

9 Inżynieria genetyczna i jej wpływ na człowieka

140. Jakie znaczenie dla człowieka ma poznanie sekwencji genomu człowieka i jakie znaczenie ma ten projekt dla biotechnologii?

Bardzo duże. Jest to jedno z najważniejszych odkryć naukowych w XX wieku. Poznanie sekwencji nukleotydowej genomu człowieka umożliwiło w XXI wieku wykorzystanie tej wiedzy, głównie w diagnostyce i farmacji. Obecnie coraz częściej bada się DNA pojedynczych ludzi za pomocą technik sekwencjonowania nowej generacji. Często jest to rutynowe postępowanie. Oprócz genomu człowieka poznano także genomy innych organizmów. Poza tym uczeni przechodzą do analizy bardziej zaawansowanych układów związanych z przepisaniem informacji genetycznej z DNA na mRNA, a następnie na białka.

Poznanie genomu człowieka w powiązaniu z nowymi metodami inżynierii genetycznej jest wykorzystywane przez firmy farmaceutyczne i biotechnologiczne oraz w badaniach klinicznych. W medycynie terapia genowa należy do najpowszechniej stosowanych aplikacji w leczeniu raka i innych chorób zakaźnych. Wdrożenie technologii inżynierii genetycznej wiąże się z dużymi inwestycjami, które mogą być nieosiągalne dla wielu organizacji medycznych, co stanowi ograniczenie dla tego rynku. Szerokie wykorzystanie różnych technologii edycji genomu w terapii genowej różnych zaburzeń genetycznych i chorób terminalnych, prawdopodobnie będzie jednym z głównych czynników stymulujących rozwój tego rynku. Szczególną uwagę poświęca się komórkom macierzystym oraz coraz większemu wykorzystaniu inżynierii genetycznej w medycynie. Rynek inżynierii genetycznej jest podzielony na segmenty pod względem produktu, urządzeń, technik, aplikacji i użytkownika końcowego. Wśród produktów wymienia się odczynniki biochemiczne i markery genetyczne. Rozwija się rynek urządzeń i sprzętów do diagnostyki i biotechnologicznego wytwarzania. Wśród zastosowań wymienia się rolnictwo, przemysł medyczny czy kryminalistykę.

Przewiduje się, że globalny rynek leków opartych na inżynierii genetycznej obejmujący przeciwciała monoklonalne, rekombinowane erytropoetynę, interferon, hormon wzrostu czy insulinę człowieka będzie się bardzo szybko rozwijał. Ponadto wielkość globalnego rynku edycji genomu/inżynierii genomu osiągnie 11,2 mld USD w 2025 r., przy 5,1 mld USD w 2020 r. Wzrost rynku jest w dużej mierze napędzany przez dostępność finansowania rządowego i wzrost liczby projektów poznania genomów, jednak wysoki koszt sprzętu do badań genomowych będzie hamował rozwój tego rynku. Rozpowszechnianie chorób zakaźnych i nowotworów napędza działalność badawczą na całym świecie. Oczekuje się, że wpłynie to na popyt na edycję genomu w firmach biotechnologicznych i farmaceutycznych.

Epidemia koronawirusa SARS-CoV-2 wyraźnie już przyczyniła się do wzrostu rynku związanego z wykrywaniem zakażeń oraz z leczeniem i zapobieganiem, prowadząc do bardzo silnego rozwoju nowoczesnych szczepionek.

141. Co to jest projekt genomu człowieka i jakie ma znaczenie?

Projekt Poznania Genomu Człowieka (ang. *Human Genome Project*, HGP) to międzynarodowy projekt badawczy mający na celu ustalenie sekwencji genomu człowieka i identyfikację zawartych w nim genów. Projekt koordynowany był przez National Institutes of Health i U.S. Department of Energy. Dodatkowymi współrealizatorami były uniwersytety w Stanach Zjednoczonych i partnerzy międzynarodowi z Wielkiej Brytanii, Francji, Niemiec, Japonii i Chin. Projekt formalnie rozpoczął się w 1990 r. i zakończył w roku 2003, dwa lata przed pierwotnym harmonogramem. Głównymi celami projektu było poznanie kompletnej i dokładnej sekwencji 3 mld par zasad DNA, które składają się na genom człowieka i znalezienie wszystkich szacowanych na 20 tys. do 25 tys. genów człowieka. Projekt miał na celu również sekwencjonowanie genomów kilku innych organizmów ważnych dla badań medycznych, takich jak drożdże piwowarskie, mysz, nicień i muszka owocowa. W ramach projektu opracowano sekwencję genomu człowieka i narzędzia do analizy danych dostępnych bezpłatnie przez Internet.

Badając podobieństwa i różnice między genami człowieka a genami innych organizmów, naukowcy mogą odkryć funkcje poszczególnych genów i zidentyfikować, które geny są kluczowe dla życia.

Połączony z programem poznania genomu człowieka program etyczny, prawny i społeczny (ELSI) stał się największym na świecie programem bioetycznym i wzorem dla innych programów. Misją programu ELSI było identyfikowanie i rozwiązywanie problemów związanych z badaniami genomowymi, które miałyby wpływ na jednostki, rodziny i społeczeństwo. Program ELSI koncentrował się na możliwych konsekwencjach badań genomowych w czterech głównych obszarach: prywatność i uczciwość w korzystaniu z informacji genetycznej, w tym potencjał dyskryminacji genetycznej w zatrudnieniu i ubezpieczeniach; integracja nowych technologii genetycznych, takich jak testy genetyczne, z praktyką medycyny klinicznej; kwestie etyczne dotyczące projektowania i prowadzenia badań genetycznych z udziałem ludzi, w tym proces świadomej zgody oraz edukacja pracowników służby zdrowia, decydentów, studentów i społeczeństwa na temat genetyki i złożonych problemów wynikających z badań genomowych.

Międzynarodowy wysiłek sekwencjonowania 3 mld zasad DNA w genomie człowieka jest uważany przez wielu za jedno z najbardziej ambitnych przedsięwzięć naukowych wszechczasów, nawet w porównaniu do rozszczepienia atomu lub lotu na Księżyc. Gotowa sekwencja przygotowana w ramach projektu obejmuje około 99% regionów zawierających geny genomu człowieka i została sekwencjonowana z dokładnością do 99,99%.

Obecnie biegnące programy genomowe, na przykład Projekt 100 tys. genomów z Wielkiej Brytanii, prowadzony przez *Genomics England*, biorą udział w analizie podłoża genetycznego podatności na zakażenie wirusem SARS-CoV-2. Oprócz tego główna aktywność poświęcona jest badaniom pacjentów z rzadkimi chorobami oraz ich rodzin i pacjentów z nowotworami. Bardzo intensywnie rozwija się również chińska firma sekwencyjna BGI z Shenzhen, która ogłosiła że może sekwencjonować genom za jedyne 100 USD, oferując tanie sekwencjonowanie DNA w kierunku wykrywania nowotworów, testów prenatalnych i badań genetyki populacji. Firma BGI opracowała również testy do wykrywania infekcji COVID-19.

142. Ile jest chorób genetycznych?

Choroba lub zaburzenie genetyczne to każda choroba spowodowana zmianami w materiale genetycznym danej osoby. Genom człowieka obejmuje 46 chromosomów, w tym 22 pary chromosomów autosomal-

nych i dwa chromosomy płciowe. Genom człowieka, czyli 46 chromosomów zawiera ponad 3 mld par zasad DNA. W DNA występuje około 20 500 genów kodujących białka, które obejmują mniej niż 5% całego genomu. Dokładna funkcja 95% pozostałego DNA nie jest jasna. Znanych jest około 6 tys. zaburzeń genetycznych; wiele z nich jest śmiertelnych lub powoduje poważne problemy, podczas gdy inne mogą, ale nie muszą przyczyniać się do problemów związanych z wpływem czynników niegenetycznych (np. warunki środowiskowe).

Zaburzenia genetyczne mogą obejmować defekt pojedynczej zasady w DNA jednego genu, jak również nieprawidłowości na poziomie chromosomów, które obejmują delecję lub dodanie całych chromosomów bądź zestawów chromosomów. Zaburzenia genetyczne mogą być dziedziczone od rodziców lub nabyte w wyniku zmian w DNA jednostki, które zachodzą w ciągu życia; mówimy wówczas o mutacji *de novo*. Do powstawania zmian w DNA, zwanych również mutacjami, mogą przyczyniać się promieniowanie i niektóre rakotwórcze chemikalia. Częste choroby – nowotwory, choroby serca, cukrzyca i pewne choroby psychiczne mogą być spowodowane oddziaływaniem wielu genów w połączeniu z warunkami środowiskowymi. Choroby genetyczne można podzielić na choroby dziedziczone jednogenu, wieloczynnikowe zaburzenia dziedziczenia, nieprawidłowości chromosomowe oraz mitochondrialne zaburzenia dziedziczenia genetycznego.

