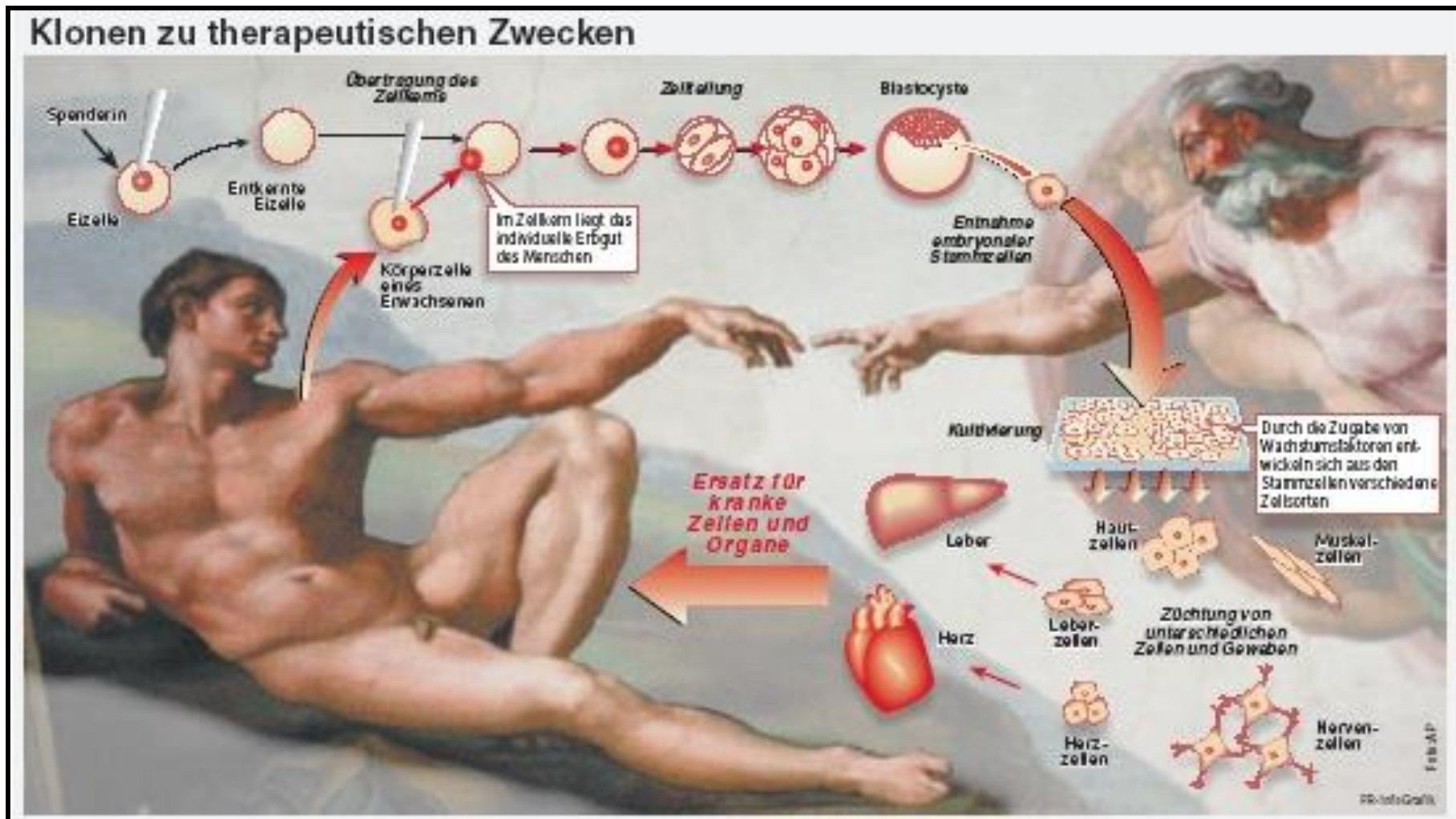


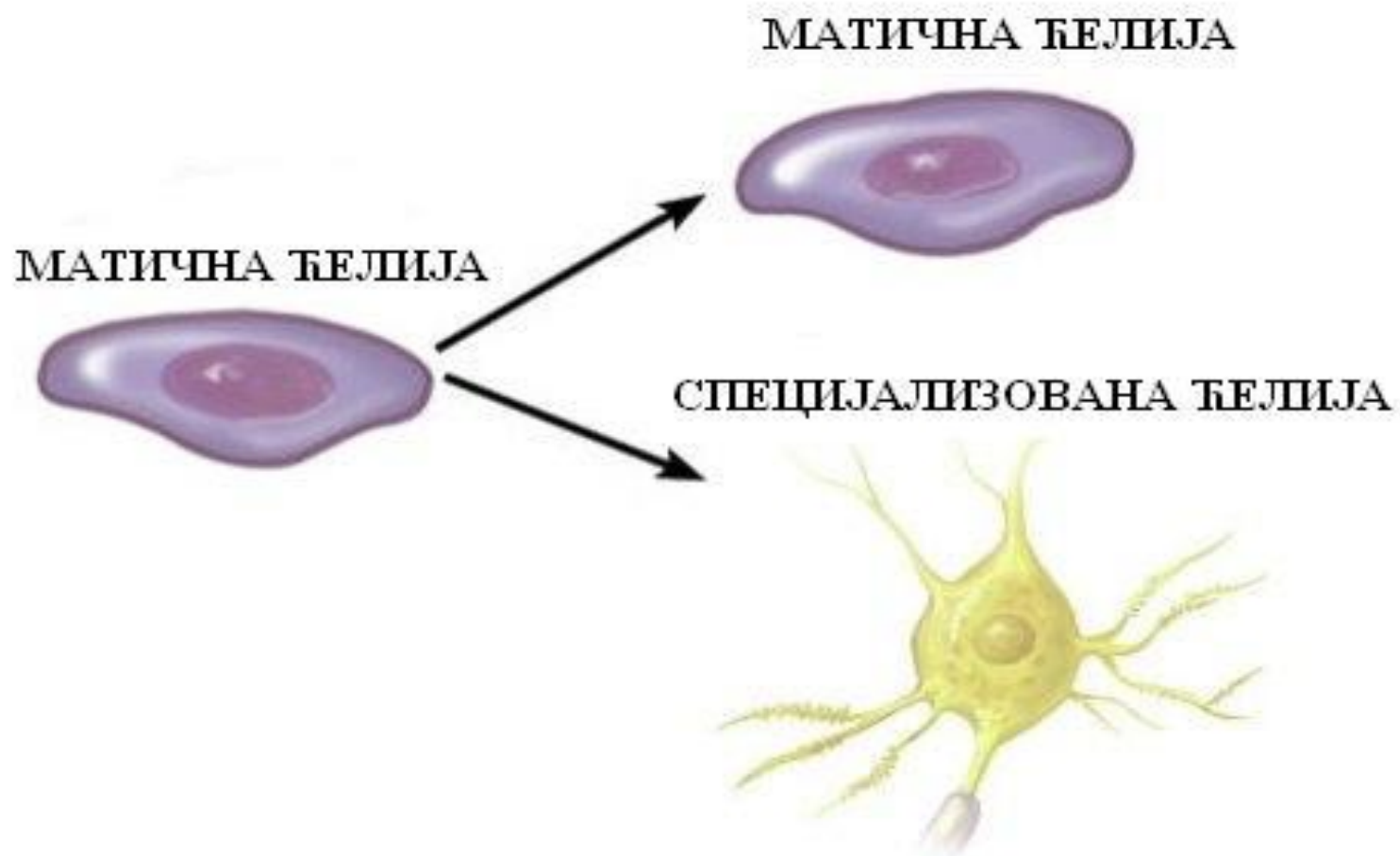
# Матичне ћелије тумора

# Матичне ћелије

Матичне ћелије су само-обнављајуће, неспецијализоване ћелије способне да диферентују у различите типове ћелија.

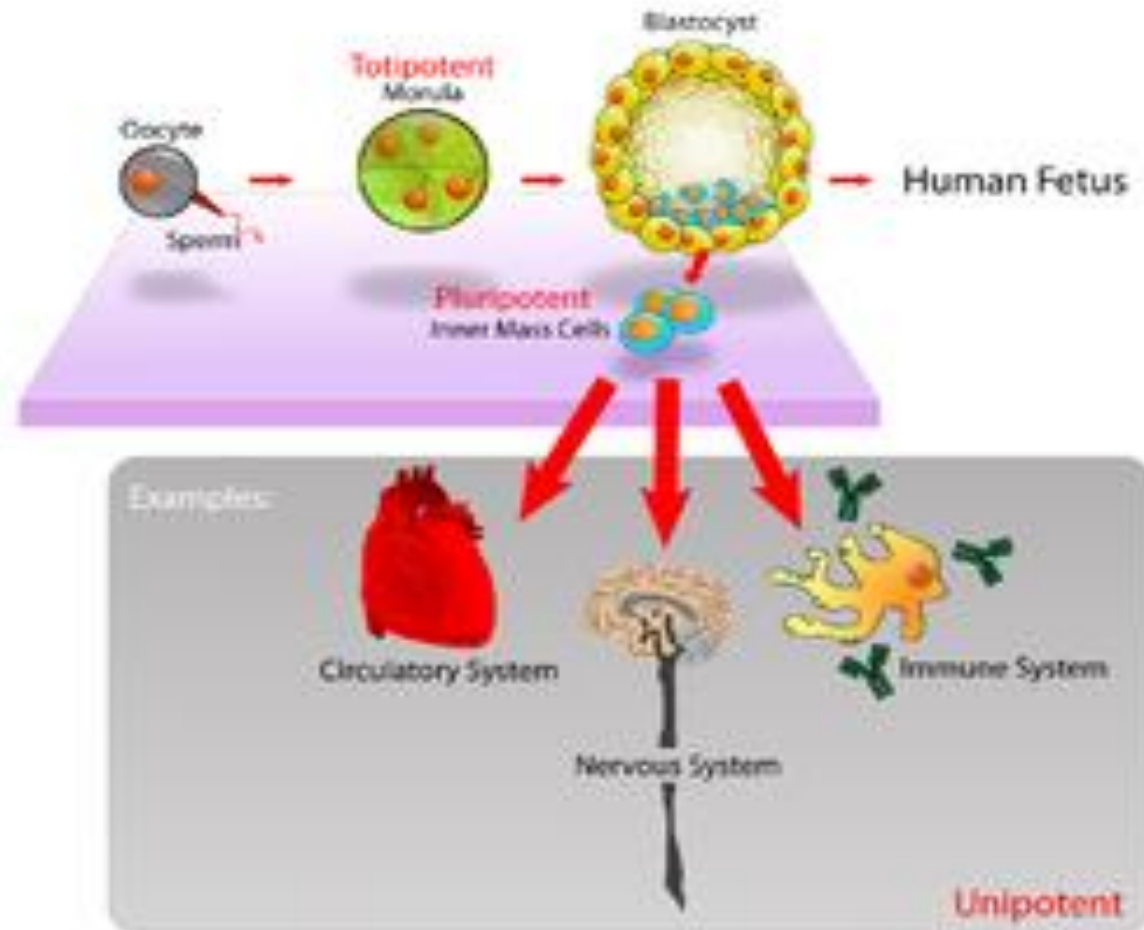


# Асиметрична деоба матичних ћелија

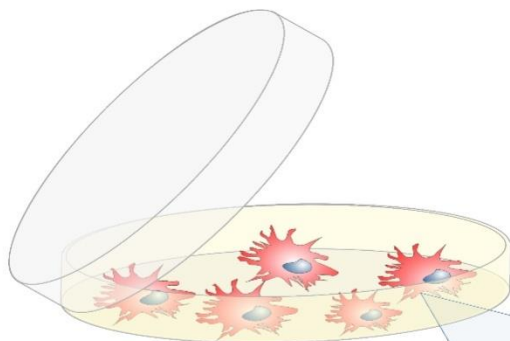


# Одлике матичних ћелија

- нису специјализоване, не старе, деле се дуги временски период
- одликује их способност за **самообнављање**, **клоногеност** и **потентност**



