pracují ve Výzkumném ústavu živočišné výroby v Uhřetěvsi a v Ústavu fyziologie

a genetiky AV ČR v Liběchově, patří sledování aktivace genů savčích embryí vzniklých oplazením nebo jinými postupy užívanými při asistované reprodukci (IVF — oplazení *in vitro*, ICSI — intracytoplazmatická injekce spermie). Stejně metody poslouží k monitorování postupné aktivace genomu v jádrech somatických a embryonálních buněk po přenosu do definovaného ooplástu. V současné době není aktuálním cílem produkovat klonované jedince, ale používat jako experimentální model buď laboratorní myš nebo ovaria komerčně poražených dárce, především skotu a prasat. Ty také poslouží k produkci embryí pro experimentální účely a případně pro zjištění buněk, které se budou svými vlastnostmi blížit embryonálním kmenovým buňkám.

Většina studií probíhá v součinnosti se zahraničními pracovišti, a tak se nabízí bezprostřední kontakt se širokou světovou vědeckou komunitou i přístup k dosud nepublikovaným výsledkům. Lze předpokládat, že tato etapa nepřinese převratné objevy v klonování savců, ale je nutná k získávání chybějících znalostí pro zdokonalení současných technologií a přispěje k odstranění některých negativních jevů spojovaných s přenosem jader u savců.

Zcela odlišné postavení má využití kmenových buněk izolovaných z některých tkání vyvíjejících se plodů nebo již narozených jedinců. Právě vlivem úspěšné reprogramace jader somatických buněk se rozvinulo nemalé vědecké úsilí o rozpoznání kmenových buněk, které se nacházejí v již vytvořených tkáních a orgánech, a jsou proto nejčastěji označovány jako orgáno-



Příklady kultivace orgánově specifických kmenových buněk in vitro. Vlevo nervové kmenové buňky izolované z fetů miniprasete. Tyto buňky je možné za pomoci růstových faktorů kultivovat ve formě shluků nediferencovaných buněk, tzv. neurosfér ♦ Na obrázku vpravo jsou tytéž nervové kmenové buňky poté, co byly indukovány k diferenciaci vysazením na povrch potažený fibronektinem a přidáním kyseliny retinové. Tímto způsobem získáme směs diferencovaných nervových buněk — neuronů, astroglíi a oligodendroglíi. Pomocí imunofluorescenčního značení byly zeleně obarveny buňky diferencované v neurony. Snímky P. Vodíčky

vě-specifické kmenové buňky, nebo také dospělé kmenové buňky. O jejich existenci víme již řadu let v oblasti krvetvorby, kde zajišťují stálou obnovu krevních buněk a díky nim se mohou provádět život zachraňující transplantace kostní dřeně.

Stejně tak obnova střevního epitelu i povrchové vrstvy kůže vyžaduje trvalou aktivitu kmenových buněk uložených v charakteristických oblastech, pro které se vžil název „niché“ (z francouzštiny). Právě v těchto nikách se kmenové buňky množí buď symetricky, takže dají vznik dalším dvěma kme-

novým buňkám, nebo asymetricky, kdy jedna buňka opouští niku, aby se po opakovaném mitotickém dělení postupně přetvořila (diferencovala) ve specializované buňky příslušné tkáně.

Zejména výzkum v oblasti kmenových buněk kůže má v České republice významnou tradici, a to jak při získávání prioritních poznatků o jejich fyziologii, tak v neustálé snaze o převedení vědeckých výsledků do klinické praxe. Proto Centrum buněčné terapie a tkáňových náhrad se sídlem na 2. Lékařské fakultě UK v Praze, které sdružuje vědecké týmy pracující v této oblasti, úzce spolupracovalo s Klinikou popálenin ve Fakultní nemocnici na Vinohradech, aby se nové vědecké poznatky mohly bezprostředně aplikovat. Mnohem obtížnější, ale o to naléhavější se jeví použití kmenových buněk v oblastech neurodegenerativních onemocnění a traumatického poškození centrální nervové soustavy. Již zmíněné Centrum buněčné terapie se plně zapojilo do celosvětového trendu, který směřuje k lepšímu pochopení a v budoucnu snad i cílenému léčení Alzheimerovy nebo Parkinsonovy choroby, náhlých mozkových příhod či míšních poškození. Soustavná experimentální

práce na laboratorních zvířatech je nezbytným předpokladem pro vypracování účinných a bezpečných protokolů pro budoucí léčbu pacientů. Těmto pokusům však předchází velké úsilí o zvládnutí kultivace nervových kmenových buněk v podmínkách in vitro. Vhodné kultivační podmínky (v budoucnu snad optimální) řídí diferenciaci kmenových buněk jak směrem k neuronům, tak k buňkám gliovým.

Nemenší pozornost se věnuje buňkám izolovaným z kostní dřeně, pro něž se používá název mezenchymové kmenové buňky. I když dnes ještě neumíme všechny buňky řazené do této skupiny přesně charakterizovat, je jisté, že jejich relativní dostupnost jim dává velkou šanci v budoucí regenerativní medicíně. Intenzivně se hledá jejich uplatnění při léčení infarktu myokardu, stejně jako při nápravě funkce některých kloubů.

Regenerativní medicína je nadějným odvětvím, které nepochybně přinese cílené léčení celé řady závažných onemocnění. K tomuto cíli vede dlouhá cesta, která musí být dlážděna zásadními objevy v biologii kmenových buněk a skvělými nápady, jak nejlépe nové poznatky využít ve prospěch nemocných.



Orig. V. Renčín