Published in final edited form as:

Acta Haematol Pol. 2013 ; 44(3): 161–170. doi:10.1016/j.achaem.2013.07.023.

Quo Vadis medycyna regeneracyjna?:

Quo Vadis Regenerative Medicine?

Mariusz Z. Ratajczak¹ and Malwina Suszyńska²

¹Katedra i Zakład Fizjologii Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego, Kierownik: prof. dr hab. n. med. Mariusz Z. Ratajczak, Szczecin, Polska

²Stem Cell Institute at James Graham Brown Cancer Center University of Louisville, Louisville, Kentucky, USA

Abstract

There are presented the most important sources of pluripotent stem cells for potential application in the regenerative medicine. This review summarizes also advantages and disadvantages for potential application of these cells in clinical medicine.

Keywords

Regenerative medicine; Pluripotent stem cells; Embryonic stem cells; Induced pluripotent stem cells; VSELs

Wstęp

Dziś, kiedy postępy nauki człowiek się znajduje u progu trzeciego tysiąclecia, po technologię, które do tej pory były przypisywane istotom najwyższym. Rozwój fizyki doprowadził do zgłębienia tajemnic energii i drowej, rozwój nauk biologicznych i genetyki przybliżył z kolei tajemnice powstawania organizmów i ich regeneracji, wprowadzając tym samym ludzkość w fascynujący świat komórek macierzystych [1, 2]. Komórkom macierzystym poświęca się coraz więcej uwagi i uważa się, że technologie prowadzące do optymalizacji ich klinicznego wykorzystania stanowią klucz do długowieczności i rozwijają się jako nowa dyscyplina kliniczna medycyny regeneracyjnej [3].

Założeniem medycyny regeneracyjnej jest wykorzystanie komórek macierzystych w terapii uszkodzonych narządów i tkanek. Biorąc pod uwagę ogromny potencjał komórek

© 2013 Published by Elsevier Urban & Partner Sp. z o.o. All rights reserved.

Adres do korespondencji: Katedra i Zakład Fizjologii Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego, ul. Powst. Wlkp. 72, Szczecin 70-111, tel. 91 466 16 11, fax 91 466 16 12 kzfizjol@pum.edu.pl.

Publisher's Disclaimer: This is a PDF file of an unedited manuscript that has been accepted for publication. As a service to our customers we are providing this early version of the manuscript. The manuscript will undergo copyediting, typesetting, and review of the resulting proof before it is published in its final citable form. Please note that during the production process errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

Wkład autorów /Authors' contributions

Według kolejności.

Konflikt interesu/ Conflict of interest

Nie występuje.

Etyka/Ethics

Treść przedstawiona w artykule jest zgodna z zasadami Deklaracji Helsińskiej, dyrektywami EU oraz ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych.

macierzystych i uwzględniając, jak ważną rolę odgrywają one w codziennej regeneracji szeregu tkanek (m.in. tkanki krwiotwórczej, naskórka czy nabłonna jelitowego), nie można dziwić, że komórki te stały się przedmiotemowego zainteresowania klinicystów. Słusznie upatruje się w nich klucz do poprawienia jakości życia oraz przedłużenia życia ludzkiego [1].

Uważa się, że przeszczepianie całych narządów będzie w przyszłości coraz częściej zastępowane przeszczepami zawiesziny komórek macierzystych, ukierunkowanych dla danego narządu, które będą miały za zadanie regenerację/odbudowę uszkodzonych organów [4, 5]. Szczególne nadzieje na wykorzystanie terapeutyczne komórek macierzystych wiąże się z takimi schorzeniami, jak zawał mięśnia sercowego, udar mózgu, parkinsonizm, cukrzyca, dystrofie mięśniowe, toksyczne uszkodzenia w wątrobie i nerek. Komórkami macierzystymi interesuje się coraz bardziej nowoczesna gastroenterologia. Wydaje się, że człowiek faktycznie zaczyna sięgać coraz bardziej po upragniony klucz do długowieczności.

Komórki macierzyste – definicja, hierarchia i różnorodność

Mianem komórki macierzystej, jak wspomniano, określa się komórki mające zdolność do samoodnawiania oraz różnicowania się w komórki potomne [2]. Definicja ta jest jednak zbyt uproszczona. Wyróżniamy bowiem wiele rodzajów komórek macierzystych, różniących się pomiędzy sobą potencjałem proliferacyjnym oraz zdolnością do różnicowania. W rzeczywistości komórki macierzyste są bardzo różnorodne i trudno je jednoznacznie opisać jedną wspólną definicją. Pula komórek macierzystych utrzymuje w równowadze liczbę komórek somatycznych w organizmie, a tym samym jest odpowiedzialna za odnawianie i wywalczenie się z czasem komórek somatycznych oraz za regenerację narządów i tkanek [3].

Najbardziej charakterystycznym cechem komórki macierzystej jest jej zdolność do samoodnawiania i różnicowania się w coraz to bardziej ukierunkowane narządowo komórki potomne [6]. Stąd też w przedziale komórek macierzystych istnieje długi stopień hierarchii i zróżnicowania od tych najbardziej prymitywnych rozwojowo do bardziej już ukierunkowanych tkankowo/narządowo (Tab. I). Dorosły ssak rozwija się z najwcześniejszej komórki macierzystej, jaką jest zapłodniona komórka jajowa (zygota). Zygota jest komórką macierzystą totipotencjalną (KMT). Komórka taka zgodnie z definicją daje początek zarówno komórkom łożyska, jak i zarodka. Zygota jako KMT po implantacji w macicy może wytworzyć początek nowemu osobnikowi. KMT na pierwszych etapach rozwoju embrionalnego różnicuje się natychmiast w komórki macierzyste pluripotencjalne (PKM), które występują m.in. w moruli (stadium zarodka składające się z ~30 komórek) oraz następnie w wle zarodkowym blastocysty (blastocysta składa się z ~250 komórek) [2]. PKM nie mogą odtworzyć łożyska, ale dają początek komórkom wszystkich trzech listków zarodkowych (ektodermy, mezodermy i endodermy) i mogą różnicować się w tzw. ukierunkowane tkankowo komórki macierzyste (UTKM). UTKM ze względu na ograniczoną możliwość różnicowania do jednego rodzaju tkanki zwane te są komórkami macierzystymi monopotentnymi.

