

SOFIJA KANOPKAITĖ, VIRGINIJA BUKELSKIENĖ,
JULIJA RAZUMIENĖ

PIRMIEJI ŽINGSNIAI NUO ORGANIZMO LINK LAŠTELĖS

Ivadas. Nuo senų senovės žmonija domėjosi gyvybės paslaptimis. Gyvūnijos ir augalijos naudojimas kasdieniniame gyvenime siekia senas civilizacijas – Egipto, Mesopotamijos, Kinijos ir kt. (Biologija, 1977). Anglų mokslininko Vilee manymu (Vilee, 1967), dar prieš 20 000 metų gyvenę žmonės buvo geri biologai. Apie tai byloja uolų ir urvų sienose išlikę žvėrių ir medžioklės scenų piešiniai.

Tačiau kaip sisteminis mokslas biologija atsirado Senovės Graikijoje (Vilee, 1971). Graikai ir romėnai paliko rašytinių duomenų apie gyvūnus ir augalus: tai VI–V a. pr. Kr. gyvenę Anaksimandras, Ksenofanas, Empe doklis ir kt. Jie filosofškai nagrinėjo augalų ir gyvūnų atsiradimo klausimus. Yra rašytinių šaltinių ir apie Aristotelio (Aristotelis, 1976) (384–322 pr. Kr.), taip pat kitų jo meto graikų mąstytojų bei gamtininkų biologijos darbus.

Aristotelio veikale „*Historia animalium*“ sukaupiti to meto duomenys apie gyvūnijos pasaulį: jo teorija skelbia, kad gyvūnai ir augalai laipsniškai keitėsi, kildami gamtos pakopomis link sudėtingesnės ir tobulesnės organizacijos. Iki šiol yra išlikę 37 Plinijaus laikų enciklopedijos tomai (23–79 m. po Kr.). Juose, šiuolaikiniu vertinimu, faktai apie gyvus organizmus yra supinti su fantastinėmis interpretacijomis (Plinius, 1982).

Graikų gydytojas Galenas (Galenas, 1978) (131–200) gali būti laikomas pirmuoju po Kr. eksperimentatoriumi anatomu fiziologu. Jis tyrė galvos smegenų ir nervų funkciją, įrodė, kad arterijos pripildytos kraujo, o ne oro. Jo anatomiciais duomenimis naudotasi maždaug 1300 metų. Tačiau jie buvo klaidingi, nes žmogaus anatomija buvo grindžiama kiaulių ir beždžionių anatomicine analize.

Renesanso laikotarpiu (XIV–XV a.) biologija pagyvėja. Pradėta nuo-

dugniau studijuoti gyvūnijos sandarą, struktūrą, funkcijas, jų egzistavimo ypatumus.

Vezalijus (Vezalijus, 1984) (1514–1564), belgų gydytojas anatomas, dirbęs Italijoje, pirmasis pradėjo tirti žmonių lavonus ir rado neatitiki- mų Galeno skelbtuose anatominiuose darbuose. Jo veikalas „De humani corporis fabrica“ ir dabar vertinamas – laikomas šiuolaikinės anatomijos pagrindu.

Anglų medikas V. Harvėjus (Harvėjus, 1978) (1578–1657) savo darbais ėjo Vezalijaus keliu. Jis domėjosi žmogaus kraujotaka. V. Harvėjaus vei- kalas „Exercitatio anatomija de motu cordis et sanguinis in animalibus“ paneigė Galeno teiginį, kad kraujodara vyksta kepenyse. Jis pirmasis pa- grindė širdies darbo principus, teigdamas, kad jos veiklą nulemia raumens sienelių judesiai. Harvėjus pirmasis išplėtojo ląstelinę teoriją patologijos atveju. Jo veikale „Omne vivum ex ovo“ tvirtinama, kad kiekvienas orga- nizmas atsiranda iš kiaušinio. Harvėjus mirė keletą metų prieš paskelbiant Roberto Huko atradimus, užfiksuotus mikroskopu, kurį 1590 m. sukons- travo Jansenas.

Robertas Hukas (Hukas, 1978) (1635–1703), Marčello Malpigis (1628–1694), Antonijus van Levenhukas (1632–1723), Janas Svammerdamas (1637–1680) pirmieji panaudojo mikroskopą biologijoje, tirdami gyvojo pasaulio audinius. Anglų fizikas, meteorologas, biologas, inžinierius ir architektas R. Hukas 1665 m. išleido albumą „Mikrografija“, kur pateikti jo mikroskopiniai stebėjimai. Jis pirmasis panaudojo žodį „cellula“, kuris reiškia (*lot.*) kambarėlis, kamara vergams, vienuolių celės. Vėliau moksle šis terminas įsitvirtino, įgydamas naują prasmę. R. Huko mikroskopas didino 30 kartų, tai leido jam stebėti atmirusias kamščio ląstelių sieneles. Levenhukas, naudodamasis 270 kartų didinančiu lęšiu, aprašė bakterijas, žmogaus spermatozoidus, kraujo ląstelių branduolius, pirmuonis ir kt. Iš viso Levenhukas sukūrė daugiau kaip 200 savitos konstrukcijos mikros- kopų. Olandai M. Malpigis (1628–1694) ir J. Svammerdamas (1637–1680) apibūdino vabzdžių sandarą, detaliai aprašė jungiamosios arterijos kapi- liarus, jungiančias arterijas su venomis (Biologija, 1977).

XIX a. biologijos moksle ypač gausu svarbių atradimų. Iš esmės pakini- ta ankstesnių atradimų interpretavimas. Panašūs procesai būdingi ir XX a. biologijai. Plečiasi pažinimas, jis tampa detalesnis. Postūmius biologijoje suaktyvino nauji fizikos ir chemijos metodai (Villem, 1967; Duve, 1984; Villem et al., 1971).

Vienas svariausių XIX a. biologijos laimėjimų buvo ląstelinės organizmų teorijos pagrindinio teiginio suformulavimas: „Visos ląstelės atsiranda tik iš ankstesnių ląstelių joms dalijantis“.

Šioje srityje daugiausia nuveikė šie mokslininkai:

- 1827 m. Italijos fizikas Džovanni Batista Amiči patobulino linzes, tai neabejotinai prisidėjo prie to, kad 1837 m. buvo gana detalčiai išnagrinėtos augalų ląstelės;
- 1833 m. vokiečių mokslininkas Aleksandras Braunas (Braunas, 1977) apibūdino augalų ląstelių branduolį;
- Matija Šleidenas (Šleidenas, 1983) ir Teodoras Švanas (Švanas, 1983) apibendrino mokslo duomenis ir 1839 m. paskelbė: „Omnis cellula e cellulo“ (Villem et al., 1971). Biologijoje tai itin svarbus apibendrinimas. Jo esmė yra ta, kad visi gyvi organizmai – gyvūnai, augalai, bakterijos – sudaryti iš ląstelių ir jų metabolizmo produktų; naujos ląstelės susidaro dalijantis anksčiau gyvavusioms ląstelėms; visos ląstelės savo chemine sandara ir savo metabolizmu iš esmės yra vienodos, o viso organizmo aktyvumas priklauso nuo atskirų ląstelių tarpusavio veiklos aktyvumo (Duve, 1984).

1884 m. pasirodė pirmasis žurnalas, nagrinėjantis ląstelės biologijos klausimus, – „La Cellula“ (Duve, 1984).

XX a. susiformavo nauja mokslo sritis – „Ląstelės molekulinė biologija“; ją sudaro šios šakos:

- genų struktūra ir funkcijos,
- fermentų, baltymų genetinė reguliacija,
- subląstelinės struktūros,
- ląstelės diferenciacijos procesai,
- evoliucijos molekuliniai pagrindai ir kitos problemos (Bruce et al., 1983).

Šalia mokslo darbų, grindžiamų mikroskopiniais tyrimais, pradėta plėtoti ląstelių cheminius tyrimus. Tokių darbų pradininkais laikomi prancūzas Antuanas de Lavuazjė (1743–1794) (Lavuazjė, 1980) ir anglas Prystlis (1733–1804) (Prystlis, 1982).

Naujas ląstelės pažinimo proveržis buvo amerikiečio Roso Harrisono ir prancūzo Aleksio Karelio (Karelis, 1979) atradimai, kurie paskatino gyvūnų ląsteles auginti (kultivuoti) mėgintuvėlyje panašiai kaip vienląsčius mikroorganizmus, taip pat Tomo Morgano (1866–1945) 1910 m. paskelbta chromosominė teorija (Morganas, 1981).

Tolesnių tyrimų sėkmę lėmė vis naujų metodų ir tyrimo priemonių išradimas. 1945 metų pabaigoje sukurtas elektroninis mikroskopas, kurio skiriamoji geba matuojama nanomikronais, t. y. atvaizdai padidinami dešimtis ir šimtus tūkstančių kartų. Tobulinant šią techniką jau 1960 m. pavyko atskleisti daug ląstelės vidinių struktūrų.

Šioje srityje daug prisidėjo ir biochemijos mokslas, išstobulinęs chromatografijos ir žymėtųjų atomų metodus. Biochemikai išmoko „atverti“ ląstelę ir iš jos atskirai surankioti jos sudedamąsias dalis – organeles. Tam tikslui buvo naudojamas ultracentrifugavimas. Intensyviausi šiuo klausimu darbai vyko XX a. 3-iajame–4-ajame dešimtmetyje. Prioritetas šioje srityje atiteko belgui Albertui Klodui (1899–1983) (Kloda, 1979). Jis, dirbdamas JAV (1929–1949) Rokfelerio institute, sukūrė ir patobulino elektroninės mikroskopijos ir ultracentrifugavimo metodus. Tai prisidėjo prie tolesnių darbų, kai buvo sujungtos morfologų ir biochemikų pajėgos vaisingai tirti ląstelę (Duve, 1984).

Ankstyvoji ląstelės molekulinė biologija atsirado pradėjus tirti virusų ir bakterijų tarpusavio priklausomybę. Tik vėliau pereita į eukariotinių ląstelių lygmenį. Buvo sukurtas naujas galingas DNR rekombinacijos metodas, turintis didžiulę įtaką civilizacijos ateičiai, nes priartėta prie pagrindinių gyvybės funkcionavimo mechanizmų atskleidimo.

Lytinės ląstelės link. Taigi XX a. antrojoje pusėje ląstelių biologijoje itin svarbi mokslo kryptis – lytinių ląstelių tyrimas. Nuosekioje mokslo raidoje aptiktas kamieninių ląstelių fenomenas. Šių tyrimų sėkmę nulėmė bendros genetikų, embriologų, citologų, biochemikų pastangos. Lytinių ląstelių tyrimais siekta atskleisti lytinio apvaisinimo mechanizmus gyvūnijos įvairovėje, nustatyti galimus procesų bendrumus ir skirtumus.