143. Dlaczego dzieci są podobne do rodziców?

Geny zawarte w genomie przekazywanym do kolejnych pokoleń przez rodziców są nośnikami informacji genetycznej. Każdy gen składa się ze specyficznej sekwencji nukleotydów, które kodują syntezę wszystkich białek niezbędnych do funkcjonowania organizmu, także tych związanych z chorobami genetycznymi. Geny zawarte są w 23 parach chromosomów. W jajku i plemniku występują pojedyncze chromosomy, a po zapłodnieniu następuje ich łączenie w pary w jądrze nowej komórki. W ten sposób każdy rodzic uczestniczy w 50% w tworzeniu pełnej informacji genetycznej, czyli genomu przekazywanego następnej generacji. Każdy człowiek zawiera ten sam zestaw genów, jednak w każdym „osobistym” DNA występują zmiany, zwane często polimorfizmami, które stanowią o indywidualności każdego z nas. Czasami, jeżeli zmiany dotyczą szczególnie istotnych elementów DNA, mogą wystąpić zakłócenia w normalnej aktywności działania genów, wówczas, zagna-

czając ich szkodliwe działanie, mówimy o mutacjach. Przyjmuje się, że polimorfizmy to zmiany, w których częstość występowania rzadszego z dwóch alleli (z jednego chromosomu w parze) wynosi minimum 1%. W przypadku występowania rzadszego lub pojawienia się niekorzystnych zmian taki wariant nazywamy mutacją. Ponieważ wyraz mutacja ma wydźwięk negatywny, coraz częściej stosuje się termin wariant, o neutralnym znaczeniu.

144. Czy można klonować człowieka?

Dostępne technologie umożliwiają klonowanie człowieka, naturalnymi klonami są również bliźnięta monozygotyczne. Karta Praw Podstawowych Unii Europejskiej 2012/C 326/02 w Artykule 3 Prawo człowieka do integralności wskazuje na poszanowanie w dziedzinach medycyny i biologii zakazu reprodukcyjnego klonowania istot ludzkich, co przekłada się na brak finansowania badań. Również Kodeks Etyki Lekarskiej zaznacza, że lekarz nie może uczestniczyć w procedurach klonowania ludzi dla celów reprodukcyjnych lub terapeutycznych. Nie ma przyzwolenia zarówno w aspekcie prawnym, jak i etycznym na klonowanie człowieka. Zakaz klonowania został wpisany do Ustawy o leczeniu niepłodności z dnia 25 czerwca 2015 r., zakazującej tworzenie zarodka, którego informacja genetyczna w jądrze komórkowym jest identyczna z informacją genetyczną w jądrze komórkowym innego zarodka, płodu, człowieka, zwłok lub szczątków ludzkich.

Międzynarodowe normy prawne, jak i polskie uregulowania oraz stanowisko największych autorytetów moralnych, przywódców religii monoteistycznych (chrześcijaństwa, islamu i judaizmu) jest jednoznacznie przeciwne takim pracom. Jednocześnie człowiek to nie tylko i nie wyłącznie cechy dziedziczone zgodnie z prostymi zasadami przekazu informacji genetycznej. Takie cechy naszej osobowości jak inteligencja, odwaga, skłonności seksualne, styl życia i wiele innych są nie tylko efektem naszych genów, lecz także uwarunkowane przez środowisko, w którym żyjemy i się rozwijamy. Tych uwarunkowań środowiskowych determinujących naszą osobowość (cechy behawioralne) odtworzyć nie można.

145. Jakie wyróżniamy typy terapii zaawansowanych?

Zagadnienia związane z terapią genową regulowane są Rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1394/2007 z dnia 13 listopada 2007 r. w sprawie produktów leczniczych terapii zaawansowanej i zmieniające dyrektywę 2001/83/WE oraz rozporządzenie (WE) nr 726/2004. Zgodę na stosowanie produktów wydaje natomiast Europejska Agencja Leków (EMA). Terapie zaawansowane obejmują terapię genową, somatyczną terapię komórkową i inżynierię tkankową. Mają na celu przywrócenie, poprawę lub modyfikowanie czynności fizjologicznych przez działanie farmakologiczne, immunologiczne bądź metaboliczne. Produkt inżynierii tkankowej zawiera zmodyfikowane komórki lub tkanki, lub składa się z takich komórek bądź tkanek. Wykazuje właściwości regeneracji, naprawy bądź zastępowania tkanki człowieka; jest stosowany lub podawany ludziom w takim celu.

Terapia genowa umożliwia wymianę nieprawidłowego genu lub wprowadza nowy gen, umożliwiając wyleczenie lub zwiększając możliwości zwalczania choroby przez: wymianę nieprawidłowego genu (np. p53), naprawę nieprawidłowego genu (wyłączenie nieprawidłowego genu lub włączenie genu zapobiegającego rozwojowi choroby) oraz uwidocznienie nieprawidłowych komórek dla układu odpornościowego (wykrycie jako obcych i unieszkodliwienie).

Somatyczna terapia genowa związana jest z przeniesieniem genu lub genów do komórek somatycznych (czyli innych niż rozrodcze), powodując efekt dotyczący wyłącznie tego pacjenta. Nowy materiał genetyczny nie może być przekazany następnym pokoleniom. Terapie zatwierdza Europejska Agencja Leków (EMA). Wprowadzanie modyfikacji genetycznych do komórek rozrodczych (komórki jajowe i plemniki) umożliwia przekazanie zmian kolejnym pokoleniom i nie jest dozwolone.

W Polsce modyfikacje komórek są regulowane przez ustawę o leczeniu niepłodności z dnia 25 czerwca 2015 r. Ustawa zakazuje stosowania preimplantacyjnej diagnostyki genetycznej w ramach procedury medycznie wspomaganey prokreacji w celu wyboru cech fenotypowych, w tym płci dziecka, z wyjątkiem sytuacji, gdy wybór taki pozwala uniknąć ciężkiej, nieuleczalnej choroby dziedzicznej. Zakazane jest niszczenie zarodków zdolnych do prawidłowego rozwoju powstałych w procedurze medycznie wspomaganey prokreacji, które nie zostały przeniesione do organizmu biorczyni. Nie można również tworzyć zarodków w celach innych niż procedura medycznie wspomaganey prokreacji. Zakaz obejmuje

ponadto tworzenie chimer i hybryd oraz wprowadzanie dziedzicznych zmian w genomie człowieka, które mogą być przekazane następnym pokoleniom, a preimplantacyjną diagnostykę genetyczną dopuszczając wyłącznie wskazania medyczne.

Wśród nowych technik, które jednak nie zostały jeszcze dopuszczone w Polsce, wyróżnić można terapię opartą na wymianie mitochondriów czy zastosowanie edycji genomu do modyfikacji materiału genetycznego człowieka.

146. Komórka macierzysta – co to jest?

Termin w języku polskim pochodzi od „macierzy”, „matni”, w języku angielskim od słowa „pień” i definiuje rodzaje komórek człowieka lub innych organizmów wielokomórkowych, które posiadły zdolność do samoodnowy (tzw. nieograniczonych podziałów) oraz różnicowania się (specjalizowania) w inne typy komórek. Komórki te tworzą organy w trakcie embriogenezy, a następnie są źródłem do wymiany i odnowy organów przez cały czas trwania życia naszego organizmu. Wszystkie nasze komórki podlegają wymianie, choć w różnym tempie.

Tradycyjnie, ze względu na możliwość rozwoju w inne typy komórek wyróżniamy następujące komórki macierzyste:

- totipotencjalne – mogą dawać początek całemu organizmowi (np. zygota)
- pluripotencjalne – mogą dawać początek wszystkim komórkom organizmu (bez tkanek łożyska, na przykład komórki embrionalne pozyskiwane z blastocysty)
- multipotencjalne – specjalizują się w kilka innych typów komórek (najczęściej tego samego listka zarodkowego, na przykład nerwowe komórki macierzyste)
- unipotencjalne – dają początek jednemu rodzajowi komórek, jednocześnie utrzymując macierzystość tj. zdolność do samoodtwarzania, (np. komórki satelitowe mięśni szkieletowych).

Istnieją też komórki progenitorowe, które powstają w wyniku aktywacji i asymetrycznych podziałów komórek macierzystych. Komórka progenitorowa może dawać początek wyspecjalizowanym komórkom danego narządu, nie odtwarza jednak puli komórek macierzystych (np. mioblasty – komórki progenitorowe wywodzące się z komórek satelitowych).

Z perspektywy organizmu człowieka nie wszystkie komórki są macierzyste (jest ich zdecydowana mniejszość i często występują w specyficznych niszach), jednak tak oczywisty podział zaczyna się zacierać, gdy myślimy o mniej wyspecjalizowanych organizmach. I tak na przykład komórki nicienia *Caenorhabditis elegans*, mimo iż tworzą jasno zdefiniowane struktury w organizmie, są w stanie regenerować dużą część ciała po jego amputacji. Podobna sytuacja występuje u ryb, w tym w organizmie modelowym danio pręgowanego *Danio rerio*, na którym prowadzone są liczne badania w zakresie regeneracji między innymi płetw. Do niedawna uważano, iż zwierzęta takie jak na przykład myszy, mające mocno wyspecjalizowane komórki, tracą zdolność do regeneracji po urodzeniu, jednak słynny artykuł w czasopiśmie „Nature” udowodnił, iż we wczesnym okresie po urodzeniu myszy wciąż mają zdolność do regeneracji serca, co wywołało spore zdziwienie u wielu specjalistów.

We wszystkich tych przypadkach zachodzi jednak zjawisko aktywacji wyspecjalizowanych już komórek końcowych i częściowego odróżnicowania z powrotem do stanu aktywnych podziałów i odtworzenia wcześniej uszkodzonej tkanki. Na nieszczęście ludzi, których organizm jest dużo większy, a komórki często jeszcze bardziej wyspecjalizowane, taki mechanizm występuje bardzo rzadko w naturze. Dlaczego zatem potrzebujemy wyspecjalizowanych komórek, czy nie lepiej mieć więcej komórek zdolnych do odnowy uszkodzeń? Taki tor myślenia jest naturalny. Ciało gryzoni (między innymi myszy) wykazuje podobny stopień organizacji organów, a jednak zachowało zdolność częściowej regeneracji. Różnica prawdopodobnie wynika jednak między innymi z wielkości organizmu, nasze serce musi pompować dużo większą objętość krwi niż mysie (mamy ok. 5000 razy więcej krwi), stąd by zachować podobną strukturę, nasze komórki w sercu są wielokrotnie większe, a co za tym idzie, budują i organizują swoje struktury o wiele dłużej niż u myszy. Podobnie jest w układzie nerwowym, gdzie aby zachować szybkie i bezpieczne przewodzenie sygnału, niektóre z naszych komórek mogą mieć długość 1 metra, to jest około 5-19 razy więcej niż całe ciało myszy. Stąd specjalizacja pozwala naszym komórkom być dużo „silniejszymi”, „większymi” czy bardziej „zorganizowanymi”, co jest kluczowe dla obsługi organizmu tej wielkości.