Obliczono, że z zapłodnionej zygoty (KMT) po około 47 podziałach powstaje podczas rozwoju embrionalnego łącznie $\sim 10 \times 10^5$ komórek należących do 200 różnych rodzajów tworzących tkanki i organy ciała człowieka. Komórki macierzyste „pracują” ciągle przez całe życie osobnicze i w wyniku zsynchronizowanych procesów samoodnawiania i różnicowania komórek macierzystych rozwija się i funkcjonuje przez wiele lat dorosły, ciągle regenerujący się organizm. Wiadomo bowiem, że nabłonek jelitowy wymienia się co 48 godzin, naskórek co 14 dni, granulocyty co 1–5 dni, a erytrocyty mają okres półtrwania 100–150 dni [7, 8]. W innych narządach i tkankach wymiana zużywanych komórek jest

wolniejsza, niemniej istnieją dzisiaj dowody, że nawet takie narządy, jak serce czy mózg, wykazują powolną odnowę biologiczną. Trudno sobie bowiem wyobrazić, aby pojedyncza komórka w narządzie mogła żyć przez 80 lat.

Potencjalne źródła komórek macierzystych do regeneracji tkankowo/narządowej

Koncepcja wykorzystania klinicznego komórek macierzystych pojawiła się najpierw w hematologii. Od około 45 lat wykorzystuje się bowiem krwiotwórcze komórki macierzyste (KKM), które zgodnie z podaną powyżej definicją należą do przedziału UTKM dla krwiotworzenia, w leczeniu szeregu chorób układu krwiotwórczego [9, 6]. Coraz częściej stosuje się również UTKM naskórka w leczeniu oparzeń skóry lub dla usprawnienia procesu gojenia się owrzodzeń troficznych kości. Zaawansowana jest również technologia pozyskiwania fibroblastów szpiku kostnego – tzw. macierzystych komórek mezenchymalnych, które mogą być używane jako UTKM dla tkanki łącznej, w leczeniu ubytków kostnych [7, 10, 11]. Wspólnym cechem komórek macierzystych krwiotwórczych, naskórka czy mezenchymalnych jest stosunkowo duża łatwość ich pozyskiwania. Przeciwnie, ze zrozumiałych względów etycznych i technicznych, znacznie trudniej jest uzyskać od zdrowych dawców komórki macierzyste innych tkanek i narządów, jak np. mięśni szkieletowych, mięśnia sercowego, wtroby, wysepek trzustki lub ośrodkowego układu nerwowego, w ilościach pozwalających na ich potencjalne wykorzystanie terapeutyczne.

W związku z powyższym, w ostatnich latach pojawiły się koncepcje wykorzystania bardziej prymitywnych pluripotencjalnych komórek macierzystych (PKM), które jak wspomniano powyżej mają zdolność nicowania się we wszystkie komórki zarodka – będąc tym samym źródłem UTKM. Wykorzystanie PKM w medycynie klinicznej wzbudziło na świecie spore nadzieje na rozwój nowych metod leczniczych, ale jednocześnie spowodowało szereg dyskusji i emocji natury religijno-etycznej. Problem wykorzystania tych komórek jest różnie postrzegany przez różne religie, gdy dotyczy problemu poczęcia człowieka, który jest różnie interpretowany przez różne główne religie świata [1, 12, 13]. Próbuje się otrzymać wczesno rozwojowe PKM, zbliżamy się bowiem bardzo blisko do UTKM, a więc do komórki macierzystej, która może rozwinąć się w dorosłego osobnika. W ten sposób nauka dotyka dogmatów, na jakim etapie embriogenezy zaczyna się życie.

Embrionalne i nieembrionalne źródła komórek macierzystych

PKM mogą być potencjalnie pozyskiwane z czterech różnych źródeł, które wymieniono w tabeli II. Każde z tych potencjalnych źródeł ma swoje zalety jak i ograniczenia, które zostaną pokrótce przedstawione poniżej. Omówimy zarówno kontrowersyjne źródła PKM pochodzących z zarodków, jak i PKM otrzymywane z dorosłych tkanek [7, 11]. Takie szersze przedstawienie problemu może być pomocne w zrozumieniu zjawisk, na temat których często wypowiadają się osoby, którym brak jest wiedzy biologicznej, niewiedzący, co kryje się pod konkretnymi pojęciami. Dlatego też nie będziemy unikać trudnych i drażliwych tematów, wierząc, że każdy musi sam dokonać wyboru zgodnie z własnym sumieniem i osobistym światopoglądem, jakie są potencjalne granice wykorzystania różnych źródeł komórek macierzystych w medycynie.

Pluripotencjalne komórki macierzyste izolowane z zarodków (embrionalne)

Wiadomo, że tkanki zarodkowe są potencjalnym źródłem PKM. Komórki takie mogą być pozyskiwane z rozwijających się moruli lub blastocysty (Ryc. 1), wykorzystując np. zamrożone wczesne „nadliczbowe” morule przechowywane w klinikach, gdzie wykonuje się zapłodnienia *in vitro*. Wykorzystując takie zarodki, uzyskano pierwsze ustalone ludzkie linie komórek embrionalnych [11, 14]. Zgodnie z dekretem prezydenta Georga Busha, jeżeli były

one otrzymane przed 9 sierpnia 2001 roku, mogły by legalnie wykorzystane do badań finansowanych z funduszy federalnych. Jeśli otrzymane były „minut” po północy z 9 na 10 sierpnia 2001 roku, takiego prawa już się nie stosowało. Była to oczywiście sztucznie ustalona granica, która nie rozwiązywała całego problemu. Szybko jednak okazało się, że wiele z około 60 ludzkich linii, na których zezwolono badania jest mało przydatnych. Linie te bowiem szybko zmieniały właściwości w hodowlach *in vitro*, co spowolniło, a często zatrzymało prowadzone badania.

Źródło PKM z zarodków pochodzących od dawców do potencjalnych terapii budzi jednak również sporo zastrzeżeń natury naukowej. Zarodki takie, jak wiadomo, są tkankowo odmienne od potencjalnego biorcy komórek. W związku z powyższym, ustalone linie komórek embrionalnych będą różnicowały się w komórki, które będą miały inny zestaw antygenów układu zgodności tkankowej niż potencjalny biorca. Będą więc rozpoznawane przez układ immunologiczny biorcy jako całkowicie obce, gdy zarodek pochodził od niezgodnego w układzie HLA dawcy [15]. Ponadto trudno sobie wyobrazić, biorąc pod uwagę względy etyczne i techniczne (dostęp do komórek rozrodczych rodziców), że otrzymywałoby się takie zarodki dla konkretnego pacjenta „na zamówienie” od biologicznych rodziców. Badania u zwierząt do wiadczałych wykazały ponadto, że podanie komórek ustalonych linii embrionalnych powoduje u nich powstawanie potworników [16, 17]. Dlatego też pozyskiwanie PKM dla celów klinicznych z normalnych ludzkich zarodków zostało słusznie zarzucone. Pozostał niemniej jednak trudny dylemat, co zrobić z zamrożonymi w bankach na wiece zarodkami. Trzymamy je w nieskończonym stanie hibernacji, rozmrozić i zniszczyć czy te wykorzystać do badań podstawowych.

