

WYZWANIA ETYCZNE POSTĘPU GENETYKI

EWA BARTNIK

Instytut Genetyki i Biotechnologii, Wydział Biologii Uniwersytetu Warszawskiego,
Instytut Biochemii i Biofizyki PAN i Międzynarodowy Komitet Bioetyczny UNESCO

W ciągu ostatnich lat postęp nauk biomedycznych był – i nadal jest – niesłychanie szybki, stwarzając razem z nowymi możliwościami zrozumienia i leczenia chorób także problemy bioetyczne, będące wynikiem tych nowych osiągnięć.

Międzynarodowy Komitet Bioetyczny UNESCO (International Bioethics Committee – IBC) wybrał pięć ogólnych zagadnień jako przedmiot swoich rozważań. Były to:

- testy bezpośrednio dla konsumenta,
- medycyna personalizowana,
- biobanki,
- nieinwazyjna diagnostyka prenatalna,
- nowe technologie dotyczące produkcji gamet z komórek niebędących komórkami rozrodczymi oraz inżynieria genomu ludzkiego.

Ze względu na tematykę spotkania skupię się na ostatnim zagadnieniu, ale krótko wspomnę też o pozostałych.

TESTY BEZPOŚREDNIO DLA KONSUMENTA

Testy bezpośrednio dla konsumenta (*direct to consumer tests* – DTC) to testy, które można zamówić bezpośrednio w firmie, bez pośrednictwa personelu medycznego. Ceny wahają się od kilkuset do kilku tysięcy złotych. Mogą one badać mutacje w genach powodujące lub zwiększające ryzyko zachorowania (i wtedy powinny być poprzedzone poradą genetyczną), mogą dostarczać informacji na temat pochodzenia geograficznego, mogą też udawać, że na podstawie naszego DNA dobiorą nam optymalną dietę, idealny krem czy możliwie najlepszą dyscyplinę sportową. Niestety, te ostatnie oferty często otoczone są płaszczkiem pseudonaukowym – wspomnianie o genach, powoływanie się na publikacje – a tak naprawdę nie wiemy, jakie geny odpowiadają za większość naszych cech. Wiemy na przykład, że za wzrost odpowiada ok. 400 genów, i podejrzewamy, że może inne cechy nie są oparte na działaniu aż tylu genów, ale przebadanie kilku czy kilkunastu genów jest wróżeniem z kart, a nie badaniem naukowym. Proponowane są testy dobierające optymalną dietę czy trening sportowy, ale problem polega na tym, że testy prowadzone są zazwyczaj na podzbiorze genów (często bardzo, bardzo wielu) odpowiedzialnych za daną cechę. Co więcej, na cechę wpływa też środowisko – ruch, dieta, stres itp. Tak że wróżenie tylko z genów, o ile nie chodzi o diagnozowanie choroby genetycznej powodowanej przez mutację w pojedynczym genie, w wielu przypadkach jest bardziej wykorzystywaniem konsumenta niż pomaganiem mu w dokonywaniu racjonalnych wyborów dotyczących trybu życia.

Postęp badań DNA ułatwił firmom oferującym DTC dotarcie do konsumenta. Kiedy do przeprowadzenia badania DNA było konieczne pobranie próbki paru mililitrów krwi, nikt nie sugerował, by każdy sobie ją pobierał sam – personel medyczny był nieodzowny. Obecnie starcza próbka pobrana przez pociągnięcie jałowym wacikiem po wewnętrznej stronie policzka – wacik trafia do także jałowej probówki, którą się wysyła do firmy. Każdy

potrafi to zrobić, niestety nie każdy potrafi ocenić, czy wynik możliwy do uzyskania będzie równie dobry, jak udanie się do wróżki, czy też może coś nam powiedzieć o tym, co jest ważne dla naszych wyborów. Może trochę, ale tylko trochę, przesadzę, stwierdzając, że z wysokim prawdopodobieństwem wynik DTC nie wniesie nic.