Ze względu na sposób zdefiniowania komórki macierzystej sposobem na stwierdzenie jej macierzystości jest długotrwała hodowla (namnażanie komórek) oraz stwierdzenie możliwości jej różnicowania do danych typów komórek. Naukowcy określili też białka specyficzne dla danego

typu komórek macierzystych (markerów), istnieją jednak rozbieżności w kwestii znaczenia danych markerów i tego, czy wystarczają one do określenia danych komórek. W praktyce jednak jest to najszybsze narzędzie do zdefiniowania charakteru danej populacji. Mając na względzie coraz większą popularność technik wysokoprzepustowych, w przyszłości zapewne jednak naukowcy zrezygnują z definiowania tego typu populacji na rzecz całościowej charakterystyki komórek, tak jak to już ma miejsce w przypadku porównań wielu linii komórek pluripotencjalnych.

Wśród organizacji naukowych zajmujących się tematyką komórek macierzystych, które zrzeszają naukowców z tej dziedziny i prowadzą działalność informacyjną i popularyzatorską, znajdują się *International Society for Stem Cell Research* (ISSCR) czy *International Society for Cell & Gene Therapy* (ISCT).

147. Komórki pluripotencjalne – najlepsze komórki macierzyste?

Ten szczególny rodzaj komórek macierzystych posiada zdolność do różnicowania w dowolną komórkę dorosłego organizmu. Wyróżniamy dwa główne typy komórek pluripotencjalnych wykorzystywanych w badaniach: komórki zarodkowe (ang. *embryonal stem cells*, ESC), pozyskiwane z węzła zarodkowego blastocysty oraz indukowane komórki pluripotencjalne (ang. *induced pluripotent stem cells*, iPSC), pozyskiwane z praktycznie dowolnej komórki somatycznej, za pomocą metod inżynierii genetycznej. Komórki zarodkowe człowieka były wprowadzane do badań do pierwszej dekady XXI wieku, gdy zakazano wyprowadzania nowych linii ludzkich komórek embrionalnych ze względu na konieczność niszczenia ludzkiego zarodka. Zakaz patentowania terapii opartych na komórkach zarodkowych człowieka został podtrzymany przez Trybunał Sprawiedliwości Unii Europejskiej w 2011 r.³⁴ Parę lat wcześniej jednak, w 2006 r. Kazutoshi Takahashi oraz Shinya Yamanka odkryli sposób uzyskiwania komórek pluripotencjalnych z komórek somatycznych (fibroblastów skóry) mysich oraz człowieka. Opracowali zestaw czterech genów, których wymuszona ekspresja doprowadza do przebudowy jądra komórkowego i uzyskania stanu pluripotencji w komórkach, które były do tej pory terminalnie (ostatecznie) zróżnicowane. Za to osiągnięcie została w niedługim czasie przyznana nagroda Nobla w dziedzinie medycyny (2012). W środowisku naukowców pojawiają

³⁴ Sprawa C-34/10. Oliver Brüstle przeciwko Greenpeace eV. European Court Reports 2011 I-09821. ECLI identifier: ECLI:EU:C:2011:669.

się nawet radykalne głosy, iż komórki pluripotencjalne są jedynymi prawdziwymi komórkami macierzystymi ze względu na ogromne możliwości podziałów. Choć poglądy te wydają się być zbyt daleko idące, to faktycznie, każda komórka pluripotencjalna może w warunkach laboratorium dzielić się bardzo długo, dając początek ponad trylionowi (10^{18}) komórek. Od czasu odkrycia mechanizmu indukcji pluripotencji minęło 14 lat, a komórki iPSC zagościły na dobre już prawie w każdym laboratorium zajmującym się medycyną regeneracyjną czy biologią komórki. Opracowano protokoły różnicowania w prawie wszystkich typach komórek, a potencjalne zastosowania komórek iPSC wciąż rosną.

Odwrotnie jednak niż w przypadku wcześniej wykorzystywanych komórek macierzystych komórki pluripotencjalne nie są jeszcze powszechnie wykorzystywane w badaniach klinicznych, a potencjalne ryzyko tworzenia potworników zostało niestety potwierdzone przez przypadki nowotworzenia u pacjentów, którym podano nie w pełni zróżnicowaną populację komórek pluripotencjalnych w trakcie badań klinicznych.

Oprócz protokołów różnicowania również stopień dojrzałości komórek powstających w wyniku różnicowania komórek iPSC często nie odpowiada stanowi faktycznemu w organizmie dorosłym. Z pewnością ma na to wpływ brak odpowiedniego środowiska i niedoskonałych metod stosowanych w laboratorium, nad którymi wciąż trwają intensywne prace.

Terapia komórkami pluripotencjalnymi jest długo wyczekiwany potencjałem medycyny regeneracyjnej, jednak wymaga od nas dużo większej wiedzy na temat biologii komórek macierzystych. Z pewnością jednak, gdy opracowane zostaną bezpieczne protokoły i zastosowania kliniczne komórek iPSC, będzie to duży krok w kierunku zwiększenia możliwości medycyny regeneracyjnej. Czy te komórki są „najlepsze” z perspektywy zastosowania terapeutycznego? Na tę odpowiedź przyjdzie nam jeszcze poczekać kilka lub kilkanaście lat.

148. Co kryje się pod nazwą medycyna regeneracyjna? Kiedy o niej mówimy i dlaczego jest rozwijana?

Według czasopisma „Nature” medycyna regeneracyjna jest dziedziną medycyny, która rozwija metody naprawy, wzrostu lub zastępowania uszkodzonych lub objętych schorzeniem komórek narządów bądź tkanek. Uwzględnia tworzenie i wykorzystanie terapeutyczne komórek

macierzystych, inżynierii tkankowej oraz produkcję sztucznych organów.

Jak wynika z definicji, medycyna regeneracyjna zajmuje się poszukiwaniem elementów zastępczych dla naszych organów, co może mieć w przyszłości znaczenie dla każdego z nas. Według bazy PubMed (17.05.2020) publikuje się obecnie ponad 9000 nowych artykułów naukowych rocznie dotyczących tego zagadnienia, a każdy artykuł to często kilka lat pracy zespołu badaczy, co obrazuje skalę poszukiwań i tempo rozwoju nowych technologii.

Medycyna regeneracyjna jest nauką wywodzącą się z początku tego stulecia i choć nie jesteśmy pewni co do momentu jej powstania, wydaje się, że jako pierwszy terminem tym posłużył się William Haseltine w 1999 r. podczas konferencji w okolicach jeziora Como, we Włoszech (Sampogna i in., 2015). U podstaw rozwoju medycyny regeneracyjnej legły sukcesy transplantacji komórek macierzystych szpiku; pierwsza transplantacja odbyła się już w 1968 r., w Polsce w 1984 r. dokonał tego zespół prof. Wiesława Jędrzejczaka.

Początkowo główny nurt badań rzeczywiście stanowiły komórki macierzyste. Sposoby ich podawania i dawkowanie, obok poznania podstaw ich biologii były najważniejszymi celami naukowców zajmujących się tą dziedziną nauki. Wśród najczęściej wykorzystywanych terapeutycznie typów komórek znalazły się między innymi komórki satelitowe, a właściwie mioblasty mięśni szkieletowych czy komórki mezenchymalne (ang. *mesenchymal stem/stromal cells*, MSC). Większość prób klinicznych z wykorzystaniem komórek macierzystych nie przyniosła jednak oczekiwanego przełomu. Ostatnio coraz częściej mówi się o próbach wykorzystania komórek pluripotencjalnych w klinice (patrz pytanie: Komórki pluripotencjalne – najlepsze komórki macierzyste?)

W trakcie rozwoju wiedzy naukowców i świadomości dotyczącej środowiska i otoczenia koniecznego do prawidłowego rozwoju komórek (tzw. niszy), sposób podejścia do tematyki uległ zmianie. Dziś coraz więcej grup pracuje nad skomplikowanymi strukturami przypominającymi tkanki, a medycyna regeneracyjna i inżynieria tkankowa coraz częściej są terminami wykorzystywanymi naprzemiennie³⁵. Z obserwacji prowadzonych badań wynika, że za kilka lat można spodziewać się zwiększenia liczby badań klinicznych z wykorzystaniem konstrukcji

³⁵ Tissue Engineering and Regenerative Medicine. <https://www.nibib.nih.gov/science-education/science-topics/tissue-engineering-and-regenerative-medicine>

tkankowych, definiowanych jako elementy zastępcze dla naszych organów.

