

## RAZLIKA IZMEĐU EMBRIONALNIH I ADULTNIH MATIČNIH ČELIJA

Ivana Mihajlović

### UVOD

Terapija matičnim ćelijama predstavlja deo novog pristupa koji se naziva regenerativna medicina, čiji je cilj izlečenje ili obnavljanje ljudskog organizma. Regenerativnom medicinom postiže se sve ono što konvencionalnim lekovima ne može da se postigne (1).

Matične ćelije (engl. *stem cells*) su nespecijalizovane ćelije koje se mogu deliti tokom dugog vremenskog perioda. Matične ćelije pod određenim fiziološkim ili eksperimentalnim uslovima mogu da se diferenciraju u druge ćelijske tipove. Matične ćelije dele se na embrionalne i adultne.

### EMBRIONALNE MATIČNE ČELIJE

Embrionalne matične ćelije dobijaju se iz viška embriona koji nastaju kod veštačke oplodnje. Kod veštačke oplodnje dobije se obično 10-15 embriona. Majci se vraćaju 2-3, a iz preostalih mogu da se dobiju matične ćelije (Slika 1). Iz tih embriona se uzimaju matične ćelije i iz njih potom može da se dobije oko 200 tipova ćelija ljudskog organizma.

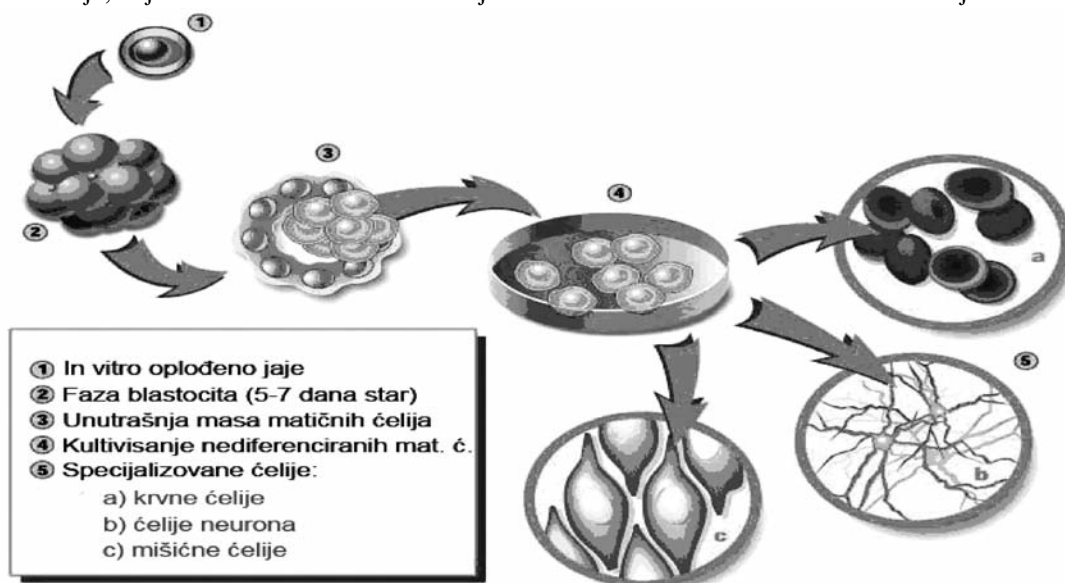
Kada spermatozoid oplodi jajnu ćeliju, odnosno kada probije njenu spoljašnju opnu (*zona pellucida*) i kada se dva nukleusa spoje, prva ćelija novog mladog organizma (zigot) je formirana. Nizom ćelijskih deoba (brazdanje), formira se loptica ćelija (morula), a zatim velika šuplja lopta (blastocit). Pošto embrion poprima formu blastocita, razlikuju se dva tipa ćelija. Prvi tip su trofoblastne ćelije, koje čine zid blastocita i učestvuju u

razvoju placente. Drugi tip su embrionalne matične ćelije koje čine unutrašnju masu ćelija od kojih će se razviti fetus. Rane embrionalne matične ćelije su totipotentne, što znači da od njih diferencijacijom može nastati bilo koja ćelija u organizmu.

