

*Aktuelne Teme/  
Current topics*

REGENERATIVNA MEDICINA  
I DIJABETES

Correspondence to:

Dr sc. med. Zorica Lepšanović  
Molekularni biolog Vojnomedicinske  
akademije,  
Viši naučni saradnik Medicinskog fakul-  
teta u Beogradu.

e-mail: zorilep@eunet.rs

REGENERATIVE MEDICINE  
AND DIABETES MELLITUS

Zorica Lepšanović

Vojnomedicinska akademija

*Ključne reči*

dijabetes melitus,  $\beta$ -ćelije, matične ćelije  
*Key words*

diabetes mellitus, beta-cells, stem cells

*Abstract*

The main pathogenesis of diabetes mellitus, whether Type 1 or Type 2, is an inadequate number of insulin-producing beta-cells. Replacing missing beta-cells may allow for improved treatment. The field of generating new beta-cells from stem cells, either embryonic or adult, represents an area of increasing interest.

Iako dijabetes tipa 1 i dijabetes tipa 2 imaju potpuno različitu etiologiju, kod oba tipa je poremećena funkcija  $\beta$ -ćelija pankreasa ili je došlo do njihove destrukcije i smanjenja broja. Tip 1 se javlja ranije tokom života, kao autoimunska oboljenja. U momentu postavljanja dijagnoze obično već nedostaje 70-80%  $\beta$ -ćelija (1). Više genetičkih determinanti ima ulogu u kontroli ovog oboljenja i oni ispoljavaju efekat na imunskim ćelijama. Sve je više podataka koji ukazuju da je povećana apoptoza uzrok postepenom smanjivanju broja  $\beta$ -ćelija. Spora destrukcija  $\beta$ -ćelija povezana sa autoimunskom prirodom oboljenja, ukazivala je da bi se moglo preventivno delovati na dijabetes tipa 1, tako što bi se pokrenuo regenerativni proces u pankreasu. Međutim, mehanizam regeneracije ćelija ostrvaca pankreasa i dalje nije dovoljno poznat. Za njegovo razumevanje potrebno je identifikovati progenitor ćelije od kojih nastaju ćelije ostrvaca.

*EMBRIONALNO RAZVIĆE PANKREASA*

Kod ljudi, ćelije egzokrinog sistema (acinarne ćelije) i ćelije endokrinog sistema pankreasa (ćelije ostrvaca) izgleda da tokom razvika nastaju od ćelija duktusa. Četiri su tipa ćelija ostrvaca:  $\beta$ -ćelije koje proizvode insulin,  $\alpha$ -ćelije koje proizvode glukagon,  $\delta$ -ćelije koje proizvode somatostatin i PP-ćelije koje proizvode polipeptide pankreasa. Tokom embrionalnog razvika nove endokrine ćelije nastaju iz primitivnih duktusu-sličnih ćelija, koje najverovatnije predstavljaju matične ćelije ostrvaca. Ćelije duktusa razlikuju se od endokrinih ćelija po strukturi i genima koje ekspimiraju. Tipično za ćelije duktusa je ekspresija gena *cytokeratin-9* (CK-9), koji kodira strukturni protein, a za  $\beta$ -ćelije ekspresija gena *PDX-1*, koji kodira protein koji inicira transkripciju gena za insulin. Ovi geni predstavljaju ćelijske markere i omogućavaju identifikaciju pojedinih tipova ćelija.

U postnatalnom periodu ponekad postoji potreba za obnavljanjem i regeneracijom ćelija, npr. nakon povrede. U regeneraciji  $\beta$ -ćelija u pankreasu uključena su tri različita procesa: proliferacija već postojećih  $\beta$ -ćelija, neogeneza iz nedefinisanih adultnih progenitor ili matičnih ćelija i transdiferencijacija iz terminalno diferenciranih ćelija (2).

*TERAPIJA DIJABETESA ZAMENOM  
B-ĆELIJA*

Svako oboljenje koje nastaje usled masovne i neodgovarajuće ćelijske smrti, kandidat je za tretman zamene ćelija. Neki organi, kao što su jetra, kosna srž i koža, imaju kapacitet da stvaraju nove ćelije nakon oštećenja. Za razliku od njih, pankreas ima veoma ograničeni spontani potencijal regeneracije  $\beta$ -ćelija.

Prvi pokušaji zamene oštećenih  $\beta$ -ćelija transplantacijom pankreasa ili samo ćelija ostrvaca pankreasa, dobijenih od davalaca organa, delovali su ohrabrujuće. Nakon transplantacije, pacijenti su primali imunosupresivnu terapiju, bez steroida. Iako su rezultati ovakvih intervencija u početku bili pozitivni, u drugoj godini nakon intervencije bile su učestalije komplikacije povezane sa hroničnom imunosupresijom. Zbog toga je broj pacijenata koji nije morao primiti insulin dve godine nakon transplatacije, bio manji od 30%.

Rastuća globalna prevalenca dijabetesa pokrenula je istraživanja širom sveta kako bi se razvile nove terapijske strategije, a jedna od njih je primena pluripotentnih matičnih ćelijama za zamenu  $\beta$ -ćelija ("replacement therapy") ili regenerativna medicina.