W przyszłości najprawdopodobniej posiadziemy wiedzę i umiejętności, jak stworzyć organ właściwie od początku, co doprowadzi do osiągnięcia celu postawionego na początku tego stulecia. Wykorzystując analogię z dziedziny motoryzacji – podzespoły samochodu składają się z elementów o różnym stopniu organizacji: śrub i części prostych, podzespołów i elementów ruchomych, samodzielnych maszyn (jak np. silnik). Podobnie nasz organizm składa się z: komórek, tkanek i narządów. Powoli znajdujemy się na etapie, w którym uświadamiamy sobie, że samymi komórkami nie naprawimy narządu, tak jak śruby wrzucone do środka uszkodzonego silnika raczej nie pomogą nam go naprawić. W najbliższej przyszłości na pewno zaczniemy uczyć się składać komórki (i inne elementy poza komórkowe) w bardziej złożone struktury, co pozwoli lekarzom na poznanie sposobu „montowania” tych elementów. Będzie to kolejny bardzo ważny etap rozwoju medycyny regeneracyjnej na drodze do całkowitego zastępowania nowych organów.

149. Co oznacza termin ATMP?

Terminem ATMP Europejska Agencja Leków (ang. *European Medicines Agency*, EMA) określa wszelkie produkty medyczne zaawansowanych terapii (ang. *Advanced Therapy Medicinal Product*, ATMP)³⁶. Według Agencji ATMP to leki dla ludzi, które bazują na genach (materiale genetycznym), tkankach lub komórkach. Oferują zupełnie nowe możliwości terapeutyczne i sposoby leczenia chorób i urazów.

Zgodnie z tą samą definicją zaawansowane produkty lecznicze (ATMP) są dzielone na trzy rodzaje: leki oparte na terapii genowej, na komórkach somatycznych oraz na inżynierii tkankowej.

Leki oparte na terapii genowej zawierają geny, które umożliwiają uzyskanie efektu terapeutycznego, profilaktycznego lub diagnostycznego. Rekombinowane geny zostają umieszczone w organizmie zazwyczaj w celu leczenia chorób genetycznych, nowotworów lub chorób przewlekłych. Gen rekombinowany to wytworzona w laboratorium cząsteczka DNA powstała przez połączenie DNA z różnych źródeł. Leki oparte na komórkach somatycznych zawierają komórki lub tkanki, które zostały poddane modyfikacjom zmieniającym ich cechy biologiczne, lub

³⁶ <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/advanced-therapy-medicinal-products-overview>

komórki bądź tkanki, które nie są wykorzystywane do pełnienia tych samych, kluczowych funkcji w organizmie. Mogą być stosowane w leczeniu, diagnostyce lub służą zapobieganiu chorobom. Leki oparte na inżynierii tkankowej zawierają komórki lub tkanki, które zostały zmodyfikowane w taki sposób, aby naprawiać, regenerować bądź zastępować tkanki człowieka.

Dodatkowo produkty typu ATMP mogą zawierać jedno lub kilka urządzeń medycznych jako integralną część produktu. W takim przypadku definiowane są jako złożone ATMP (ang. *combined ATMP*). Przykładem są komórki zanurzone w biodegradowalnych matrycach czy rusztowaniach tkankowych (ang. *scaffolds*). Dokładne informacje można znaleźć na stronie Europejskiej Agencji Leków oraz w Aktach Komisji Europejskiej: Rozporządzeniu nr 1394/2007 oraz Dyrektywie 2001/83/EC.

150. Co to jest inżynieria tkankowa i co potrafimy w tej dziedzinie?

Zgodnie z definicją amerykańskiej organizacji – Instytutów Zdrowia (ang. *National Institutes of Health, NIH*)³⁷ inżynieria tkankowa jest dziedziną, która wyewoluowała z nauki o biomateriałach i zajmuje się przede wszystkim łączeniem konstrukcji tkankowych, komórek oraz substancji biologicznie aktywnych w funkcjonalne tkanki. Celem inżynierii tkankowej jest wykonanie funkcjonalnych konstrukcji w celu odnowienia, utrzymania lub polepszenia uszkodzonych tkanek lub całych narządów.

Ostatnie lata badań sprawiły, że inżynieria tkankowa jest utożsamiana z medycyną regeneracyjną (patrz pytanie: Co kryje się pod nazwą medycyna regeneracyjna – kiedy o niej mówimy i dlaczego jest rozwijana?). Jest to kolejny etap rozwoju medycyny regeneracyjnej, wynikający z doświadczenia naukowców, którzy odkryli konieczność wielospecjalistycznego podejścia do regeneracji narządów.

Do składowych konstrukcji tkankowych opracowywanych przez inżynierię tkankową wchodzi:

- Komórki – mogą to być komórki danego narządu pozyskiwane od allogenicznego dawcy lub samego pacjenta (autologiczne) bądź też – najczęściej – to komórki pozyskiwane/różnicowane z komórek macierzystych (np. iPSC, komórek mezenchymalnych lub innych). Komórki te mogą być różnicowane poza konstrukcją tkankową lub bezpośrednio w niej

³⁷ <https://www.nibib.nih.gov/science-education/science-topics/tissue-engineering-and-regenerative-medicine>

- Środowisko trójwymiarowe (matryca tkankowa, ang. *matrix, scaffold*) – matrycą tkankową może być decellularyzowana, czyli pozbawiona komórek tkanka pochodząca od dawcy lub też rusztowanie powstające z biokompatybilnych biopolimerów (w tym kolagenowych). Początkowo próbowano zasiedlać komórki bezpośrednio na naturalnych rusztowaniach pochodzących z tkanek, jednak skomplikowanie struktury i konieczność interakcji między różnymi typami komórek najczęściej wymuszają alternatywne, bardziej etapowe podejście. Obecnie najczęściej wykorzystuje się do tego celu biopolimery o wcześniej zdefiniowanej strukturze bądź takie, które tworzy się równocześnie w trakcie łączenia z częścią komórkową. Wykorzystywane biopolimery mogą być stabilne, dzięki czemu pozostają przez dłuższy czas w niezmienionym stanie, lub biodegradowalne, usuwane w ramach przebudowy przez komórki matrycy zewnątrzkomórkowej. Do tworzenia tego typu rusztowań wykorzystuje się różne techniki fizykochemiczne. Jedną z nich jest również biodruk.
- Biomolekuły – cząsteczki sygnałowe, cytokiny, aktywatory – cząsteczki konieczne do utrzymania funkcji komórek lub zdefiniowania ich początkowej roli bądź też pomagające w ich początkowej fazie funkcjonowania. Mogą służyć do kontynuacji procesu różnicowania. Cząsteczki te mogą być podawane bezpośrednio (w medium otaczającym rusztowanie) bądź immobilizowane i uruchamiane w mniej lub bardziej kontrolowany sposób, (np. przez stymulację elektryczną, mechaniczną, czas czy inną cząsteczkę chemiczną). Odgrywają często kluczową rolę, gdyż dostarczenie przez rusztowanie może być jedyną możliwością miejscowo specyficznej aktywacji komórek znajdujących się głęboko wewnątrz tkanki
- Stymulacja fizykochemiczna – rusztowania tkankowe bardzo często rozwijane są razem z urządzeniami, które pozwalają w lepszy sposób kontrolować rozwój tkanek. W rozwoju tkanek bardzo często kluczowa jest dodatkowa stymulacja mechaniczna (między innymi mięśnie), elektryczna (komórki przewodzące), modyfikacja pH (np. potworniaki nowotworowe), stężenia tlenu (tkanki płuc, serca, kości) czy ciśnienia osmotycznego (np. nerki, filtracja kłębuszkowa) oraz inne. Tego typu precyzyjna kontrola warunków zapewnia uzyskanie dużo bardziej zaawansowanej formy tkanek. Istnieją również konstrukcje typu *organ-on-chip*, które są rodzajem urządzeń powstałych do kontroli tkanek i hodowli komórkowych, wykorzystujących czynniki środowiskowe.

Wiele grup naukowych definiuje również tzw. organoidy jako osobliwe rusztowania tkankowe. Nie zapewniają one jednak możliwości

precyzyjnego różnicowania i kontroli warunków, a możliwość realnego zastosowania jest bardzo limitowana.

Do tej pory na rynku można znaleźć przykłady narządów wykonywanych przy użyciu inżynierii tkankowej w tym: pęcherz, małe tętnice, fragmenty skóry, chrząstka czy tchawica. Bardziej zaawansowane modele są wciąż rozwijane w laboratoriach (w tym modele sercowe). Oprócz zapewnienia zastępczego źródła narządów konstrukcje tkankowe zaczynają budzić coraz większe zaufanie w koncepcji rozwoju leków i cząsteczek biologicznie aktywnych. W przyszłości mogą pomóc wyeliminować cierpienie zwierząt w trakcie badań przedklinicznych, zastępując między innymi modele zwierzęce.

151. Czy doping genetyczny stanowi zagrożenie w sporcie?

Coraz większym zagrożeniem w sporcie staje się możliwość zastosowania metody genetycznego transferu genów do organizmu czynnego sportowca w celu zwiększenia jego zdolności motorycznych (szybkość, wytrzymałość, moc/siła, koordynacja, gibkość itp.), by osiągnąć sukces sportowy. Doping genowy w dużym stopniu naśladuje terapię genową i w tej części nie będzie szczegółowo omawiany. Może dotyczyć tych genów o dużym efekcie, które zwiększają masę mięśniową, unaczynienie tkanek czy liczbę czerwonych krwinek albo zmniejszają odczuwanie bólu.