Pluripotencjalne komórki macierzyste uzyskiwane w wyniku klonowania terapeutycznego

Biorąc pod uwagę aspekty natury etycznej i problemy techniczne w pozyskiwaniu normalnych ludzkich zarodków oraz wiadomo, że PKM otrzymywane z takich zarodków będą różnicowały się w niezgodne tkankowo z biorcą tkanki, opracowano strategię pozyskiwania PKM z wczesnych zarodków tworzonych w laboratorium w wyniku tzw. klonowania terapeutycznego (Tab. II).

Strategia klonowania terapeutycznego polega na utworzeniu *in vitro* komórki, która jest równa pod względem potencjału rozwojowego zygocie [18, 19]. Komórka taka zwana jest „klonot” (Ryc.1). Podczas tworzenia klonoty wykorzystuje się „jako inkubator biochemiczny” cytoplazmę komórki jajowej, z której uprzednio usuwa się jądro mające połowę (haploidalną liczbę) chromosomów. Do pozbawionej jądra komórki jajowej wprowadza się następnie jądro dojrzałej komórki somatycznej (np. jądro fibroblastu lub limfocytu), która ma pełen diploidalny garnitur chromosomalny. Proces ten różni się od zapłodnienia tym, że w przeciwieństwie do zapłodnienia nie występuje tutaj połączenie haploidalnej liczby chromosomów matki i haploidalnej liczby chromosomów ojca w unikatowy diploidalny zestaw genów, przeciwnie – wszystkie chromosomy (zestaw diploidalny) w tym i geny zgodności tkankowej pochodzą z komórki dawcy jądra [20].

Po przeniesieniu jądra somatycznego do cytoplazmy komórki jajowej wprowadzone chromosomy ulegają „odróżnianiu”. Jak wspomniano, cytoplazma komórki jajowej jest unikatowym inkubatorem biochemicznym zawierającym szereg enzymów mogących modyfikować DNA. Ogólnie ujmując, proces ten polega na procesach demetylacji DNA oraz odpowiedniej rearanżacji i ustaleniu odpowiedniego wzoru metylacji i acetylacji białek histonowych. Wszystko to prowadzi do rozluźnienia struktury chromatyny i powrotu odróżnianego już rozwojowo DNA z komórki somatycznej dawcy do stanu, jaki miało ono w zapłodnionej komórce jajowej. Umożliwia to ekspresję wczesnych rozwojowo genów.

Powstaje tym samym klonota b d ca sztucznie stworzonym rodzajem KMT, która w odró nieniu od zygoty posiada zestaw chromosomów – tym samym geny koduj ce układ zgodny ci tkankowej, zgodny z komór k , od której pochodziło j dro. Strategia ta znana jako przeniesienie j dra komórkowego do komórki jajowej (*nuclear transfer*), jest ci gle jeszcze jednak w stadium eksperymentalnym w modelach zwier zych u ssaków. Jak wiadomo, ostatni gło ny skandal w Korei wykazał, e wbrew wcze niejszym doniesieniom nie udało sie otrzyma ludzkiej klonoty. Niemniej jednak ostatnio grupa z Uniwersytetu w Oregonie, USA wykazała, e jest to technicznie mo liwe. Dyskusja nad wykorzystaniem ludzkich zarodkow otrzymanych technik transferu j drowego rozpocznie si zatem na nowo [21].

Nale y nadmienić, e szereg emocji natury etycznej budzi potencjał rozwojowy klonoty [21]. Jak wspomniano, klonota podobnie jak zapłodniona komórka jajowa jest komór k totipotecjaln (TKM). W hodowlach *in vitro* mo e da pocz tek moruli i blastuli, z których mo na pozyska PKM, podobnie jak to próbowano czynić z zarodków rozwijaj cych si w wyniku fizjologicznego zapłodnienia. Strategia pozyskiwania takich komórek z zarodków tworzonych przez klonot , znana jest pod nazw t zw. klonowania terapeutycznego. Z drugiej jednak strony, je eli klonot umie ci si w macicy, mo e ona podobnie jak zygota da pocz tek nowemu osobnikowi. Powoduje to du e opory natury etycznej, gdy stwarza podstawy t zw. klonowania reprodukcyjnego. W ten sposób otrzymano np. słynn owc Dolly [22]. Mo liwo klonowania terapeutycznego jako drogi pozyskania komórek zgodnych z dawc j dra komórkowego jest dopuszczana przez niektóre kr gi religijno-kulturowe. Jak jednak wspomniano, nale y si cieszyć, e nie udało si do tej pory uzyska ludzkiej klonoty i pochodz cych z niej ludzkich PKM [23].

Mimo to teoretyczna mo liwo uzyskania ludzkich PKM na drodze klonowania terapeutycznego spowodowała ostr krytyk ze strony kr gów kulturowo-religijnych. Postawiono bowiem słuszny zarzut, e zarodek otrzymany z klonoty powinien by traktowany jako istota ywa. W odpowiedzi na te zarzuty zaproponowano szereg modyfikacji pozyskiwania PKM z zarodków. Zgodnie z powy szym, PKM zacz to pozyskiwa z zarodków uzyskanych w wyniku partenogenezy (omijaj c proces fizjologicznego zapłodnienia), drog mikrobiopsji rozwijaj cej si moruli uzyskuj c pojedyncze blastomery b d ce materiałem wyj ciowym do namna ania PKM czy te tworząc niezdolne rozwojowo zarodki poprzez wprowadzenie t zw. „genu samobójczego” który uniemo liwia uko czenie pełnej embriogenezy [24].

Oprócz oporów natury etyczno-religijnej główn przeszkod szerszego wykorzystania klonowania terapeutycznego okazała si potrzeba dost pu do ludzkich komórek jajowych (oocytów) oraz obserwacje, e PKM otrzymane z zwier zych klonot tworzą równie , podobnie jak komórki embrionalne, u zwier t do wiadczalnych potworniaki.