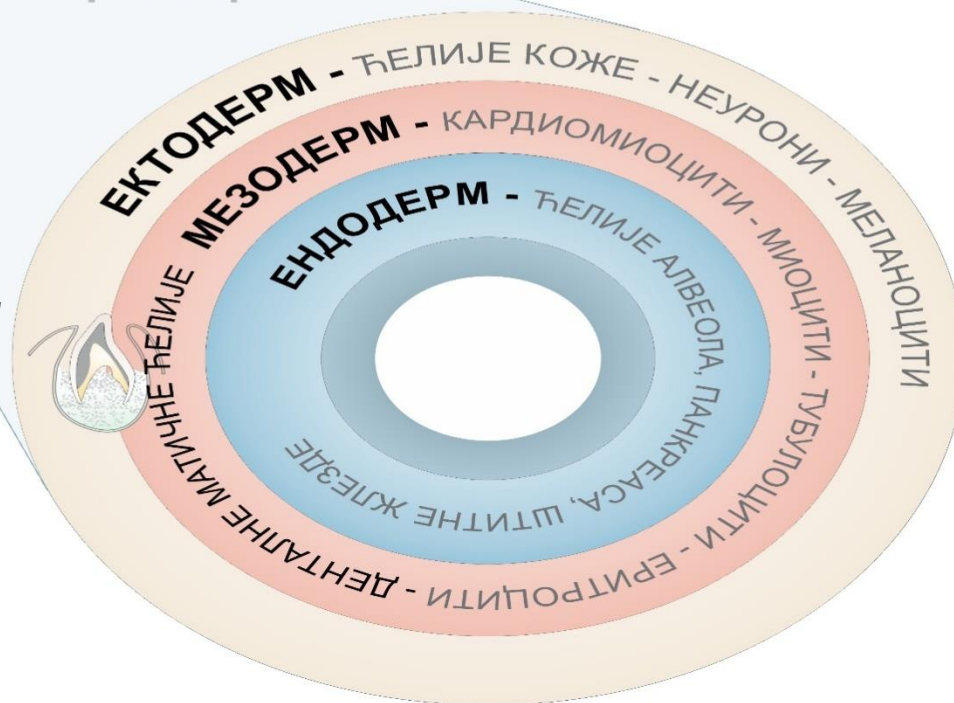
# Матичне ћелије...



**ESCs**

... су недиференциране ћелије које поседују висок пролиферативни капацитет и могу да диференцирају у велики број различитих ћелија...

ДИФЕРЕНЦИЈАЦИЈА



...у зависности од ткива из којег се изолују деле се на **ембрионалне** и **адултне** матичне ћелије које се међусобно разликују по свом пролиферативном капацитету и способности за диференцијацију.



# Подела матичних ћелија

Први пут су откривене 1960 године и то као:

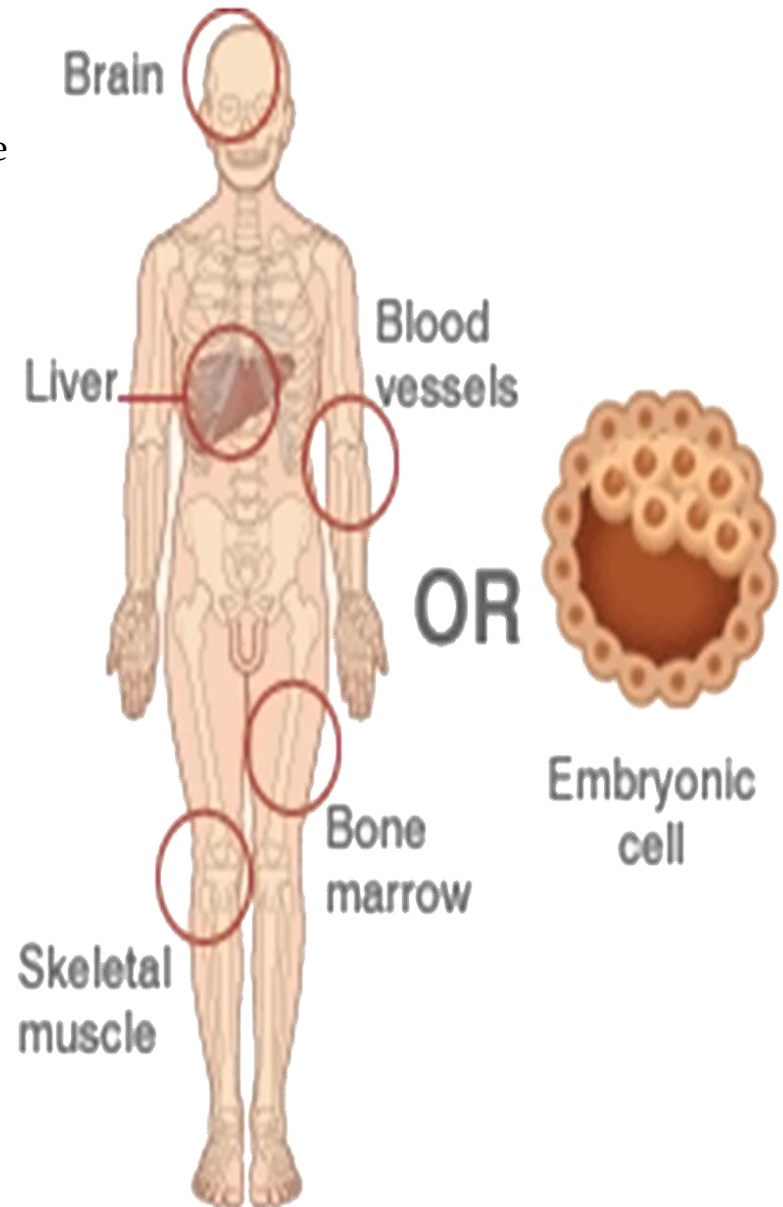
- *хематопоеетске матичне ћелије*, из којих настају све ћелије крви;
- *стромалне матичне ћелије костне сржи*, из којих могу да настану ћелије кости, хрскавице, масног и везивног ткива.

Деведесетих година матичне ћелије су на основу ткива из којих су изоловане, подељене на:

1. Ембрионалне матичне ћелије (ESCs)

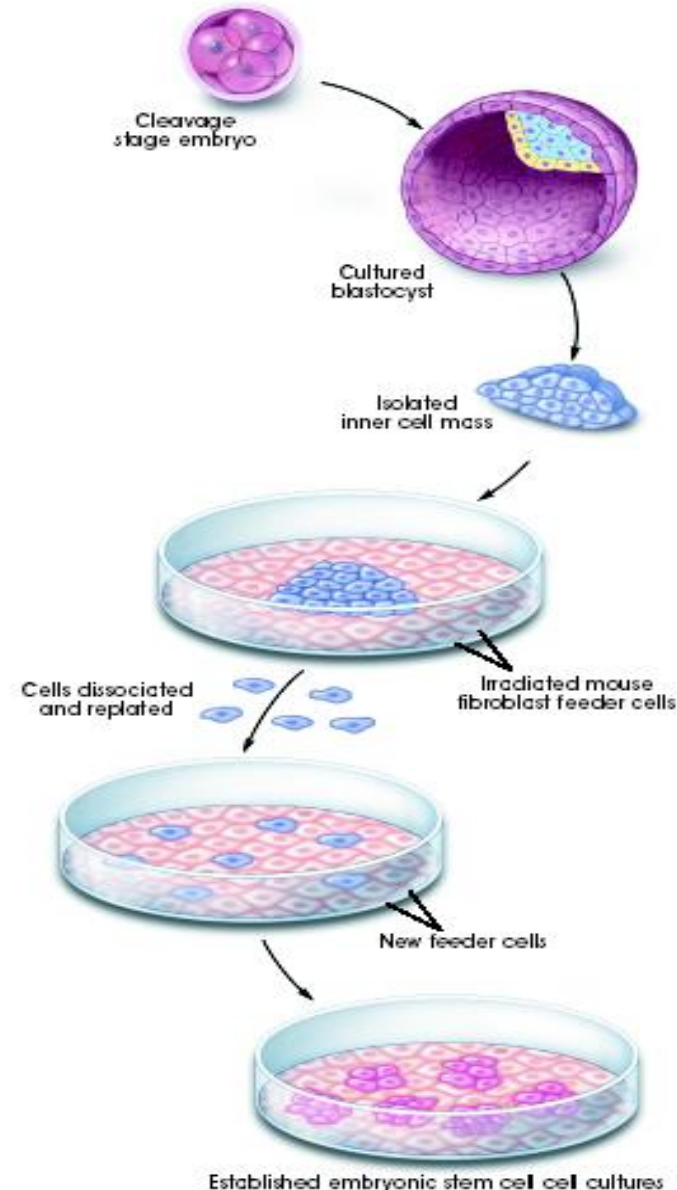
2. Адултне матичне ћелије:

- мезенхималне матичне ћелије (MSCs)
- индуковане плурипотентне матичне ћелије (iPSCs).



# Ембрионалне матичне ћелије (ESCs)

- Хумане ембрионалне матичне ћелије (hESCs) су први пут изоловане 1998. године (Thompson et al).
- Изолују се из унутарћелијске масе бластоцисте.
- Недиферентоване, плурипотентне ћелије из којих могу да настану све ћелије организма.

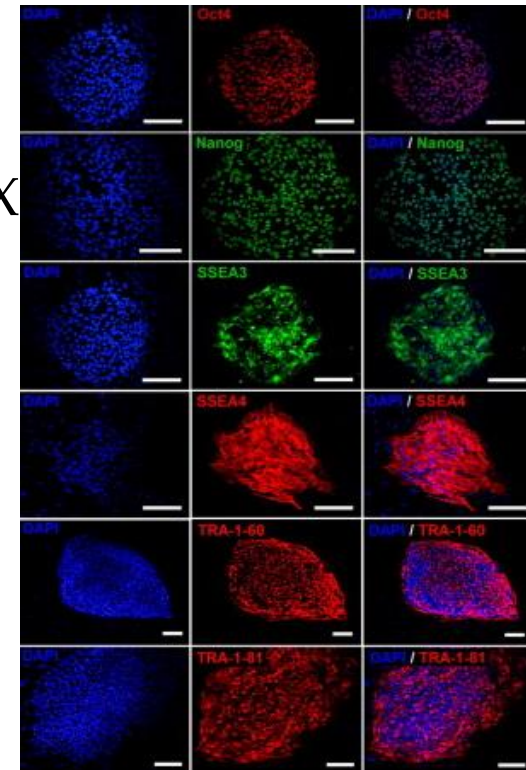
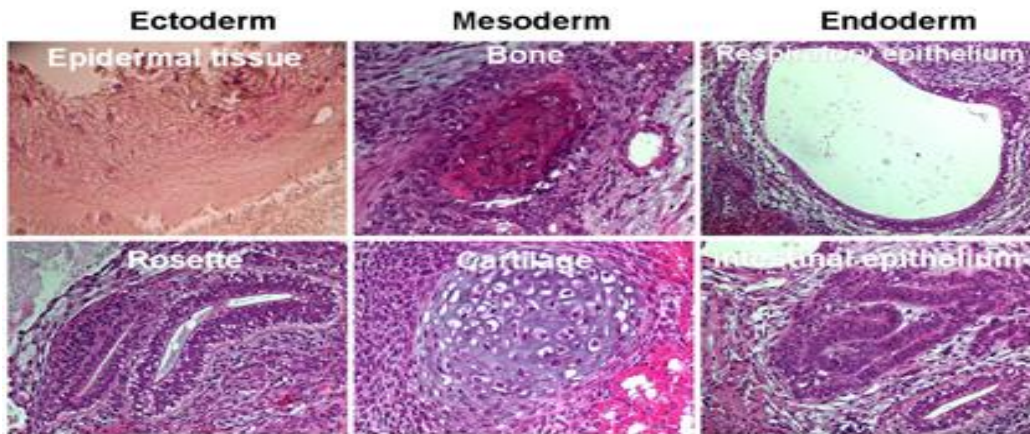