Dotychczas zidentyfikowano co najmniej 120 markerów genetycznych związanych ze statusem sportowca, w tym 77 markerów genetycznych związanych wytrzymałością i 43 markery związane z siłą oraz mocą. W szczególności 11 (9%) tych markerów genetycznych (markery wytrzymałościowe: *ACE I*, *ACTN3 577X*, *PPARA* rs4253778 G, *PPARG-CIA* Gly482; markery mocy/siły: *ACE D*, *ACTN3* Arg577, *AMPD1* Gln12, *HIF1A* 582Ser, *MTHFR* rs1801131 rs2070744 T, *PPARG* 12Ala) wykazało pozytywne powiązania ze statusem sportowca, w trzech lub więcej badaniach i sześciu markerach (*CREM* rs1531550 A, *DMD* rs939787 T, *GALNT13* rs10196189 G, *NFIA-AS1* rs1572312 C, *RBFOX1* rs7191721 G, *TSHR* rs7144481 C) zidentyfikowano po przeprowadzeniu badań asocjacyjnych obejmujących cały genom (GWAS) sportowców afrykańsko-amerykańskich, jamajskich i rosyjskich. Z drugiej strony, znaczenie 29 (24%) markerów nie zostało powtórzone w kolejnych badaniach.

Jednak pierwszoplanową rolę w dopingu genetycznym mogą odegrać takie geny jak gen hormonu wzrostu (GH) oraz gen erytropoetyny (EPO) szeroko stosowane w „klasycznym” dopingu farmakologicznym

jako białko. W tradycyjnym modelu treningowym zawodnicy wytrzymałościowi planują często okres wysokogórski. Na wysokości powyżej 2000 m n.p.m. zmniejszona ilość tlenu stymuluje hipoksję wysokościową i następuje stymulacja biosyntezy EPO, zwiększa się gęstość naczyń włosowatych przypadających na pojedyncze włókno mięśniowe, wzrasta zawartość mioglobiny w mięśniach, wzrasta liczba mitochondriów w mięśniach, zwiększa się adaptacja układu naczyniowego do wysiłku. Ten efekt jest możliwy do uzyskania metodą niedozwolonego genetycznego transferu genu.

O ile doping genetyczny jest niedozwoloną procedurą, niszczącą ideę sportu, jako czystej dziedziny, to dostępnych jest coraz więcej platform umożliwiających ocenę predyspozycji genetycznych w odniesieniu do różnych dziedzin sportowych. Wielu rodziców planując karierę sportową swoich dzieci, zwraca się do takich firm w celu uzyskania profilu genetycznego wybranych genów związanych z efektywnością w różnych dyscyplinach sportu. Na szczęście potrzebny jest jeszcze duży udział wkładu własnego w postaci treningu i przygotowania w określonych warunkach środowiskowych (np. wyżyny i tereny górskie), które zwiększają wydolność organizmu. Dzięki temu warto mieć właściwy potencjał genetyczny, ale nadal będzie istotny udział własnej pracy, a bycie sportowcem w danej dyscyplinie nie będzie ograniczone do osób z odpowiednim zestawem genów, chociaż predyspozycje genetyczne są obecnie widoczne w wielu dyscyplinach, na przykład w biegach szybkościowych na krótkich dystansach dominują zawodnicy o ciemniejszej karnacji.

152. Czy medycyna i biotechnologia da nam tabletkę wiecznej młodości?

Nie. Nowoczesne biotechnologie w zasadniczy sposób poprawią jakość naszego bytu, a szczególnie w tym wieku, który potocznie określamy jako „złotą jesień życia”. Zastosowanie technik inżynierii genetycznej umożliwi ograniczenie lub nawet likwidację wielu chorób – Alzheimera czy Parkinsona, otyłość, amnezję i wiele innych. Dzięki postępowi technicznemu wzrosła średnia długość naszego życia. Około 2025 r. zapewne 1/3 ludzi będą stanowić emeryci, a nowe biotechnologie poprawią jakość życia w okresie „złotej jesieni”.

Ilustracją potwierdzającą podstawy tego optymizmu mogą być prace i raporty OECD. Ta międzynarodowa organizacja poświęca bardzo

znaczące środki właśnie na analizę i perspektywę naszej przyszłości. Eksperti OECD stwierdzają zasadnicze znaczenie i rolę technik „bio”, przede wszystkim w zakresie zwalczania chorób będących dolegliwościami w podeszłym wieku, a przez to rzutujących na poprawę ogólnej kondycji psychofizycznej. Mamy obecnie szansę poprawy jakości naszego bytu. Natomiast zatrzymanie nici życia, wstrzymanie w jakimś momencie tego, co przędą Parki, byłoby wielkim błędem.

153. Szczepionki. Do czego służą?

Przyjmuje się, że szczepienia umożliwiają skuteczne zapobieganie chorobom zakaźnym. Wyeliminowano ospę prawdziwą, która przed wprowadzeniem szczepień zabijała co trzeciego człowieka; proces taki nazywa się eradykacją. Blisko usunięcia są choroba Heinego-Medina, czyli poliomyelitis oraz odra i różyczka wrodzona. Przyjmuje się, że obowiązkowe szczepienia ochronne są skuteczną i społecznie powszechnie akceptowaną metodą zapobiegania chorobom zakaźnym. Dzięki szczepieniom ogranicza się koszty leczenia tych chorób oraz wielu powikłań. W Polsce odsetek osób zaszczepionych wynosi około 95% populacji, co chroni również tych, którzy z powodu wieku lub przeciwwskazań zdrowotnych nie mogli być zaszczepieni. W Polsce kalendarz obowiązkowych szczepień ochronnych przeciw chorobom zakaźnym określa Rozporządzenie Ministra Zdrowia. Wiele informacji dotyczących szczepień można znaleźć na stronie Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego-Państwowego Zakładu Higieny³⁸.

Szczepionka jest preparatem biologicznym opartym na antygenach, które pobudzają w sposób kontrolowany nasz układ odpornościowy do wytworzenia odporności nabytej, nazywanej również uodpornieniem poszczepiennym. Zdolność do aktywacji układu odpornościowego określa się jako immunogenność. W Farmakopei Europejskiej szczepionki określa się jako: „preparaty zawierające antygeny, które są w stanie indukować u ludzi rozwój swoistej, czynnej odporności przeciwko czynnikowi zakaźnemu lub wytwarzanej przez niego toksynie, lub antygenowi”. W powstaniu pierwszej na świecie szczepionki przeciw wirusowi polio, który jest przyczyną choroby Heinego-Medina, brał udział nasz rodak, prof. Hilary Koprowski.

³⁸ <http://szczepienia.pzh.gov.pl/>, opracował Paweł Stefanoff.

Szczepionka wywołuje odpowiedź immunologiczną podobną do naturalnej odporności, którą uzyskuje się po przebytych zakażeniu lub chorobie, a głównym celem szczepionki jest ochrona przed ciężkim przebiegiem choroby i powikłaniami, których nie da się przewidzieć. Podczas kontaktu z patogenem wytwarzane są przeciwciała, pojawia się również zjawisko pamięci immunologicznej. Właśnie dzięki pamięci immunologicznej, przy ponownym kontakcie z patogenem nasz organizm bardzo szybko wytwarza swoiste przeciwciała, które uniemożliwiają rozwój choroby. W Polsce obserwuje się zaledwie jeden niepożądany odczyn poszczepienny na 10 tys. szczepień.

Wprowadzenie powszechnych szczepień ochronnych przeciwko rotawirusom znacząco obniżyło hospitalizacje związane z nieżytem żołądkowo-jelitowym wywołanym zakażeniem rotawirusem (RVGE, *rotavirus gastroenteritis*), uzasadniając tym samym kontynuację szczepień.

W skład szczepionki może wchodzić żywy, o osłabionej zjadliwości (atenuowany) lub zabity drobnoustrój, a także inne fragmenty jego struktury czy metabolity. Przyjmuje się, że szczepionki żywe wywołują silną odporność już po pojedynczej dawce, natomiast szczepionki inaktywowane (zabite) wymagają z reguły podania kilku dawek. W skład szczepionki może wchodzić jeden lub więcej antygenów. Antygenami mogą być żywe lub zabite drobnoustroje, ich oczyszczone fragmenty, produkty metabolizmu bakterii oraz ich fragmenty uzyskane metodami inżynierii genetycznej. Dodatkowo występują substancje stabilizujące i środki konserwujące, które chronią przed drobnoustrojami, substancje wzmacniające i przyspieszające pojawienie się odporności, a także śladowe ilości substancji pochodzących z procesu produkcji.

154. Jakie szczepienia obowiązują w Polsce?

Kalendarz szczepień obowiązkowych jest corocznie aktualizowany przez Ministerstwo Zdrowia w odniesieniu do bieżących potrzeb oraz dostępnych generacji szczepionek, głównie w stosunku do dzieci i młodzieży do 19 roku życia, ale również dla zawodowych grup ryzyka, na przykład studentów uczelni medycznych, pracowników ochrony zdrowia lub służb weterynaryjnych³⁹. Kalendarz informuje również, w jakim wieku należy szczepienie przeprowadzić. Do szczepień obowiązkowych, które są szczepieniami bezpłatnymi, zaliczane są szczepienia przeciwko

³⁹ <http://szczepienia.pzh.gov.pl/>, opracował Paweł Stefanoff.

gruźlicy, zakażeniom pneumokokowym, błonicy, krztuścowi, polio (poliomyelitis), odrze, śwince, różyczce, tężcowi, wirusowemu zapaleniu wątroby typu B oraz zakażeniom przeciwko *Haemophilus influenzae* typu B. Ponadto przeprowadzane są szczepienia przeciwko ospie wietrznej, błonicy, tężcowi i wściekliczynie dla osób z grup podwyższonego ryzyka.