Komórki macierzyste pozyskiwane z dorosłych tkanek

Niejako równolegle z pierwszymi doniesieniami, e mo liwe jest pozyskanie ludzkich linii komórek embrionalnych, zacz to poszukiwa alternatywnych ródeł PKM. Pozyskanie takich komórek było oczekiwane szczególnie z zainteresowaniem przez oponentów stosowania komórek embrionalnych w medycynie regeneracyjnej. Nie b dzie przesad stwierdzenie, e niejako „oczekiwano” pojawienia si takich potencjalnych ródeł. Z tego wi c powodu kilka lat temu zaproponowano teori t zw. „plastyczno ci komórek macierzystych” lub ich zdolno ci do „transró nicowania”. Zgodnie z t teori , UTKM np. KKM pozyskane ze szpiku kostnego, sk d stosunkowo łatwo je wyizolowa , byłyby zdolne do odró nicowania si w komórki macierzyste swoiste dla innych narz dów, np. mi nia sercowego, o rodkowego układu nerwowego lub w troby [25, 26]. Ogromne nadzieje pokładano w potencjalnym zastosowaniu KKM izolowanych ze szpiku kostnego, mobilizowanej krwi obwodowej oraz krwi p powinowej w terapiach regeneracyjnych

uszkodzonych narządów i tkanek. Szereg artykułów naukowych, opublikowanych w najlepszych pismach naukowych, sugerowało teorię plastyczności KKM, demonstrując pozytywne wyniki wykorzystania tych komórek w zwierzęcych modelach regeneracyjnych w zawale serca [27], udarze mózgu [28], mechanicznym uszkodzeniu rdzenia kręgowego [29] oraz toksycznym uszkodzeniu wątroby [30].

Pomimo przytoczonych powyżej obiecujących wyników rola szpiku kostnego oraz zawartych w nim KKM w regeneracji uszkodzonych narządów budziła jednak od początku kontrowersje [31, 32]. Seria badań z zastosowaniem fenotypowo zdefiniowanych i oczyszczonych subpopulacji macierzystych komórek hematopoetycznych przyniosła bowiem rozczarowanie, ukazując negatywne wyniki w modelach regeneracji mięśnia sercowego [33] oraz mózgu [34]. Te nieoczekiwane obserwacje podważyły koncepcję plastyczności KKM. Człowiek uzyskanych poprzednio pozytywnych wyników zaczął tłumaczyć poprzez fenomen fuzji komórkowej [35]. Według tej teorii, przeszczepiane KKM mogłyby ulegać fuzji (stopieniu) z komórkami uszkodzonych narządów. Tak więc komórki w uszkodzonych narządach, leczonych przeszczepionymi KKM, były wtedy heterokarionami powstałymi na skutek fuzji przeszczepionych KKM oraz komórek należących do uszkodzonego narządu. Warto nadmienić, że fuzja komórkowa należy jednak do bardzo rzadkich, przypadkowych zjawisk i nie może w pełni tłumaczyć opublikowanych pozytywnych wyników badań wskazujących udział komórek izolowanych z dorosłych tkanek w regeneracji. Zaczęło więc poszukiwać innego wytłumaczenia „zjawiska plastyczności” komórek macierzystych.

Ostatnie doniesienia wskazały m.in. na możliwość modyfikacji fenotypu komórek znajdujących się w tkankach poprzez przeniesienie receptorów komórkowych, białek cytoplazmatycznych oraz mRNA z sąsiednich komórek, za pomocą wymiany mikrofragmentów komórkowych (*microvesicles*). Mikrofragmenty komórkowe są kulistymi strukturami, w których fragment cytoplazmy komórkowej jest otoczony błoną komórkową [36, 37]. Złączanie mikrofragmentów z powierzchni błony komórkowej opisane zostało jako zjawisko fizjologiczne towarzyszące wzrostowi komórek oraz ich aktywacji w procesach, takich jak np. niedotlenienie tkanek czy ich uszkodzenie [37]. W związku z tym, wspomniane przeniesienie receptorów powierzchniowych, białek oraz informacji genetycznej, jak jest mRNA, pomiędzy wszczepionymi KKM szpiku kostnego a komórkami gospodarza za pomocą mikrofragmentów błonowych mogłoby przebiegać i prowadzić do zmiany fenotypu komórek uszkodzonego organu.

Wydaje się to jednak najbardziej logicznym wytłumaczeniem wyjaśniającym pozytywne wyniki wykazujące „plastyczność” KKM oraz udział komórek szpikowych w regeneracji uszkodzonych narządów. Od początku badań nad plastycznością nie wzięto pod uwagę możliwości, że szpik kostny zawiera heterogenną populację komórek macierzystych [38, 39]. To oraz brak odpowiednich kontroli w prowadzonych badaniach nad regeneracją tkanek niehematopoetycznych z udziałem przeszczepionych komórek szpiku kostnego oraz krwi pępowinowej doprowadziło do wielu niecisłości i niewłaściwych interpretacji omawianych zjawisk. Zgodnie z powyższym, najlepszym wyjaśnieniem zjawiska plastyczności KKM wydaje się obecnie w szpiku kostnym, mobilizowanej krwi obwodowej oraz krwi pępowinowej heterogennej populacji komórek macierzystych, których udział w regeneracji uszkodzonych tkanek może tłumaczyć opisywane zjawiska „plastyczności i transdiferencjacji” KKM [39]. Występowanie wczesnych rozwojowo niehematopoetycznych komórek macierzystych w szpiku kostnym, krwi obwodowej lub krwi pępowinowej może zatem wyjaśnić bardziej wiarygodnie niż transdiferencjacja KKM pozytywne wyniki „plastyczności” [39].

Rozpocząto więc poszukiwania takich komórek w szpiku kostnym, krwi pępowinowej i mobilizowanej krwi obwodowej. Planem tych poszukiwań było zidentyfikowanie m.in. populacji tzw. małych komórek embrionalnopodobnych komórek macierzystych (*very small embryonic-like stem cells*; VSELs). Wykazano, że komórki te są zdeponowane w tkankach podczas rozwoju embrionalnego jako populacja PKM i źródło dla bardziej zróżnicowanych UTKM. Stanowi one jednak bardzo rzadką populację komórek, np. w dorosłym szpiku kostnym ok. 1 komórka VSEL przypada na 10^4 – 10^5 komórek jednej krwi [40, 41]. Wykazano również, że szpik kostny jak inne tkanki młodych osobników zawiera więcej komórek o fenotypie VSELs i liczba tych komórek maleje z wiekiem [42]. Wiadomo, że komórki te pojawiają się w krwi obwodowej w stanach uszkodzenia narządów, uwidaczniając niejako naturalny mechanizm organizmu polegający na mobilizacji tych komórek, aby brały udział w próbie regeneracji uszkodzonych tkanek [43, 44]. Z myślą o wykorzystaniu tych komórek do potencjalnych celów terapeutycznych niezbędną staje się szybkie opracowanie skutecznej metody ekspansji tych komórek *ex vivo*.