Ćelije unutrašnje mase su pluripotentne, što znači da se mogu neograničeno deliti i da od njih diferencijacijom može nastati bilo koja ćelija organizma (2). One su, međutim, izgubile totipotentnost i od njih se ne može razviti novi organizam u celosti. Potrebno je, stoga, tu matičnu ćeliju preusmeriti, odnosno dodati nešto što će nju voditi u pravcu nastanka određene, npr. nervne ćelije. To se dešava aktiviranjem različitih grupa gena, pod određenim eksperimentalnim i fiziološkim uslovima.

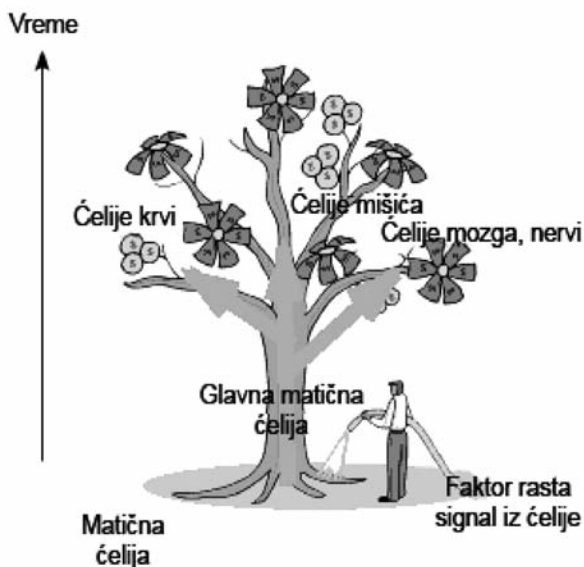
Gajenje matičnih ćelija u laboratoriji (kultura ćelija) uspostavlja se transferom unutrašnje mase blastocita u poseban sterilan sud koji sadrži medijum sa hranljivim sastojcima i neophodnim faktorima rasta. Matične ćelije se dele i šire po površini suda. Kada dostignu određenu gustinu prenose se u nove sudove i gaje, a posle šest i više meseci njihov broj (od početnih 20-30) dostiže nekoliko miliona. Tako nastaje linija matičnih ćelija koje se dalje mogu koristiti za dobijanje različitih tipova ćelija.

Glavni cilj je držati pod kontrolom njihovu diferencijaciju (nervne ćelije, ćelije pankreasa, ćelije jetre, ćelije srčanog mišića i druge), a potom njihova primena u terapijske svrhe. One bi se potom ubrizgale pacijentu, zamenile i preuzele ulogu odumrlih ili nefunkcionalnih ćelija. Ovim načinom



Slika 1. Kultivisanje matičnih ćelija

mogle bi se lečiti : Parkinsonova bolest, Alchajmerova bolest, šećerna bolest, povrede kičmene moždine, određene bolesti srca, mišićne distrofije i druge (Slika 2).



Slika 2. Slikovit prikaz plodova matične ćelije

### ADULTNE MATIČNE ĆELIJE

Adultne ćelije mogu da se izdvoje iz tela odrasle osobe, deteta i iz pupčane vrpce. Ovaj tip matičnih ćelija može se diferencirati u druge srodne vrste ćelija. Njihovo prisustvo u tkivima odraslog organizma omogućava obnavljanje ćelija, a samim tim i održavanje određene ravnoteže u organizmu. Ove