155. Czy dostępne są inne formy szczepień?

Tak. Formę szczepień stanowią z pewnością szczepienia zalecane, które mają na celu uzupełnienie szczepień obowiązkowych. Wśród nich należy wymienić szczepionki przeciwko ospie wietrznej, kleszczowemu zapaleniu mózgu, wirusowemu zapaleniu wątroby typu A (WZW typu A). Szeroko obecnie polecane są szczepienia przeciw grypie, które mają umożliwić łagodniejsze przejście zakażenia koronawirusem SARS-CoV-2. Dostępne są również szczepienia przeciw zakażeniom rotawirusami i meningokokami. Ciekawą propozycję stanowią dostępne także w Polsce szczepionki skojarzone, które zawierając kilka antygenów, zapewniają ochronę przeciwko kilku patogenom, ale są odpłatne. Należą tutaj: szczepionka czterowalentna DTaP-IPV (4 w 1) uodporniająca przeciw błonicy, tężcowi, krztuścowi, poliomyelitis; szczepionka pięciowalentna DTaP-IPV+Hib (5 w 1) uodporniająca przeciw błonicy, tężcowi, krztuścowi, poliomyelitis, *Haemophilus influenzae* typu b; szczepionka sześciowalentna DTaP-IPV+Hib+HBV (6 w 1) uodporniająca przeciw błonicy, tężcowi, krztuścowi, poliomyelitis, *Haemophilus influenzae* typu b, wirusowemu zapaleniu wątroby typu B.

156. Jak należy rozumieć pojęcie odporności zbiorowiskowej?

Odporność zbiorowiskowa, zwana jest inaczej odpornością populacyjną, stadną lub grupową, związana jest z ochroną osób nieuodpornionych w wyniku zaszczepienia wysokiego odsetka społeczeństwa. Wykazano, że obecność w populacji osób uodpornionych przeciwko danej chorobie zmniejsza prawdopodobieństwo zachorowania na tę chorobę również osób nieuodpornionych. Odporność zbiorowiskowa dotyczy chorób przenoszonych z człowieka na człowieka. Próg odporności zbiorowiskowej, stanowiący odsetek osób uodpornionych w populacji, po osiągnięciu którego liczba nowych zakażonych zaczyna się zmniejszać, różni się w zależności od choroby, zwykle dotyczy 90-95% populacji odpornej. Wartości te zabezpieczają przed pojawieniem się zakażeń na więk-

szą skalę. Przyjmuje się, że im więcej osób zostanie zaszczepiona tym większa jest odporność zbiorowiskowa, tym bardziej jesteśmy chronieni przed chorobami zakaźnymi.

157. Czym można uzasadnić zapotrzebowanie na surowicę ozdrowieńców?

Zapotrzebowanie na surowicę ozdrowieńców wiąże się z występowaniem w ich krwi „gotowych” przeciwciał, które umożliwiły im zwalczenie określonej choroby. Wykorzystujemy tutaj zjawisko odporności biernej, zwykle krótkotrwałej, związanej z podaniem gotowych przeciwciał, umożliwiających szybką reakcję na patogen, pomijając czas potrzebny na wytworzenie własnej odporności. Proces ten nazywany jest immunizacją bierną. Taka sama sytuacja występuje podczas karmienia piersią, podczas którego matka przekazuje niemowlęciu przeciwciała i wybrane komórki odpornościowe. Natomiast podczas szczepienia organizm nabywa odporności czynnej dzięki wytworzeniu własnych przeciwciał i komórek pamięci przechowujących informację o kontakcie z patogenem; jest to immunizacja czynna.

158. Czym różnią się szczepionki swoiste od nieswoistych?

Szczepionki swoiste zapobiegają określonym jednostkom chorobowym, na przykład brucelozie, wścieklicznie, ospie. Z kolei szczepionki nieswoiste zwiększają poziom odporności ogólnej przez stymulację ogólnej odporności organizmu opartej na nieswoistych mechanizmach obronnych organizmu. Przykładem takich szczepionek jest preparat Panodina stosowany u ludzi czy wetastymina oparta na ekstrakcie z tkanek wątroby i śledziony zdrowych świń wykorzystywana u zwierząt. Nieswoiste szczepionki wieloważne zawierają zabite ogrzewaniem komórki bakterii występujących w zakażeniach lub stanach zapalnych niebędących wynikiem zakażenia bakteryjnego lub ich lizatach.

159. Jakie typy szczepionek można wyróżnić?

Wyróżnia się cztery główne rodzaje szczepionek: żywe szczepionki atenuowane (ang. *live-attenuated vaccines*, LAV), inaktywowane szczepionki (zabity antygen), szczepionki oparte na podjednostkach i koniugatach (oczyszczony antygen) oraz szczepionki na bazie toksoidów (inaktywo-

wane toksyny = anatoksyny). Żywe szczepionki dzieli się na zawierające całe, pozbawione zjadliwości drobnoustroje oraz szczepionki zabite, zawierające inaktywowane (zabite) drobnoustroje lub ich fragmenty, na przykład pojedyncze białka. Szczepionki mogą chronić przeciw jednej chorobie lub być wieloskładnikowe.

Szczepionki żywe zazwyczaj wywołują silniejszą odporność, jednak są bardziej odczynowe, ponieważ zawierają drobnoustroje, które mogą wywołać zakażenie. Pozbawione są właściwości chorobotwórczych dzięki wieloletnim próbom i eksperymentom (np. szczepionka przeciw gruźlicy lub szczepionka przeciw odrze).

Szczepionki zabite (inaktywowane) zazwyczaj wymagają kilku dawek w celu uzyskania trwałej odporności, jednak niezwykle rzadko prowadzą do niepożądanych odczynów poszczepiennych. Oparte są na patogenach inaktywowanych wysoką temperaturą, działaniem substancji chemicznych lub promieniowania (np. szczepionka przeciw kleszczowemu zapaleniu mózgu lub szczepionka przeciw durowi brzuszemu).

Szczepionki rekombinowane wykorzystują fragmenty struktur patogenów wytwarzane metodami inżynierii genetycznej w komórkach ssaków lub drożdży. Białka drobnoustrojów produkowane przez zmienione genetycznie komórki są izolowane, oczyszczane i stosowane jako antygeny szczepionkowe (np. szczepionka przeciw wirusowi brodawczaka ludzkiego).

Szczepionki można podzielić również ze względu na działanie przeciwko jednej chorobie zakaźnej – szczepionki jednoskładnikowe, zwane również monowalentnymi – oraz działanie przeciwko kilku jednostkom chorób zakaźnych. Wówczas mówimy o szczepionkach wieloskładnikowych, poliwalentnych. Niekiedy określa się je też jako szczepionki skojarzone, jak na przykład szczepionka DTP (błonica, tężec, krztusiec) czy MMR (odra, świnka i różyczka).

160. Jak rozwijają się badania nad szczepionką przeciw COVID-19?

Badania nad szczepionką przeciw COVID-19 rozpoczęły się natychmiast po opublikowaniu sekwencji nukleotydowej koronawirusa SARS-CoV-2. Po kilku miesiącach od poznania sekwencji nowego koronawirusa 47 szczepionek znajduje się w fazie badań klinicznych, a dalszych 155 eksperymentalnych szczepionek w fazie badań przedklinicznych (3 listopada 2020). W dniu 11 stycznia 2020 r. opublikowano sekwencję nukleotydową koronawirusa SARS-CoV-2 wywołującego COVID-19.

Od tego czasu prowadzone są intensywne działania badawczo-rozwojowe na całym świecie mające na celu opracowanie szczepionki przeciw tej chorobie. Humanitarne i gospodarcze skutki pandemii COVID-19 stanowią niezwykłą motywację w badaniach nad szczepionką, dzięki czemu pierwsze prototypy szczepionek, w niespotykanym wcześniej tempie, były gotowe do rozpoczęcia badań klinicznych na ludziach (16 marca 2020). Naukowcy testują różne technologie; niektóre z nich nie były wcześniej stosowane w licencjonowanej szczepionce.

Przeciwno koronawirusowi testowanych jest co najmniej osiem rodzajów szczepionek opierających się na różnych wirusach lub częściach wirusowych. Trzecią fazę badań klinicznych rozpoczęło 10 firm. Inaktywowane cząsteczki wirusa wykorzystują: Sinovac, Wuhan Institute of Biological Products/Sinopharm, Beijing Institute of Biological Products/Sinopharm. Nie replikujący wektor wirusowy stosuje University of Oxford/AstraZeneca (ChAdOx1-S). Z kolei nie replikujące wektory wirusowe oparte na adenowirusach wykorzystuje CanSino Biological Inc./Beijing Institute of Biotechnology (Adenovirus Type 5 Vector) oraz Gamaleya Research Institute (Adeno-based rAd26-S+rAd5-S). Janssen Pharmaceutical Companies stosuje nie replikujący wektor wirusowy (Ad26COVS1). Firma Novavax opiera swoją strategię na podjednostce białkowej, przygotowując pełnowymiarową rekombinowaną szczepionkę nanocząsteczkową z rekombinowaną glikoproteiną SARS CoV-2 z adiuwantem Matrix M. Z kolei szczepionki wykorzystujące RNA przygotowały firmy Moderna/NIAID (mRNA zawarty w nanocząsteczkach lipidowych LNP) oraz BioNTech/Fosun Pharma/Pfizer (3 LNP-mRNAs). Łącznie wśród 47 szczepionek znajdujących się w fazie badań klinicznych 14 opartych jest na podjednostce białkowej wirusa, dziewięć wykorzystuje niereplikujący się wektor wirusowy, siedem stosuje szczepionki inaktywowane, sześć szczepionki oparte na RNA, a pięć na DNA, cztery firmy stosują replikujący się wirus, a dwie – cząsteczki podobne do wirusów (ang. *virus-like particles*, VLP). Wśród 155 szczepionek w trakcie badań przedklinicznych bazą 55 jest podjednostka białkowa, po 19 nie replikujące wektory wirusowe i RNA, 17 replikujące wektory wirusowe, 15 cząsteczki podobne do wirusów VLP, 13 to szczepionki DNA, 12 szczepionki inaktywowane, trzy żywe atenuowane szczepionki oraz po jednej szczepionce opartej na replikującym wektorze bakteryjnym oraz limfocytach T.