Gamtoje vyksta nelytinis (palikuonis genetiškai tapatus motininiam organizmui) ir lytinis dauginimasis. Pastaruoju atveju įvyksta dviejų genomų susimaišymas. Palikuonys skiriasi ir tarpusavyje, ir nuo abiejų tėvų (Alberts, 1983). 1959–1981 m. daugelio mokslininkų tyrimai atskleidė lytinių ląstelių vystymosi ir apvaisinimo genetinius mechanizmus (Chang, 1959; Moses, 1968, 1977; Whitehouse, 1973; Solari, 1974; John et al., 1976; Williams, 1975; Carpenter, 1979; Lewin, 1980; Wolfe, 1981; Lewis et al., 1979). Nuo 1972 m. per dešimt metų buvo iširta lytinių ląstelių apvaisinimo ir vystymosi proceso eiga motininame individo organizme citologiniu ir biocheminiu požiūriu (Clermont, 1972; Grant, 1978; Menesi et al., 1978,

Fawcett, 1975; Johnson et al., 1976; Epel, 1978; Epel et al., 1980; Bedford, 1978; Metz, 1978; Bleil, 1978; Ridgway et al., 1977; Gwatkin, 1977; Yanagimachi, 1978; Hart et al., 1979; Masuy et al., 1979; Richards, 1979; Woodruff et al., 1980; Peters et al., 1980; Shapiro et al., 1980).

Pirmasis mėginimas apie *in vitro* apvaisintą triušio kiaušialąstę paskelbtas 1959 m. (Chang, 1959). Po 20 metų (1979) C. Grobstein (Grobstein, 1979) JAV moksliniame žurnale paskelbė apie moters kiaušialąstės apvaisinimo galimybę *in vitro*. 1980 m. duomenimis, aprašytos manipuliacijos patyrė sunkių komplikacijų (Lopata, 1980).

Minėtiems moksliniams tyrimams ypač naudingas buvo 1973 m. paskelbtas darbas (Calarco et al., 1973). Jo autoriai skanuojančiu elektroniniu mikroskopu išnagrinėjo pelės kiaušialąstės apvaisinimą ir jos vystymosi eigą po apvaisinimo nuo pirmos stadijos: 2-jų ląstelių, 4 ląstelių (čia pastebėti 4 blastomerai ir polinis kūnas), 8–16 ląstelių (morulės stadija; čia matyti kompaktiškas gemalas) iki blastocistos. Konstatuota, kad iki tol, kol morulė virsta blastocista (iki 8–16 ląstelių), išorinės mitybos nereikia, todėl jas galima kultivuoti *in vitro*.

Vystymasis iki blastocistos vyksta iš vidinių kiaušialąstės išteklių. Jie sukonzentruoti trofoektodermoje. Tai lyg placentos pirmtakas. Gimdoje trofoektoderma kontaktuoja su gimdos sienelėmis, kur ir implantuojasi embrionas (Alberts et al., 1983).

Tiriant pelių ankstyvųjų embrionų ląsteles, priartėta prie chimerinių organizmų susidarymo galimybių (Tarkovski, 1959). Taigi panaudojus du skirtingų pelių ląstelių embrionus ir sujungus juos į vieną gigantinę morulę, gali išsivystyti visai normalaus dydžio peliukas. Šitoks gyvūnėlis skiriasi nuo kitų tuo, kad genetiškai priklauso keturiems tėvams. Gyvūnai, išaugę panaudojus genetiškai skirtingų ląstelių agregatus, pavadinti chimeriniais. Chimeras galima išauginti perkėlus genetiškai skirtingų embrionų kelias ar net vieną ląstelę į blastocistą su kitu genomu.

Taip buvo įrodyta, kad ankstyvojo embriono (gemalo iki 8 ląstelių) žinduolių ląstelės diferenciacijos laipsniu yra vienodos ir pasižymi neribotomis potencinėmis diferenciacijos galimybėmis, t. y. šios ląstelės yra totipotentinės (Calarco et al., 1973; McLaren, 1976).

1968 m. buvo pademonstruotos branduolio persodinimo iš vienos ląstelės į kitą galimybės (Gurdon, 1968; 1973). Tam tikslui buvo panaudotos varlės kiaušialąstės. Mokslininkas kiaušinėlio branduolio genomą suardė ultravioletine spinduliuote, iš varlės – buožgalvio – žarnos epitelio

visiškai diferencijuotos ląstelės išskyrė branduolį, kurį perkėlė į bebranduolinį kiaušinėlių. Injekcijos dūris pažadino kiaušinėlių vystytis. Iš tokios kiaušialąstės mokslininkui pavyko išauginti normalią varlytę, gebančią produkuoti palikuonis. Taip buvo įrodyta, kad genomo lygiavertiškumas diferencijuotose ląstelėse išlieka.

Lytinės ląstelės ir ankstyvieji embrionai – itin jautrios sistemos. Jų vystymosi metu vyksta esminiai pasikeitimai, todėl tos sistemos lengvai pažeidžiamos, jų vystymasis gali pasukti neįprasta kryptimi.

Normaliais atvejais, kol kiaušialąstė neapvaisinta sperma, ji nesivysto. Tik po apvaisinimo prasideda kiaušialąstės vystymasis. A. Tarkovskis 1975 m. rašė (Tarkovski, 1975), kad kartais pelės organizme po ovuliacijos prasideda spontaniškas kiaušialąstės aktyvacija (toks fenomenas dažnesnis LT pelių linijos grupėje). Kiaušialąstei pradėjus vystytis, susidaręs embrionas (gemalas) degeneruojamas *in utero*.

Oocito vystymasis gali prasidėti ir kiaušidėje, jis gali tęstis iki blastocistos susidarymo. Tokioje aplinkoje gemalas vystosi chaotiškai (netvarkingai). Susiformuoja neįprasta masė (teratoma), susidaranti iš diferencijuotų audinių (dantų, kaulų, epitelio ir t. t.) ir nediferencijuotų kamieninių ląstelių. Pastarosios dalijasi ir papildomai gamina tuos audinius. Taip formuojasi nepiktybinis navikas. Grupė mokslininkų ištyrė ir kitus teratomos susidarymo atvejus (Ilmensee et al., 1979) bei jų savybes. Įdomu, kad teratomos spontaniškai gali atsirasti ir vyriškų lytinių ląstelių sėklidėse. Tas procesas pastebėtas 129-os linijos pelių organizme.

Teratoma galima išprovokuoti suaugusioms pelėms persodinant embriono vyriškų gonadų ląsteles ir pan. Įvairiais būdais susiformavusios teratomos panašios. Jos naudojamos ir eksperimentiniams piktybiniam navikams auginti. Tai vadinamosios teratokarcinomos. Šį naviką galima išlaikyti ilgą laiką kultivuojant jo ląsteles mėgintuvėlyje (*in vitro*).

Teratokarcinomoje visuomet esti kamieninių ląstelių. Šio auglio kamieninės ląstelės primena embriono (gemalo) ląsteles. Kultivuojant šias ląsteles terpėje, tinkamoje vystytis embrioninėms ląstelėms, jos elgiasi savitai. Jeigu į normalią blastocistą infekuojamos teratokarcinomos ląstelės, jos blastocistoje vystosi toliau ir kartais pavyksta sulaukti chimerinės pelytės (Mintz et al., 1975; Martin, 1980; Papaioannou, 1978; Evans et al., 1981; Martin, 1981). Taip autoriai įrodė, kad naviko kamieninės ląstelės taip pat yra totipotentinės, o jų piktybiškumas – grįžtamojo pobūdžio. Ankstyvosiose embriogenezės stadijose ląstelių vystymosi kryptį reguliuoja ląstelės aplinka.

Tiriant amfibijos ankstyvosios gastruliacijos procesą (Spemann, 1936; Kitchin, 1949; Karfunkel, 1974; Pearson et al., 1979), pastebėta, kad raidos metu dalis blastulės patiria invaginaciją – pasikeičia tam tikrų ląstelių forma. Epitelis linksta į vidų. Tolesnėje raidoje susiformuoja trijų sluoksnių struktūra su išryškėjusiu vidiniu epiteliniu vamzdeliu (entoderma); su išoriniu epiteliniu apvalkalu (ektoderma) ir su tarpiniu ląstelių sluoksniu, kuris atsiskiria nuo pirminio epitelinio lapelio (mezoderma). Iš endodermos vėliau formuojasi žarnos išklotė ir jos dariniai: plaučiai, kepenys. Iš ektodermos – epidermis ir nervų sistema. Iš mezodermos – didesnė raumenų dalis ir jungiamieji audiniai, širdies ir kraujagyslių, taip pat šlapimo ir lytinė sistemos.

Gastruliacijos raidoje vyksta atskirų ląstelių grupių suartėjimas, jų tarpusavio veiksmai. Kinta epitelinių ląstelių forma. Atsiranda vadinamoji notochorda, kuri sudaro gemalo centrinę ašį. Iš mezodermos masės, esančios abipus notochordos, atsiranda somitai (segmentuotos ląstelės).

Keičiasi ir tarpląsteliniai kontaktai: ląstelės persigrupuoja pagal genetiškai užkoduotą programą. Šis procesas vyksta nuosekliai – nuo galvos – galūnių link.

Žinduolių gastruliacijos ir pirmosios organogenezės stadijos vyksta analogiškai (Alberts et al., 1983). Bendras gyvūnų embrioninio vystymosi planas panašus, tačiau esama ir skirtumų.

Iki organogenezės stadijos pirmųjų etapų amfibijų ir žinduolių vystymasis panašus. Po to pastebimas staigus skirtumas. Žinduolių atveju pradeda formuotis struktūros, kurios sudarys uždarytą sistemą. Ši sujungs gemalą su motininiu organizmu, kuris gemalą aprūpins maisto medžiagomis ir šalins toksines medžiagas. Šios struktūros susidaro iš apvaisinto kiaušinėlio išteklių (ląstelių). Jos labai svarbios ir itin jautrios ardomiesiems veiksniams – chirurginėms manipuliacijoms *in situ*.

P. Veisas (Weiss, 1939) pastebėjo, kad vystymosi metu gemalo ląstelių specializacija išryškėja daug anksčiau, nei pasirodo pirmieji diferenciacijos požymiai. Tvirtinama, kad ląstelė turi atmintį. O tai svarbu daugialąsčių organizmų vystymuisi. Tas faktas, kad suaugusiame organizme išsilaiko pastovi diferencinė padėtis, rodo, kad ląstelės turi atmintį. Šio fenomeno mechanizmai dar nepaaiškinami.

Diferenciacija – tai aiški ląstelių specializacija, kai vienos ląstelės nuo kitų akivaizdžiai skiriasi. Ląstelių diferenciacija yra galutinis ilgo proceso etapas.

Ląstelės, kurios turi vystymosi specializacijos linkme programą, vadinamos determinuotomis arba nulemtomis. Ląstelė vadinama determinuota tuo atveju, jeigu joje įvyksta vidinių pokyčių, kurie suteikia ląstelei ir jos palikuonims tų pačių skiriamųjų bruožų, paveldimų per kelias kartas.

Procesą ir laiko tarpą, kurio metu įvyksta ląstelės determinacija, dar 1918 m. eksperimentais su amfibijų embrionais įrodė H. Speman (Spemann, 1918).