Indukowane PKM (ind-PKM)

Innym rodzajem PKM, które zaproponowano ostatnio jako alternatywę dla komórek izolowanych z zarodków, są tzw. indukowane PKM (ind-PKM) (Ryc. 2). Komórki te są uzyskiwane w wyniku transformacji hodowlanych *in vitro* dorosłych komórek somatycznych za pomocą genów kodujących czynniki transkrypcyjne kluczowe dla rozwoju komórek embrionalnych (Oct-4, Nanog, Klf4, c-myc). Geny te wprowadzane są do komórki somatycznej (np. komórki fibroblastu) za pomocą wektorów retrowirusowych [45]. W wyniku powyższej strategii można uzyskać transformowaną komórkę, która ma szereg właściwości PKM (m.in. różnicuje się w komórki pochodzące ze wszystkich trzech listków zarodkowych).

Transformacja taka jest jednak stosunkowo rzadka, średnio jedna komórka na kilka tysięcy poddanych powyższej manipulacji genetycznej ulega transformacji (indukcji do stanu embrionalnego) i zaczyna proliferować, tworząc klon składający się z ind-PKM [45, 46]. Jest to jednak trudny do kontrolowania proces, a komórki uzyskane w wyniku powyższej strategii, podobnie jak komórki embrionalne izolowane z zarodków, tworzą potworniki w modelach do wiadczenia u zwierząt laboratoryjnych. Wprowadzanie do komórek somatycznych genów indukujących powstanie ind-PKM zaburza ponadto strukturę i organizację DNA, co może potencjalnie prowadzić do indukowania mutacji i powstania komórek nowotworowych.

Obecnie próbuje się uzyskać ind-PKM, ograniczając liczbę wprowadzonych genów (np. transformując komórki tylko za pomocą pojedynczego genu Oct-4) oraz próbując zastąpić wprowadzane geny pewnymi niskocząsteczkowymi molekułami, które bezpośrednio mogą „odróżnicować” DNA w komórkach somatycznych [47]. Wydaje się, że jest to bardziej obiecująca strategia pozyskiwania ind-PKM w porównaniu z transformacją komórek za pomocą wprowadzanych genów w niekontrolowany sposób do chromosomów.

Przyjmuje się, że ind-PKM są alternatywą komórek pozyskiwanych z zarodków m.in. również tych otrzymywanych na drodze klonowania terapeutycznego. Otrzymanie ind-PKM nie wymaga dostępu do ludzkich komórek jajowych, a co najważniejsze, komórki powstające z ind-PKM, podobnie jak te otrzymywane drogą klonowania terapeutycznego, będą miały te same geny kodujące układ zgodności tkankowej jak potencjalny biorca. Mogłyby być wykorzystane w klinice bez ryzyka odrzucenia powstających z nich tkanek. Co najważniejsze, o ile strategia klonowania terapeutycznego nie powiodła się jak do tej pory w przypadku komórek człowieka, otrzymano już szereg ludzkich linii komórek ind-PKM.

Należy jednak nadmienić, że ind-PKM niestety również powodują powstawanie potworników i są odrzucane przez organizm biorcy w modelach zwierzęcych [45, 47]. Problemem jest również duża niestabilność genetyczna tych komórek i występowanie w nich licznych aberracji chromosomalnych [48].

Komórki pluripotencjalne izolowane z dorosłych tkanek

Szereg grup do wiadczałych opisało występowanie w dorosłych tkankach komórek o charakterze PKM i MKM. Komórki takie mają różne nazwy (Tab. III). Najprawdopodobniej, stosując odmienne techniki izolacji i hodowli, zidentyfikowano komórki o podobnych lub zbliżonych właściwościach. W odpowiednich modelach do wiadczałych komórki te mogą się różnicować w komórki trzech, dwóch lub jednego listka zarodkowego.

Ciekawą populację wczesnych rozwojowo komórek zdeponowanych w rozwijających się tkankach są m.in. tzw. małe komórki przypominające komórki embrionalne (*very small embryonic like stem cells*; VSELs) [49]. Cechą charakterystyczną komórek VSELs jest ekspresja markerów typowych dla pluripotencjalnych komórek epiblastu, które to we wczesnych etapach embriogenezy podczas gastrulacji uczestniczą w formowaniu listków zarodkowych i dają początek różnym liniom komórkowym. Badacze uważają, że komórki VSELs deponowane stopniowo w rozwijających się tkankach odgrywają ważną rolę w utrzymywaniu puli tkankowo specyficznych komórek macierzystych. Stanowią one pierwotne źródło wszystkich komórek rozwijającego się organizmu podczas ontogenezy, przeżywają w dojrzałych tkankach i tym samym pozostają źródłem ukierunkowanych tkankowo komórek macierzystych. W odpowiedzi na uszkodzenie tkanek i narządów (np. w zawałach mięśnia sercowego, udarze mózgu) VSELs mogą być mobilizowane i krążyć we krwi obwodowej [44, 50-53]. Ponadto, jak wykazano, modyfikacja metylacji niektórych genów wykazujących pełną genomową ochronę VSELs przed niekontrolowaną proliferacją i tworzeniem potworników. Z naszych badań wynika również, że aby VSELs mogły w pełni wykazać swój potencjał regeneracyjny, muszą być również w pełni funkcjonalne. Nie można wykluczyć możliwości, że VSELs rezydujące w szpiku kostnym są funkcjonalnie „zablokowane”, pozostając w stadium swoistego „uśpienia”, wymagając odpowiednich sygnałów aktywacyjnych, których na razie jeszcze w pełni nie znamy [5, 40].

Potencjalnym ograniczeniem ich wykorzystania obecnie dla celów terapeutycznych jest stosunkowo niska liczba tych komórek w dorosłym szpiku kostnym (1 komórka VSEL na 10^4 – 10^5 komórek jednej drożyny szpiku kostnego). Dlatego tak ważną jest opracowanie protokołów służących do skutecznej ekspansji tych komórek. Co więcej, z naszych obserwacji wynika, że liczba VSELs jest wyższa u młodych osobników i maleje wraz z wiekiem [40].

Wyniki otrzymane w naszym laboratorium [54-55] oraz w innych niezależnych laboratoriach [56-59] wskazują jednak, że VSELs mogą stanowić realną alternatywę dla komórek pozyskiwanych np. drogą tzw. klonowania terapeutycznego czy ind-PKM. W czasie kiedy trwa etycznie-religijna debata nad zastosowaniem komórek embrionalnych w klinice, istnieje uzasadniona potrzeba zbadania potencjału terapeutycznego VSELs jako alternatywnego źródła komórek do terapii. Musimy więc jak najszybciej znaleźć odpowiedź na pytanie, czy izolowane z tkanek dorosłych osobników VSELs mogą być efektywnie zastosowane w klinice. Nadchodzący lata z pewnością przyniosą nam odpowiedzi na postawione pytania.

Acknowledgments

Finansowanie/Financial support

Nie występuje.