# Идентификација hESCs

Мембрански маркери: TRA1-60, TRA1-81, SSEA3, SSEA4, CD9, CD90, МНС молекул I класе

Интрацелуларни маркери: NANOG, OCT4, REX1, SOX2

*In vitro*: плурипотентност  
(диференцијација у сва 3 клицина листа)

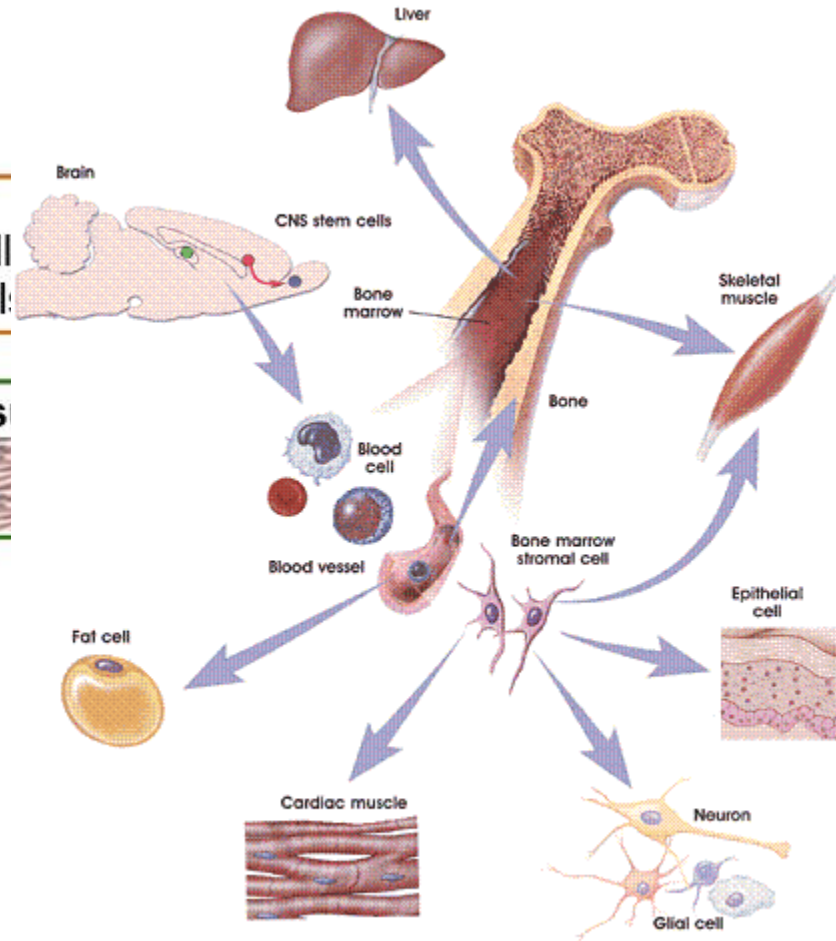
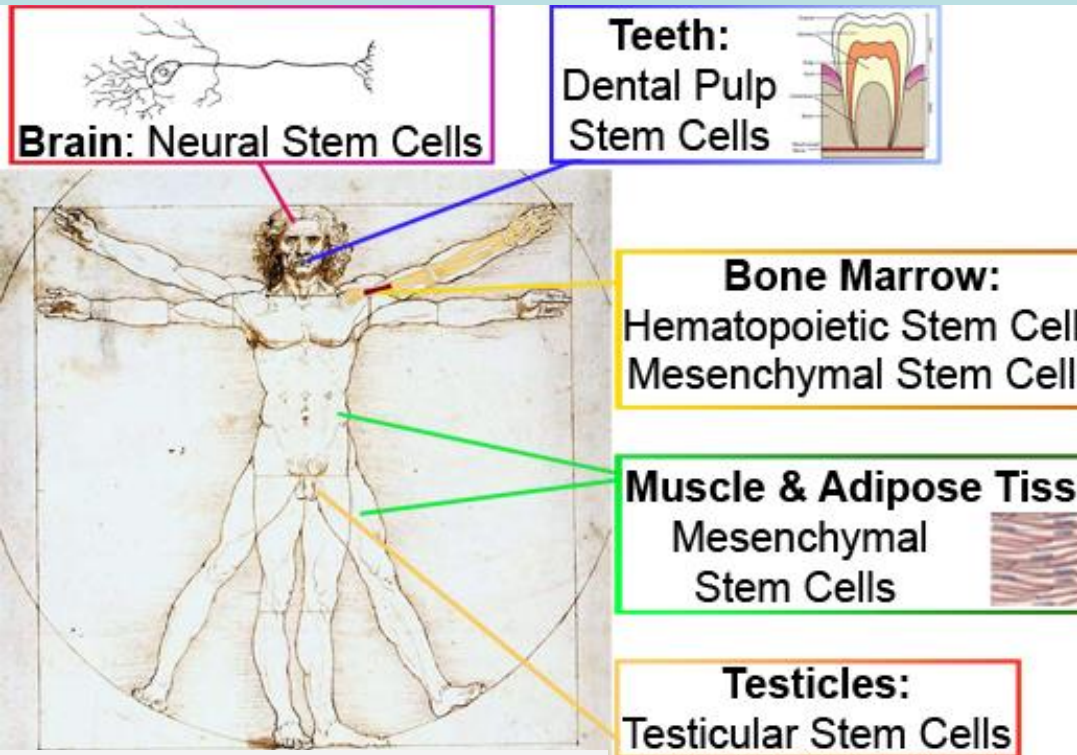


*In vivo*: настанак тератома након инјекције у SCID (*severe combined immunodeficiency*) миша



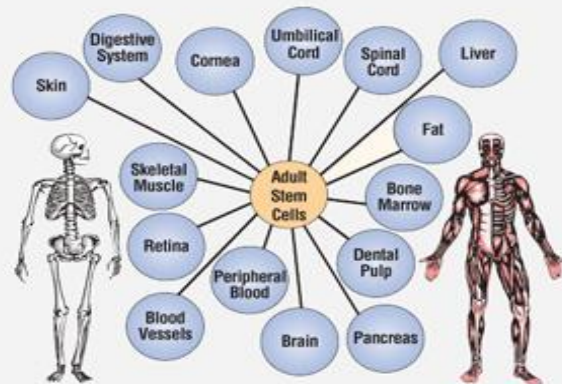


# Адултне матичне ћелије у организму



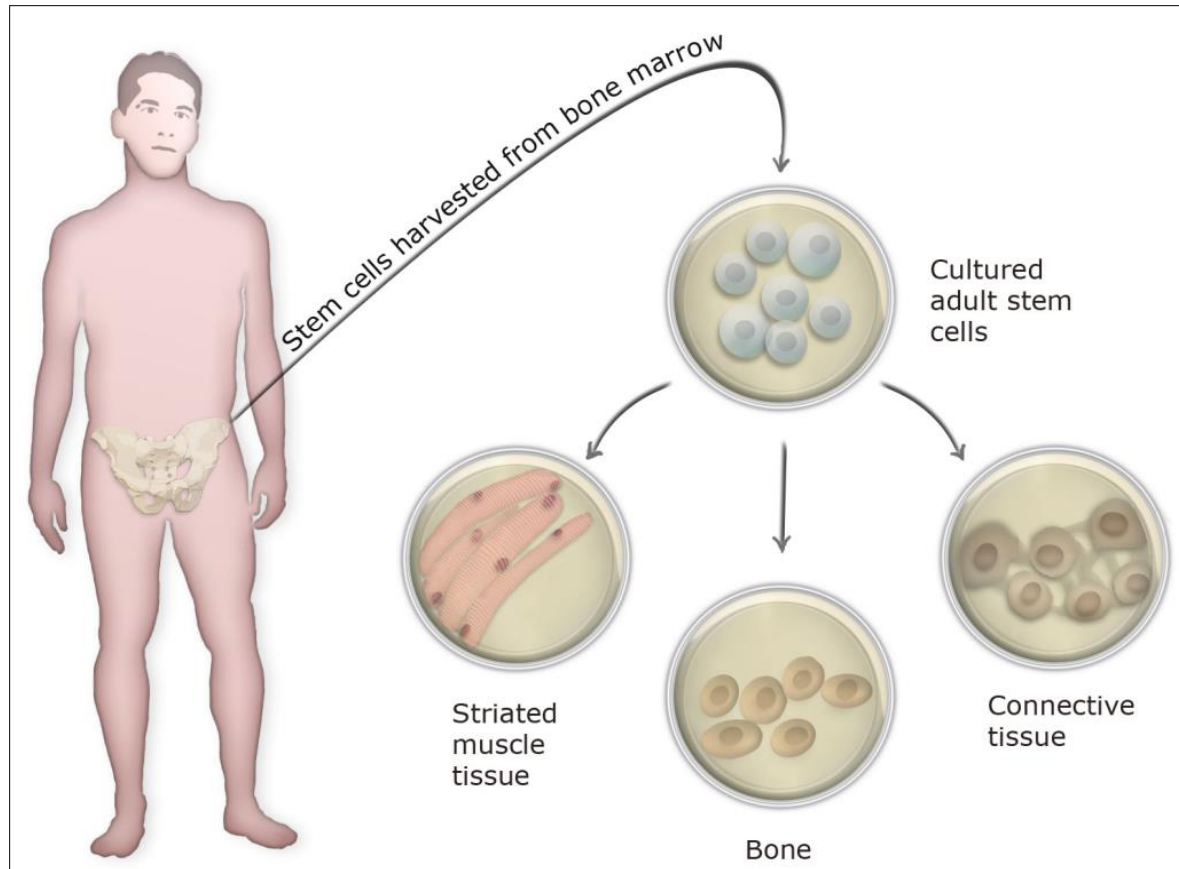
© 2001 Terese Winslow, Lydia Kibiuk, Caitlin Duckwall

Where are adult stem cells found?