P. A. Veisas taip pat pademonstravo, kad, persodinus embriono determinuoto audinio (epidermio) gabalėlį į embriono smegenų vietą, susiformuoja epidermis, arba, jei ląstelės iš būsimų smegenų vietos persodinamos į epidermio sritį, susiformuoja nervų audinys. Toliau. Persodinus embriono ankstyvosios gastrulės epidermio ląsteles į embriono smegenų sritį – susiformuoja nervų audinys, o persodinus būsimų smegenų ląsteles į epidermio sritį – susiformuoja epidermis. Iš šių eksperimentų matyti, kad ankstyvosios gastrulės stadijos ląstelės dar neatsimena savo kilmės, paklūsta naujoms aplinkybėms, nes ląstelėse dar neįvykusi vidinė determinacija. Taigi, tarp ankstyvosios ir vėlyvosios gastruliacijos stadijų tirtų grupių ląstelėse įvyksta pastovių pokyčių ir ląstelės tampa determinuotos.

Kamieninių ląstelių tyrimo pagrindinis mokslinis potencialas nuo 1998 m., kai tik 6 autoriai buvo pateikę spaudai savo tyrimų rezultatus, dabar padidėjo daugiau negu 300 kartų.

Pagrindiniai išdėstyti moksliniai rezultatai, pirma, parengė dirvą praktiniam jų panaudojimui, antra, atvėrė galimybes nukreipti mokslinį potencialą ypatingo tipo ląstelių, vadinamųjų kamieninių ląstelių išsamesniems tyrimams.

Kamieninės ląstelės. Kas tai? Atsakymas į klausimą, kas yra kamieninė ląstelė – nėra paprastas. Tai pripažįsta šios srities specialistai (McCulloch et al., 2005). Teigiama, kad kamieninė ląstelė – tai pirminė proliferuojančioji (besidauginanti) nediferencijuota ląstelė, potencialiai galinti specializuotis į kitų tipų ląsteles. Tačiau šis apibrėžimas nėra išsamus, nes kamieninė ląstelė, be potencialios galimybės diferencijuotis, pasižymi ir kita jai būdinga savybe – dalis dukterinių ląstelių išaugina vadinamąją save palaikančią populiaciją, o kita dalis gali pasukti diferenciacijos linkme ir vėliau išsišakoti į atskirų organų audinius (Siminovitch et al., 1963). Kas nulemia tokią jų elgseną – nagrinėja daug pasaulio mokslininkų.

Dabartinės kamieninių ląstelių tyrimo eros pradininkais pripažinti

kanadiečiai mokslininkai J. E. Till ir E. A. McCulloch. Jie 1961 m. pelės kaulų čiulpuose aptiko vadinamuosius „kolonijas formuojančius vienetus“, kurie, kaip vėliau paaiškėjo, yra ne kas kita kaip aktyviai besidauginančios ląstelės¹. Šie mokslininkai tas ląsteles pavadino polipotentinėmis, o jų išauginamas kolonijas panaudojo pačių ląstelių suskaičiavimui (Till et al., 1961). Tais pačiais 1961 m. aprašytos ir griaučių raumenų kamieninės ląstelės, kurios buvo pavadintos satelitinėmis ląstelėmis. 1963 m. kolonijas išauginančių (polipotentinių) ląstelių mokslininkai aptiko blužnyje (Siminovitch et al., 1963). 1978 m. G. Prindull kamieninių ląstelių aptiko žmogaus virkštelės kraujyje. 1981 m. M. Evans su bendraautorais² ir nepriklausomai nuo jų G. R. Martin – išaugino kamienines pelės embriono ląsteles kultūroje *in vitro* (Evans, 1981; Evans et al., 1981; Martin, 1981).

1995 m. JAV Viskonsino universiteto profesorius J.A. Thomsonas iš vidinio blastocistos sluoksnio išskyrė ir gavo beždžionės, o 1998 m. – ir žmogaus embriono pirmines kamieninių ląstelių linijas (Thompson et al., 1995; Thompson et al., 1998).

1998 m. Ferrari ir kiti aprašė suaugusio organizmo kamieninių ląstelių plastiškumą (t. y. galimybę specializuotis atlikti kito audinio ląstelių funkcijas) (Ferrari et al., 1998). 2001 m. Wulfas (Wulf et al., 2001) ir kiti paskelbė, kad iš suaugusios pelės audinių galima išskirti ląsteles, kurios gali duoti pradžia skirtingų organizmo audinių tipų ląstelėms, pavyzdžiui, kaulų čiulpų ląstelės gali išsivystyti į nervų ar kepenų ląsteles. Šie atradimai teikia vilčių, kad kamieninių ląstelių diferenciaciją ir proliferaciją bus įmanoma kontroliuoti, o tai labai svarbu tikintis naudoti šias ląsteles gydymo tikslais.

Dabartiniu laikotarpiu intensyviai ieškoma kamieninių ląstelių šaltinių. Dedama vilčių šias ląsteles panaudoti atskirų organų audinių regeneravimui. Nemažai tirtos virkštelės kraujo ląstelės, siekiant kreipti jas įvairių audinių diferenciacijos link, pavyzdžiui, kepenų (Danet et al., 2002), kasos (insuliną gaminančias) ar kt. diferencijuotas ląsteles (Denner et al., 2007). Skelbiama apie realią galimybę virkštelės kraujo ir amniono skysčio ląsteles diferencijuoti į visų 200 tipų organizmo ląstelių rū-

¹ 2005 m. prestižinė A. Lasker premija paskirta už darbus identifikuojant kamienines ląsteles („kraują formuojančius kolonijų vienetus“).

² M. J. Evansui, M. R. Capecch'ui, O. Smithiesui 2007 m. paskirta Nobelio premija „už genetinių modifikacijų įvedimą į pelių organizmą, panaudojant embrionų kamienines ląsteles“.

šis³. Šio pobūdžio darbams skiriama labai daug dėmesio, nes iš virkštelės ar amniono skysčio kamieninės ląstelės paimamos palyginti lengvai. Jos gali būti naudojamos gydymui kaip alternatyva embriono ląstelėms. Atlikus reikiamas manipuliacijas, t. y. įvairiškai jas kaitaliojant, galima tikėtis gauti ir diferencijuotų atskirų organų audinių ląstelių.

Grupė mokslininkų (Byrne et al, 2007; Mitalipov et al., 2007) pranešė, kad iš suaugusios *Rhesus* beždžionės fibroblastų išaugino dviejų primatų embrioninių kamieninių ląstelių linijas. Šios ląstelės išaugintos po manipuliacijos perkėlus odos ląstelių branduolį į apvaisintą beždžionės kiaušialąstę, iš kurios pirma buvo pašalintas branduolys. Susiformavus blastocistai, iš vidinio sluoksnio buvo išskirtos ląstelės ir susidarė jų linijos. Šių kamieninių ląstelių DNR analizė patvirtino, kad jų branduolio DNR yra identiška donorinio organizmo somatinei ląstelei, o mitochondrijų DNR yra kilusi iš kiaušialąstės. Abiejų susidariusių linijų ląstelės morfologiškai nesiskyrė nuo normalių embrioninių ląstelių, jos turėjo pagrindinius embrioninių ląstelių žymenis, tiek *in vitro*, tiek *in vivo* diferencijavosi į visų tipų ląsteles.

Analogiškas eksperimentas atliktas panaudojant apvaisintą žmogaus kiaušialąstę, į kurią buvo perkeltas fibroblasto branduolys, ir susidarė blastocista, o iš jos – kamieninių ląstelių linija (French et al., 2008). Tų darbų rezultatai reikšmingi kuriant citoterapijos schemas, kurioms reikia embrioninių ląstelių.

2006–2007 m. dvi mokslininkų grupės, nepriklausomai viena nuo kitos, paskelbė panašius rezultatus apie pelės (Takahashi, 2006) ir žmogaus suaugusio organizmo kamieninių ląstelių rediferenciaciją; jos įrodė kamieninių ląstelių vystymosi tiek specializacijos, tiek priešinga kryptimi galimybę. Šie atradimai reikšmingi tuo, kad suteikia vilčių, jog polipotentines kamienines ląsteles bus galima išauginti iš diferencijuotų ląstelių (Chung et al., 2008).

Kinų mokslininko Chung ir kitų tyrimai parodė, kad žmogaus embriono kamienines ląsteles galima išauginti nepažeidžiant embriono. Tai neabejotinai palengvintų spręsti daugelį bioetinių problemų ir ateityje naudoti kamienines ląsteles praktinėje medicinoje.

Šiuo metu turimų mokslinių duomenų pagrindu kamieninę ląstelę galima apibūdinti pagal tris svarbiausias jos savybes:

³ <http://www.Boston.com/news/local/massachusetts/articles/2007/01/07/amnioticfluidyieldsstemcellsharvardresearchreport>.

- Kamieninė laštelė – save atgaminanti, nediferencijuota laštelė, galinti išauginti specializuotas audinių lašteles.
- Kamieninė laštelė nėra nulemta ir tokia būna tol, kol gauna signalą tapti specializuota laštele.
- Kadangi kamieninės laštelės gali ir daugintis, ir kartu tapti specializuotos, jos yra labai vertingos.

Šiuo metu mokslininkai tiria tokios kilmės kamienines lašteles:

prenatalines, kurios išskiriamos iš embriono, embrioninės karcinomos (teratokarcinomos), vaisiaus audinių (vaisiaus lytinių organų audinio) ir *suaugusio organizmo* organų ir audinių.

Embriono kamieninių lašelių išauginimas. Moksliniams tyrimams kamieninės laštelės išauginamos iš mėgintuvėlyje apvaisintos kiaušialąstės keliais etapais:

1. Kiaušinėlis apvaisinamas laboratoriniame indelyje.
2. Apvaisintas kiaušinėlis pradeda dalytis ir formuojasi embrionas. Maždaug po 5 dienų (pelės) susidaro blastocista – gumulėlis, susidaręs maždaug iš 100 lašelių. Laštelės, esančios blastocistos viduje, ir yra embrioninės kamieninės laštelės.
3. Kamieninės laštelės surenkamos iš blastocistos ir auginamos mėgintuvėlyje. Teoriškai jos turėtų daugintis neribotai.
4. Pridėdami tam tikrų medžiagų arba jas pašalindami tyrėjai gali priversti šias lašteles vystytis bet kuria gydymui reikiama linkme – atlikti širdies, kasos, kaulų čiulpų, nervų ir kito tipo lašelių funkcijas.

Lašelių diferenciaciją (ir specializaciją) valdo vidiniai signalai (laštelės genai, turintys instrukcijų visoms savo struktūroms ir funkcijoms) ir išoriniai signalai (gretutinių lašelių sekretuojamos cheminės medžiagos, fiziniai kontaktai su gretutinėmis laštelėmis ir tam tikros molekulės mikroaplinkoje). Didele dalimi kamieninių lašelių diferenciacijos galimybės priklauso ir nuo šių lašelių kilmės. *Totipotentinė* laštelė (apvaisintas kiaušinėlis, zigota) duoda pradžią tiek embrionui, tiek jo augimą palaikantiems audiniams gimdoje vystytis; *polipotentinės* – embriono ir ankstyvojo vaisiaus lytinių organų audinio laštelės. Jos duoda pradžią visoms laštelėms, kurios vystosi iš mezodermos, entodermos ir ektodermos; *unipotentinės* laštelės – tai dažniausiai suaugusio organizmo normaliomis sąlygomis or-

ganizme viena kryptimi diferencijuojančiosi kamieninės ląstelės. Jų kilmė nėra iki galo atskleista.