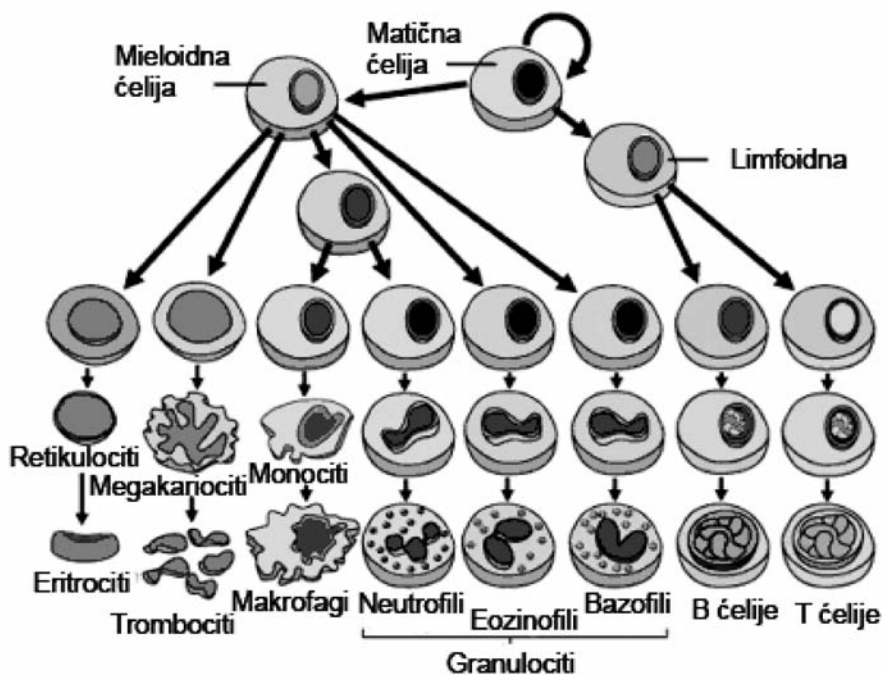
ćelije su multipotentne i mogu dati samo određene tipove ćelija u zavisnosti od potreba organizma.

Od ranih osamdesetih godina prošlog veka, autologna transplantacija je deo protokola za lečenje leukemija i solidnih tumora. Prvih godina jedini izvor autoloških matičnih ćelija hematopoeze bila je kostna srž, a poslednjih 15 godina i periferna krv (Slika 3). Danas su u čak 96% slučajeva primenjene matične ćelije hematopoeze periferne krvi jer se lakše dobijaju, nije potrebno uklanjanje eritrocita, nema potrebe za opštom anestezijom i brži je oporavak hematopoeze, zbog čega je manje febrilnih epizoda, manja potreba za derivatima krvi i kraće vreme boravka u bolnici.

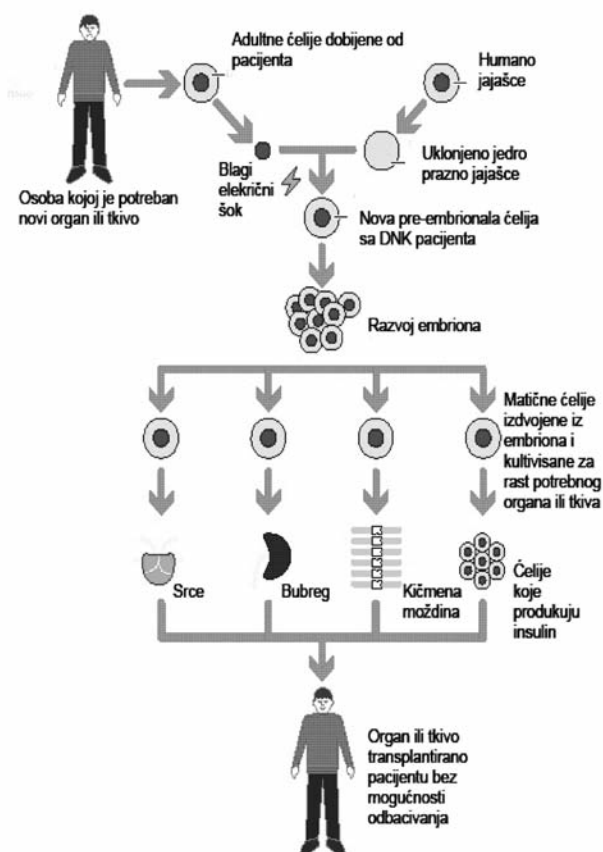
Autologne matične ćelije je potrebno procedurom kontrolisanog zamrzavanja kriokonzervirati i čuvati u tečnom azotu na  $-196^{\circ}\text{C}$  do upotrebe. Vijabilnost se procenjuje pre davanja (potrebno je da više od 70% bude živo) (3, 4, 5).

Matične ćelije dobijene iz pupčane vrpce posle rođenja, mogu se sačuvati i dvadeset godina, i danas veoma veliki broj roditelja zamrzava matične ćelije (u bankama matičnih ćelija) iz pupčane vrpce svojih novorođenčadi.