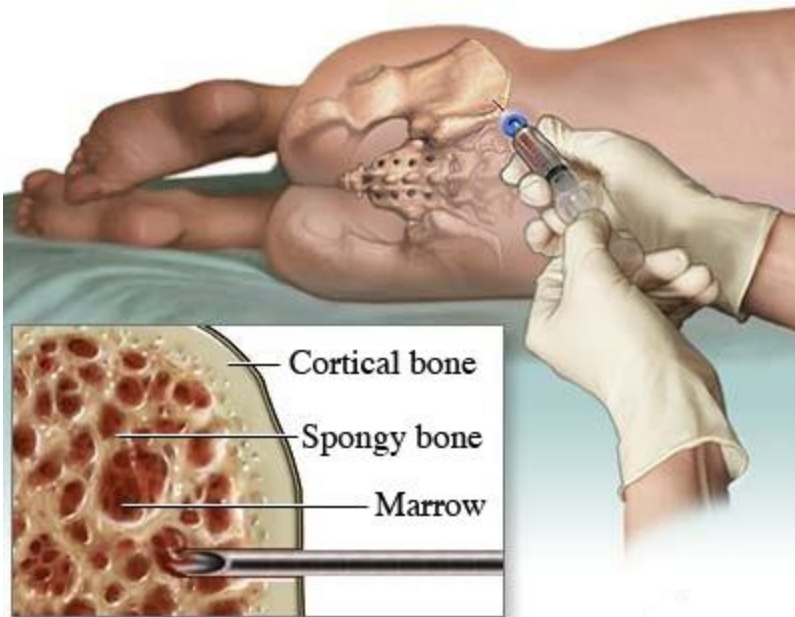
# Адултне матичне ћелије

- Мезенхималне матичне ћелије (MSCs)
- Индуковане плурипотентне матичне ћелије (iPSCs)



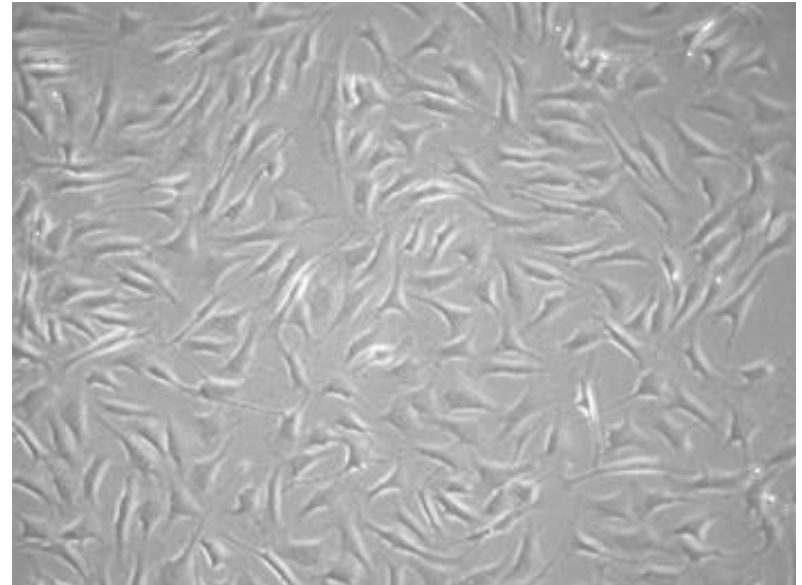
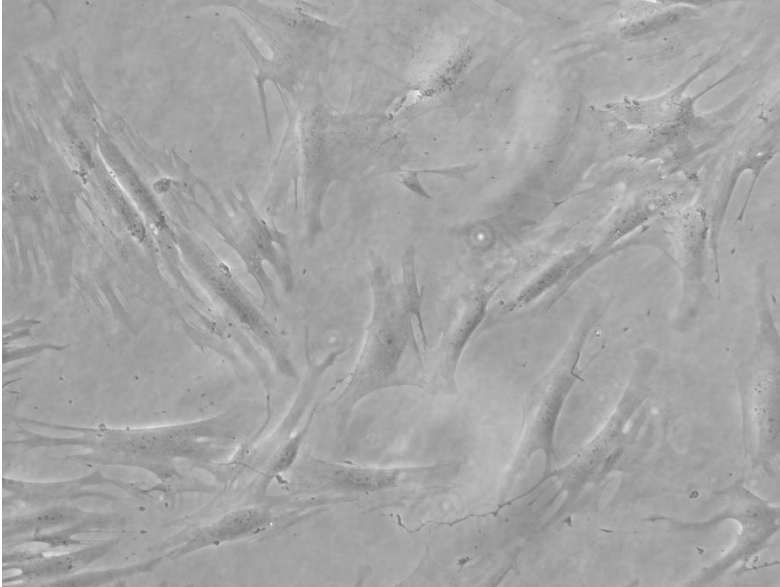
# Мезенхималне матичне ћелије (MSC)

- Костна срж, масно ткиво, периферна крв, пупчаник, амнионска течност,...



# Мезенхималне матичне ћелије

- Вретенаст изглед, добро адхерирају за пластику
- Медијум за раст (DMEM, FBS, L-glutamine, penicillin/streptomycin)
- Проблем: након изолације могуће присуство хетерогених ћелијских колонија

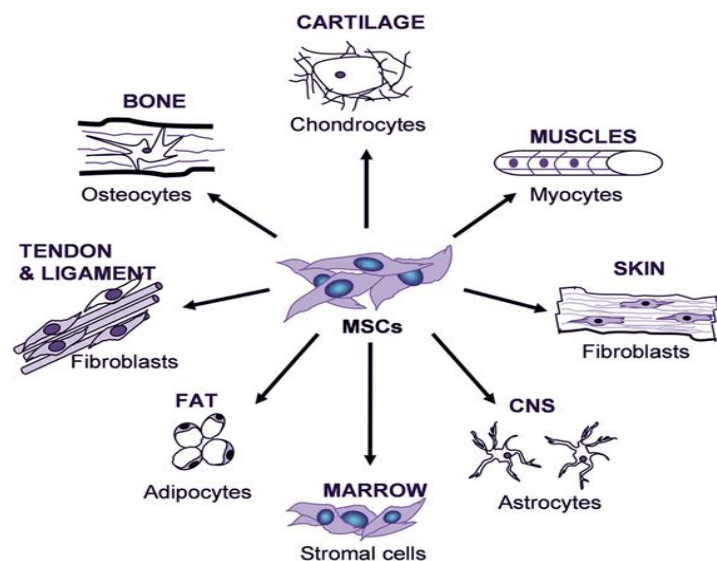
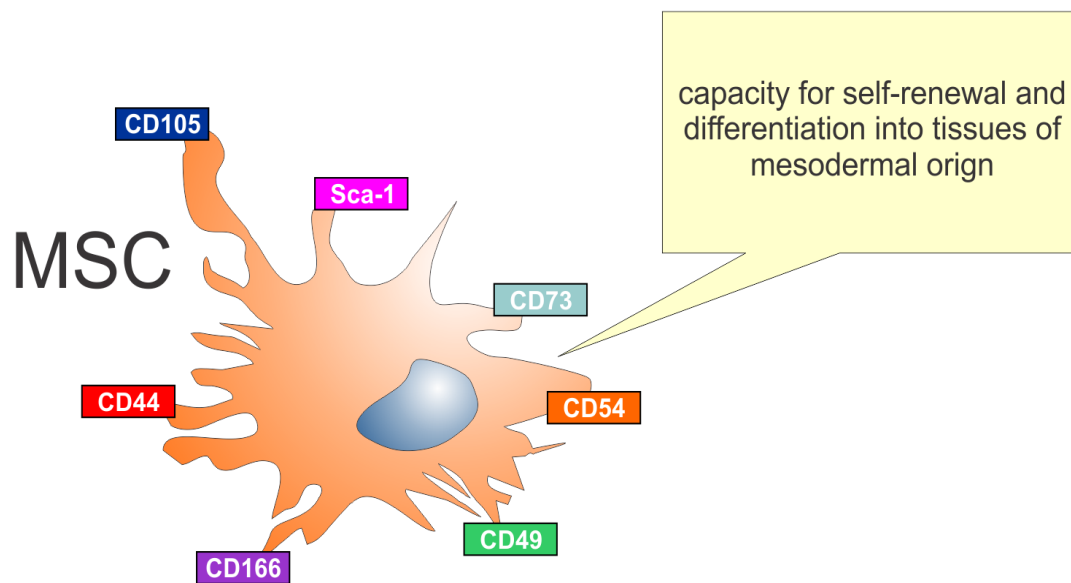




# Идентификација MSCs

MSC поседују способност самообнављања и диференцирања у мезодермалне ћелије.

Експримирају мембранске маркере: CD105, Sca-1, CD73, CD44, CD49, CD54, CD166,  
а не експримирају CD14, CD34, LFA-1, CD45 (карактеристичне за хематопоеетске ћелије), glycosphorin A (еритроцити), CD31 (тромбоцити и ендотелне ћелије).





# Терапијски потенцијал мезенхималних матичних ћелија

- Регенеративни потенцијал

MSCs могу да диферентују у:

