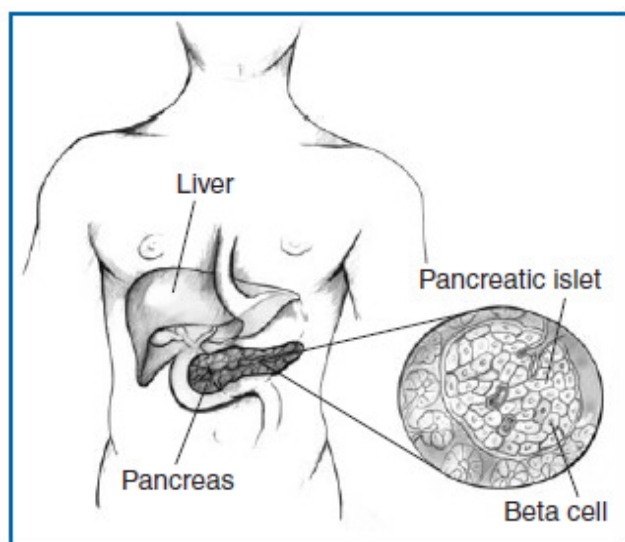


## MATIČNE CELICE ZA ZDRAVLJENJE SLADKORNE BOLEZNI

### UVOD

Sladkorna bolezen (SB) predstavlja velik javnozdravstveni problem. Obolelih je že preko 200 milijonov ljudi, do leta 2030 pa naj bi se število bolnikov s SB skoraj podvojilo. Okrog 10 % teh bolnikov ima SB tipa 1 (1). Pri SB tipa 1 pride do avtoimunskega odziva proti lastnim beta celicam pankreasa (Slika 1), kar povzroči njihovo postopno uničenje. Ob nastopu SB je uničenih 70-80 % beta celic pankreasa. Vzporedno se razvija potreba po nadomestnem zdravljenju z inzulinom, ki je za bolnike s SB tipa 1 vitalnega pomena. Pri SB tipa 2 pa je sprva v ospredju neodzivnost perifernih tkiv za inzulin. Posledica je povečano izločanje inzulina, zaradi katerega pride do »kvarjenja« oz. odmiranja beta celic pankreasa, pri čemer se masa beta celic pankreasa zniža na okoli 50 %. S tem pa tudi pri bolnikih s SB tipa 2 sčasoma postane potrebno nadomestno zdravljenje z inzulinom. Vendar pa povečano tveganje za dolgoročne posledice na različnih tkivih in organih ter za hipoglikemijo o(b)staja tudi pri najbolj striktno, z eksogenim inzulinom, zdravljenih bolnikih s SB.



Slika 1. V pankreatičnih otočkih so beta celice, ki proizvajajo inzulin.

Med celičnimi zdravljenji SB je sprva obetala predvsem presaditev pankreatičnih otočkov. V zadnjem desetletju pa je vse več pozornosti usmerjene v celično zdravljenje SB s pomočjo matičnih celic (MC).

Presaditev pankreatičnih otočkov je v klinični praksi že dobro preizkušeno celično zdravljenje SB. Izvedenih je bilo že na tisoče presaditev celic pankreatičnih otočkov, pridobljenih od umrlih dajalcev. Na ta način jim je uspelo zagotoviti neodvisnost od inzulinskega zdravljenja ter dobro glikemično kontrolo, pri nekaterih bolnikih celo dlje od 2 let (2). Žal pa bistveno primankuje primernih dajalcev pankreasov, sploh glede na naraščajoče potrebe. Poleg tega je za preprečitev zavrnitve presadka potrebna kronična imunosupresivna terapija, ki predstavlja veliko breme za bolnika. Oboje onemogoča izrazitejšo klinično uporabnost presaditve pankreatičnih otočkov umrlih dajalcev za zdravljenje SB.

Bolj kot presajanje pankreatičnih otočkov pa obeta druga vrsta celičnega zdravljenja SB – zdravljenje z MC. Zadnja štiri leta, od prejšnjega prispevka na to temo v reviji *Sladkorčki* (3), so prinesla izjemen napredek na tem področju (izpostaviti velja predvsem odkritje nove skupine MC – inducirane pluripotentne celice). Po drugi strani pa je postalo jasno tudi, da smo še precej let stran od varnega, dolgotrajno učinkovitega, in predvsem klinično široko uporabnega zdravljenja sladkorne bolezni s pomočjo MC. Nezanemarljivi so tudi etični pomisleki glede uporabe MC, vendar so ti skoraj v celoti vezani na uporabo le ene od skupin MC – zarodkovnih MC. Vendar pa za razliko eksogenega inzulina, ki po besedah njegovega odkritelja nobelovca Bantinga omogoča »le« zdravljenje SB (angl. *»Insulin is not a cure for diabetes; it is a treatment«*) (4). Dokončno ozdravljenje SB pa morda prinese šele celično zdravljenje oz. MC.