Embrionalne matične ćelije su najznačajniji izvor matičnih ćelija. Prvi put su izolovane 1981. godine iz blastocista miša, a 1998. godine iz blastocista čoveka (3). Brojna istraživanja su urađena da bi se iz ovih ćelija dobile ćelije ostrvaca pankreasa koje ekspimiraju insulin (4). Poznati su mnogi egzogeni faktori rasta i endogeni transkripcioni fak-

tori koji kontrolišu različite ćelijske linije. Na osnovu ovih informacija dizajnirani su protokoli pomoću kojih se embrionalne stem ćelije indukuju da formiraju endoderm, progenitorske ćelije pankreasa, ostrvaca i  $\beta$ -ćelija. Ovako dobijene ćelije slične  $\beta$ -ćelijama proizvode insulin, ali njegova sekrecija nije regulisana prisutnom glukozom kao kod zdravih  $\beta$ -ćelija.

Za dobijanje novih  $\beta$ -ćelija mogu se koristiti i adultne matične ćelije. Mnogi istraživači smatraju da se matične ćelije pankreasa nalaze pomešane između diferenciranih ćelija duktusa. Ove ćelije se mogu propagirati u kulturi i indukovati da se diferenciraju u ćelije koje proizvode insulin (5). Kada se transplantiraju u imunodeficientne miševе, proizvode insulin kao odgovor na glukozu i prvi rezultati pokazuju da dovode do reverzije dijabetesa kod eksperimentalnih modela miševa. Drugi istraživači smatraju da same ćelije duktusa mogu da se dediferenciraju, a zatim diferenciraju u insulin-provodeće ćelije ostrvaca (transdiferencijacija). Slični eksperimenti su rađeni i na humanom materijalu, pa su ćelije duktusa, dobijene biopsijom, proliferisane u kulturi. Pacijentima su zatim vraćena vlastita ostrvca (6).

Veliki napredak u ispitivanju matičnih ćelija učinjen je kada su pluripotentne ćelije dobijene od potpuno diferenciranih ćelija kože (7). Ubacivanjem određenih gena i uzga-

janjem u odgovarajućim uslovima dobijene su indukovane pluripotentne matične ćelije. Ovaj postupak je značajan jer omogućava dobijanje neograničene količine matičnih ćelija bez manipulacije embrionima.

Kod pacijenata sa dijabetesom tipa 1, autoimunska destrukcija predstavlja problem čak i kada transplantirane  $\beta$ -ćelije vode poreklo iz vlastitog organizma. Ali ako se pre transplantacije  $\beta$ -ćelije obaviju kapsulom od veštačkog, neimunogenog materijala, ona ih štiti od destruktivnog dejstva antitela. Kada se ovako obavijene ćelije transplantiraju u miševе, one proizvode insulin i istovremeno su zaštićene od dejstva antitela.

Ideja da se matične ćelije koriste da zamene  $\beta$ -ćelije koje su oštećene kod obolelih od dijabetesa, pokrenula je veliki broj istraživanja koja se odnose na dublje poznavanje biologije  $\beta$ -ćelija i koja su otvorila put primeni matičnih ćelija u terapiji dijabetesa u bliskoj budućnosti. Do primene će doći tek kada ona bude potpuno sigurna i kada ne bude postojala mogućnost da neka transplantirana prekursorska ili ćelija bliska matičnoj ćeliji može revertirati u pluripotentnu ćeliju i indukovati formiranje tumora.

### Apstrakt

U patogenezi dijabetesa, bilo tipa 1 ili tipa 2, izražen je smanjeni broj  $\beta$ -ćelija koje proizvode insulin. Zamena ovih ćelija znatno bi unapredila terapiju obolelih. Dobijanje novih  $\beta$ -ćelija iz embrionalnih ili adultnih matičnih ćelija, tema je koja pobuđuje sve veće interesovanje.

### LITERATURA

1. Kloppel G, Lohr M, Habich K, Oberholzer M, Heitz P U. Islet pathology and the pathogenesis of type 1 and type 2 diabetes mellitus revisited. *Surv Synth Pathol Res* 1985; 4: 110-25.

2. Bonal C, Avril I, Herrera P L. Experimental models of b-cell regeneration. *Biochem Soc Trans* 2008; 36: 286-9.

3. Stem Cells and Diabetes,  
Available at  
<<http://stemcells.nih.gov/info/scireport/chapter7>>

4. Duvillié B, Stetsyuk V, Filhoulard G, Scharfmann R. Control of pancreatic development by intercellular signals. *Biochem Soc Trans* 2008; 36: 276-9.

5. Dufayet de la Tour D, Halvorsen T, Demeterco C, Tyrberg B, Itkin-Ansari P, Loy M et al. B-cell differentiation from a human pancreatic cell line in vitro and in vivo. *Mol Endocrinol* 2001; 15: 476-83.

6. Bonner-Weir S, Taneja M, Weir G C, Tatarkiewicz K, Song K H, Sharma A et al. In vitro cultivation of human islet from expanded ductal tissue. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 7999-8004.

7. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126: 663-76.