Адипоците

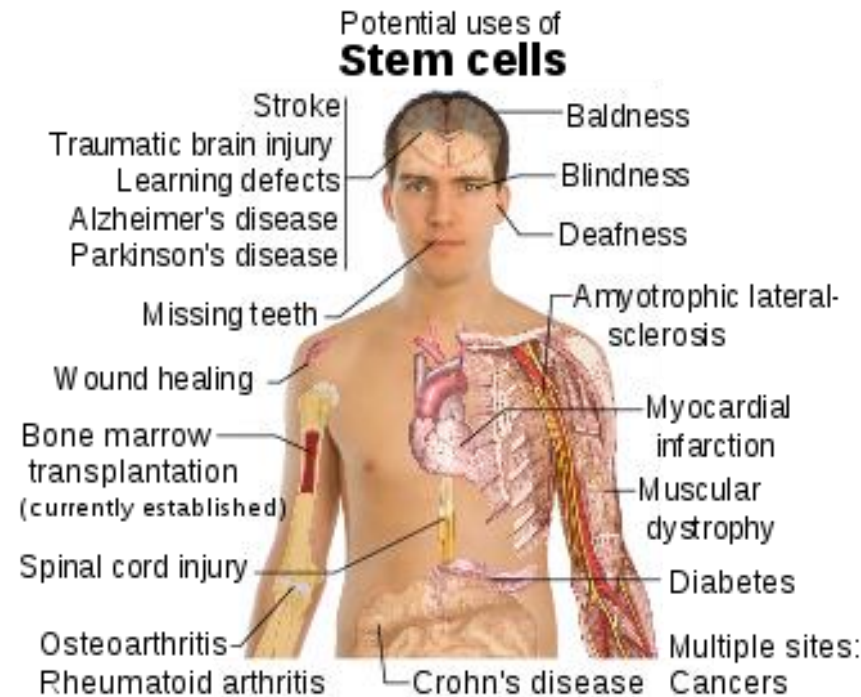
Хондроците

Остеобласте

$\beta$  ћелије панкреаса

Ендотелне ћелије

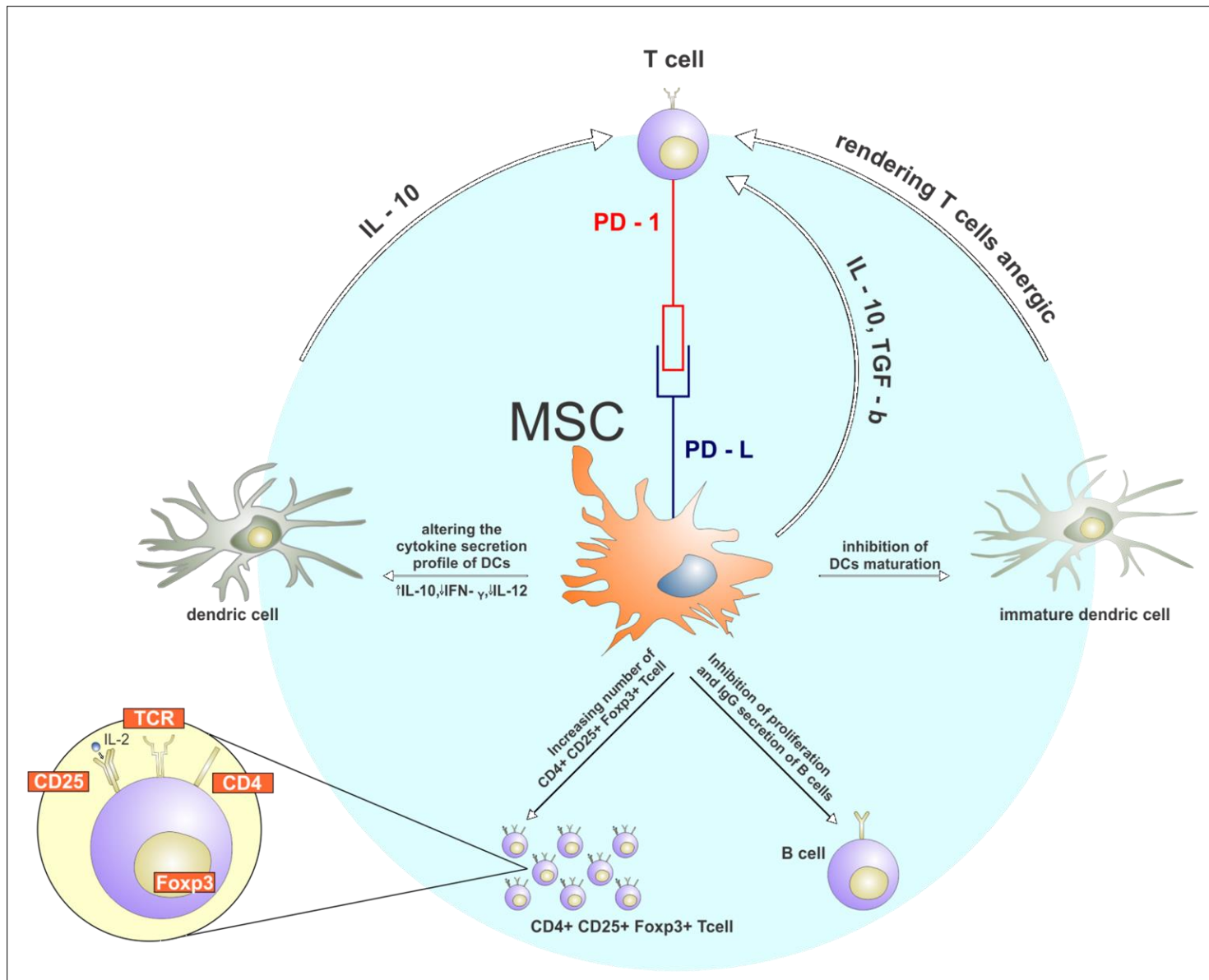
Миоците, кардиомиоците, ...



- Имуномодулаторне карактеристике

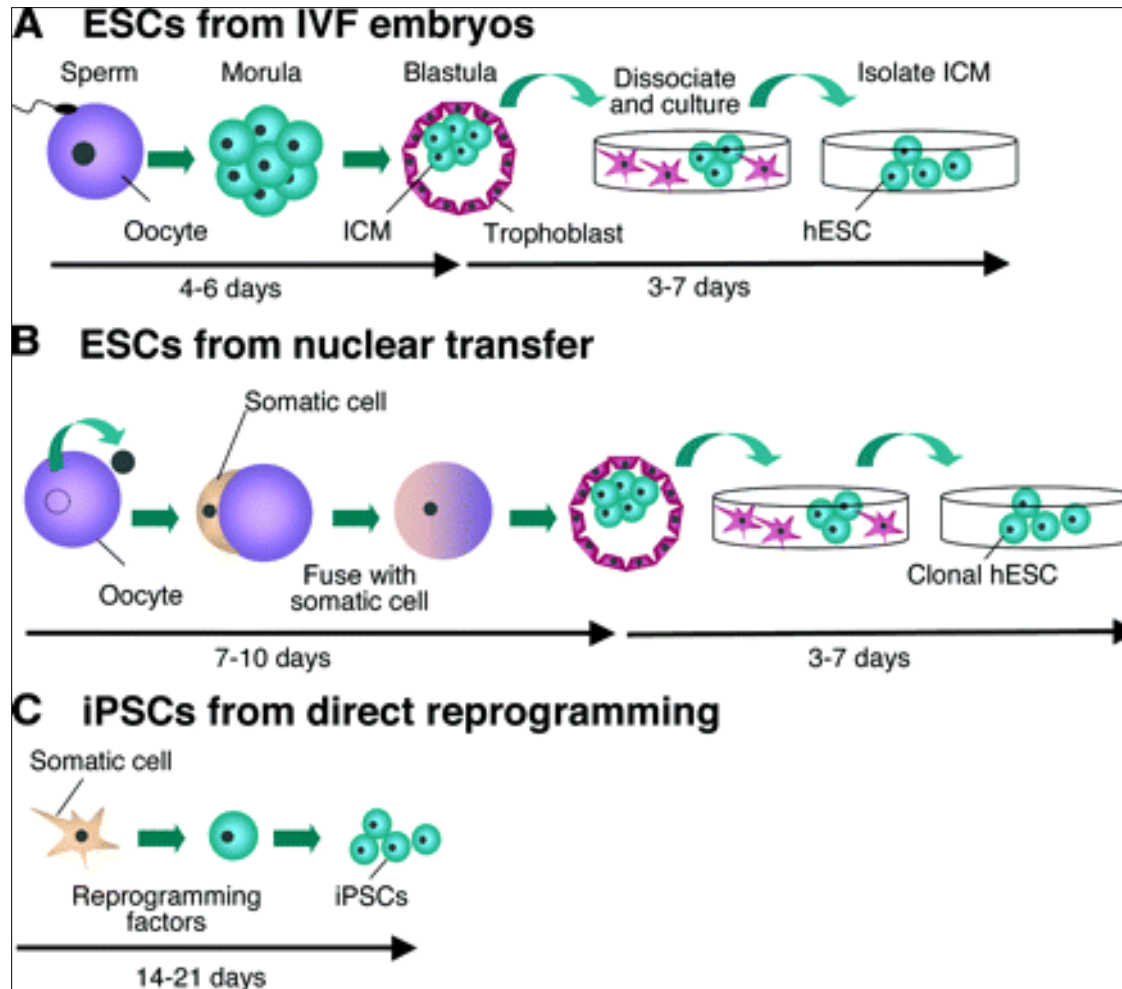
утицај на дендритичне ћелије, Т и В лимфоците, Т регулаторне ћелије

# Имуномодуладорна својства MSCs



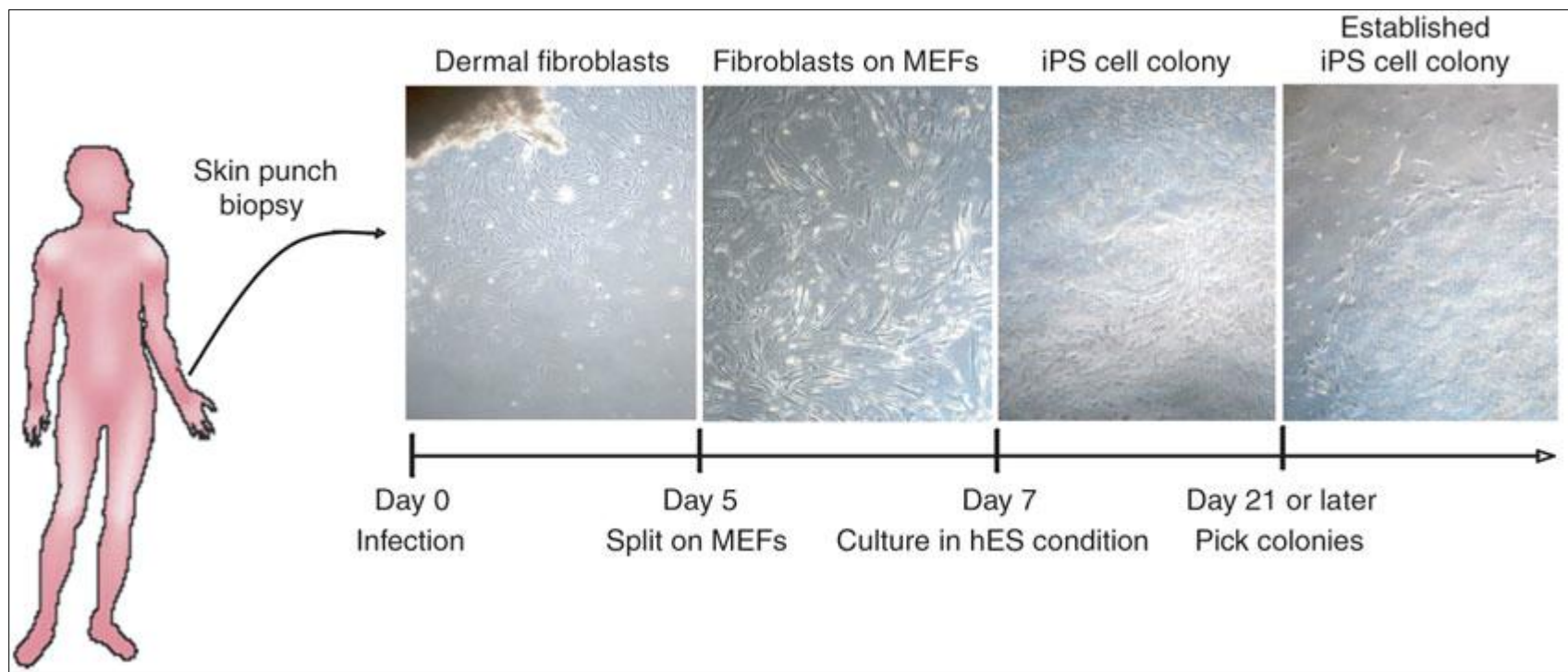
# Индуковане плурипотентне матичне ћелије (iPSCs)