## **ZDRAVLJENJE Z MATIČNIMI CELICAMI**

### **Lastnosti in vrste matičnih celic**

MC so nezrele, še neprogramirane celice, ki imajo zmožnost, da se razvijejo v katerokoli vrsto telesnih celic. Poleg tega so zmožne tudi samoobnove, kar pomeni, da se lahko delijo in tvorijo nove MC. Vsako telesno tkivo sestavljajo že diferencirane, za določeno nalogo specializirane celice, ki so se iz matičnih celic razvile v zgodnjih fazah zarodka. MC pa so v telesu prisotne tudi kasneje, ko služijo predvsem za nadomeščanje poškodovanih ali iztrošenih celic različnih tkiv, npr. kože, las, krvi, epitelijev. Žal pa imajo nekatera tkiva, kot npr. živčevje, zelo omejeno sposobnost regeneracije, kar lahko ob njihovi poškodbi ali postopni degeneraciji, vodi v razvoj bolezni.

MC lahko razdelimo v tri skupine: **zarodne MC** (angl. *Embryonic Stem Cells, ESCs*) obstajajo le v najzgodnejših fazah razvoja; **tkivno-specifične oz. »odrasle« MC** (angl. *Tissue-specific Stem Cells*), se nahajajo v različnih tkivih in organih; leta 2007 pa so uspeli ustvariti celice z lastnostimi podobnimi tistim pri embrionalnih MC, ki pa so izvirale iz specializiranih oz. že diferenciranih celic (npr. kožne celice) – poimenovali so jih **inducirano pluripotentne celice** (angl. *Induced Pluripotent State Cells, iPSCs*). (Za podrobnosti o MC glej Tabelo 1).

**Tabela 1. Vrste in značilnosti matičnih celic**

<p><b>Zarodne matične celice (angl. <i>Embryonic Stem Cells</i>)</b></p>	<ul style="list-style-type: none"><li>• iz notranjih plasti zarodnih celic predimplantacijskih zarodkov (cca. 5 dni po oploditvi); večinoma izvirajo iz »odvečnih« zarodkov po postopku IVF;</li><li>• pluripotentne (lahko se razvijejo v vsako telesno tkivo); neomejena zmožnost proliferacije;</li><li>• imunogene (so heterologne oz. bolniku ne-lastne, potrebna je imunosupresivna terapija);</li><li>• tumorogene (tvorijo teratome);</li><li>• problemi v zvezi z zdravljenjem: varnost, etični pomisleki, cena, aplikacija na pravo mesto.</li></ul>
<p><b>Tkivno-specifične matične celice (angl. <i>Tissue-specific Stem Cells</i>)</b></p>	<ul style="list-style-type: none"><li>• nahajajo se v različnih telesnih tkivih (popkovnična kri, kostni mozeg, mezenhim, endotelij, idr.); ostajajo ne/delno dediferencirane;</li><li>• multipotentne (lahko se razvijejo le v določena tkiva); omejena zmožnost proliferacije;</li><li>• načeloma niso imunogene (če so avtologne oz. bolniku lastne);</li><li>• niso tumorogene;</li><li>• problemi v zvezi z zdravljenjem: pridobivanje zadostne količine, učinkovitost, cena;</li></ul>
<p><b>Inducirane pluripotentne celice (angl. <i>Induced Pluripotent State Cells</i>)</b></p>	<ul style="list-style-type: none"><li>• iz somatskih celic odraslih (npr. kožne celice) po njihovem reprogramiranju (z vstavitvijo 3-4 dodatnih genov), in posledično dediferenciacijo;</li><li>• pluripotentne (lahko se razvijejo v vsako telesno tkivo); neomejena zmožnost proliferacije;</li><li>• načeloma niso imunogene (so avtologne oz. bolniku lastne);</li><li>• tumorogene;</li><li>• problemi v zvezi z zdravljenjem: varnost, cena, aplikacija na pravo mesto</li><li>• dolgoročno najbolj obetavna skupina matičnih celic</li></ul>