Piśmiennictwo

1. Popiela T. Medycyna kliniczna na progu trzeciego milenium - refleksje osobiste. *Adv Clin Exp Med*. 2003; 12:405–408.
2. O'Farrell PH, Stumpff J, Su TT. Embryonic cleavage cycles: how is a mouse like a fly? *Curr Biol*. 2004; 14:35–45.
3. Moore KA, Lemischka IR. Stem cells and their niches. *Science*. 2006; 311:1880–1884. [PubMed: 16574858]
4. Alison MR, Islam S. Attributes of adult stem cells. *J Pathol*. 2009; 217:144–160. [PubMed: 19085991]
5. Kucia M, Ratajczak J, Ratajczak MZ. Are bone marrow stem cells plastic or heterogenous – that is the question. *Exp Hematol*. 2005; 33:613–623. [PubMed: 15911085]
6. Ratajczak MZ. Phenotypic and functional characterization of hematopoietic stem cells. *Current Opinion Hematol*. 2008; 15:293–300.
7. Hipp J, Atala A. Sources of stem cells for regenerative medicine. *Stem Cell Rev*. 2008; 4:3–11. [PubMed: 18286392]
8. Leedham SJ, Brittan M, McDonald SAC, Wright NA. Intestinal stem cells. *J Cell Mol*. 2005; 9:11–24.
9. Lo Celso C, Scadden D. Isolation and transplantation of hematopoietic stem cells (HSCs). *J Vis Exp*. 2007; 4:157–162. [PubMed: 18830434]
10. Prockop DJ. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. *Science*. 1997; 276:71–74. [PubMed: 9082988]
11. Stocum DL, Zupanc GK. Stretching the limits: stem cells in regeneration science. *Dev Dyn*. 2008; 237:3648–3671. [PubMed: 18985720]
12. Lo B, Kriegstein A, Grady D. Clinical trials in stem cell transplantation: guidelines for scientific and ethical review. *Clin Trials*. 2008; 5:517–522. [PubMed: 18827044]
13. Lo B, Zettler P, Cedars MI, et al. A new era in the ethics of human embryonic stem cell research. *Stem Cells*. 2005; 23:1454–1459. [PubMed: 16293581]
14. Zhu WZ, Hauch KD, Xu C, Laflamme MA. Human embryonic stem cells and cardiac repair. *Transplant Rev*. 2009; 23:53–68.
15. Cabrera CM, Cobo F, Nieto A, Concha A. Strategies for preventing immunologic rejection of transplanted human embryonic stem cells. *Cytotherapy*. 2006; 8:517–518. [PubMed: 17050257]
16. Blum B, Benvenisty N. The tumorigenicity of human embryonic stem cells. *Adv Cancer Res*. 2008; 100:133–158. [PubMed: 18620095]
17. Andrews PW, Matin MM, Bahrami AR, et al. Embryonic stem (ES) cells and embryonal carcinoma (EC) cells: opposite sides of the same coin. *Biochem Soc Trans*. 2005; 33:1526–1530. [PubMed: 16246161]
18. Hwang WS, Lee BC, Lee CK, Kang SK. Cloned human embryonic stem cells for tissue repair and transplantation. *Stem Cell Rev*. 2005; 1:99–109. [PubMed: 17142844]
19. Yang X, Smith SL, Tian XC, et al. Nuclear reprogramming of cloned embryos and its implications for therapeutic cloning. *Nat Genet*. 2007; 39:295–302. [PubMed: 17325680]
20. McHugh PR. Zygote and “clonote” ... the ethical use of embryonic stem cells. *N Engl J Med*. 2004; 351:209–211. [PubMed: 15254278]
21. Tachibana M, Amato P, Sparman M, et al. Human embryonic stem cells derived by somatic cell nuclear transfer. *Cell*. May 15 doi. 2013;10. 1016/j.cell.2013.05.006.
22. Green RM. Can we develop ethically universal embryonic stem-cell lines? *Nat Rev Genet*. 2007; 8:480–485. [PubMed: 17510667]
23. Tsunoda Y, Kato Y. Recent progress and problems in animal cloning. *Differentiation*. 2002; 69:158–161. [PubMed: 11841470]
24. Brevini TA, Gandolfi F. Parthenotes as a source of embryonic stem cells. *Cell Prolif*. 2008; 41:20–30. [PubMed: 18181942]

25. Mezey E, Chandross KJ, Harta G, et al. Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated in vivo from bone marrow. *Science*. 2000; 290:1779–1782. [PubMed: 11099419]
26. Quesenberry PJ, Abedi M, Aliotta J, et al. Stem cell plasticity: an overview. *Blood Cells Mol Dis*. 2004; 32:1–4. [PubMed: 14757404]
27. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature*. 2001; 410:701–705. [PubMed: 11287958]
28. Hess DC, Abe T, Hill WD, et al. Hematopoietic origin of microglial and perivascular cells in brain. *Exp Neurol*. 2004; 186:134–144. [PubMed: 15026252]
29. Corti S, Locatelli F, Donadoni C, et al. Neuroectodermal and microglial differentiation of bone marrow cells in the mouse spinal cord and sensory ganglia. *J Neurosci Res*. 2002; 70:721–733. [PubMed: 12444594]
30. Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, et al. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science*. 1999; 284:1168–1170. [PubMed: 10325227]
31. Orkin SH, Zon LI. Hematopoiesis and stem cells: plasticity versus developmental heterogeneity. *Nat Immunol*. 2002; 3:323–328. [PubMed: 11919568]
32. Wagers AJ, Sherwood RI, Christensen JL, Weissman IL. Little evidence for developmental plasticity of adult hematopoietic stem cells. *Science*. 2002; 297:2256–2259. [PubMed: 12215650]
33. Murry CE, Soonpaa MH, Reinecke H, et al. Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. *Nature*. 2004; 428:664–668. [PubMed: 15034593]
34. Castro RF, Jackson KA, Goodell MA, et al. Failure of bone marrow cells to transdifferentiate into neural cells in vivo. *Science*. 2002; 297:1299. [PubMed: 12193778]
35. Lucas JJ, Terada N. Cell fusion and plasticity. *Cytotechnology*. 2003; 41:103–109. [PubMed: 19002947]
36. Janowska-Wieczorek A, Majka M, Kijowski J, et al. Platelet-derived microparticles bind to hematopoietic stem/progenitor cells and enhance their engraftment. *Blood*. 2001; 98:3143–3149. [PubMed: 11698303]
37. Ratajczak J, Wysoczynski M, Hayek F, et al. Membrane-derived microvesicles: important and underappreciated mediators of cell-to-cell communication. *Leukemia*. 2006; 20:1487–1495. [PubMed: 16791265]
38. Kucia M, Ratajczak J, Ratajczak MZ. Are bone marrow stem cells plastic or heterogenous—that is the question. *Exp Hematol*. 2005; 33:613–623. [PubMed: 15911085]
39. Ratajczak MZ, Kucia M, Reza R, et al. Stem cell plasticity revisited: CXCR4-positive cells expressing mRNA for early muscle, liver and neural cells ‘hide out’ in the bone marrow. *Leukemia*. 2004; 18:29–40. [PubMed: 14586476]
40. Kucia M, Reza R, Campbell FR, et al. A population of very small embryonic-like (VSEL) CXCR4(+)SSEA-1(+)Oct-4+ stem cells identified in adult bone marrow. *Leukemia*. 2006; 20:857–869. [PubMed: 16498386]
41. Zuba-Surma EK, Kucia M, Abdel-Latif A, et al. Morphological characterization of Very Small Embryonic-Like stem cells (VSELs) by ImageStream system analysis. *J Cell Mol Med*. 2008; 12:292–303. [PubMed: 18031297]
42. Zuba-Surma EK, Wu W, Ratajczak J, et al. Very small embryonic-like stem cells in adult tissues—Potential implications for aging. *Mech Ageing Dev*. 2009; 130:58–66. [PubMed: 18377952]
43. Kucia M, Wysoczynski M, Wu W, et al. Evidence that Very Small Embryonic Like (VSEL) Stem Cells are Mobilized into Peripheral Blood. *Stem Cells*. 2008; 26:2083–2092. [PubMed: 18511604]
44. Zuba-Surma EK, Kucia M, Dawn B, et al. Bone marrow-derived pluripotent very small embryonic-like stem cells (VSELs) are mobilized after acute myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol*. 2008; 44:865–873. [PubMed: 18430437]
45. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006; 126:663–676. [PubMed: 16904174]
46. Kim JB, Sebastiao V, Wu G, et al. Oct4-induced pluripotency in adult neural stem cells. *Cell*. 2009; 136:411–419. [PubMed: 19203577]
47. Okita K, Nakagawa M, Hyenjong H, et al. Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors. *Science*. 2008; 322:949–953. [PubMed: 18845712]