MEDYCYNĄ PERSONALIZOWANA

Medycyna personalizowana to zastosowanie idealnej terapii do choroby. Większość chorób leczy się objawowo. Doskonałym przykładem leczenia dostosowanego perfekcyjnie do choroby jest terapia genowa, ale tu chodzi o leczenie, a nie modyfikację genetyczną, którą jest terapia genowa. Można podać liczne przykłady tego typu zastosowań. Warto wymienić Gleevec i herceptynę, stosowane odpowiednio do pewnego typu białaczek i podgrupy raka piersi, czy dopuszczoną dwa lata temu w Europie terapię genową o nazwie Glybera, dla osób cierpiących na rzadkie zaburzenie metabolizmu lipidów. Na pewno ten dział medycyny będzie rozwijał się w związku z szybkim przyrostem informacji o sekwencjach DNA bardzo wielu osób. Z jednej strony są to ogromne obietnice lepszej terapii w przyszłości, z drugiej strony rodzą pewne wątpliwości, bo zarówno diagnozowanie, jak i same leki są obecnie kosztowne, i trudno przewidzieć ich sprawiedliwy rozdział wśród wszystkich potrzebujących. Jednak warto pamiętać o tym, że postęp nauki w zadziwiający sposób pociąga za sobą obniżenie kosztów niektórych technik, a to, co dziś wydaje się trudno osiągalne, jutro może być faktem dokonany. Jako dobry przykład może posłużyć koszt sekwencjonowania DNA – na początku programu sekwencjonowania genomu ludzkiego marzono o tym, by jeden nukleotyd kosztował jednego dolara, co by dawało koszt 3 mld za pojedynczy odczyt genomu; obecnie 5000 dol. za genom było już proponowane parę lat temu i 1000 dol. jest już bądź bliskie, bądź nawet już możliwe.

BIOBANKI

Próbki DNA wiążą się z kolejnym problemem – są one na ogół przechowywane w dużych repozytoriach zwanych biobankami. Tu łączą się ze sobą dwa problemy – biobanków i medycyny personalizowanej. Poważnym problemem jest bezpieczeństwo zarówno próbek, jak i otrzymanych wyników. Następnym jest to, że w celu coraz lepszego doboru leków szuka się winowajców w całych genomach, przy okazji znajdując geny zmutowane, mogące zwiększyć ryzyko innych chorób, a także zmiany, których nie jesteśmy w stanie przypisać do efektu. Inaczej mówiąc, jeśli w jakimś ważnym genie stwierdzi się, że w białku zamiast, powiedzmy, argininy będzie seryna, ale nikt tej zmiany jeszcze nie wykrył, to co można o tym powiedzieć? Czy należy informować właściciela DNA o każdym nietypowym nukleotydzie? Czy tylko o takim, który możemy zinterpretować? Co robić z chorobami wieku dorosłego, wykrytymi przy okazji innych badań u dzieci, dla których terapia nie jest znana? To bardzo złożone zagadnienie, warto wspomnieć o czymś, czego nie akceptuje wielu rodziców – w myśl dokumentów bioetycznych i Rady Europy, i UNESCO nie testuje się dzieci (osób niepełnoletnich) z rodzin, w których występują nieuleczalne choroby genetyczne przejawiające się dopiero w wieku dorosłym. Chodzi o to, że każdy ma prawo nie wiedzieć, że jest obciążony nieuleczalną chorobą genetyczną, a jeśli chce wiedzieć, może przeprowadzić badanie genetyczne po osiągnięciu pełnoletniości. Jednak badania przeprowadzone w Anglii pokazują, że ponad połowa rodziców uważa, że ma prawo wiedzieć, czy ich dziecko jest czy nie jest obciążone nieuleczalną chorobą nawet w przypadku, gdy ta informacja jest wyrokiem, a nie (co oczywiście jest zupełnie inną sytuacją) kwalifikacją do odpowiedniej terapii.