репрограмиране адултне соматске ћелије

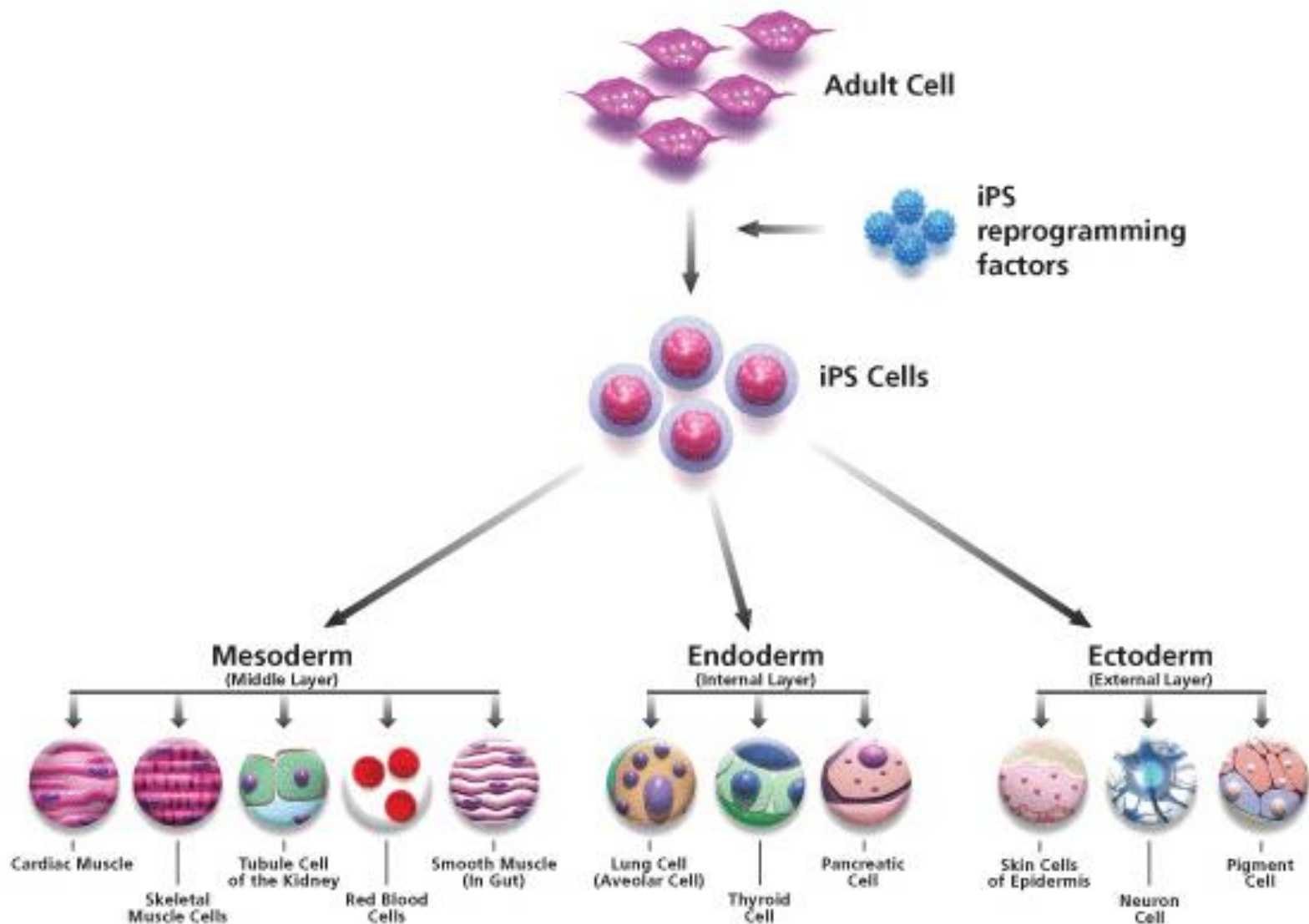


# Индуковане плурипотентне матичне ћелије (iPSCs)

Репрограмирање соматских ћелија у iPSCs индукованом експресијом гена Oct3/4, Sox2, c-Мус, Klf4 .



# Индуковане плурипотентне матичне ћелије (iPSCs): плурипотентност





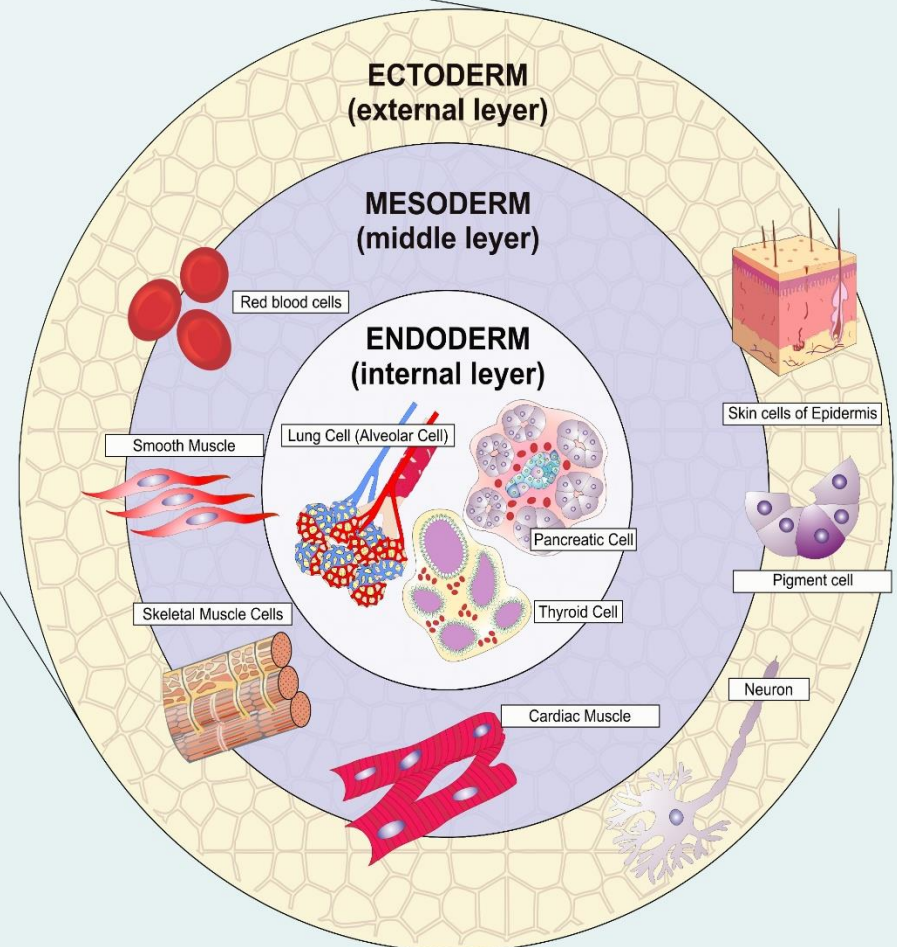
iPS

hESC

**ECTODERM**  
Skin Cells of Epidermis  
Neuron of Brain  
Pigment Cell

**MESODERM**  
Cardiac Muscle  
Skeletal Muscle Cells  
Tubule Cell of the Kidney  
Red Blood Cells  
Smooth Muscle (in Gut)

**ECTODERM**  
Skin Cells of Epidermis  
Neuron of Brain  
Pigment Cell



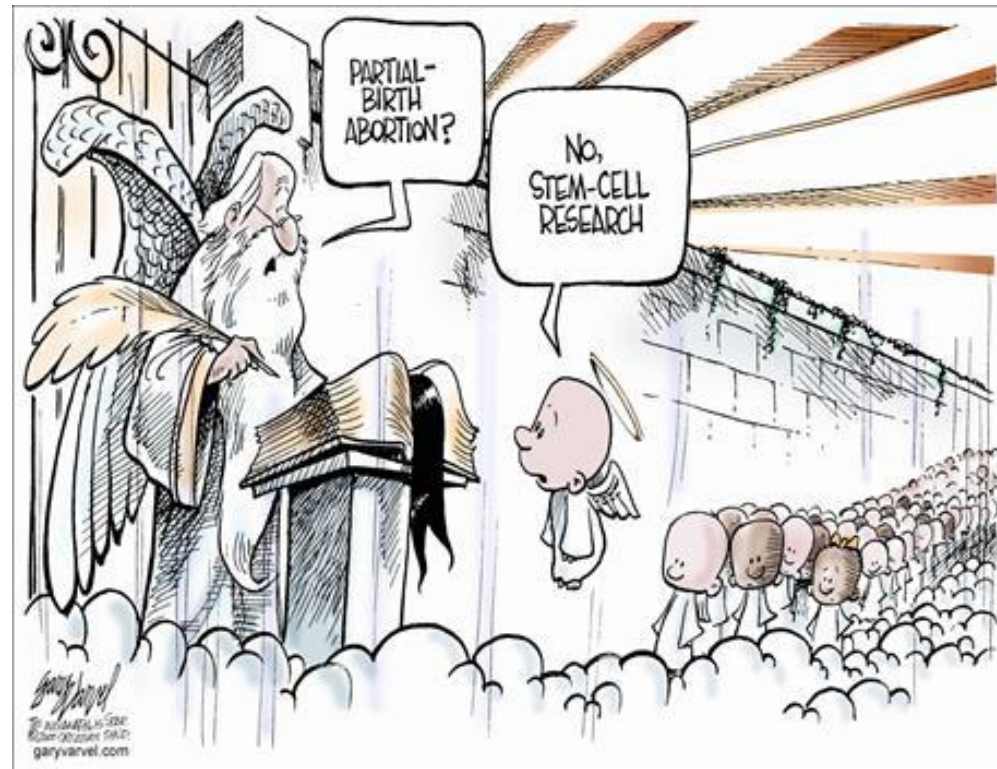
# Проблеми за терапијску примену ESCs и iPSCs

Нестабилан кариотип и малигни потенцијал (ESCs и iPSCs)

Одбацивање ћелија услед имунског одговора (ESCs)

Тешкоће у пропагацији, ран улазак у „*senescence*” (iPSCs)

Етички разлози (ESCs)



# Класификација матичних ћелија у односу на функцију и извор изолације

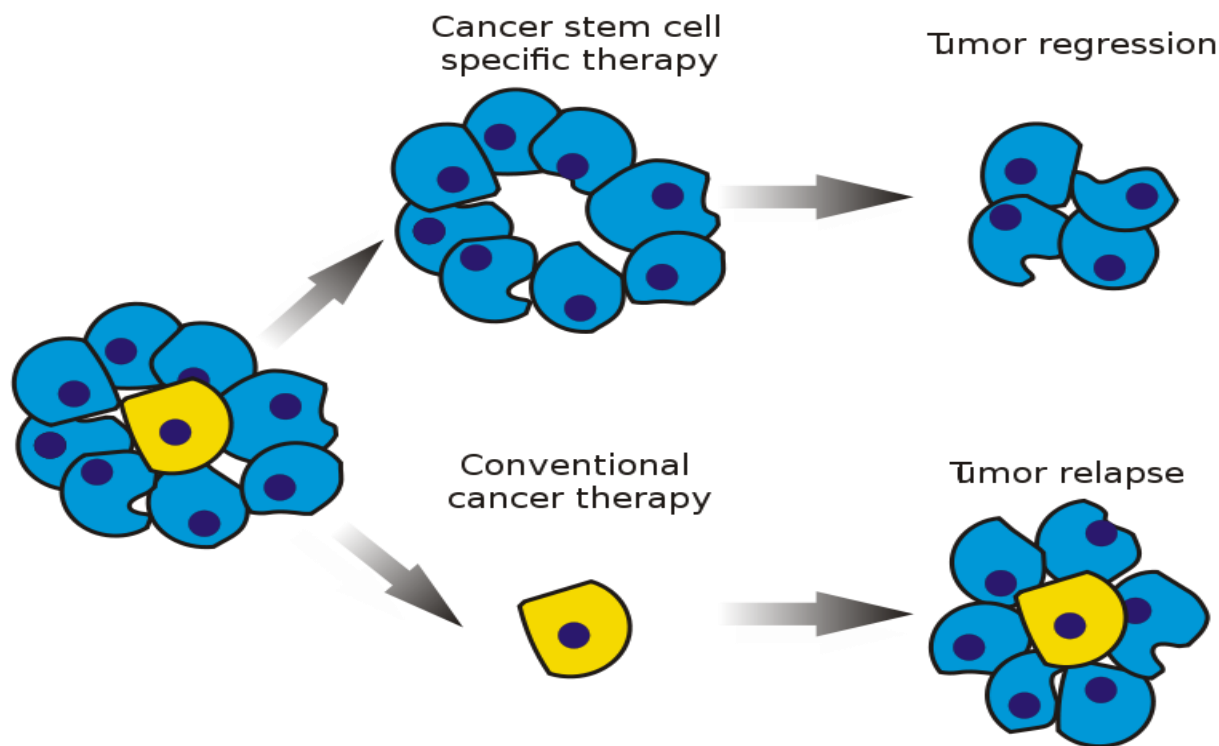
МАТИЧНЕ ЋЕЛИЈЕ у односу на функцију		МАТИЧНЕ ЋЕЛИЈЕ у односу на извор изолације		
нормалне	канцерске	ембрионалне	феталне	адултне

# Матичне ћелије тумора

- Матичне ћелије тумора (енгл. *Cancer stem cells* CSCs) се називају *туморским* јер се изолују из тумора, а *матичним* јер, као и нормалне матичне ћелије, имају способност самообнављања и диференцијације у различите типове ћелија.
- Чине субпопулацију туморских ћелија које су одговорне за настанак рецидива и метастаза тумора .