Kaip atpažįstama embriono kamieninė ląstelė? Pagal turimus duomenis embrionines ląsteles galima atpažinti iš keleto joms būdingų požymių. Visos jos:

- kilusios iš vidinio blastocistos sluoksnio;
- gali nesidiferencijuodamos daugintis neribotai daug kartų;
- išlaiko stabilų, išsamų (diploidinį) chromosomų rinkinį;
- gali duoti pradžią visų trijų gemalinių lapelių kilmės diferencijuotoms ląstelėms;
- vaisiaus vystymosi eigoje gali integruotis į visus jo audinius;
- gali duoti pradžią lytinėms ląstelėms;
- išryškina transkripcijos veiksnių Oct-3/4, kuris spartina arba lėtina daugelį taikinių genų ir palaiko kamieninę ląstelę proliferacijos, bet ne diferenciacijos būsenoje;
- gali būti indukuota proliferacijai arba diferenciacijai;
- ląstelės cikle neturi G1 kontrolės taško; didžiąją savo egzistencijos dalį jos esti S fazėje;
- pasižymi klonogeniškumu.

Embrioninės kamieninės ląstelės paviršiaus žymenys. Embrioninės kamieninės ląstelės paryškina visą paviršinių struktūrų rinkinį. Vienos jų rodo ląstelės vystymosi ar diferenciacijos stadiją, pavyzdžiui: SSEA (stadijos specifinis embriono antigenas). Kitos yra būdingos rūšiai: SSEA-3 (stadijos specifinis embriono antigenas, būdingas žmogaus embriono kamieninėms ląstelėms). Identifikuoti ir kiti paviršiniai kamieninių ląstelių antigenai, kaip antai: TRA1, TRA1-60, TRA1-81 ir kiti (tumor rejection antigen – naviko atmetimo antigenas), kurie būdingi žmogaus kamieninėms ląstelėms.

Kamieninės ląstelės kaitos mechanizmai. Ši problema – tai ateities mokslo istorijos objektas. Šiuo metu žinoma, kad kamieninės ląstelės likimas priklauso nuo daugybės įvairių veiksnių kombinuoto veikimo. Tie veiksniai darniai jungiasi per kelis (šiuo metu žinomus) skirtingus signalinių kelių tinklus. Šių tinklų raiška yra labai dinamiška, kintanti priklausomai nuo ląstelių lokalizacijos ir laiko. Sudėtingomis išorinėmis

ir vidinėmis ląstelių sąveikomis kamieninės ląstelės realizuoja savo likimą – atnaujina savo populiaciją, dauginasi, sudaro klonus. Vidiniai ląstelių signalai stabdo apoptozę, blokuoja diferenciaciją (Varga et al., 2005; Guo et al., 2008; Choi et al., 2008).

Šiame straipsnyje minime tik tuos mokslininkus, kurie domisi, kokie mechanizmai (signaliniai procesai) nulemia kamieninių ląstelių likimą tiek embriono, tiek suaugusio organizmo audiniuose. Šiuo metu mokslinėje literatūroje įvardijami keli signaliniai procesai, t. y. mechanizmai, kurie vyksta makromolekulių lygmenyje (Klapholz-Brown et al., 2007; Willert et al., 2003; Dann et al., 2001; Tolwinski et al., 2003; Artavanis-Tsakonas et al., 1999; Lai, 2004; Annes et al., 2003; Muniret et al., 2004; Alberts et al., 2002; Bujak et al., 2007; Zhang et al., 2005; Wordinger et al., 2002; Wargha et al., 2005; Chen et al., 2007; Zhang, 2005; Ura et al., 2008; Snyder et al., 2007; Daheron et al., 2004).

Fuchs ir kiti (Fuchs et al., 2004) pastebėjo, kad suaugusio organizmo audiniuose kamieninės ląstelės aptinkamos pavieniui arba telkiniuose, savotiškose „nišose“, kur jas supa specifinė aplinka ir tokios pat kamieninės ląstelės. Tokių „nišų“ pavyzdžiais galima laikyti gemalines ląsteles, taip pat kamieninių ląstelių telkinius, aptinkamus plauko maišelyje, kaulų čiulpuose, plonųjų žarnų gaurelių kriptose, smegenų specifinėse srityse. Kamieninių ląstelių randama ir periferiniame kraujyje, kraujagyslėse, skeleto raumenyse, odoje, kepenyse. Tačiau apskritai kamieninių ląstelių audiniuose yra nedaug.

Paratore ir Sommer (Paratore et al., 2006) nuomone, telkiniuose esančių kamieninių ląstelių likimą nulemiantys veiksniai yra ląsteles supanti aplinka. Ji palaiko jas nediferencijuotoje būsenoje. Tačiau vos iš jos išėjusią ląstelę pradeda veikti gretutinės diferencijuotos ląstelės, kurios ir ją kreipia diferenciacijos linkme.

Kamieninių ląstelių pusiausvyrą tarp ramybės būsenos, save palai-kančio dalijimosi ir kreipimo diferenciacijos linkme veikia sekretuojami išoriniai ląstelės veiksniai. Jie inicijuoja vidinio ląstelės signalo perdavimo kaskadą ir aktyvina tam tikrus būtinius transkripcijos veiksnius.

Deja, iki šiol dar nėra aiškūs mechanizmai, lemiantys kamieninių „tylinčių“ ląstelių pažadinimą proliferacijai ar diferenciacijai. Dar visai neseniai buvo manoma, kad kamieninės ląstelės suaugusiame organizme gali egzistuoti tik audiniuose, kuriuose vyksta aktyvūs proliferacijos ir diferenciacijos procesai, pavyzdžiui: hemopoezės organuose, epitelio gleivinėje,

odoje. Kitų organų audiniuose, pavyzdžiui, dalinės hepatektomijos atveju, organas atgaivinamas subrendusių diferencijuotų ląstelių dalijimosi.

Dabar bandymais įrodyta (Wulf et al., 2001; Jackson et al., 2002), kad proliferuoja tik nediferencijuotos kamieninės ląstelės. Be to, pastebėta, kad nediferencijuotos hemopoetinės kamieninės ląstelės gali duoti pradžia kepenų, raumenų, smegenų ląstelėms, arba atvirkščiai – ląstelių su šiemis organams būdingais žymenimis galima rasti ir kraujyje, ir kaulų čiulpuose.

Diferenciacijos ypatumai. Žinduolių ląstelių diferenciacija natūraliai eina viena kryptimi: kamieninė – pirmtakinė – diferencijuota ląstelė.

Kiekvienas gemalinis lapelis duoda pradžia jam būdingam audiniui: iš entodermos formuojasi žarnos, kepenys, kasa, plaučiai; iš mezodermos – raumenys, kraujas, kaulai, riebalinis audinys; iš ektodermos – oda, nervų sistema.

Vienas gemalinis lapelis paprastai *neduoda* pradžios kito lapelio organams ir audiniams (išskyrus kaukolės kaulų, nervų sistemos ir raumenų audiniams, kurių kilmė kiek kitokia). Tačiau gemalinių lapelių prigimtinė taisyklė pažeidžiama ląstelių kultūroje *in vitro*, patologiniame židinyje ir pan.

Suaugusio individo kamieninės ląstelės, kaip ir embrioninės, yra plastiškos. Įrodyta (Perrari et al., 1988), kad pelės kaulų čiulpų ląstelės, transplantuotos į skeleto raumenis, tapo skeleto raumens ląstelėmis. Kaulo čiulpų ląstelės panašiai gali virsti hepatocitais, endotelio, miokardo, centrinės nervų sistemos, glijos ir kt. funkcijas atliekančiomis ląstelėmis.

Šiuo metu vis daugiau randama įrodymų, kad tiek pirmtakės ląstelės, tiek diferencijuotosios gali patirti dediferenciaciją ir transdiferenciaciją. Tačiau šia savybe pasižymi ne visos diferencijuotos ląstelės, t. y. ne visos gali grįžti į kamieninių ląstelių stadiją.

Kamieninių ląstelių linijų požymiai. Tarptautiniu mastu (International, 2007) buvo apžvelgtos 17-oje laboratorijų esančios 59-ios žmogaus embrioninės kamieninių ląstelių linijos ir apibendrinti jų požymiai. Nepriklausomai nuo ląstelių genotipų, skirtingų jų gavimo ir auginimo sąlygų, šios ląstelės turėjo ganėtinai bendrų požymių: jos ekspresavo glikolipidinius antigenus SSEA3 ir SSEA4, keratino sulfatą, TRA-1-60, TRA-1-81, GCTM2, GCT343 ir baltyminius antigenus CDG, Thy1 (dar žinoma kaip CD90), audiniui nespecifinę šarminę fosfatą, antigeną HLA1, taip pat

griežtai vystymosi eigoje reguliuojamų genų Nanog, Pou5F1 (vadintą Oct4), TDGF1, DNMT3B, GABR3 ir GDF3 produktus.

Suaugusio organizmo kamieninėms ląstelėms taip pat būdingi kai kurie išvardytieji požymiai.

Dirbtinis žmonių apvaisinimas. Atskleistas mokslo reiškinys, kad kiaušialąstę galima apvaisinti ne moters organizme ir tam tikrą laiką ji gali proliferuoti *in vitro*, paskatino iniciatorius šią kiaušialąstės savybę pritaikyti – panaudoti žmonių dirbtinio apvaisinimo technologijai sukurti.

Šiuo metu naudojami keli dirbtinio apvaisinimo technologijos variantai:

1. *in vivo*, t. y. kai kiaušialąstė apvaisinama moters kūne;
2. *in vitro*, t. y. kai moters kiaušialąstė suliejama su spermatozoidu dirbtinėje aplinkoje *in vitro*; kurį laiką leidžiama kiaušialąstei dalytis, susidarius 6–8 ląstelėms dalis jų injekuojama į moters gimdą, o kita dalis užšaldoma ir laikoma iki pareikalavimo. Po kurio laiko nereikalingos apvaisintos kiaušialąstės sunaikinamos.
3. Klonavimo technologijos. Jos dar yra eksperimento stadijoje.

1994 m. dirbtinio apvaisinimo technologijos subjektu tapo 62 metų italė Rossana Della Corte, 1997 m. – Velso gyventoja 60-metė Lizz Butile, 2005 m. rumunė 66-erių metų Adriana Ilijesku, 2006 m. – Didžiosios Britanijos 63 metų gyventoja Patricija Rashbrook.

Nuo 1994 m. šią technologiją naudoja italas medikas Severino Antinori. Jis vadovavo Italijos reprodukcinės medicinos bendrijai, dirbtinio apvaisinimo klinikų sistemai.

2002 m. duomenimis, Jungtinė Karalystė pirmavo pasaulyje „kūdikių iš mėgintuvėlio“ praktikoje. Per metus vidutiniškai buvo atliekama apie 40 000 dirbtinio apvaisinimo procedūrų, iš jų 27 000 buvo sėkmingos. Įsivaizduojama galimybė žmogui kurti gyvybę ir manipuliuoti gyvo organizmo savybėmis neduoda ramybės kai kuriems medikams. Nerimsta aistros dėl žmogaus sukūrimo pasitelkiant Zavoso ir Antinori klonavimo technologiją. Italas Severino Antinori, amerikietis Panayiotis P. Zavosa ir Izraelio bei JAV pilietis Avi Ben-Abraham yra ypač dideli klonavimo šalininkai.