## **Novejše raziskave na področju zdravljenja sladkorne bolezni s pomočjo matičnih celic**

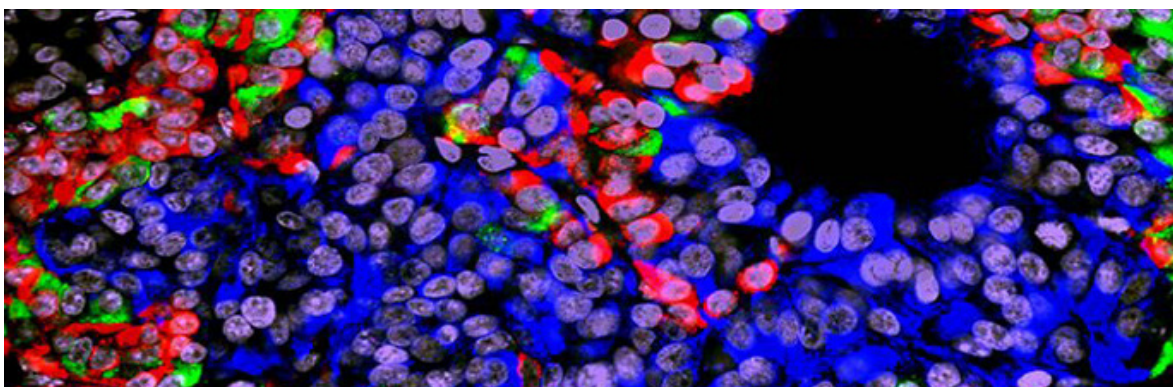
Možnosti zdravljenja SB z MC temeljijo na spoznanjih, da je z ustreznimi razvojnimi spodbudami (primerno okolje in rastni faktorji) ob pravem času razvoja, mogoče razvoj MC usmeriti v točno določeno celično (pod)vrsto, v tem primeru v beta celice pankreasa (5). Slednje bi bilo nato mogoče vsaditi v telo bolnika. Druga možnost je usmerjena aplikacija MC na mesto okvarjenega organa, s čemer so pri nekaterih drugih boleznih (npr. srčno popuščanje) z aplikacijo tkivno-specifičnih MC že dosegli pozitivne klinične rezultate.

Pri vseh dosedanjih raziskavah na ljudeh je šlo za proučevanje možnosti zdravljenja SB s pomočjo tkivno-specifičnih MC (uporabljene so bile hematopoetske, endoteljske in mezenhimske). Raziskave zarodkovnih MC in inducirano pluripotentnih celic (iPC) za zdravljenje SB so bile po dostopnih podatkih doslej omejene na laboratorijske poskuse na celičnih kulturah in poskusnih živalih.

V zvezi z uporabo tkivno-specifičnih MC za zdravljenje SB tipa I velja omeniti študijo, ki poteka od leta 2007 (6, 7). Po zavrtju imunskega sistema, so 15 prostovoljcem starim med 14 in 30 let, ki jim je bila največ pol leta pred tem odkrita SB tipa I, dali transfuzijo lastnih tkivno-specifičnih (hematopoetskih) MC. S tem naj bi prišlo do »resetiranja« imunskega sistema, ki potem ne bi več uničeval beta celic pankreasa. Pri večini bolnikov ni bilo več potrebe po nadomestnem inzulinskemu zdravljenju v obdobju od 14 do 52 mesecev po presaditvi. Vendar pa naj bi bil ugoden učinek presaditve tkivno-specifičnih MC predvsem posledica podaljšanega obdobja »medenih tednov« (kot posledica manjšega imunske pogojenega uničevanja beta celic pankreasa) in ne obnove celic beta pankreasa (kar je sicer ciljni učinek zdravljenja z MC).

Bolj kot tkivno-specifične MC obetajo zarodkovne MC in predvsem iPC. Te imajo večji potencial za proliferacijo in za diferenciacijo, s tem pa so bolj primerne za razvoj zadostne količine specializiranih celic, ki bi proizvajale inzulin (in tudi druge

pankreatične hormone). V zadnjih letih je to tudi v praksi dokazala serija različnih raziskav (za zdaj vse na celičnih kulturah in živalih), pri katerih so s pomočjo MC uspeli ustvariti celice, ki so proizvajale inzulin (Slika 2) (5). Do velikega preboja je prišlo leta 2007, ko je Takahashi s sod. (8), kot prvi uspel iz odrasle kožne celice z reprogramiranjem ustvariti celice (iPC), ki so imele podobne lastnosti kot zarodkovne MC. Nedavno so iz iPC uspeli ustvariti tudi že celice, ki proizvajajo inzulin oz. so podobne celicam pankreatičnih otočkov (9). iPC imajo pomembne prednosti pred zarodkovnimi MC, saj bodo po genetskih značilnostih lahko identične bolniku (odpade potreba po imunosupresiji), poleg tega pa so iz etičnega vidika veliko bolj sprejemljive (ker ne izvirajo iz zarodka, pač pa iz odraslih somatskih celic, npr. celice kože). Za zdaj pa tako pri zarodkovnih MC kot tudi iPC ostaja nerešen problem varnosti (oboje so tumorogene). Ena od vodilnih raziskovalnih inštitucij na področju razvoja celic otočkov iz MC je že napovedala, da bodo najbrž prav iPC ključ uspeha za razvoj učinkovitih beta celicam podobnih celic (10).