Inne działania mają na celu sprawdzenie, czy znane szczepionki przeciwko wirusowi polio lub gruźlicy mogłyby pomóc w walce z SARS-CoV-2 przez wywołanie ogólnej odpowiedzi immunologicznej (zamiast

specyficznej odporności adaptacyjnej), czy też niektóre komórki odpornościowe mogą być genetycznie zmodyfikowane w celu zaatakowania wirusa.

Co najmniej siedem zespołów opracowuje szczepionki przy użyciu samego wirusa (ang. *virus vaccine*), w osłabionej lub inaktywowanej formie. Wiele dostępnych szczepionek jest wytwarzanych w ten sposób, na przykład przeciwko odrze i polio, ale wymagają one szeroko zakrojonych testów bezpieczeństwa. Sinovac Biotech w Pekinie testuje inaktywowaną wersję SARS-CoV-2 na ludziach.

Można jako szczepionkę stosować również wirus konwencjonalnie osłabiony (ang. *weakened virus*). Osłabione formy uzyskuje się przez selekcję podczas przechodzenia przez komórki zwierząt lub ludzi, dopóki nie wykryje się mutacji, które zmniejszają jego zdolność do wywoływania choroby. Codagenix w Farmingdale w Nowym Jorku współpracuje z Serum Institute of India, producentem szczepionek w Pune, aby osłabić SARS-CoV-2 przez zmianę jego kodu genetycznego, tak aby białka wirusowe były wytwarzane mniej wydajnie. Inaktywowaną formę wirusa (ang. *inactivated virus*) uzyskać można dzięki działaniu substancjami chemicznymi, na przykład formaldehydem lub ciepłem. Przygotowanie takiej formy wymaga jednak wykorzystania dużej ilości zakaźnego wirusa.

Szczepionki oparte na kwasach nukleinowych (ang. *nucleic acid vaccines*) wykorzystują informację genetyczną (DNA lub RNA) kodującą białka koronawirusa, które wywołują odpowiedź immunologiczną. Kwas nukleinowy jest wprowadzany do komórek człowieka, które wytwarzają kopie białka wirusa; większość tych szczepionek koduje białko wypustki wirusa (ang. *spike*). Przyjmuje się, że szczepionki na bazie RNA i DNA są bezpieczne i łatwe do opracowania, wymagają jedynie wytworzenia materiału genetycznego, a nie wirusa. Problemатyczny jest brak licencjonowanych szczepionek korzystających już z tej technologii.

Liczne zespoły prowadzą prace wykorzystujące wektory wirusowe (ang. *viral-vector vaccines*). Genetycznej modyfikacji poddaje się wirusy typu odry lub adenowirusa, aby mogły wytwarzać białka koronawirusa w organizmie. Wirusy te są osłabione, więc nie mogą powodować chorób. Rozróżnia się wektory wirusowe, które nadal mogą się replikować w komórkach oraz takie, które nie mogą, ponieważ kluczowe geny zostały wyłączone. Przykładem szczepionki opartej na replikujących wektorach wirusowych (ang. *replicating viral vector*) jest osłabiony wirus odry. Również nowo zatwierdzona szczepionka przeciw wirusowi Ebola jest

przykładem szczepionki opartej na wektorze wirusowym, który replikuje się w komórkach. Takie szczepionki wydają się być bezpieczne i wywołują silną odpowiedź immunologiczną. Istniejąca odporność na wektor może jednak osłabić skuteczność szczepionki. Z kolei niereplikujące się wektory wirusowe (ang. *non-replicating viral vector*) oparte są na adenowirusach. Do tej pory nie uzyskano licencjonowanych szczepionek stosujących tę metodę, ale ma ona długą historię zastosowania w terapii genowej. Przyjmuje się, że dawki przypominające mogą być potrzebne do wywołania długotrwałej odporności. Nad takim podejściem pracuje Johnson & Johnson – amerykański gigant farmaceutyczny.

Wielu badaczy zainteresowanych jest wykorzystaniem szczepionek opartych na białkach wirusa (ang. *protein-based vaccines*), które można podawać bezpośrednio do organizmu. Planuje się również stosowanie fragmentów białek lub otoczek białkowych, które imitują zewnętrzną warstwę koronawirusa. Nad podjednostkami białkowymi (ang. *protein subunits*) pracuje blisko 30 zespołów, koncentrując się na białku wypustek (ang. *spike protein*) wirusa lub jego kluczowej części, zwanej domeną wiążącą receptor. Podobne szczepionki przeciwko wirusowi SARS chrońły małpy przed infekcją, ale nie zostały przetestowane na ludziach. Do działania szczepionki te mogą wymagać adiuwantów – cząsteczek stymulujących układ odpornościowy dostarczanych wraz ze szczepionką – a także wielu dawek. Stosowane są również cząsteczki wirusopodobne (ang. *virus-like particles*) wykorzystujące puste otoczki wirusów, które naśladują strukturę koronawirusa, ale nie są zakaźne, ponieważ nie mają materiału genetycznego. Pięć zespołów pracuje nad szczepionkami przeciw wirusowi (VLP), które mogą wywołać silną odpowiedź immunologiczną, ale prawdopodobnie będą trudne do wyprodukowania.

161. Czy można wykorzystać rośliny jako biofabryki do produkcji szczepionek?

Przyjmuje się, że szczepionki są najbardziej opłacalną i najskuteczniejszą metodą zmniejszania obciążenia chorobami zakaźnymi. Myśli się o opracowaniu skutecznej szczepionki do zwalczania COVID-19. Obejmuje to szczepionki pochodzenia roślinnego, które można wyprodukować mniejszym kosztem w dużych ilościach, ponieważ rośliny nośnikowe są łatwo akceptowane przez pacjentów, a pochodzące z nich antygeny są stabilne i mogą być przechowywane przez długi czas. Przyjmuje się, że dostępne technologie roślinne mogą wnieść znaczący

wkład do zwalczania wirusa SARS-CoV-2 odpowiedzialnego za pandemię COVID-19. Dotyczy to uzyskiwania odczynników diagnostycznych do zestawów do wykrywania wirusów, produkcji szczepionek i leków przeciwwirusowych do leczenia objawów. Opublikowanie sekwencji nukleotydowej SARS-CoV-2 dostarczyło informacji wymaganych do wytworzenia rekombinowanych białek wirusowych jako odczynników diagnostycznych. Rośliny są w stanie produkować te białka w szybkiej, masowej skali, co prowadzi do przyspieszenia produkcji bardzo potrzebnych zestawów testowych.

Drugą zidentyfikowaną funkcją roślin jest ich wykorzystanie w opracowywaniu szczepionek. Szczepionki podjednostkowe przeciwko grypie sezonowej i pandemicznym szczepom grypy były wytwarzane w roślinach, głównie z wykorzystaniem przejściowej ekspresji w tytoniu. W roślinach można produkować przeciwciała służące do biernej immunoterapii. W niektórych przypadkach najbardziej ekonomiczną opcją produkcji przeciwciał jest sadzenie roślin transgenicznych na dużą skalę.

Inne zastosowanie roślin związane jest produkcją leków przeciwwirusowych. Hamują one cykl replikacji wirusa, a tym samym spowalniają infekcję i umożliwiają zwalczanie infekcji przez układ odpornościowy. Przyjmuje się, że pochodzące z roślin białka wiążące węglowodany, zwane lektynami, mogą być stosowane jako środki przeciwwirusowe. Lektyny wiążą się z szerokim zakresem wirusów, umożliwiając ich dezaktywację.

Idąc w tym kierunku, zespół naukowców z Queensland University of Technology opracowuje szczepionkę przeciwko wirusowi COVID-19, wykorzystując rośliny tytoniu (*Nicotiana benthamiana*).

Z kolei biofarmaceutyczna firma Medicago, z siedzibą w Kanadzie, z powodzeniem opracowała wirusopodobną cząstkę (VLP) koronawirusa już 20 dni po uzyskaniu sekwencji nukleotydowej SARS-CoV-2 przy użyciu zastrzeżonej technologii roślinnej. Obecnie produkt znajduje się w pierwszej fazie badań klinicznych. Firma zamierza badać bezpieczeństwo i skuteczność podawania szczepionki obejmującej wyłącznie wirusopodobną cząstkę oraz w połączeniu z adiuwantami wzmacniającymi jej działanie typu GSK lub Dynavax (adiuwanty CpG 1018 lub AS03, dawki VLP 3,75 μg , 7,5 μg i 15 μg).

Również British American Tobacco, poprzez swoją biotechnologiczną spółkę w USA, Kentucky BioProcessing (KBP) jest obecnie na etapie badań klinicznych i wykorzystuje tytoń do produkcji fragmentu wirusa jako antygeny.

Wśród kluczowych zagadnień związanych z zastosowaniem roślin jako jadalnych szczepionek jest możliwość wykorzystania wtórnych metabolitów roślin jako potencjalnych adiuwantów lub wprowadzenie dodatkowych genów kodujących takie adiuwanty.

