
Krešimir
PAVELIĆ

POTENCIJALNA
VAŽNOST POSTUPKA
PRIJENOSA JEZGARA U
KLINIČKOJ MEDICINI

Argument za kloniranje
stanica ljudi

Termin kloniranje je star i označava procese kojima nastaju genetički istovjetni organizmi. Danas pod klonom smatramo potomstvo dobiveno nespolnim načinom za vrijeme kojeg nema redukcije genetičkoga materijala. Općenito, klonovi su genetički jednaki roditeljima (ili stanicama) iz kojih su nastali. Želi li se načiniti klon životinjskog organizma koji se razmnožava spolno, potrebno je u ispražnjenu (enukleiranu) stanicu (obično jajnu) usaditi jezgru jedinke koju želimo klonirati. Proces razvoja ploda iz takve jajne stanice jednak je normalnim okolnostima u maternici.

Postupak prijenosa jezgre u neoplođenu jajnu stanicu iz koje je prethodno izvađena vlastita jezgra omogućava odgovor na pitanje da li odrasla, diferencirana stanica posjeduje reverzibilne genetičke modifikacije. Pokusima prijenosa jezgara odraslih stanica mliječne žlijezde, te embrionalnih stanica ovce u ovčju jajnu stanicu dokazano je da diferencirana stanica posjeduje sposobnost reverzibilne modifikacije genetičkog materijala, koja joj omogućuje da posluži kao osnova za razvoj novog živog bića. Činjenica da se iz genetičkog materijala odrasle, zrele stanice razvila zdrava ovca, potvrdila je do tada nepoznatu pretpostavku da diferencirana stanica sadrži genetički materijal koji se može modificirati kako bi poslužio za konačan razvoj organizma. Iz tih se pokusa može zaključiti da je moguće potaknuti normalan razvoj organizma iz širokog spektra diferenciranih stanica. To znači da odrasla, diferencirana stanica može biti potpuno genetički reprogramirana.

Problem prijenosa jezgara

Unatoč velikom uspjehu koji su znanstvenici postigli prijenosom jezgara s obzirom na spoznaje o reverzibilnoj modifikaciji genetičkog materijala, postoje i neki problemi. U prvom redu nije poznat fenotip stanice davateljeve jezgre. Primarna kultura iz koje su uzete stanice sadržavala je uglavnom (oko 90%) epitelne stanice dojke, ali i ponešto

ostalih diferenciranih staničnih tipova, uključujući mioepitelne stanice i fibroblaste. Stoga se ne može isključiti mogućnost postojanja male proporcije relativno nediferenciranih matičnih stanica sposobnih da pomažu regeneraciju mliječne žlijezde tijekom trudnoće, iz kojih je teoretski mogao biti kloniran organizam.

Razvoj embrija dobivenog prijenosom jezgara ovisi o održavanju normalne ploidnosti i o kreiranju uvjeta za razvojnu regulaciju ekspresije gena. Ti odgovori ovise o stanju staničnog ciklusa davatelja i primatelja stanica te o njihovu međusobnom djelovanju. Svi rezultati pokusa pokazuju da je uspješnost kloniranja znatno veća ako se jezgra prenese u jajnu stanicu, a ne u neke druge stanice.

Pri postupku prijenosa diploidnih jezgara nužno je spriječiti oštećenja kromosoma i održati normalnu ploidnost. To je moguće jedino tako da se jezgra primatelja odstrani iz citoplazme u metafazi II. Još uvijek, međutim, nije poznato u kojem je dijelu staničnog ciklusa optimalan prijenos jezgara. Dosadašnja iskustva sa stanicama u kulturi sugeriraju da je uspjeh bolji ako se za prijenos jezgara koriste stanice u mirovanju.

Iskustva s pokusima prijenosa jezgara pokazuju da se diferencijacija sisavaca gotovo potpuno ostvaruje postupnim promjenama u ekspresiji gena kao posljedicom međudjelovanja jezgre i promijenjiva okoliša citoplazme. U ranijim studijama upotrijebljene su stanice davatelja embrionalnih blastomera, kojima nije bilo inducirano mirovanje. Usporedba faza staničnog ciklusa pokazuje da je razvoj bio bolji ako su stanice davatelja bile u diobi.

Javno mnijenje

Na negativno javno mnijenje o kloniranju utjecali su velikim dijelom i mediji. Senzacionalističkim pisanjem usmjerili su javnost protiv inače enormnog potencijala koji tehnologija prijenosa jezgara ima za dobrobit čovjeka. Dane su pogrešne smjernice čitateljima i političarima te su kreirane negativne emocionalne reakcije. One se temelje na neprimjerenim znanstvenim informacijama, često i površno prikazanim. Prednost je dana znanstvenim fikcijama, a ne činjenicama.