Slika 2. Endokrine celice (inzulinske so modre, somatostatinske rdeče, glukagonske zelene) razvite v otočkom podobne strukture; gre za stanje po vsaditvi iz matičnih celic izvirajočih celic v poskusno žival. (Vir: ViaCyte, Inc.).

### **Etična vprašanja v zvezi z uporabo matičnih celic**

Etične dileme v zvezi z uporabo MC so vezane predvsem na uporabo zarodkovnih MC. Te se namreč pridobivajo iz odvečnih zarodkov, preostalih po postopku IVF, ki jih je za pridobitev zarodkovnih MC potrebno žrtvovati. (Druga možnost pridobivanja pa je etično

prav tako zelo problematično kloniranje zarodkov s prenosom jedra somatske celice v jajčno celico). Zadnjih par let pa kaže, da bo vprašanje uporabe zarodkovnih MC elegantno razrešila prav iznajdba iPC, katerih pridobivanje in uporaba nista etično problematični. V prihodnje se utegne pojaviti vprašanje dostopnosti in pravične distribucije novih (in zelo dragih) možnosti zdravljenja, ki bo temeljilo na uporabi MC.

## **ZAKLJUČEK**

Zdravljenje z eksogenim inzulinom predstavlja enega od najpomembnejših odkritij v zgodovini medicine, in postaja v kombinaciji z moderno tehnologijo (razvoj »zaprte zanke« oz. umetnega pankreasa) izjemno učinkovito. Vendar pa bo najbrž šele celično zdravljenje s pomočjo MC prineslo ozdravitev za bolnike s SB. Le tako bo namreč mogoče doseči popolno obnovo okvarjenih delov pankreasa in ponovno vzpostavitev njihove vloge v telesu – šele s tem bo omogočena presnovna urejenost organizma, kot je značilna za zdrave ljudi. Še preden bo zdravljenje SB z MC postalo klinično uporabno, pa bo treba premagati vrsto varnostnih in praktičnih preprek (predvsem v zvezi z rizikom za razvoj tumorjev, potrebo po zavrtju imunskega sistema, pridobivanje zadostne količine celic itd.), ter tudi zadovoljivo razrešiti obstoječe etične pomisleke.

## **LITERATURA**

1. Wild S, Roglic G, Green A, et. al. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004; 27: 1047-53.
2. Shapiro AM, Ricordi C, Hering BJ, et al. International trial of the Edmonton protocol for islet transplantation. *N Engl J Med* 2006; 355: 1318-30.
3. Kržišnik C. Izvirne celice – novo upanje tudi za bolnike s sladkorno boleznijo. *Sladkorčki* 2006; 1,2: 6-7.

4. Dosegljivo na: Banting FG. 1965. Diabetes, insulin, nobel lectures, physiology or medicine 1922–1941. Amsterdam: Elsevier.  
[http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/1923/banting-lecture.html](http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1923/banting-lecture.html)
5. Kroon E, Martinson LA, Kadoya K, et al. Pancreatic endoderm derived from human embryonic stem cells generates glucose-responsive insulin-secreting cells in vivo. *Nat Biotechnol* 2008; 26: 443-52.
6. Voltarelli JC, Couri CE, Stracieri AB, et al. Autologous nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation in newly diagnosed type 1 diabetes mellitus. *JAMA* 2007; 297: 1568-1576.
7. Couri CE, Oliveira MCB, Stracieri APBL, et al. C-Peptide Levels and Insulin Independence Following Autologous Nonmyeloablative Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Newly Diagnosed Type 1 Diabetes Mellitus. *JAMA* 2009; 301: 1573-1579.
8. Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., et. al. *Cell* 2007; 131: 861-872.
9. Tateishi K., He J., Taranova O., et. al. Generation of Insulin-secreting Islet-like Clusters from Human Skin Fibroblasts. *J Biol Chem* 2008;•283: 31601-31607.
10. ViaCyte, Inc. Dosegljivo na: <http://www.viacyte.com/index.html>