Zavoso ir Antinori klonavimo technologijos schema tokia:

- iš klonuojamojo (vyro – donoro) imama somatinė ląstelė. Ši ląstelė turi branduolį, kuriame saugoma genetinė informacija – DNR;

- iš kiaušialąstės pašalinamas branduolys ir į ją įvedamas vyro somatinės ląstelės branduolys;
- kiaušialąstei su pakeistu branduoliu laboratorijoje *in vitro* leidžiama virsti gemalu (embrionu);
- embrionas implantuojamas į moters gimdą;
- naujagimis bus identiška somatinės ląstelės donoro (vyro) kopija.

2002 m. duomenimis, ši technologija buvo eksperimento stadijoje. Vieta eksperimentams pasirinkta Izraelis, nes Zavosa ir Antinori į komandą pasirinko Avi Ben-Abrahamą – Izraelio pilietį. Motyvas – žydų tikėjimas neprieštarauja klonavimui.

Tuo tarpu panašūs darbai Australijoje, vykdomi pagal šią technologiją, vadinami „monstrų“ kūrimu. Tų eksperimentų esmė: žmogaus ląstelės branduolys su genetinė medžiaga perkeliama į bebranduolę kiaušulės ar kito gyvūno kiaušialąstę. Kol kas tokie eksperimentai dar nesėkmingi, nes pasiekta tik 32 dienų amžiaus gemalo stadija, vėliau jie žūsta dėl persileidimo.

Prieš klonavimą pasisako daugelis pasaulio ir Lietuvos mokslo atstovų. Pavyzdžiui, Romos universiteto profesoriaus Ermelando Cosmi sako, kad žmogaus klonavimas yra sąmokslas prieš žmoniją (Juškevičius, 2007).

Klonavimo technologija – tai viena iš prieštaringiausių humanizmo požiūriu dirbtinio apvaisinimo technologijų. Kol kas šie metodai aktyviai tobulinami taikant gyvuliams. 1997 m. Didžiojoje Britanijoje I. Willmut paskelbė klonavęs avį, naudodamas gyvulio somatinės ląstelės genetinę medžiagą (DNR) ir perkeldamas ją į kiaušialąstę, iš kurios pirma buvo pašalinta genetinė medžiaga. Avis sukurta po 227-ių nesėkmingų bandymų. Ji enciklopedijoje įvardyta Dolly vardu (Biologija, 2003; Willmut et al., 1997).

2000 m. JAV Oregono medicinos universitete Gerald Shatten sėkmingai klonavo beždžionę Tetrą. Tetros identiškas dvynys žuvo neišnešiotas. 2001 m. klonuotas kitas gyvulys, naudojant naminės karvės kiaušialąstę ir laukinio buliaus prieš 10 metų užšaldytos odos ląstelių DNR. Gimęs jauniklis NOAH išgyveno 48 valandas. Žuvo dėl infekcijos⁴.

2005 m. gegužės 20 d. Pietų Korėjos mokslininkų grupė iš Seulo nacionalinio universiteto, vadovaujami Woo Suk Hwang, paskelbė, kad klonavo žmogaus embrioną. Tyrimuose panaudota 242 moterų kiaušialąstės (iš

⁴ Advanced Cell Technology. <http://www.advancedcell.com/press-release/advanced-cell>.

kurių buvo pašalinta genetinė medžiaga, DNR) ir į jas įdiegta odos ląstelių DNR, paimtų iš žmonių, sergančių skirtingomis ligomis. Taip buvo sukurta 11 naujų embrioninių kamieninių ląstelių linijų⁵.

2007 m. A. Narbekovas, taip pat J. Juškevičius savo apžvalginuose straipsniuose pateikė 120 pasaulio intelektualų argumentus prieš ir už dirbtinio moters apvaisinimo technologinių variantų taikymą teisiniu ir etiniu aspektais (Narbekovas ir kt., 2007; Juškevičius, 2007). Statistiniai duomenys parodė, kad dirbtinio apvaisinimo technologija lemia didesnę sunkių apsigimimų riziką; padažnėja tokie apsigimimai kaip Wiedman, Angelman sindromai, vėžinės ligos, įgimti vystymosi sutrikimai. Dirbtiniam moters apvaisinimui naudojant šaldytus embrionus išskyla etinių problemų, nes atšildymas pražudo iki 70,5% užsimezgosios gyvybės, todėl, pavyzdžiui, Italijoje embrionų užšaldymo atsisakyta. Be to, dėl dirbtinio apvaisinimo technologijos padidėja daugiavaisių nėštumų rizika; dažnesni būna priešlaikinio gimdymo atvejai; gimsta per mažo svorio naujagimiai, būna dažnesnės gimdymo komplikacijos, daugiau psichologinių gimdyvės nukrypimų. Gimstant, ypač trynukams, padidėja negyvagimių skaičius; dažnesnė persileidimo, placentos atitrūkimo, ektropinio (ne vietoje) nėštumo rizika (Gefenas, 2003). Šiais ir kitais klausimais rūpinasi bioetinė teisė (Juškevičius, 2007).

Etinės ir moralinės problemos. Tiek atskirų asmenų, tiek tautų požiūris į XXI a. mokslo iššūkius ląstelės biologijoje etiniu aspektu yra nevienodas. Kad būtų išvengta pasaulinio kataklizmo, etinius sprendimus ima koordinuoti bioetikos atstovai. Šio mokslo dėmesio objektas yra žmogaus teisių ir orumo apsauga sveikatos priežiūros srityje, biotechnologinių intervencijų į gyvuosius organizmus ribų nustatymas, ekologinė etika ir pan. (Juškevičius, 2007).

Bioetikos sąvoką suformulavo V. R. Poteris (JAV) XX a. 7-ajame dešimtmetyje. Jis atkreipė dėmesį į technologinės pažangos etinius prieštaravimus ir dėl to kylančią grėsmę žmonijos išlikimui, moralei. Dėl to 1969 m. JAV įkurtas pirmasis pasaulyje bioetikos institutas.

1995 m. įsteigtas Lietuvos bioetikos komitetas, vykdamas etinę biomedicininę tyrimų priežiūrą.

⁵ Advanced Cell Technology: Embryonic Stem Cell-Based Regenerative Medicine. <http://www.advancedcell.com/recent-news-item/>.

XXI a. bioetikų uždavinys yra moralinis šių prioritetinių problemų sprendimas:

- klonavimas (ypač žmogaus);
- žmogaus embrionai;
- kamieninės ląstelės;
- dirbtinis apvaisinimas;
- nėštumo nutraukimas;
- žmogaus audinių ir organų transplantacija iš gyvųjų ar mirusiųjų jų paskirstymo principai;
- organizmų genetinės informacijos modifikacijos;
- eutanazija;
- brangių vaistų – kvotų ir procedūrų – skirstymas;
- medikų – pacientų santykių etika;
- žmogaus mirties momento nustatymo ir panašios problemos.

Žmogaus embriono kamieninių ląstelių tyrimai vertinami nevienodai; nors nauji gydymo būdai yra perspektyvus dalykas, tačiau tai yra susiję su panaudotų žmogaus embrionų žūties problema.

Šiuo metu klonavimas griežtai reglamentuojamas teisinių dokumentų. 1997 m. tai uždrausta JAV, o 1998 m. – Europos Sąjungos šalyse (pagal ET bioetikos komiteto protokolą).

Prie Europos Sąjungos veikia Europos mokslo ir naujų technologijų etikos grupė. Ji rengia rekomendacijas įvairiais mokslo ir biotechnologijos taikymo etikos klausimais (žmogaus audinių banko, embriono kamieninių ląstelių tyrimams ir pan.).

XXI a. mokslo laimėjimai ir rezultatų taikymo praktiniame žmonijos gyvenime perspektyva iškelia keletą svarbių etinių ir moralinių klausimų, būtent:

- Ar etiška plėtoti embrionų audinių prekybą kaip superpelningą verslą, kai vienos injekcijos kaina 20 000 – 200 000 Lt?
- Ar etiška embrionus ir naujagimius naudoti donorystės tikslams?
- Ar etiška naudoti moterį, kaip kiaušialąsčių ar embrionų šaltinį ir t. t.

Šiuos ir panašius etinius klausimus atskiros valstybės reglamentuoja skirtingai. Pavyzdžiui, Didžioji Britanija leidžia atlikti tyrimus naudojant iki 14 dienų embriono raidos ląsteles, kadangi tokio amžiaus embrioninės ląstelės esą neturi individualybės ir traktuojamos tik kaip žmogaus ląstelių sandauga.

JAV iš valstybės fondų finansuojama tik tyrimai su jau egzistuojančiomis kamieninėmis embrionų ląstelėmis, o klonavimas yra draudžiamas. Vokietijoje tyrimai naudojant embrionų ląsteles uždrausti 1990 m. Australijoje ir Izraelyje tyrimai vyksta be apribojimų. Argentinoje ir Peru teisiškai pripažįstama, kad gyvybės pradžia yra gyvybės užsimezimas motinos iščiose. Čia iškyla asmens egzistencijos gynimo problemų (Juškevičius, 2007).

Lietuvos Respublikos Konstitucinis teismas suformulavo žmogaus orumo ir žmogaus gyvybės vienovės principą. Draudžiama klonuoti žmogų, pripažįstama, kad pradėtas, nors dar negimęs vaikas turi teisę į gyvybę.

Nuo 1998 m., kai J. Thompsonas išskyrė žmogaus kamienines ląsteles⁶, ir nuo 2001 m., kai buvo klonuotas žmogaus embrionas, panaudojus moters kiaušialąstę su pakeista branduolio DNR, pasiekus šešių ląstelių stadiją⁷, iki šiol yra sukaupta per 200 tipų žmogaus embrioninių ląstelių linijų.

Praktiniai žingsniai. Embrioninių kamieninių ląstelių išauginimo srityje pagrindinės JAV institucijos yra GEDEON JNC ir ADVANCES CELL TECHNOLOGY JNC. Jų pagrindinis dėmesys skiriamas šių ląstelių išauginimui ir panaudojimui įvairioms ligoms gydyti – nuo cukrinio diabeto iki Alzheimerio. Michael D. West sujungė abi šias institucijas ir sutelkė pajėgas į regeneracinės medicinos sritį. JAV ir kitos pasaulio kompanijos finansuoja tyrimus, susijusius su embrioninių kamieninių ląstelių panaudojimu kuriant diagnostines sistemas ir farmacines priemones⁸.

Kamieninių ląstelių išauginimo šaltiniai, nesusiję su pradėtos gyvybės žūtimi. Kad išvengtų etinių konfliktų, dauguma mokslininkų savo kūrybinę mintį kreipia į paiešką naujų kamieninių ląstelių šaltinių, nesusijusių su pradėtos gyvybės žūtimi. Šiuo metu tokie šaltiniai galėtų būti:

⁶ Adv. Cell Technol. Stem Cell Buiseness Ventures Span the Globe. <http://www.advancedcell.com/recent-news-item/>.

⁷ Adv. Cell Technol. Embryotic Stem Cell Based Regenative Medicine. <http://www.advancedcell.com/recent-news-item/>.