NIEINWAZYJNA DIAGNOSTYKA PRENATALNA

Nieinwazyjna diagnostyka prenatalna jest oparta na zaskakującym – ale pewnym – fakcie, że w krwi (a dokładniej osoczu) ciężarnej kobiety znajduje się DNA płodu. Możliwe jest namnożenie tego DNA w celu wykonania badań, które wcześniej wymagały technik inwazyjnych – pobrania płynu owodniowego lub biopsji trofoblastu. Tu po prostu pobiera się krew kobiety i w wyniku jej zbadania można ustalić (są już do tego handlowe zestawy), czy płód nie ma tzw. aberracji chromosomowych – nieprawidłowej liczby jakiegoś chromosomu. Możliwości są jednak większe – co sprawdzono na przynajmniej jednym przypadku – gdyż można ustalić sekwencję całego DNA płodu z materiału obecnego w krwi matki. Dyskusje o „*designer babies*” – idealnych, zaprojektowanych dzieciach już się rozpoczęły. Być może na szczęście większość naszych cech zależy od wielu genów i środowiska, więc dyskusje jeszcze długo będą się toczyć.

NOWE TECHNOLOGIE

Ostatni temat był podzielony na pięć zagadnień – tworzenie gamet z komórek niebędących komórkami rozrodczymi, indukowane macierzyste komórki pluripotencjalne, klonowanie człowieka, unikanie przenoszenia chorób mitochondrialnych na następne pokolenia i redagowanie genomu ludzkiego. Skupię się na trzech ostatnich zagadnieniach.

KLONOWANIE/INDUKOWANE PLURIPOTENCJALNE KOMÓRKI MACIERZYTE

O klonowaniu człowieka mówi się od czasu pojawienia się na świecie (w 1996 r.) i w mediach (wiosna 1997 r.) owcy Dolly, pierwszego ssaka uzyskanego za pomocą przeniesienia jądra z komórki

somatycznej (nierozrodczej) do pozbawionej jądra komórkowego komórki jajowej, następnie implantacji uzyskanego *in vitro* zarodka do odpowiednio przygotowanej owcy. Ten krótki opis nie wskazuje na dwa istotne elementy narodzin Dolly – po pierwsze, nikomu się to wcześniej nie udało, po drugie, Dolly była jedynym efektem prawie 300 prób, pozostałe skończyły się niepowodzeniem.

Po Dolly uzyskano ogromne ilości klonów najróżniejszych gatunków: myszy, koty, konie, psy, krowy itd. Klonowanie prowadzące do narodzin nazywa się klonowaniem reprodukcyjnym. Ogólnie jest przyjęte, że nie powinno się w ten sposób klonować ludzi. Przez wiele lat był to problem wyłącznie teoretyczny, bo nikomu nie udawało się uzyskać znacznie wcześniejszego etapu – rozwoju ludzkiej komórki jajowej po przeniesieniu do niej jądra z komórki somatycznej. Celem takiego przeniesienia nie miało być doprowadzenie później do ciąży, ale uzyskanie wczesnego zarodka *in vitro* w celu uzyskania z niego komórek macierzystych do badań naukowych i w przyszłości ewentualnie do terapii. Ten typ klonowania (zakazany w wielu krajach, dozwolony po uzyskaniu specjalnych pozwoleń w Wielkiej Brytanii, niezakazany prawnie w USA) często jest nazywany klonowaniem terapeutycznym, choć w dokumentach IBC stosowane jest też określenie – klonowanie w celach naukowych.

Mimo różnych doniesień prasowych i jednej wycofanej później publikacji naukowej (wykazano, że było to oszustwo), klonowanie człowieka w celach naukowych udało się dopiero w 2013 r. [14]. Dyskusje na temat tego typu klonowania toczą się od czasu owcy Dolly. Głównym celem jest uzyskanie komórek macierzystych w celach terapeutycznych dla osoby będącej dawcą materiału genetycznego, bo te komórki będą takie jak komórki tej osoby – nie będą uznawane za obce i nie będą odrzucane. Pomysł ten wywołuje oczywiście polemiki dotyczące zasadności i podstaw etycznych takiego postępowania.