48. Ronen D, Benvenisty N. Genomic stability in reprogramming. *Curr Opin Genet Dev.* 2012; 22:444–449. [PubMed: 23040504]
49. Ratajczak MZ, Zuba-Surma EK, Machalinski B, et al. Very small embryonic-like (VSEL) stem cells: purification from adult organs, characterization, and biological significance. *Stem Cell Rev.* 2008; 4:89–99. [PubMed: 18459073]
50. Wojakowski W, Ratajczak MZ, Tendera M. Mobilization of very small embryonic-like stem cells in acute coronary syndromes and stroke. *Herz.* 2010; 35:467–472. [PubMed: 20981396]
51. Paczkowska E, Kucia M, Koziarska D, et al. Clinical evidence that very small embryonic-like stem cells are mobilized into peripheral blood in patients after stroke. *Stroke.* 2009; 40:1237–1244. [PubMed: 19246697]
52. Abdel-Latif A, Zuba-Surma EK, Ziada KM, et al. Evidence of mobilization of pluripotent stem cells into peripheral blood of patients with myocardial ischemia. *Exp Hematol.* 2010; 38:1131–1142. [PubMed: 20800644]
53. Drukała J, Paczkowska E, Kucia M, et al. Stem cells, including a population of very small embryonic-like stem cells, are mobilized into peripheral blood in patients after skin burn injury. *Stem Cell Rev.* 2012; 8:184–194. [PubMed: 21573962]
54. Wojakowski W, Tendera M, Kucia M, et al. Cardiomyocyte differentiation of bone marrow-derived Oct-4+CXCR4+SSEA-1+ very small embryonic-like stem cells. *Int J Oncol.* 2010; 37:237–247. [PubMed: 20596650]
55. Ratajczak J, Wysoczynski M, Zuba-Surma E, et al. Adult murine bone marrow-derived very small embryonic-like stem cells differentiate into the hematopoietic lineage after coculture over OP9 stromal cells. *Exp Hematol.* 2011; 39:225–237. [PubMed: 21034791]
56. Zuba-Surma EK, Guo Y, Taher H, et al. Transplantation of expanded bone marrow-derived very small embryonic-like stem cells (VSEL-SCs) improves left ventricular function and remodelling after myocardial infarction. *J Cell Mol Med.* 2011; 15:1319–1328. [PubMed: 20629987]
57. Taichman RS, Wang Z, Shiozawa Y, et al. Prospective identification and skeletal localization of cells capable of multilineage differentiation in vivo. *Stem Cells Dev.* 2010; 19:1557–1570. [PubMed: 20446812]
58. Havens AM, Shiozawa Y, Jung Y, et al. Human very small embryonic-like cells generate skeletal structures, in vivo. *Stem Cells Dev.* 2013; 22:622–360. [PubMed: 23020187]
59. Kassmer SH, Jin H, Zhang PX, et al. Very Small Embryonic-Like Stem Cells from the murine bone marrow differentiate into epithelial cells of the lung. *Stem Cells.* May 16.2013 doi: 10.1002/stem.1413.
60. Jones RJ, Collector MI, Barber JP, et al. Characterization of mouse lymphohematopoietic stem cells lacking spleen colony-forming activity. *Blood.* 1996; 88:487–491. [PubMed: 8695796]
61. Jones RJ, Wagner JE, Celano P, Zicha MS, Sharkis SJ. Separation of pluripotent haematopoietic stem cells from spleen colony-forming cells. *Nature.* 1990; 347:188–189. [PubMed: 2395470]
62. Krause DS. Bone marrow-derived cells and stem cells in lung repair. *Proc AmThorac Soc.* 2008; 5:323–327.
63. Vacanti MP, Roy A, Cortiella J, et al. Identification and initial characterization of spore-like cells in adult mammals. *J Cell Biochem.* 2001; 80:455–460. [PubMed: 11135375]
64. Kucia M, Halasa M, Wysoczynski M, et al. Morphological and molecular characterization of novel population of CXCR4+ SSEA-4+ Oct-4+ very small embryonic-like cells purified from human cord blood: preliminary report. *Leukemia.* 2007; 21:297–303. [PubMed: 17136117]
65. McGuckin C, Jurga M, Ali H, Strbad M, Forraz N. Culture of embryonic-like stem cells from human umbilical cord blood and onward differentiation to neural cells in vitro. *Nat Protoc.* 2008; 6:1046–1055. [PubMed: 18536651]
66. Mikhail MA, M'Hamdi H, Welsh J, et al. High frequency of fetal cells within a primitive stem cell population in maternal blood. *HumReprod.* 2008; 23:928–933.
67. Beltrami AP, Cesselli D, Bergamin N, et al. Multipotent cells can be generated in vitro from several adult human organs (heart, liver and bone marrow). *Blood.* 2007; 110:3438–3446. [PubMed: 17525288]

Rycina 1. PKM obtained from embryos

PKM pozyskiwane z zarodków. Panel A – PKM obdarzone właściwymi cechami różnicowania się w komórki wszystkich trzech listków zarodkowych pozyskuje się poprzez ekspansję PKM izolowanych z wnętrza zarodkowego blastocysty. Blastocyst można otrzymać *in vitro* z moruli, która powstaje z zygoty drogą zapłodnienia komórki jajowej przez plemnik *in vitro*.