⁸ Adv. Cell technol. First Derrivation of Retinal Cells from Human Embryotic Stem Cells: Potential Use to Treat Blindness. <http://www.advancedcell.com/pressrelease>.

- vaikų pieniniai dantys. Tyrimai šiuo aspektu visame pasaulyje labai intensyvūs. Pirmoji, išskyrusi tokias kamienines ląsteles⁹, yra mokslininkė Songtao Shi, dirbanti JAV¹⁰;
- nusiurbti riebalai (Kiessling, 2004); iš pusės svaro (204,5 g) riebalinio audinio išauginama nuo 50 iki 100 milijonų nediferencijuotų, panašių į kamienines ląsteles;
- neapvaisintas kiaušinėlis; 2004 m. Ann A. Kiesling paskelbė, kad išauginta partenogeninė beždžionės kamieninių ląstelių linija. Panašūs darbai galimi ir su žmogaus kiaušinėliais: mergaitė gimsta turėdama apie vieną milijoną kiaušinėlių, kasmet apie 20 000 sunyksta kiaušidėse, kiti galėtų būti naudojami kamieninių ląstelių linijoms auginti.
- naujagimio virkštelės kraujas, kuriame gausu multipotentinių kamieninių ląstelių; Han Hoon (Pietų Korėja) – šio ląstelių terapijos pradininko, Medicininių tyrimų kompanijos HISTOSTEM vadovo pastangomis sukaupta 60 000 naujagimių virkštelės kraujo (~1,5 tonos, t. y. 12 % pasaulyje sukaupto tokio kraujo);
- sveiko žmogaus kaulų čiulpai.

1990 m. įkurti pirmieji žmogaus virkštelės kraujo bankai; šiuo metu jų pasaulyje esama per 150. 2006 m. Lietuvoje įsteigtas Baltijos šalių virkštelės kraujo kamieninių ląstelių bankas UAB „IMUNOLITA“ (www.imunolita.lt).

Nuo 1998 m. Lietuvos biochemijos institute pradėti suaugusio organizmo kamieninių ląstelių tyrimai.

Rezultatų apibendrinimas ir išvados. Apžvelgę, kad ir stambiais štrichais, ląstelės biologijos mokslo raidą, matome didžiulį žmonijos kartų veržlumą, siekiant atskleisti esmių esmę – biologinę gyvybės prigimtį ir jos perdavimą iš vienos kartos į kitą. Išstisus mokslininkų kartos šimtmečiais kruopščiais tyrimais stengėsi priartėti prie gyvūnijos ląstelių pažinimo. Kiekvienam amžiui būdingi saviti pasiekimai, kurie laipsniškai rengė prielaidas vis naujiems atradimams.

Svariausias šioje srityje atradimas įvyko XIX a. pirmojoje pusėje. Tada nustatyta, kad gyvybės vienetą yra ląstelė. Dramatiškais mokslo pasie-

⁹ SHED- stem cells from human exfoliated deciduous teeth.

¹⁰ NATIONAL Institute of Dental and Craniofacial Research in Bethesda.

kimais pasižymėjo XX–XXI a. sandūra. To laikotarpio ląstelės biologijos mokslo atradimai apsvaigino ir suglumino ne tik mokslininkus, bet ir plačiuosius visuomenės sluoksnius.

Šiuo metu yra žinoma, kad:

- visų žinduolių gyvybės vystymosi planas nuo zigotos iki gimimo yra analogiškas, skirtumai reiškiasi tik laiko trukmės atžvilgiu;
- žmogaus ir gyvūnų blastocistos ląstelės, vadinamos embriono kamieninėmis ląstelėmis, subrendimo požiūriu yra vienodos, nediferencijuotos, tačiau turi visų suaugusio organizmo specializuotų audinių ląstelių tipų „kodą“;
- suaugusiame žmogaus ir gyvūno organizme yra „likę“ mažai diferencijuotų, vadinamųjų suaugusio organizmo kamieninių ląstelių, kurių kilmė kol kas nėra iki galo atskleista;
- dauginantis kamieninėms ląstelėms dalis dukterinių ląstelių pasuka diferenciacijos linkme, o kita dalis lieka to paties išsivystymo lygio; kas šį reiškinį lemia, kol kas nėra visai aišku;
- dėl didelio kamieninių ląstelių proliferacinio aktyvumo ir diferenciacijos potencialo gydymo tikslais galima naudoti ne tik embriono, bet ir autologines, t. y. savo organizmo sveikas kamienines ląsteles;
- įmanoma diferencijuotų ląstelių dediferenciacija (kol kas tik *in vitro*), kuri gali turėti dramatiškų padarinių (sakysim, iš odos ląstelių galima išauginti lytines ląsteles ir jas panaudoti organizmo klonavimui).

Šis straipsnis nepretenduoja į išsamią ląstelės biologijos ar kamieninių ląstelių tyrimo istorijos apžvalgą. Jo tikslas parodyti, kaip žmonija siekė atskleisti savo egzistencijos esmę, ką suprato, kokius įvaldė biologinius įrankius ir kokios dėl to atsiranda grėsmės. Kaip tik dėl atsiradusių grėsmių ir būtina apie tai kalbėti, nes artėja laikas, kai džinas, kurį dažnai valdo „sportinis azartas“, konkurencija ir dideli pinigai, gali išsiveržti iš butelio ir pasireikšti neprognozuojamais padariniais. Tam ruoštis ir pasipriešinti privalo mokslinė visuomenė, įstatymų leidėjai, moralės institucijos.

PRIEDAI

1. PAGRINDINĖS SĄVOKOS

Zigota – ląstelė, susidaranti po apvaisinimo, susiliejus dviem lytinėms ląstelėms (gametoms), iš kurios vystosi naujas individas.

Totipotentinės ląstelės – apvaisinta lytinė ląstelė (zigota), išsivysčiusi iki 8 ląstelių (blastomeros). Jos gali diferencijuotis į visų 200 tipų audinių ir organų ląsteles.

Polipotentinės ląstelės – blastocistos stadijos embriono ląstelės (be embriono membranos). Kultūroje jos nediferencijuotos. Jos gali diferencijuotis į nervų, širdies ir kraujo ląsteles.

Multipotentinės ląstelės – tai vaisiaus stadijos kamieninės ląstelės – hematopotentinės ląstelės. Jos gali diferencijuotis į skeleto, širdies audinių, plaučių ir visų rūšių kraujo ląsteles.

Oligopotentinės ląstelės – kamieninės ląstelės, pasižyminčios nedidele potencine galimybe (pasirinkimu) diferencijuotis į skirtingų tipų ląsteles. Pavyzdžiui, mieloidinis pirmtakas gali diferencijuotis į kraujo ląsteles (monocitus, makrofagus, eozinofilus, neutrofilus, eritrocitus).

Gemalas (embrionas) – organizmų naujo individo užuomazga.

Vaisius – žmogaus gemalas (embrionas) – nuo placentos susidarymo (trečias nėštumo mėnuo) iki gimimo.

Proliferacija – ląstelių dalijimasis, taip pat nenormalus audinių vešėjimas dėl ląstelių dalijimosi.

Diferenciacija – procesas, kurio metu nespecializuota ląstelė tampa specializuota, t. y. viena iš 220 tipų kūną sudarančių audinių diferencijuotų ląstelių. Diferenciacijos metu vieni genai aktyvuojami, o kiti tampa neaktyvūs. Dėl to formuojasi specializuotos struktūros, audiniai atlikti tam tikrai funkcijai.

Plastiškumas – suaugusio individo specializuoto audinio kamieninių ląstelių galimybė specializuotis į kito audinio ląsteles.

Apoptozė – ląstelių žūtis, natūraliai išstipstant jos turinius.

Metaplazija – transplantuotų (perkeltų) ląstelių pasikeitimas į audinio – šeimininko ląstelių tipą procesas.

Plastiškumas – ląstelių metaplazija.

Transdiferenciacija – ląstelių metaplazija.

Dediferenciacija – specializuotos ląstelės virtimas ląstele pirmtake ir

net jos konversija į kamienines ląsteles. Procesas vyksta pakitus išorinei ląstelės aplinkai.

Transdiferenciacija – specializuotos ląstelės persitvarkymas į kitos paskirties specializuotą ląstelę (neaišku, ar šis procesas vyksta per dediferenciaciją).

Determinuota ląstelė (pirmtakės atveju) – tas pats kaip specifikuota.

Kariotipas – organizmo somatinių (kūno) ląstelių chromosomų visuma (jų skaičius, dydis, forma).

2. ŽMOGAUS GEMALO VYSTYMOŠI DINAMIKA

21 – 56 parų jautrus.

28 – 42 parų ypač jautrus.

18 parų – formuojasi nervų sistema.

25 – 35 parų – rankų, kojų, stuburo, akiduobių užuomazgos.

25 – 38 išryškėja rankų ir kojų išsivystymo laipsnis.

36 – 180 parų lyties organų formavimasis.

90 parų – susiformavusios galūnės, ausys, akys.

Nuo III mėnesio (28 d.) – pradeda formotis vaisiaus organai ir jų sistemos. Vaisius įgauna žmogaus bruožų, aiškiai matyti galva, liemu, akys, nosis, burna, aiškios galūnių užuomazgos.

IV mėnuo (58 parą) – galima matyti (nustatyti) lytį.

V mėnuo (88 parą) – girdimi vaisiaus širdies tonai. Motina pradeda jausti vaisiaus judesius.

VI mėnuo (pabaigoje) – jau išsivystę vaisiaus organai. Jis gali gimti gyvas, kvėpuoti, bet gimęs greitai miršta.

VII mėnuo (pabaigoje) – gimęs kvėpuoja, silpnai rėkia, judina galūnes, gali išgyventi tik labai rūpestingai slaugomas.

VIII mėnuo pabaigoje – gimęs ir gerai prižiūrimas vaisius gali gyventi.

IX mėnuo pabaigoje – gimęs vaisius garsiai rėkia, atsimerkia, turi čiulpimo refleksą.

X mėnuo pabaigoje – vaisius yra visai subrendęs ir gimdymo metu išstumiamas iš gimdos.

Bendra trukmė 280 dienos (40 savaitių arba 10 akušerinių mėnesių po 28 dienas).

I nėštumo savaitė – gemalas skyla ir implantuojasi gimdos gleivinėje.

II mėnesį – jau matomos akių, nosies, ausų ir burnos užuomazgos.

3. STUBURINIŲ IR ŽINDUOLIŲ VYSTYMOŠI PLANAS

Visų stuburinių ir žinduolių vystymosi planas (nuo zigotos iki gimimo) yra analogiškas. Skirtumai reiškiasi laiko trukmės atžvilgiu.

Vystymesi skiriami du pagrindiniai periodai:

- embrioninis (prenatalinis, gemalo);
- postembrioninis (postnatalinis, fetalinis).

Embrioniniu periodu vyksta ląstelių dauginimasis (dalijimosi būdu) ir jų judėjimas.

Postembrioniniu periodu organizmas auga, bręsta lytiškai, diferencijuojasi jo audiniai ir organai.