Indukowalne pluripotencjalne komórki macierzyste to komórki otrzymywane przez wprowadzanie kilku genów regulatorowych

do komórek somatycznych. Komórki takie mają cechy komórek macierzystych i jest nadzieja, że można by je wykorzystywać w terapii różnych chorób. Prowadzone są intensywne prace mające na celu ustalenie, jak najlepiej uzyskać takie komórki z „dorosłych” komórek dawcy, ile i jakich genów i w jaki sposób wprowadzać, by były jak najbardziej podobne do zarodkowych komórek macierzystych, i jak kontrolować ich rozwój i różnicowanie do potrzebnych tkanek. Wymaga to starannych badań i porównań z komórkami macierzystymi, by mieć pewność, że takie komórki będą robiły to, co chcemy, ale na to potrzeba jeszcze czasu, bo wstępne wyniki sugerowały, że proces wymuszania odmłodzenia komórek powoduje powstanie u nich zmian genetycznych.

ZAPOBIEGANIE PRZENOSZENIU CHORÓB MITOCHONDRIALNYCH NA NASTĘPNE POKOLENIA

Mitochondria są organellami obecnymi praktycznie we wszystkich komórkach eukariotycznych. Mają własny DNA (mitochondrialny DNA – mtDNA), u człowieka kodujący 37 genów – 13 białek łańcucha oddechowego i 22 tRNA i 2 rRNA wchodzące w skład rybosomu mitochondrialnego. Dziedziczą się wyłącznie po matce – w komórce jajowej jest bardzo wiele mitochondriów, dużo więcej niż w plemniku, a po zapłodnieniu mitochondria pochodzące z plemnika są aktywnie niszczone na bardzo wczesnym etapie. Na ogół sekwencja wszystkich cząsteczek mtDNA jest taka sama w danej komórce (homoplazmia), jednak zdarzają się sytuacje, kiedy część cząsteczek jest normalna, a część niesie mutację (heteroplazmia). Jeśli mutacje w mitochondrialnym DNA są obecne na wysokim poziomie, to w danej komórce czy tkance mogą doprowadzić do zaburzenia funkcjonowania mitochondriów, co może wywoływać poważne objawy – w zależności od tkanki, w której jest ich najwięcej – takie jak cukrzyca, udary,

osłabienie mięśni, ślepotą, głuchotą itd. Jak wynika z tej listy, są to choroby poważne, a występują z częstością 1 na 5000 narodzin. Co więcej, ze względu na losową segregację mitochondriów w czasie embriogenezy nie jest się w stanie przewidzieć, jak chore będą dzieci kobiety dotkniętej chorobą mitochondrialną. Ponadto stosowane od dawna metody badań prenatalnych i preimplantacyjnych poprawiają szanse na urodzenie zdrowego dziecka, ale tego nie mogą zagwarantować. Są jednak stosowane, bo była to w zasadzie jedyna metoda zwiększająca szansę posiadania zdrowych dzieci przez kobietę z chorobą mitochondrialną [9].

Opracowano technikę mogącą pozwolić, by kobieta cierpiąca na chorobę mitochondrialną nie przekazywała jej swoim dzieciom. Komórka jajowa takiej kobiety ma posłużyć jako dawca jądra komórkowego, które przenoszono by do pozbawionej jądra komórki jajowej dawczyni, a następnie taką komórkę jajową zapładniano by *in vitro* i implantowano zarodek kobiecie z chorobą mitochondrialną. Badania *in vitro* na małpach były obiecujące, w Wielkiej Brytanii po konsultacjach społecznych przeprowadzonych przez Nuffield Council on Bioethics [12] obie izby Parlamentu przegłosowały wprowadzenie odpowiednich modyfikacji do prawodawstwa, by pozwolić na taką procedurę; według mojego najlepszego rozeznania nie było jeszcze żadnej ciąży uzyskanej w ten sposób. Dyskusje na ten temat toczą się też w Stanach Zjednoczonych, na ogół zakłada się, że nie powinno być negatywnych skutków przeprowadzenia takiej podmiany mitochondriów, ale też rozważa się, czy powinno się preferować zarodki męskie (które nie prześlą mitochondriów następnym pokoleniom); czy dawczyni komórki jajowej powinna mieć taką samą tzw. haplogrupę (wariant mitochondrialnego DNA) jak dawczyni jądra, i jaki będzie status prawny dawczyni komórki jajowej [4, 10, 11, 13, 15]. Prasa z upodobaniem pisze o dzieciach trojga rodziców, choć zważywszy, że w jądrowym DNA jest ok. 20 000 genów kodujących białka, a w mitochondrialnym DNA 13, to byłyby bardziej dzieci 2 i 13/20 000 rodziców. Zresztą, o ile nasz DNA jądrowy jest inny dla każdego, o tyle mitochondrialny

DNA, np. Europejczyków, można podzielić na 9 grup (haplogrup) niewiele różniących się w obrębie danej grupy.