Panel B – PKM można również pozyskać na drodze tzw. klonowania terapeutycznego, podczas którego zamiast zapłodnienia komórki jajowej przez plemnik wprowadza się do cytoplazmy enukleowanej uprzednio komórki jajowej jądro dojrzałej komórki somatycznej (np. fibroblastu). W wyniku tego procesu zwanego jako „przeniesienie jądra” (*nuclear transfer*) powstaje klonota, która podobnie jak zygota może dać początek moruli, a potem blastocystie. Warto nadmienić, że zarówno zygota jak i klonota, jeżeli zostaną umieszczone w macicy, utworzą dojrzałego osobnika. Jeżeli osobnik taki powstaje z klonoty, mówimy o tzw. klonowaniu reprodukcyjnym. Zastosowanie tego typu strategii w wypadku człowieka budzi szereg zastrzeżeń natury etycznej.

Rycina 2. PKM obtained from sources extraembryonic

PKM pozyskiwane ze źródeł pozazarodkowych. Panel A – PKM można pozyskać, transformując komórki somatyczne izolowane z tkanek dorosłych osobników (np. fibroblasty) za pomocą genów kodujących embrionalne czynniki transkrypcyjne (np. Oct-4, Nanog, Klf-4, c-myc). Powstające w wyniku transformacji tzw. ind-PKM mają wiele cech podobnych do PKM pozyskiwanych drogą klonowania terapeutycznego, m.in. zgodny z dawką komórek układ antygenów zgodny z tkankową. **Panel B** – PKM mogą również być izolowane z tkanek dojrzałych osobników. Takimi komórkami są np. VSELs, wykazujące szereg cech komórek embrionalnych. Jak przypuszczamy, komórki te pochodzą z epiblastu i zostają zdeponowane w rozwijających się podczas embriogenezy narządach, gdzie następnie przebywają w stanie „u pnia”. Obecnie prowadzone są intensywne prace nad „wybudzeniem” tych komórek, tak aby je w pełni wykorzystać w medycynie regeneracyjnej.

Tabela I**Hierarchia komórek macierzystych (KM)** Developmental hierarchy of stem cell compartment

Totipotencjalne KM(KMT)	Dają początek zarówno ciału zarodka, jak i tkankom łożyska. W warunkach naturalnych totipotencjalnymi komórkami są zapłodniony oocyt (zygota) oraz pierwsze blastomery. W warunkach sztucznych totipotencja zachowuje odpowiednik zygoty – tzw. klonota, powstała na skutek transferu jądra komórki somatycznej do oocyta (<i>nuclear transfer</i>).
Pluripotencjalne KM(PKM)	Dają początek komórkom wszystkich trzech listków zarodkowych po przeszczepieniu do rozwijającej się blastocysty. Pluripotencjalnymi są komórki wewnętrznej masy blastocysty oraz epiblastu.
Multipotencjalne KM(MKM)	Dają początek komórkom dwóch listków zarodkowych lub jednego listka zarodkowego.
Monopotencjalne KM lub ukierunkowane tkankowo komórki macierzyste (UTKM)	Obejmują tzw. komórki ukierunkowane tkankowo, dające początek komórkom tylko jednej linii. Należą m.in. KM nabłonka jelit, krwiotwórcze KM, KM naskórka, KM nerwowe, KM w trofoblasty oraz KM mięśni szkieletowych.

Tabela II

Różne potencjalne źródła pluripotencjalnych komórek macierzystych (PKM) Various potential sources of pluripotent stem cells

	izolowane z bankowanych zarodków otrzymanych drogą zapłodnienia	izolowane z zarodków otrzymanych poprzez utworzenie klonoty (klonowanie terapeutyczne)	uzyskane w wyniku transformacji komórek somatycznych (indukowane PKM)
Ryzyko powstania guzów potworniaków	+	+	+
Problem niezgodności tkankowej	+	–	+/-
Wymagany dawca komórki jajowej	+	+	–
Zastrzeżenia natury etycznej	tak	tak/nie *	nie

* Problem różnic nie postrzegany przez różne główne religie światowe. Szereg religii potencjalnie akceptuje klonowanie terapeutyczne (np. islam, buddyzm, judaizm), ale zdecydowana większość odrzuca klonowanie reprodukcyjne

Tabela III

Najważniejsze potencjalne źródła pluripotentnych komórek macierzystych (PKM) oraz multipotentnych komórek macierzystych (MKM) izolowanych z dorosłych tkanek The most important sources of pluripotent and multipotent stem cells isolated from the adult tissues

Nazwa proponowana przez odkrywców	Procedura izolacji i identyfikacji komórki	Referencje
Komórki ELH	Izolowane podczas elutriacji (E), usunięcia komórek liniowo pozytywnych (L) oraz po <i>homingu</i> do szpiku kostnego (H). Dają początek komórkom epitelium.	[60–62]
<i>Spore-like stem cells</i>	Małe komórki o średnicy ~5 µm izolowane z różnych mysich tkanek, Oct-4+, różnicują się w komórki różnych tkanek.	[63]
VSELs	Małe komórki Sca-1+Lin-CD45- u myszy oraz CD133+Lin-CD45- u człowieka. Mają ekspresję markerów typowych dla pluripotentnych komórek epiblastu, uczestniczą prawdopodobnie w formowaniu listków zarodkowych i dają początek różnym liniom komórkowym.	[40, 64]
Komórki o charakterze embrionalnym z ludzkiej krwi pępowinowej	Małe komórki CD45-, CD33-, CD7-, CD235a-mają ekspresję Oct4 and Sox2, mogą różnicować się w neurony.	[65]
Omnicyty	Małe Oct-4+ KM biorące udział w tworzeniu chimeryzmu maczyno-płodowego.	[66]
Multipotentne KM izolowane z dorosłych tkanek (MASC)	Komórki izolowane z dorosłych tkanek poddają się ekspansji w komórki poszczególnych narządów.	[67]