# Матичне ћелије тумора-терапија

- Познато је да конвенционална хемотерапија делује на диференциране ћелије и ћелије у процесу диференцијације, али не и на CSCs, те стога долази до рецидива

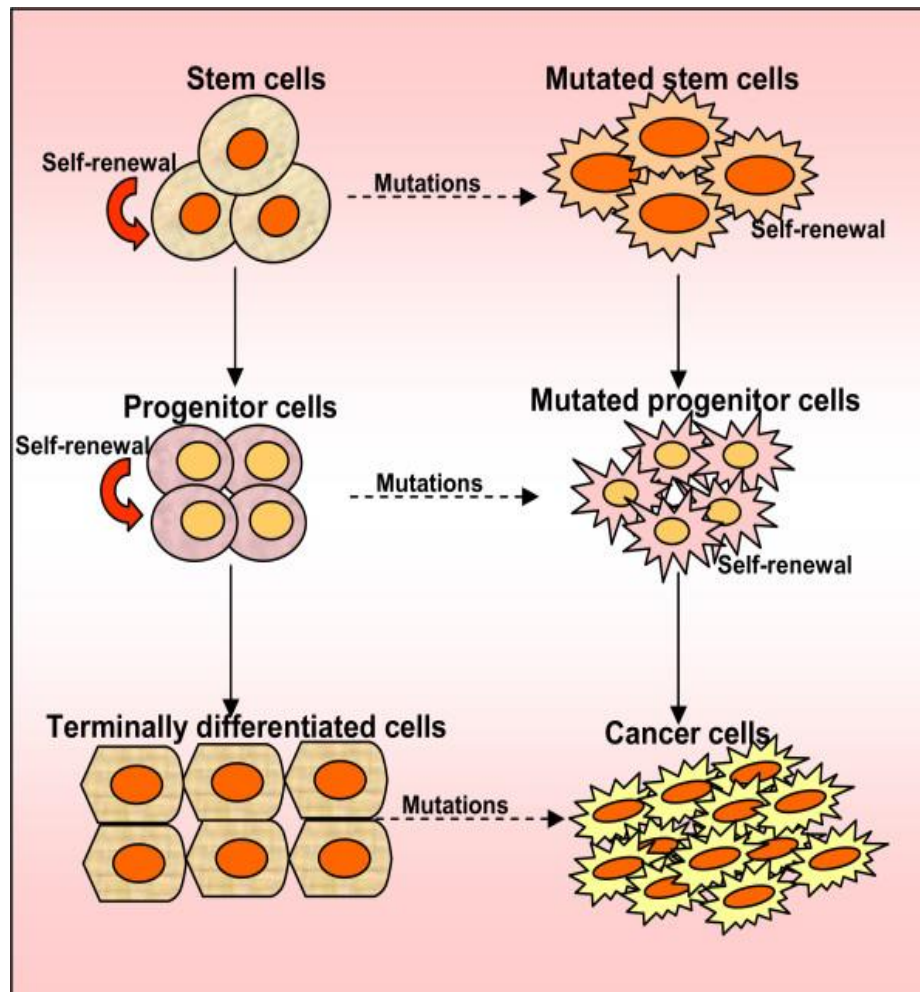




# Матичне ћелије тумора

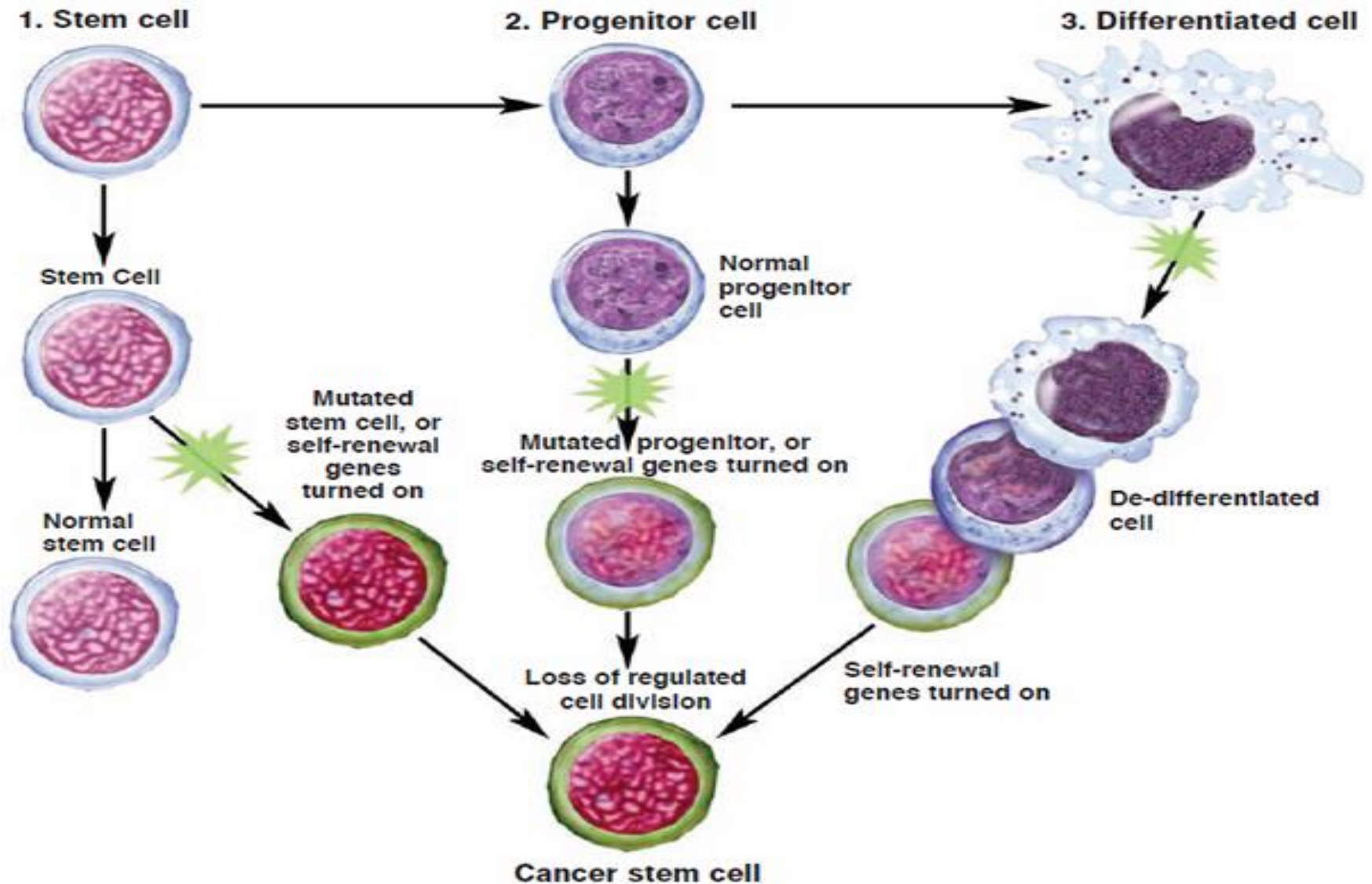
- Bonnet и Dick су први, 1997. године у *Nature Medicine*, објавили рад о матичним ћелијама тумора.
- Они су изоловали леукемијске ћелије које експримирају површински маркер **CD34**, а недостаје им **CD38**.
- аутори су потврдили да ова субпопулација **CD34+/CD38-** ћелија може иницирати настанак тумора код NOD/SCID мишева.

# Порекло матичних ћелија тумора

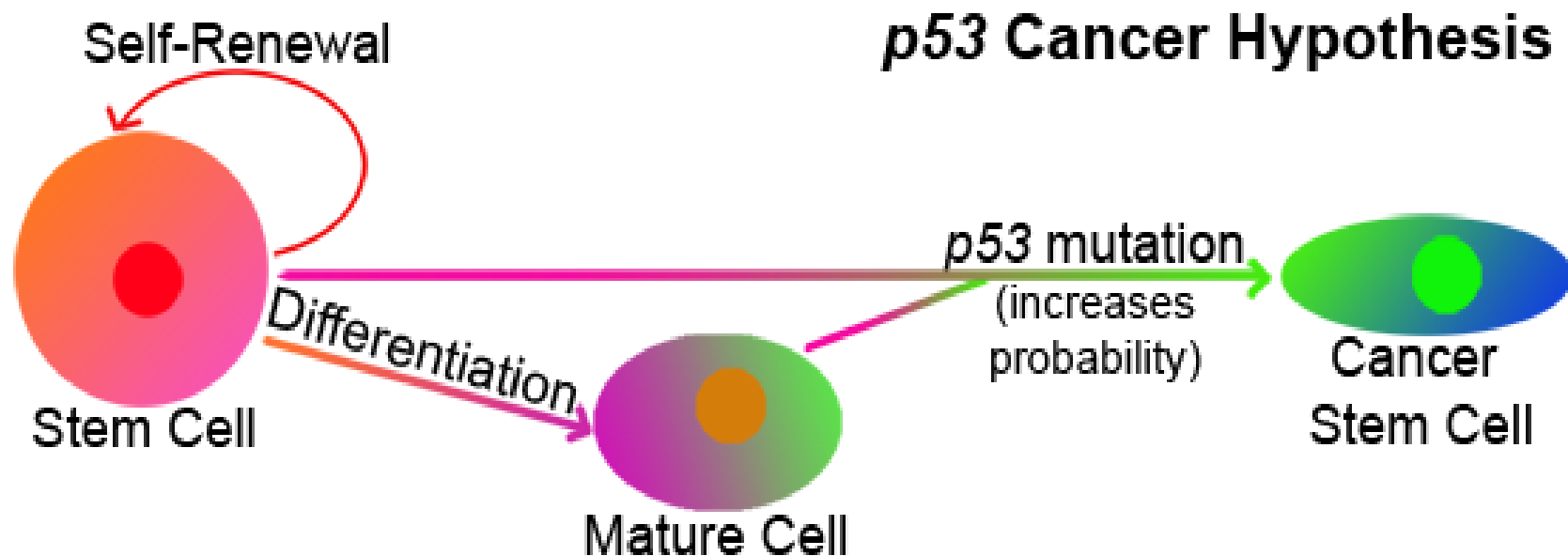
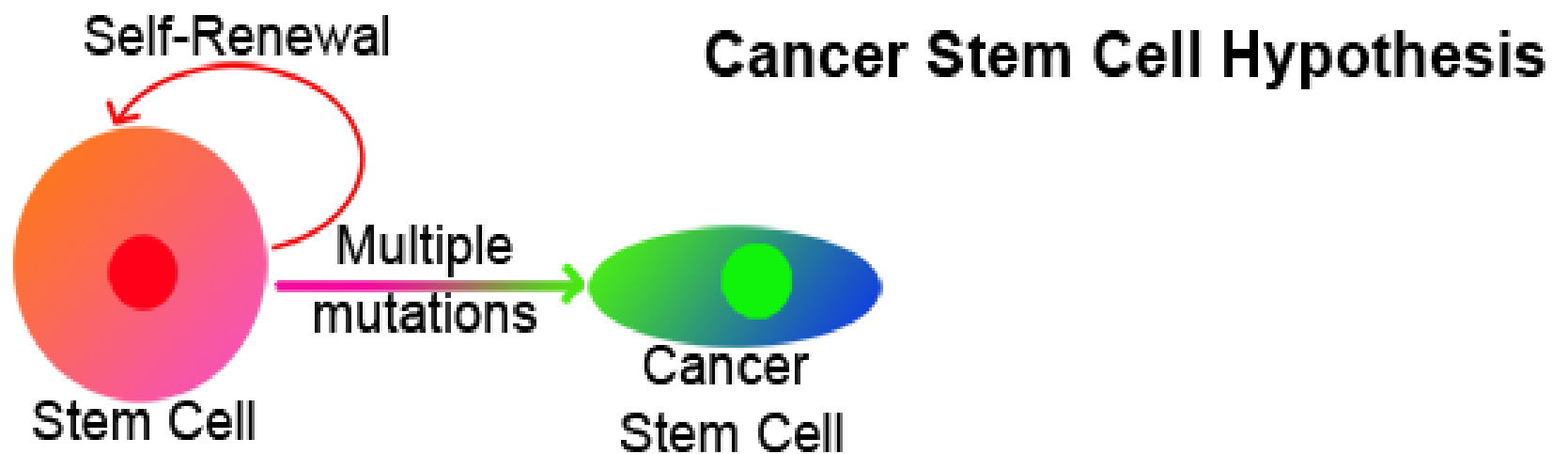