Ponieważ w Wielkiej Brytanii procedura ta jest dopuszczona, choć nadal wymaga zgody specjalnej organizacji, nie da się wykluczyć, że pierwsze dzieci po procedurze wymiany mitochondriów narodzą się w ciągu najbliższych lat.

REDAGOWANIE GENOMU LUDZKIEGO

W ciągu ostatnich lat nastąpił nieprawdopodobny postęp techniczny w możliwościach celowych zmian w genomach. Technika zwana CRISPR-Cas9 umożliwia precyzyjne wycinanie i wstawianie odcinków DNA do genomów komórek [3, 7]. Ta łatwość znalazła już zastosowania praktyczne, mogące mieć ogromne znaczenie w przyszłości, np. udało się wyciąć kilkadziesiąt kopii genomów retrowirusów wbudowanych do DNA komórek świni, co może pozwolić na uzyskanie świń, które mogą być dawcami narządów dla ludzi, a także „wyleczono” komórki pacjentów z chorobą Huntingtona przez wycięcie defektywnego genu huntingtyny, której produkt zatrzuwa pewne części mózgu. Jest wiele innych przykładów niebudzących żadnych wątpliwości, natomiast wiosną 2015 r. we wiodących czasopismach *Science* i *Nature* ukazały się dwa listy nawołujące do ostrożności w stosowaniu tej techniki do zmiany ludzkiego genomu nie w komórkach, tylko w zarodkach [2, 6]. Autorami jednego z listów [6] byli naukowcy związani z firmami produkującymi enzymy i narzędzia do CRISPR-Cas9, natomiast drugi [2] podpisali m.in. współtwórcy samej metody, a także Paul Berg i David Baltimore – laureaci Nagrody Nobla, którzy wiele lat wcześniej podpisali słynny list wzywający do ostrożności w stosowaniu technik inżynierii genetycznej. W tym ostatnim liście sugerowano zwołanie konferencji naukowców, polityków i innych zainteresowanych stron – konferencja taka odbyła się na początku grudnia 2015 r. w Waszyngtonie, lecz jeszcze nie ukazały się

dokumenty dotyczące rekomendacji w stosowaniu techniki redagowania genomów. Do komórek zarodków zostały dotychczas zastosowane jeden raz, przez grupę pracującą w Chinach. Zarodki były triploidalne (komórki jajowe zapłodnione przez dwa plemniki, więc niezdolne do rozwoju), a uzyskane wyniki wskazały na sporo tzw. *off-target effects*, czyli zmian w miejscach innych niż adresowane, i stosunkowo niską skuteczność procedury w tych warunkach [8]. Jednak dosłownie co chwilę pojawiają się prace o ulepszaniu skuteczności i niezawodności procedury CRISPR-Cas9, i można przypuszczać, że aspekty technologiczne będą doskonałe i mogą stać się idealne lub prawie idealne, bez trafiania w niewłaściwe miejsca, i naprawiające mutacje w DNA.