Zigota, vienaląstė apvaisinta ląstelė, praeina segmentacijos stadiją. Ląstelė pradeda dalytis, susidaro 2, 4, 6, 8 ir t. t. dalys, susidaro vienasluoksniškas daugialąstis gemalas (blastulė). Toliau vystydamosi ląstelės migruoja. Gemalas tampa dviejų ar trijų sluoksnių. Susidaro gemalo lapeliai (ektoderma, entoderma ir mezoderma). Tai gastruliacijos stadija. Šios stadijos gemalo ląstelės nevienodos, todėl gastruliacija yra kartu ir pirminė morfologinė gemalo diferenciacija.

Pasibaigus gastruliacijai gemalas pereina į histogenezės ir organogenezės stadijas. Vyksta gemalo pagrindinių organų užuomazgų susidarymas. Gemalo lapeliuose pradeda ryškėti pagrindinių organų užuomazgos, išsivysto atskiri organai.

Pradžioje užuomazgas sudarančios ląstelės yra nespecializuotos, vėliau jos diferencijuojasi, vystosi audiniai (histogenezės stadija) ir organai (organogenezės stadija).

Žmogaus gemalas (embrionas) nuo placentos susidarymo (III nėštumo mėnuo) iki gimimo vadinamas vaisiumi.

LITERATŪRA

Adewumi O., Aflatoonian B. ir kt. (iš viso per 60 autorių) (2007), „Characterization of human embryonic stem cell lines by the International Stem Cell Initiative“, *Nat. Biotechnol.*, 25 (7), p. 803–816.

Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K., Watson J. D. (1983), *Molecular Biology of the Cell*, New York, London: Garland Publishing.

Annes J. P., Munger J. S., Rifkin D. B. (2003), „Making Sense of Latent TGFβ Activation“, *J. Cell Sci.* 116, p. 217–224.

- „Aristotelis (Aristoteles)“, *LTE*, t. 1 (1976), Vilnius, p. 342.
- Artavanis-Tsakonas S., Rand M. D., Lake R. J. (1999), „Notch Signaling: Cell Fate Control and Signal Integration in Development“, *Science*, 284, p. 770–776.
- Bedford J. M., Cooper G. W. (1978), „Membrane Fusion Events in the Fertilization of Vertebrate Eggs“, in: *Membrane Fusion. Cell Surface Reviews*, vol. 5 (G. Poste, G. L. Nicolson, eds.), Amsterdam: Elsevier, p. 65–127.
- „Biologija“, *LTE*, t. 2 (1977), Vilnius, p. 154.
- Byrne J. A., Pedersen D. A., Clepper L. L., Nelson M., Sanger W. G., Gokhale S., Wolf D. P., Mitalipov S. M. (2007), „Producing Primate Embryonic Stem Cells by Somatic Cell Nuclear Transfer“, *Nature*, 450, p. 497–502.
- Bleil J. D., Wassarman P.M. (1980), „Mammalian Sperm-egg Interaction: Identification of a Glycoprotein in Mouse Egg Zona Polucidae Possessing Receptor Activity for Sperm“, *Cell*, 29, p. 873–882.
- „Braunas (Braun) Aleksandras“, *LTE*, t. 2 (1977), Vilnius, p. 252.
- Bruce A., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K., Watson J. D. (1983), *Molecular Biology of the Cell*, New York, London: Garland Publishing, Inc.
- Bujak M., Frangogiannis N. G. (2007), „The Role of TGF β Signaling in Myocardial Infarction and Cardiac Remodeling“, *Cardiovasc. Res.*, 74 (2), p. 184–195.
- Calarco P., Epstein C. J. (1973), *Develop. Biol.*, 32, p. 208–213.
- Carpenter A. T. C. (1979), „Recombination Nodules and Synaptonemal Complex“, in: *Recombination – Defective Females of Drosophyla Melanogaster*, *Chromosoma*, 75, p. 259–292.
- Chang M. L. (1959), „Fertilization of Rabbit Ova in vitro“, *Nature*, 184, p. 406.
- Chen H. L., Panchision D. M. (2007), „Concise review: Bone morphogenetic protein pleiotropism in neural stem cells and their derivatives-alternative pathways, convergent signals“, *Stem Cells*, 25 (1), p. 63–68.
- Choi J., Southworth L. K., Sarin K. Y., Venteicher A. S., Ma W., Chang W., Cheung P., Jun S., Artandi M. K., Shah N., Kim S. K., Artandi S. E. (2008), „TERT promotes epithelial proliferation through transcriptional control of a mycand Wnt-related developmental program“, *PLoS Genet.*, 4 (1), p. e10.
- Chung Y., Klimanskaya I., Becker S., Li T., Maserati M., Lu S. J., Zdravkovic T., Illic D., Genbacev O., Fisher S., Krotolica A., Lanza R. (2008), „Human embryonic stem cell line generated without embryo destruction“, *Cell Stem Cell*; doi: 10.1016/j.stem.2007.12.13.
- Clermont I. (1972), „Kinetics of Spermatogenesis in Mammals: Seminiferous Epithelium Cycle and Spermatogonial Renewal“, *Physiol. Rev.*, 52, p. 198–236.
- Daheron L., Opitz S. L., Zaehres H., Lensch W. M., Andrews P. W., Itskovitz-Elder J., Daley G. Q. (2004), „LIF/STAT3 signaling fails to maintain self-renewal of human embryonic stem cells“, *Stem Cells*, 22(5), p. 770–778.

- Danet G. H., Luongo J. L., Butler G., Lu M. M., Tenner A. J., Simon M. C., Bonnet D. A. (2002), „CLqRp Defines a New Human Stem Cell Population with Hematopoietic and Hepatic Potential“, *Proc Natl Acad Sci USA*, 99(16), p. 10441–10445.
- Dann C. E., Hsieh J. C., Rattner A., Sharma D., Nathans J., Leahy D. J. (2001), „Insights into Wnt binding and signaling from the structures of two Frizzled cysteine-rich domains“, *Nature*, 412, p. 86–90.
- Denner L., Bodenburg Y., Zhao J. G., Howe M., Cappo J., Tilton R. G., Copland J. A., Forra N., McGucki C., Urban R. (2007), „Directed engineering of umbilical cord blood stem cells to produce C-peptide and insulin“, *Cell Proliferation*, 40 (3), p. 367–380.
- de Duve Ch. (1984), *A Guided Tour of the Living Cell*, V.1, New York: Scientific American Library, Inc.
- Epel D. (1980), *Fertilization, Endeavour* (New Series), 4, p. 26–31.
- Epel D., Vacapier V. D. (1978), „Membrane Fusion Events During Invertebrate Fertilization“, in: *Membrane Fusion. Cell Surface Reviews*, vol. 5 (G.Poste, G. L. Nicolson, eds.), Amsterdam: Elsevier, p. 1–63.
- Evans M. J., Kaufman M. H. (1981), „Establishment in Culture of Pluripotential Cells from Mouse Embryos“, *Nature*, Jul. 9, 292, (5819), p. 154–156.
- Evans M. J. (1981), „Origin of mouse embryonal carcinoma cells and the possibility of their direct isolation into tissue culture“, *J. Reprod. Fert.*, 62, p. 625–631.
- Fawcett D. W. (1975), „The Mammalian Spermatozoon“, *Dev. Biol.*, 44, p. 394–436.
- French A. J., Adams C. A., Anderson L. S., Kitchen J. R., Hughes M. R., Wood S. H. (2008), „Development of human cloned blastocysts following somatic cell nuclear transfer (SCNT) with adult fibroblasts“, *Stem Cells Express*, (published online January 17, 2008); doi:10.1634/stemcells.2007–0252.
- Fuchs E., Tumber T., Guasch G. (2004), „Socializing with the Neighbors: Stem Cells and Their Niche“, *Cell*, 116(6), p. 769–778.
- „Galenas (Galenus) Klaudijus“, *LTE*, t. 3 (1978), Vilnius, p. 585.
- Grant P. (1978), *Biology of Developing Systems*, New York: Holt, Rinehart and Winston, p. 265–282.
- Griffin H., I. Wilmut I. (1997), „Seven days that shook the world“, *New Sci.*, 153 (2074), p. 49.
- Grobstein C. (1979), „External Human Fertilization“, *Sci. Am.*, 240 (6), p. 57–67.
- Guo W., Flanagan J., Jasuja R., Kirkland J. L., Jiang L., Bhasin S. (2008), „The effects of myostatin on adipogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells are mediated through cross-communication between Smad3 and WNT/beta-catenin signaling pathways“, *J. Biol. Chem.* (Epub ahead of print).
- Gurdon J. B. (1973), *Gene Expression During Cell Differentiation*, Oxford, Eng.: Oxford University Press.
- Gurdon J. B. (1968), „Transplanted Nuclei and Cell Differentiation“, *Sci. Amer.*, 219 (6), p. 24–35.

Gwatkin R. B. L. (1977), „Fertilization“, in: *The Cell Surface in Animal Embriogenesis and Development, Cell Surface Reviews*, vol. 1 (G. Poste, G. L. Nicolson, eds.), Amsterdam: Elsevier, p. 1–54.

Hart N. H., Hopper A. F. (1979), *Foundations of Animal Development*, Oxford, Eng.: Oxford University Press, p. 37–58.

„Harvejus (Harvey) Viljamas“, *LTE*, t. 4 (1978), Vilnius, p. 294.

„Hukas (Hooke) Robertas“, *LTE*, t. 4 (1978), Vilnius, p. 383.

Yanagimachi R. (1978), „Sperm-egg Association in Mammals“, in: *Current Topics in Developmental Biology*, vol. 12 (A. A. Moscona, A. Monroy, eds.), New York: Academic Press, p. 83–106.

Illmensee K., Stevens L. C. (1979), „Teratomas and Chimeras“, *Sci. Am.*, 240 (4), p. 120–132.

Yu J., Vodyanik M. A., Smuga-Otto K., Antosiewicz-Bourget J., Frane J. L., Tian S., Nie J., Jonsdottir G. A., Ruotti V., Stewart R., Slukvin I. I., Thomson J. A. (2007), „Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells“, *Science*, 318 (5858), p. 1917–1920.

Jackson K. A., Majka S. M., Wulf G. G., Goodell M. A. (2002), „Stem Cells: A minireview“, *J. Cell Biochem., Suppl.* 85 (38), p. 1–6.

John B., Lewis K. R. (1976), *The Meiotic Mechanism*, Oxford Biology Readers (J. J. Heard, ed.), Oxford, Eng.: Oxford University Press.

Johnson J. D., Epel D., Paul M. (1976), „Intracellular pH and Activation of Sea Urchin Eggs after Fertilization“, *Nature*, 262, p. 661–664.

„Karelis (Carrel) Aleksis“, *LTE*, t. 5 (1979), Vilnius, p. 306.

Karfunkel P. (1974), „The Mechanisms of Neural Tube Formation“, *Int. Rev. Cytol.*, 38, p. 245–271.

Karp G., Berril N. J. (1981), *Development*, 2nd ed., New York: McGraw-Hill, p. 100–116.

Kitchin I. C. (1949), „The Effects of Notochordectomy in *Amblystoma Mexicanum*“, *J. Exp. Zool.*, 112, p. 393–411.