Kloniranje bi moglo i te kako pomoći čovječanstvu ako se vodi na pravi način. Sveobuhvatna zabrana kloniranja posredstvom nedovoljno i netočno obaviještene javnosti mogla bi biti neslavna epizoda u povijesti čovjeka.

Vrlo brzo nakon uspješnog kloniranja ovce doneseni su i neki zakoni ili preporuke. Tako je npr. Vijeće Europe potpisalo u Parizu sporazum koji zabranjuje intervenciju

kojom se kreira ljudsko biće identično živom ili mrtvom drugom ljudskom biću.

Britanska Savjetodavna komisija za humanu genetiku te Odbor za humanu fertilizaciju i embriologiju sugeriraju da se dopusti upotrijebiti tehnike prijenosa jezgara (kloniranje) kako bi se uzgojilo tkivo. Embriji mlađi od 14 dana mogu se koristiti za strogo određene svrhe: poticanje napretka u liječenju sterilnosti, povećanje sveukupnog znanja o kongenitalnim bolestima, razvoj metoda za prepoznavanje i otkrivanje genetičkih abnormalnosti.

Američki senat zabranio je pokuse kloniranja stanica čovjeka i istraživanja koja se temelje na tehnologiji prijenosa jezgara somatskih stanica. Nikad prije nije Kongres izglasavao bilo kakve zabrane nijednog znanstvenog i medicinskog istraživanja.

Problemi, dobrobiti, pitanja i dvojbe

Priroda često klonira. Neke jednostavne niže životinje (hidra) mitotskim diobama stvaraju na svojem tijelu pupove od kojih se razvija nova životinja – kopija roditeljske jedinke. I mnoge se biljke, prirodno, razmnožavaju nespolno (jagoda, krumpir, hren, obalna sekvoja). Time nastaju potomci jednaki roditelju. Od 67 poroda čak u jednom se rađaju jednojajčani blizanci. Teško ćete i jednog blizanca navesti na pomisao da je kopija svojeg brata. Blizanci se bave raznim poslovima, zanimanjima, obolijevaju od raznih bolesti, žive različito dugo, imaju različita iskustva u braku, različite poroke – alkohol, droga, različito su prihvaćeni u društvu.

Da li je postupkom dobivanja ovce Dolly doista nastala genetički identična jedinka? Ne baš potpuno. Dolly ipak nije identičan klon. Zašto? Dio našeg genetičkog materijala dolazi iz mitohondrija smještenih u citoplazmi stanice, pa tako i u citoplazmi jajne stanice. Mitohondriji su male energetske tvornice stanice. Po čemu su važni? Osim po stvaranju energije, za stanicu su važni u procesu starenja jer je ono udruženo sa stečenim mutacijama mitohondrijske DNA. U slučaju Dolly u jajnu je stanicu prenesena samo jezgrina DNA. Mitohondrijska je DNA ostala od jajne stanice. Iz svega rečenog proizlazi da su blizanci čovjeka genetički bliži od klonova dobivenih procesom prijenosa jezgre jer imaju identičnu i mitohondrijsku DNA.

Ipak postoje brojni problemi u vezi s kloniranjem. Ovca Dolly napravljena je iz stanica odrasle ovce, čija je DNA već nakupila mutacije tijekom života. Stoga još uvijek ne znamo što će se s tom ovcom dogoditi tijekom života. Otvoreno je, dakle, pitanje reprogramiranja odra-

slih stanica. Današnje je kloniranje utemeljeno na velikom broju pokušaja i pogrešaka. Naravno, znanost je tu da takve probleme riješi. Sve dok se ne riješe temeljni problemi prijenosa jezgara u svrhu kloniranja stanica i tkiva, a možda u budućnosti i organa, ne bi se smjelo umanjivati ili krivo predstavljati značenje te tehnologije.

Nije isključeno da i citoplazma jajne stanice ima nekakva udjela u uspješnosti kloniranja. Pitanje uloge citoplazme jajne stanice u razvoju sisavaca moglo bi biti vrlo važno. Vjerojatno su u citoplazmi prisutni čimbenici koji "pale" gene razvoja. Stoga je važno proučiti kako i zašto se ti geni aktiviraju. Dat će to nužne informacije o razvoju čovjeka i o genetičkim bolestima.