Jakie będą zastosowania? Oczywiście jest zastosowanie do uzyskania pożądaných odmian roślin, ewentualnie i zwierząt (świnie do przeszczepów narządów), a także zastosowanie do terapii genowej (zastosowanej już z powodzeniem u myszy [16]). Od wielu lat mówię moim studentom, że terapia genowa cierpi na brak krasnoludka z nożyczkami i dratewką, który wchodzi do komórki, wycina lub naprawia „złe” geny i wstawia „dobre”. CRISPR-Cas9 naprawdę pełni funkcję tego krasnoludka. Jednak rozważa się też modyfikację zarodków ludzkich – myślę, że z tym będą problemy, i to z wielu powodów [1, 2, 6]. Wymienię dwa – po pierwsze, nie ma zbyt wielu cech zależących tylko od jednego genu, a zmieniać wiele rzeczy naraz będzie trudno. Po drugie, o ile chodzi o selekcję zarodków nieobciążonych chorobą genetyczną powodowaną przez mutację w genie jądrowym (mutacje mitochondrialne zachowują się inaczej, i jest to opisane bardziej szczegółowo powyżej), to w tej chwili istnieją dwie techniki – diagnostyka prenatalna przy standardowej ciąży w rodzinie obciążonej chorobą genetyczną i diagnostyka preimplantacyjna, prowadzona na 1-2 komórkach 8-komórkowego zarodka przy zapłodnieniu *in vitro*. Jest bardzo mało sytuacji, kiedy wszystkie zarodki będą obciążone chorobą (np. dwie osoby mające po dwa geny niosące mutację powodującą chorobę Huntingtona, przy częstości choroby 1:10 000 narodzin,

to bardzo mało prawdopodobne) [5]. A biorąc pod uwagę sytuację, kiedy część zarodków nie będzie obciążona chorobotwórczą mutacją, nie wyobrażam sobie, by osoby nieakceptujące badań prenatalnych czy preimplantacyjnych akceptowały zastosowanie CRISPR-Cas9 do próby uzyskania zarodka bez mutacji.

Wiele z poruszonych tu zagadnień omówiono w dokumencie Report of the IBC on Updating Its Reflection on the Human Genome and Human Rights [17].

LITERATURA

- [1] Araki M., Ishii T. International Regulatory landscape and integration of corrective genome editing into in vitro fertilization. *Reproductive Biology and Endocrinology* 12(2014) 108.
- [2] Baltimore D. et al. A prudent path forward for genomic engineering and germline gene modification. *Science*, 384(2015), 36–38.
- [3] Gaj T., Gersbach C.A., Barbas III C.F. ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. *Trends Biotechnol.*, 31(2013), 397–405.
- [4] Herbert M., Turnbull D. Mitochondrial replacement to prevent the transmission of mitochondrial DNA disease. *EMBO Reports*, 16(2015), 539–540.
- [5] Lander E.S. Brave new genome. *N. Engl. J. Med.*, 373(2015), 5–8.
- [6] Lanphier E., Urnov F., Ehlen Haecker S., Werner M., Smolenski J. Don't edit the human germ line. *Nature*, 519(2015), 410–411.
- [7] Ledford H. CRISPR, the disruptor. *Nature*, 522(2015), 20–24.
- [8] Liang et al. CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human triploid zygotes. *Protein Cell*, 6(2015), 363–372.
- [9] Mitalipov S., Amato P., Parry S., Falk M.J. Limitations of preimplantation genetic diagnosis for mitochondrial DNA diseases. *Cell Reports*, 7(2014), 935–937.
- [10] Mitalipov S, Wolf DP. Clinical and ethical implications of mitochondrial gene transfer. *Trends Endocrinol Metab.*, 25(2014), 5–7.
- [11] Morrow E.H., Reinhardt K., Wolff J.N., Dowling D.K. Risks inherent to mitochondrial replacement. *EMBO Reports*, 16(2015), 541–544.
- [12] Nuffield Council on Bioethics. Novel techniques for the prevention of mitochondrial DNA disorders: an ethical review. nuffieldbioethics.org/project/mitochondrial-dna-disorders/

- [13] Reddy P. et al. Selective elimination of mitochondrial mutations in the germline by genome editing. *Cell*, 161(2015), 459–469.
- [14] Tachibana M. et al. Human embryonic stem cells derived by somatic cell nuclear transfer. *Cell.*, 153(2013a), 1228–1238.
- [15] Tachibana M. et al. Towards germline gene therapy of human mitochondrial diseases. *Nature*, 493(2013b), 627–633.
- [16] Yin H. et al. Genome editing with Cas9 in adult mice corrects a disease mutation and phenotype. *Nature Biotechnology*, 32(2014), 531–533.
- [17] <http://unesdoc.unesco.org/images/0023/002332/233258E.pdf>.