Klapholz-Brown Z., Walmsley G. G., Nusse Y. M., Nusse R., Brown P. O. „Transcriptional program induced by wnt protein in human fibroblasts suggests mechanisms for cell cooperativity in defining tissue microenvironments“, *PLoS ONE*, 2007 Sep 26; 2 (9), p. e945.

„Klodos (Claude) Alberas“, *LTE*, t. 5 (1979), Vilnius, p. 575.

Lai E. C. (2004), „Notch signaling: control of cell communication and cell fate“, *Development*, 131 (5), p. 965–973.

„Lavuazje (Lavoisier) Antuanas Loranas“, *LTE*, t. 6 (1980), Vilnius, p. 394.

„Levenhukas (van Leeuwenhock) Antonijus“, *LTE*, t. 6 (1980), Vilnius, p. 484.

- Lewin B. (1980), *Gene Expression*, vol. 2, Eucaryotic Chromosomes, 2nd. ed., New York: Wiley, p. 102–141.
- Lewis J., Wolpert L. (1979), „Diploidy Evolution and Sex“, *J. Theor. Biol.*, 78, p. 425–438.
- Lopata A. (1980), „Successes and Failures in Human in vitro Fertilization“, *Nature*, 288, p. 642–643.
- Martin G. R. (1980), „Teratocarcinomas and Mammalian Embryogenesis“, *Science*, 209, p. 768–776.
- Martin G. R. (1981), „Isolation of a Pluripotent Cell Line from Early Mouse Embryos Cultured in Medium Conditioned by Teratocarcinoma Stem Cells“, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Dec., 78 (12), p. 7634–7638.
- Masni I., Klarke H. J. (1979), „Oocyte Maturation“, *Int. Rev. Cytol.*, 57, p. 185–282.
- McCulloh E. A., Till J. E. (2005), „Perspectives on the properties of stem cells“, *Nature Medicine*, 11(10), p. v-vii.
- McLaren A. (1976), *Mammalian Chimeras*, Cambridge, Eng.: Cambridge University Press.
- Metz C. B., (1978), „Sperm and Egg Receptors Involved in Fertilization“, *Curr. Top. Dev. Biol.*, 12, 107–147.
- Mintz B., Ilmensee K. (1975), „Normal Genetically Mosaic Mice Produced from Malignant Teratocarcinoma Cells“, *Pro. Natl. Acad. Sci. USA*, 72, p. 3585, 3589.
- Mitalipov S. M., Zhou Q., Byrne J. A., Ji W. Z., Norgren R. B., D. P. (2007), „Reprogramming following somatic cell nuclear transfer in primates is dependent upon nuclear remodeling“, *Hum Reprod.*, 22(8), p. 2232–2242.
- Monesi V., Geremia R., D’Agostino A., Boitani C. (1978), „Biochemistry of Male Germ Cell Differentiation in Mammals: RNA Synthesis in Meiotic and Postmeiotic Cells“, in: *Current Topics in Developmental Biology*, vol. 12, (A. A.Mascona, A.Monroy, eds.), New York: Academic Press, p. 11–36.
- „Morganas (Morgan) Tomas Hantas“, *LTE*, t. 8 (1981), Vilnius, p. 7.
- Moses M. J. (1968), „Synaptonemal Complex“, *Annu. Rev. Genet.*, 2, p. 363–412.
- Munir S., Xu G., Wu Y., Yang B., Lala P. K., Peng C. (2004), „Nodal and ALK7 Inhibit Proliferation and Induce Apoptosis in Human Trophoblast Cells“, *J. Biol. Chem.*, 279 (30), p. 31277–31286.
- Nusse R. (2005), „Wnt signaling in disease and in development“, *Cell Research.*, 15(1), p. 28–32.
- Papaioannou V. E., Gardner R. L., McBurney M. V., Babinet C., Evans M. J. (1978), „Partipation of Cultured Teratocarcinoma Cells in Mouse Embriogenesis“, *J. Embriol. Exp. Morphol.*, 44, p. 93–104.
- Paratore Ch., Sommer L. (2006), „Stem Cells“, in: *Cell Signaling and Growth Factors in Development*, ed. by K. Unsicker and K. Krieglstein, Weinheim: WILEY-VCN Verlag GmbH & Co. KgaA.

- Pearson M., Elsdale T. (1979), „Somitogenesis in Amphibian Embryos. Experimental Evidence for an Interaction Between Two Temporal Factors in the Specification of Somite Pattern“, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 51, p. 27–50.
- Peters H., McNatty K. P. (1980), *The Ovary: A Correlation of Structure and Function in Mammals*, Berkeley, CA: University of California Press, p. 98–106.
- „Plinijus Gajus Sekundas Vyresnysis (Caius Plinius Secundus Maior)“, *LTE*, t. 9 (1982), Vilnius, p. 58.
- Prindull G., Prindull B., Meulen N. (1978), „Haematopoietic stem cells (CFUc) in human cord blood“, *Acta Paediatr. Scand.*, 67(4), p. 413–414.
- „Prystlis (Priestley) Džosefas“, *LTE*, t. 9 (1982), Vilnius, p. 210.
- Richards J. S. (1979), „Hormonal Control of Ovarian Follicular Development“, *Recent Prog. Horm. Res.*, 35, 343–373.
- Ridgway E. B., Gilkey J. C., Jaffe L. F. (1977), „Free Calcium Increases Explosively“, in: *Activating Medaka Eggs, Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 74, p. 623–627.
- Shapiro B. M., Eddy E. M. (1980), „When Sperm Meets Egg: Biochemical Mechanism of Gamete Interaction“, *Int. Rev. Cytol.*, 66, p. 257–302.
- Shapiro B. M., Schachmann, R. W. Gabel C. A. (1981), „Molecular Approaches to the Study of Fertilization“, *Annu. Rev. Biochem.*, 50, p. 815–849.
- Siminovitch L., McCulloch E. A., Till J. E. (1963), „The distribution of colony forming cells among spleen colonies“, *J. Cell Comp. Physiol.*, 62, p. 327–336.
- Snyder M., Huang X. Y., Zhang J. J. (2007), „Identification of novel direct STAT3 target genes for control of growth and differentiation“, *J. Biol. Chem.*, [Epub ahead of print].
- Solari A. J. (1974), „The Behavior of the XY Pair in Mammals“, *Int. Rev. Cytol.*, 38, p. 273–317.
- Spemann H. (1936), *Embryonic Development and Induction*, New Haven: Yale University Press. (Reprinted, New York: Hafner, 1962).
- Spemann H. (1948), Über die Determination der Ersten Organanlagen des Amphibienembryo, I–IV, *Arch. Entw. Mech. Org.*, 43, p. 448–555.
- „Šleidenas (Schleiden) Matijas Jakobas“, *LTE*, t. 10 (1983), Vilnius, p. 610.
- „Švanas (Schwann) Teodoras“, *LTE*, t. 11 (1983), Vilnius, p. 18.
- Takahashi K., Yamanaka S. (2006), „Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors“, *Cell*, 126, p. 663–676.
- Tarkovski A. K. (1959), „Experiments on the Development of Isolated Blastomeres of Mouse Eggs“, *Nature*, 184, p. 1286–1287.
- Tarkovski A. K. (1975), „Induced Parthenogenesis in the Mouse“, in: *Developmental Biology of Reproduction*. (Market C. L., Papaconstantinou J., eds.), Society for Developmental Biology Symposium, No. 33, New York: Academic Press, p. 107–129.

- Thomson J. A., Kalishman J., Golos T. G., Durning M., Harris C. P., Becker R. A., Hearn J. P. (1995), „Isolation of a Primate Embryonic Stem Cell Line“, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92(17), p. 7844–7848.
- Thomson J. A., Itskovitz-Elder J., Shapiro S. S., Waknitz M. A., Swiegiegl J. J., Marshall V. D., Jones J. M. (1998), „Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts“, *Science*, 282, p. 1145–1147.
- Till J. E., McCulloh E. A. (1961), „A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells“, *Radiat Res*, 14, p. 213–222.
- Tolwinski N. S., Wehrli M., Rives A. (2003), „Wg/Wnt signal can be transmitted through Arrow/LRP 5,6 and Axin independently of Zw3/Gsk3beta activity“, *Dev. Cell*, 4, p. 407–418.
- Ura H., Usuda M., Kinoshita K., Sun C., Mori K., Akagi T., Matsuda T., Koide H., Yokota T. (2008), „STAT3 and Oct-3/4 Control Histone Modification Through Induction of Eed in Embryonic Stem Cells“, *J. Biol. Chem.* [Epub ahead of print].
- Varga A. C., Wrana J. L. (2005), „The disparate role of BMP in stem cell biology“, *Oncogene*, 24 (37), p. 5713–5721.
- „Vezalijus (Vesalius) Andrejas“, *LTE*, t. 12 (1984), Vilnius, p. 197.
- Villee C. A. (1967), *Biology*, Harvard University V Ed. Philadelphia and London: W. B. Saunders Company.
- Villee C. A., Dethier V. G. (1971), *Biological Principles and Processes*, Philadelphia – London – Toronto: W. B. Saunders Company.
- „Virchovas (Virchow) Rūdolfas“, *LTE*, t. 12 (1984), Vilnius, p. 289.
- Weiss P. A. (1939), *Principles of Development*, New York: Holt, p. 289–437.
- Whitehouse H. L. (1973), *Towards an Understanding of the Mechanism of Heredity*. 3rd ed., London: St. Martins.
- Willert K., Brown J. D., Danenberg E., Duncan A. W., Weissman I. L., Reya T., Yates J. R. 3rd, Nusse R. (2003), „Wnt proteins are lipid-modified and can act as stem cell growth factors“, *Nature*, 423 (6938), p. 448–452.
- Williams G. C. (1975), *Sex and Evolution*, Princeton, NJ: Princeton University Press.
- Wolfe S. L. (1981), *Biology of the Cell*, 2nd ed., Belmont, CA: Wadsworth, p. 432–470.
- Woodruff R. J., Telfer W. H. (1980), „Electrophoresis of Proteins in Intercellular Bridges“, *Nature*, 286, p. 84–86.
- Wordinger R. J., Agarwal R., Talati M., Fuller J., Lambert W., Clark A. F. (2002), „Expression of bone morphogenetic proteins (BMP), BMP receptors, and BMP associated proteins in human trabecular meshwork and optic nerve head cells and tissues“, *Molecular Vision*, 8, p. 241–250.
- Wulf G. G., Jackson K. A., Goodell M. A. (2001), „Somatic stem cell plasticity: Current evidence and emerging concepts“, *Exp. Hematol.*, 29 (12), p. 1361–1370.
- Zhang J., Li L. (2005), „BMP signaling and stem cell regulation“, *Dev. Biol.*, 284 (1), p. 1–11.

THE FIRST STEPS OF RESEARCH
FROM AN ORGANISM TOWARD A CELL

Sofija Kanopkaitė, Virginija Bukelskienė, Julija Razumienė

Summary

This article reviews the historical aspects of human and animal living cell studies. Special attention is paid to the research of germ cells or gametes as life carriers and as links between generations. The aim of the article is to discuss the principles of fertilization and to show generalities and differences in this field. The analysis of such data will have to deal with the phenomenon of stem cells. The article also discusses some ethical problems which have arisen due to this phenomenon.