Koji je klinički aspekt i značenje kloniranja? Istraživanja prijenosa jezgre u jajnu stanicu mogla bi imati enormnu kliničku važnost. Moglo bi to biti prvenstveno dobar model za istraživanje diferencijacije somatskih (tjelesnih) stanica. Ako bismo mogli utjecati na diferencijaciju, koja je preduvjet za stvaranje specijaliziranih stanica i tkiva, mogli bismo generirati uzgoj mnogih tkiva od goleme važnosti u transplantaciji. Što to konkretno znači? Mogla bi se uzgajati koža, krve stanice, živčana tkiva, kost, hrskavica itd. Tako bi se mogle liječiti ozljede, kao i bolesti u kojima dolazi do ispada funkcije organa: Parkinsonova bolest, Huntingtonova bolest, oduzetost udova, leukemije itd. Drugim riječima embrionalne matične stanice mogle bi se uzgajati za rast i produkciju organa i tkiva koji će nadomjestiti oštećene. Koža za opečene, živčane stanice za one čiji je mozak oštećen, stanice moždine kralježnice za paraplegičare i kvadriplegičare, pluća, srce, jetra, bubrezi, kost, masno tkivo itd.

Kloniranje bi moglo imati važnu primjenu i u humanoj reprodukciji, pogotovo u sterilnih osoba. Može se vjerovati da će se u budućnosti producirati stanice muškaraca koje bi se mogle koristiti za oplodnju. Čak ako bi se morala primijeniti tehnika potpunog kloniranja, uloga majke u čiju bi se jajnu stanicu ubacila jezgra oca, ne bi se mogla minorizirati. Naime, majka pridonosi formiranju novog bića putem svojih mitohondrijskih gena, utjecaja maternice, prehranom, njegom itd.

Kako bi kloniranje konkretno pomoglo "proizvodnji" organa i tkiva? Proučavanje diferencijacije matičnih stanica može pružiti važnu informaciju o mehanizmima starenja i obolijevanja. Matične stanice dobivene spomenutom tehnologijom predstavljale bi bogat izvor materijala za transplantaciju ako bi se određeni gen ili skupina gena u tim pluripotentnim stanicama mogao aktivirati, čime bi se stanice mogle navesti na specijalizaciju. Ta mogućnost nije

samo teoretska jer se specijalizirane stanice, kao što su stanice endotela krvnih žila, srčanog i skeletnog mišićja, stanice preteče krvotvornog tkiva, živčane stanice, mogu dobiti uzgajanjem embrionalnih matičnih stanica. Ne moram niti spominjati koliko bi to revolucioniralo liječenje.

Dobrobiti od kloniranja ima još: propagiranje transgeničnih životinja u znanstvene svrhe, propagiranje i spašavanje rijetkih životinjskih vrsta itd. Tehnike prijenosa jezgara nude mogućnosti istraživanja mogućeg postojanja i utjecaja epigenetičkih promjena, kao što su "imprinting" i skraćivanje telomera, za koje je poznato da se javljaju u tjelesnim stanicama tijekom razvoja i starenja.

Naravno, složena je i teška etička prosudba o tome kako i kada primijeniti novu tehnologiju. Ona se, međutim, može donijeti samo kad ćemo imati puno znanje o problemu i kad će sve znanstvene činjenice biti poznate. Za edukaciju ljudi i pravo obavještanje odgovorni su isključivo znanstvenici.

Dakle, uspjeh kloniranja ne smijemo gledati kroz prizmu moralnog strašenja nego ga treba smatrati iznimnim znanstvenim izazovom. Nedavna Clintonova reakcija primjer je loše i histerične prosudbe. U društvu koje je znanstveno nepismeno, na istraživačima je obaveza da objasne važnost laboratorijskih rezultata za dobrobit čovječanstva. Praktički svatko tko može napraviti intracitoplazmatsku injekciju spermija, može klonirati. Svaki dobar biološki laboratorij koji ima tehnologiju preimplantacijske genetičke analize i manipulacije stanicama može klonirati. Stoga stanovita bojazan od zloupotrebe postoji i ne treba je minorizirati ili ignorirati. No također ne treba biti slijep za goleme mogućnosti koje nam pruža tehnologija prijenosa jezgara.

1. Wilmut, I., Schnieke, A. E., McWhil, J., Kind, A. J., Campbell, K. H. S. (1997), Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells, *Nature*, 385:810-813.
2. Stewart, C. (1997), An under way of making lambs, *Nature*, 385: 769-770.
3. Jelaska, S. (1998), Kloniranje i etika, *Encyclopaedia moderna*, 18:187-191.
4. Delić, V. (1997), Vrijeme kloniranja, *Priroda*, 12-16.
5. Genetic Eucores: The ethycs of human cloning. www.pnaf.umd.edu/ippp/FallReport/cloning.htm
6. The benefits of human cloning. www.humancloning.org
7. Winston, R. (1997), The promise of cloning for human medicine. *Br. Med. J.*, 31:314-913.

LITERATURA