Kada se jedna ćelija pacijenta ubaci u jajnu (u plastičnoj šolji) iz kloniranog embriona uzete matične ćelije imaju isti genetski materijal kao i pacijent i kada se uradi transplantacija, ne dolazi do imunološke reakcije jer one nose genetski materijal pacijenta (Slika 4). Ne dolazi do odbacivanja organa (6, 7).



Slika 3. Matične ćelije hematopoeze



Slika 4. Postupak kod osobe kojoj je potreban organ ili tkivo

## ULOGA MATIČNIH CELIJA U FARMACEUTSKOJ INDUSTRIJI

Pored monoklonskih antitela, koja su već našla svoju primenu u lečenju mnogih do sada neizlečivih bolesti, i veoma opsežnih istraživanja u okviru farmakogenetike, matične ćelije predstavljaju novu tehnologiju koja najviše obećava. Primenu matičnih ćelija, nažalost, prati mnogo kontroverzi. Danas veći broj kompanija (8) radi na različitim tehnologijama matičnih ćelija, a izazov za farmaceutsku industriju predstavlja monografija u najnovijem dodatku Evropske farmakopeje (9) o *Human Haematopoietic Stem Cells*. Ovom monografijom predviđaju se standardi za pripremu i kontrolu humanih hematopoetskih matičnih ćelija za upotrebu u terapiji. Kada se jedan preparat nađe u farmakopeji to znači da postoji njegova dokazana efikasnost. Monografijom je data definicija, proizvodnja (donori, sakupljanje, krioprezervacija, supstance koje se koriste u proizvodnji), zatim ispitivanje kvaliteta, mogućnost transmisije spongiformne encefalopatije, upotreba vode i različiti testovi ispitivanja.

## REGULATIVA U EVROPSKOJ UNIJI KOD UPOTREBE MATIČNIH ĆELIJA ZA TESTIRANJE NOVIH LEKOVA I U TOKSIKOLOGIJI I KOD TRANSPLANTACIJE

Regulativa ne samo u svetu, nego i u okviru Evropske Unije, nije podjednaka što se tiče matičnih ćelija, ne samo u okviru pitanja etičnosti, nego i primene u zavisnosti od njihovog porekla.

Dva naučnika, Karl Skorecki i Maty Tzukerman sa Technion-Israel Institute of Technology (10), kreirala su metodu kojom je moguće utvrditi da li će ili ne neki lek biti uspešan u kliničkim ispitivanjima injektovanjem matičnih ćelija eksperimentalnim životinjama. Oni su praktično izvršili humana ispitivanja, a da ih nisu radili ni na jednom ljudskom biću. Na ovaj način, budućim ispitivanjima ovog tipa smanjiće se broj neuspelih kliničkih ispitivanja lekova, koja koštaju istraživačko vreme, koja zahtevaju dosta novca i koja nekada mogu dovesti do zdravstvenih problema kod ispitanika.

Adultne matične ćelije različitog porekla (kostna srž, placenta) mogu potencijalno stvoriti podesan model za praćenje kardio-, hepato- i geno-toksičnosti, epigenetske i reproduktivne toksikologije (11).

Takođe, Stem Cell Innovations (SCI) objavila je 9. februara 2007. godine da je Kompanija podnela molbu za validaciju svog ACTIVTox(R) za *in vitro* toksikologiju ECVAM-u, kao alternativu ispitivanja na životinjama u Evropskoj Uniji. Upotreba ACTIVTox smanjiće potrebu za životinjama za klinička ispitivanja i tako farmaceutskim kompanijama uštedeti vreme i novac. Visoko okarakterizovan ćelijski sistem humane jetre, upotrebljava se za testiranje novih lekova i na taj način je omogućeno eliminisati potencijalnu toksičnost pre započinjanja kliničkih ispitivanja. Na ovaj način bi se ispoštovala i Direktiva Evropske Unije 86/609/EEC o zaštiti životinja (12) koje se koriste u eksperimentalne i naučne svrhe.

Što se tiče regulative u Evropskoj Uniji, prva banka matičnih ćelija otvorena je 2004. godine u Velikoj Britaniji za istraživačko, odnosno, komercijalno poslovanje.