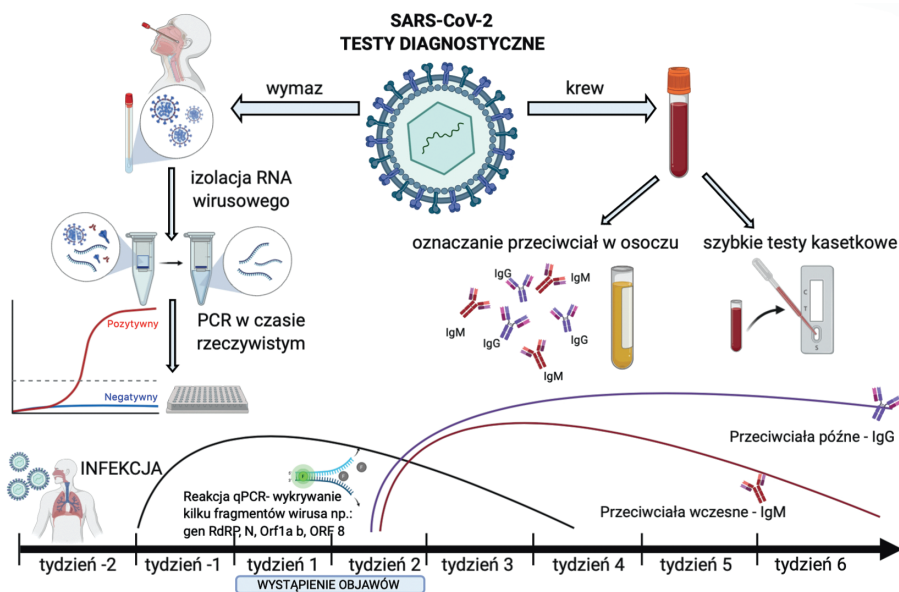
Jadalne szczepionki odgrywają znaczącą rolę w stymulowaniu odporności śluzówki, gdy wchodzi w kontakt z wyściółką przewodu pokarmowego. Dodatkową przewagą umożliwiającą produkcję antygenów dla niedrogiej i bezpiecznej szczepionki podjednostkowej stanowi możliwość wprowadzania zmian w chloroplastach lub uzyskania przejściowej ekspresji, wykorzystując wektory oparte na wirusach roślinnych. Z kolei problematyczny może być brak określenia możliwości wystąpienia zjawiska alergii czy tolerancji (Sahoo i in., 2020).

Chociaż produkcja jadalnych szczepionek przeciwko różnym chorobom zakaźnym ludzi i zwierząt jest wciąż na wczesnym etapie, uważa się, że jej rozwój stanie się faktem w najbliższej przyszłości. Celem produkcji szczepionki jadalnej jest uzyskanie immunizacji przez bezpośrednie podanie jadalnej części rośliny, jednak stężenie antygeny w różnych częściach rośliny nie jest takie same i utrudnia standaryzację dawki szczepionki. Skład produktu końcowego, bezpieczeństwo, skuteczność i długoterminowa stabilność w warunkach polowych są również przedmiotem obaw. Kwestie etyczne dotyczą także stosowania jadalnych szczepionek, przede wszystkim, czy jadalne szczepionki należy uznać za środek spożywczy czy za lek. Kontrowersje budzi ponadto jadalna szczepionka jako organizm genetycznie modyfikowany. Jednocześnie wskazuje się na konieczność ponownej oceny przepisów dotyczących GMO, zwłaszcza w Europie, umożliwiającej wykorzystanie roślin genetycznie modyfikowanych i z przejściową ekspresją na szerszą skalę, w tym uwolnienie do środowiska (Capell i in., 2020).

Równie poważnym wyzwaniem dla globalnego bezpieczeństwa i zdrowia publicznego staje się bioterroryzm z powodu niewłaściwego zarządzania transgenicznymi roślinami jadalnymi w złych zamiarach. W rezultacie zarówno kraje rozwinięte, jak i rozwijające się muszą podjąć kroki w celu zdefiniowania przepisów, które byłyby przestrzegane na całym świecie, aby uniknąć bioterroryzmu. Za bezpieczeństwo szczepionek opartych na roślinach odpowiada w Europie Europejska Agencja Leków (EMA), a w USA Agencja ds. Żywności i Leków (FDA) w przypadku ludzi oraz Departament Rolnictwa Stanów Zjednoczonych (USDA) zatwierdzający szczepionki weterynaryjne.

162. Czy pandemia COVID-19 zmieni podejście do produkcji leków i szczepionek?

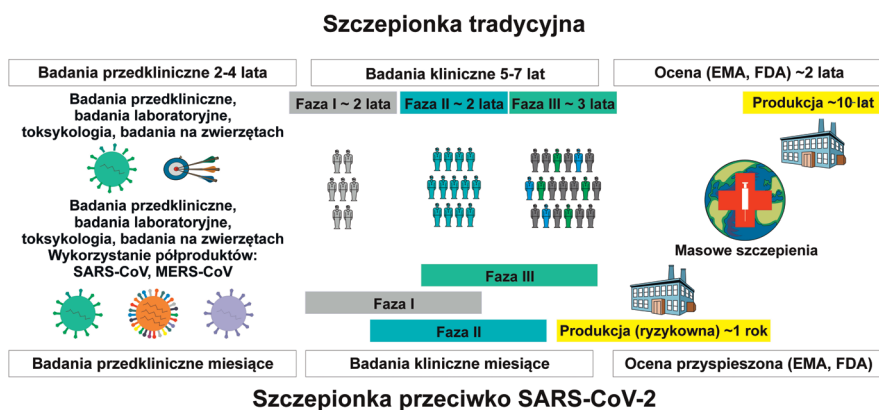
Przyjmuje się, że pandemia istotnie zmieni podejście ze względu na przyspieszenie prac nad opracowaniem szczepionki przeciwko wirusowi SARS-CoV-2. Mówi się o pojawieniu się podejścia *Industry 4.0*, ponieważ częściowo wykorzystuje się tradycyjne podejście do szczepionek, opartych na produktach inaktywowanych i atenuowanych. Większość badań koncentruje się jednak na bardziej nowoczesnych szczepionkach opartych na DNA, RNA i białkach. Tradycyjne szczepionki wytwarzane w jajach kur lub ze składników pobranych z osocza krwi uzyskuje się zbyt wolno; są również zbyt złożone, aby je wyprodukować. Ponadto występują trudności ze zwiększeniem skali produkcji i wiążą się z nimi obawy związane z bezpieczeństwem. Natomiast zaawansowane szczepionki, w tym szczepionki oparte na rekombinowanym antygenie,



Ryc. 14. Wykrywanie wirusa SARS-CoV-2 z zastosowaniem metod diagnostycznych tradycyjnych opartych na wykrywaniu przeciwciał oraz nowoczesnych, rekomendowanych metod molekularnych. Na schemacie został przedstawiony przebieg choroby od momentu kontaktu z koronawirusem w odniesieniu do możliwości diagnostycznych i skuteczności wykrywania kontaktu z wirusem SARS-CoV-2

DNA i mRNA, są wyjątkowo bezpieczne i mogą szybko i skutecznie reagować na wirusy o wysokim potencjale pandemicznym i wysokim wskaźniku śmiertelności. Przyjmuje się, że wysiłki na rzecz stworzenia szczepionek przeciwko pandemii będą miały długoterminowy wpływ na rozwój przemysłu biofarmaceutycznego po COVID-19 w sposób niewyobrażalny jeszcze rok temu. Uruchomienie dodatkowych mocy produkcyjnych szczepionek skłoni programistów do ponownej oceny produktów, które wcześniej uważano za zbyt drogie.

Zaawansowane szczepionki są wytwarzane w ustalonych operacjach bioprocessowych, które wcześniej zostały szeroko przetestowane przy użyciu innych metod terapeutycznych. Szczepionki tego typu są jednak drogie i przed COVID-19 nie mogły konkurować z tradycyjnymi szczepionkami. Jednak COVID-19 całkowicie i na zawsze zmienił stosunek ryzyka do kosztów/korzyści szczepionek. Naukowcy i inżynierowie zajmujący się bioprocessami pracują teraz przez całą dobę, aby opracować bioprodukcję nowej generacji, dzięki której powstaną zaawansowane



Ryc. 15. Schemat uzyskiwania szczepionki metodami tradycyjnymi oraz przyspieszoną ścieżką, która została dopuszczona w przypadku szczepionki przeciw wirusowi SARS-CoV-2. W podejściu przyspieszonym wykorzystuje się dostępne dane dla podobnych wirusów, dla których uzyskano już szczepionki. W badaniach klinicznych prowadzi się równoległe fazy badań od I do III. Dodatkowo, jeszcze przed kilkuletnią oceną skuteczności szczepionki przez Europejską Agencję Leków (EMA) oraz Agencję ds. Żywności i Leków (FDA), zakłada się produkcję szczepionki na dużą skalę, co może stanowić podejście ryzykowne ze względu na brak pełnego potwierdzenia skuteczności i bezpieczeństwa nowych szczepionek. Przyspieszona ścieżka skraca okres prac nad szczepionką z blisko 10 lat do około 1 roku

szczepionki – w opłacalny sposób i w ilościach niezbędnych do reagowania na przyszłe pandemie i epidemie (ryc. 14, 15).

COVID-19 nie jest jedynym czynnikiem zmieniającym produkcję leków i szczepionek. Przemysł biotechnologiczny wykorzystał już technologie jednorazowego użytku i obecnie zmierza w kierunku ciągłego przetwarzania biologicznego. Będzie to możliwe jedynie dzięki zastosowaniu zaawansowanych technologii analitycznych (PAT), automatyzacji i kontroli. Cyfrowa bioprodukcja, w tym sztuczna inteligencja (AI), rzeczywistość rozszerzona (AR) i rzeczywistość wirtualna (VR) już zaczynają być wdrażane i mogą potencjalnie przekształcić produkcję biologiczną. Cyfrowa bioprodukcja oferuje dodatkowo bezpieczeństwo pacjentów dzięki zaawansowanym technologiom, które można wykorzystać do monitorowania każdego etapu procesu produkcyjnego w niespotykany dotąd sposób.