Kompanije koje se bave matičnim ćelijama su: ReNeuron, StemCellSciences, Axordia, EpiStem Ltd, Reinnervate, Intercytex, Odontis, Renovo, NovaThera, RegenTec, CellCentric i druge. Što se tiče statusa istraživanja sa matičnim ćelijama (13), ona su u Evropskoj Uniji: zabranjena: Italija, Austrija, Irska, ograničena: Francuska, Nemačka, Grčka, Holandija, ili dozvoljena: Belgija, Španija, Čehoslovačka.

Monografija o *Human Haematopoietic Stem Cells* u najnovijem dodatku Evropske farmakopeje i s druge strane nedavno odbijanje aplikacije Wisconsin Alumni Research Foundation (WARF) za pet linija matičnih ćelija od strane Evropskog Patentnog Biroa (14), nameće u ovoj oblasti još dosta pitanja. Pitanje etičnosti, prati sva ispitivanja matičnih ćelija, pa čak i ona kada se one uzimaju i od embriona koji više nije živ, a one i tada mogu da se razviju u bilo koji tip ćelija ljudskog organizma od ćelija mozga do ćelija kože i ćelija bubrega. Ova istraživanja poprimaju na značaju, pa je i u Srbiji otvoren *Sintocell*, istraživački centar na čelu sa profesorom Miodragom Stojkovićem (15). I kod matičnih ćelija može da vlada pravilo Da li možemo da uzmemo žive ćelije iz neživog embriona kao žive organe od pacijenta koji više nije živ .

### ZAKLJUČAK

Regenerativna medicina ima budućnost. Ovladavanje tajnama matičnih ćelija, smanjiće se pojava bolesti, produžiti ljudski vek i očuvati mladost. Postaće deo savremenih protokola lečenja danas neizlečivih bolesti.

### LITERATURA

1. Aldrige S. Facing up to the cell therapy challenge. *Pharmaceutical Technology* 2007; 19(4): 14-16.
2. [www.stemcellresearchfoundation.org/WhatsNew/Pluripotent\\_](http://www.stemcellresearchfoundation.org/WhatsNew/Pluripotent_)
3. Gratwohl A, et al. Current trends in hematopoietic stem cell transplantation in Europe. *Blood* 2002; 100:2374-2386.
4. Rizzoli V, et al. Biological aspects and clinical results of autologous bone marrow transplantation for acute myeloid leukemia. *IJCLR* 1992; 22(1-4): 185-189.
5. [www.springerlink.com/index/Q6670Q2J26836717.pdf](http://www.springerlink.com/index/Q6670Q2J26836717.pdf).
6. [www.abpishools.org.uk/.../stemcell/ctcl\\_di2.asp](http://www.abpishools.org.uk/.../stemcell/ctcl_di2.asp)
7. Vujić D, Jevtić D. Značaj megaterapije i autologne transplantacije matičnih ćelija hematopoeze kod dece sa solidnim tumorima. Institut za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije dr Vukan Čupić . Beograd, 2004: 1-6.
8. [www.researchandmarkets.com/reportinfo.asp?report\\_id=314477](http://www.researchandmarkets.com/reportinfo.asp?report_id=314477)
9. Ph Eur. Human Haematopoietic Stem Cells. U: *European Pharmacopoeia*. Evropska komisija za farmakopeju. Strasbourg 2007; 5.6: 4598-9.
10. [www.human drug trials without humans](http://www.human drug trials without humans)
11. Davila J, et al. Use and Application of Stem Cells in Toxicology. *Toxicological Sciences* 2004; 78: 214-23.
12. [www.genengnews.com/news/bnitem.aspx?name=12531344](http://www.genengnews.com/news/bnitem.aspx?name=12531344)
13. Perrin N. Global Commercialisation of UK Stem Cell Research.
14. Hansson M, et al. Isolated stem cells/patentable as culture artifacts? Available at: [www.stemcells.alphamedpress.org/cgi/reprint/2006-0684v1.pdf](http://www.stemcells.alphamedpress.org/cgi/reprint/2006-0684v1.pdf)
15. <http://observer.guardian.co.uk/news/story/0,,1879891,00.html>