Порекло CSCs из: 1. нормалних матичних ћелија, 2. прогениторских ћелија, 3. терминално диференцираних ћелија

# CSCs настају мутацијом матичних ћелија, прогениторских ћелија и терминално диференцираних ћелија



# Хипотезе о настанку матичних ћелија тумора



# Хипотезе о настанку матичних ћелија тумора

- Постоје две хипотезе о настанку матичних ћелија тумора:  
Према првој, „Хипотези канцерских матичних ћелија“ (енгл. *Cancer stem cell hypothesis*), канцерске матичне ћелије настају само конверзијом из матичних ћелија због мултиплих мутација. Дакле, према овој теорији туморогенза почиње нагомилавањем мутација у једној врсти ћелија (матичним ћелијама из којих настају туморске матичне ћелије, односно тумор).

Према другој, „p53 канцерској хипотези“ (енгл. *p53 Cancer hypothesis*), услед мутације и поремећене функције p53, из било које ћелије организма (а не само из матичних) могу настати туморске матичне ћелије, односно тумор.

Дакле, резимирано, према првој теорији туморске матичне ћелије и тумор могу настати само мутацијама у матичним ћелијама, а према другој – све ћелије организма имају потенцијал за канцерогенезу.

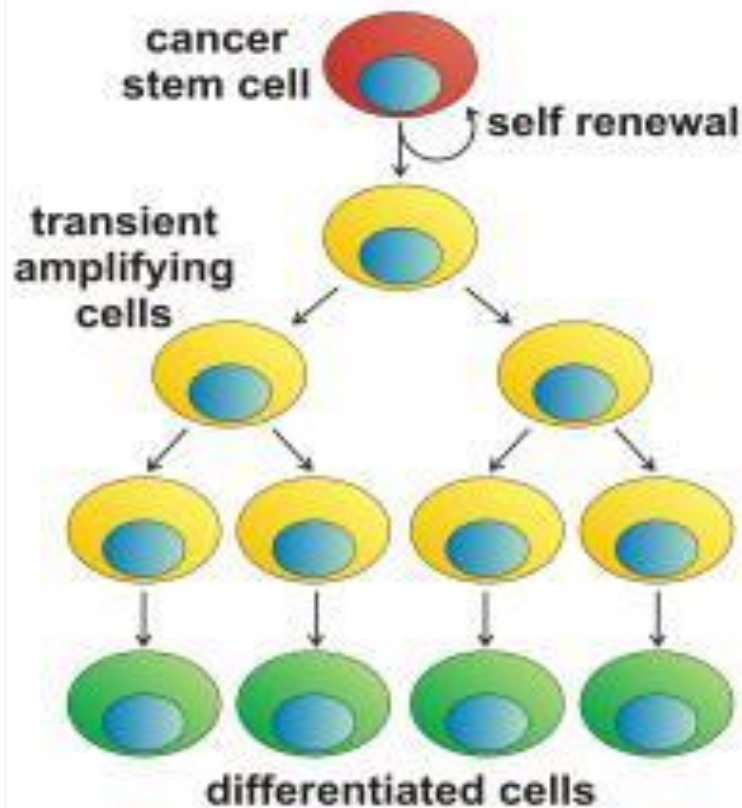


# Два модела раста тумора

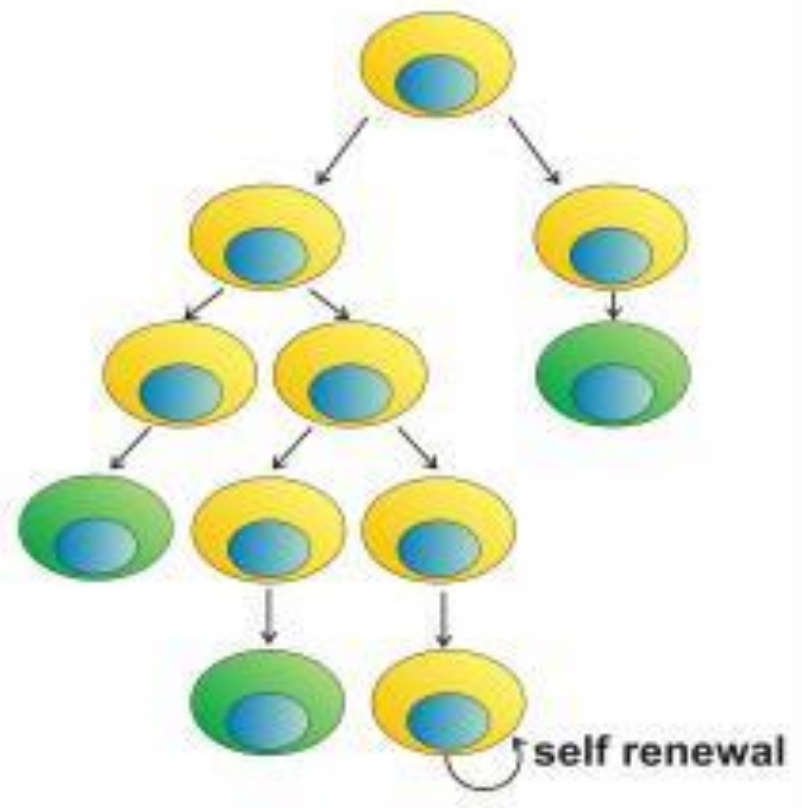
- Према првој теорији туморско ткиво расте као и друга нормална ткива организма. Односно, од матичне ћелије (која је хијерархијски највиша) настају прогениторске ћелије, а од њих диференциране или специјализоване ћелије. При томе, матичне ћелије имају способност самообнављања. Односно деобама повећава се број и матичних ћелија и ТА (транзитних појачавајућих ћелија). ТА се деле неколико пута, а затим дају диференцирану ћелију која више нема могућност дељења. Значи, према овој теорији формирање тумора је организован процес где од туморске матичне ћелије настају све ћелије тумора.
- За разлику од претходне теорије, према стохистичкој- свака ћелија тумора има могућност и деобе и самообнављања. Дакле, формирање тумора није организован и уређен процес и по принципу случајности (стохистички) долази или до диференцијације или самообнављања ћелија тумора.
- Вероватно да су и једна и друга теорија тачне, у зависности од врсте тумора. Односно, настанку неких тумора вероватно одговара прва теорија, а неким друга стохистичка теорија.

# Модел туморских матичних ћелија и СТОХИСТИЧКИ МОДЕЛ

**The cancer stem cell model**

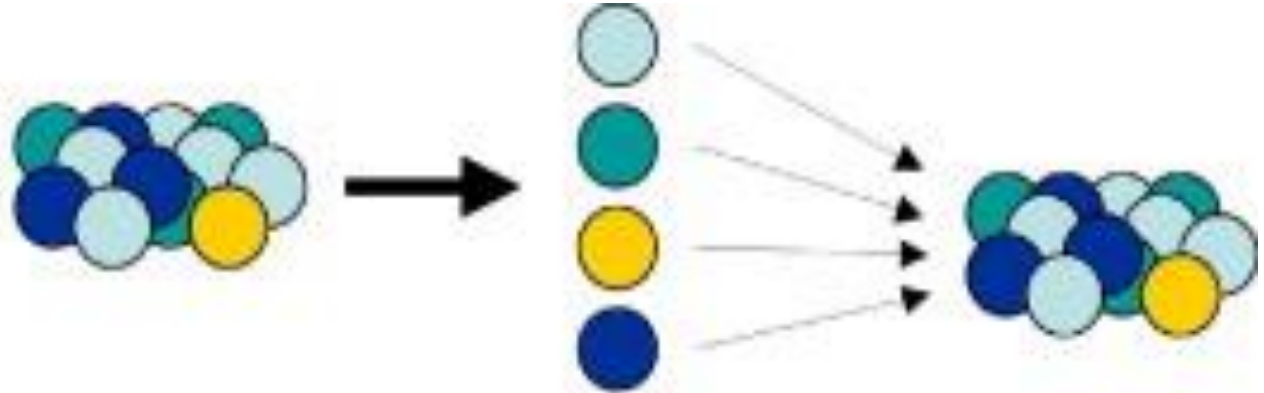


**The stochastic model**

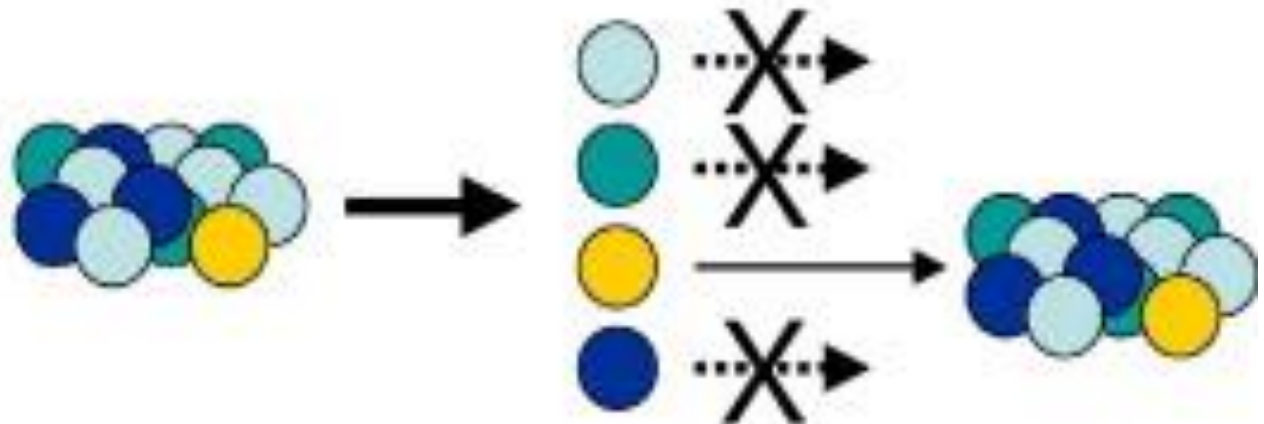


# Модел туморских матичних ћелија и СТОХИСТИЧКИ МОДЕЛ

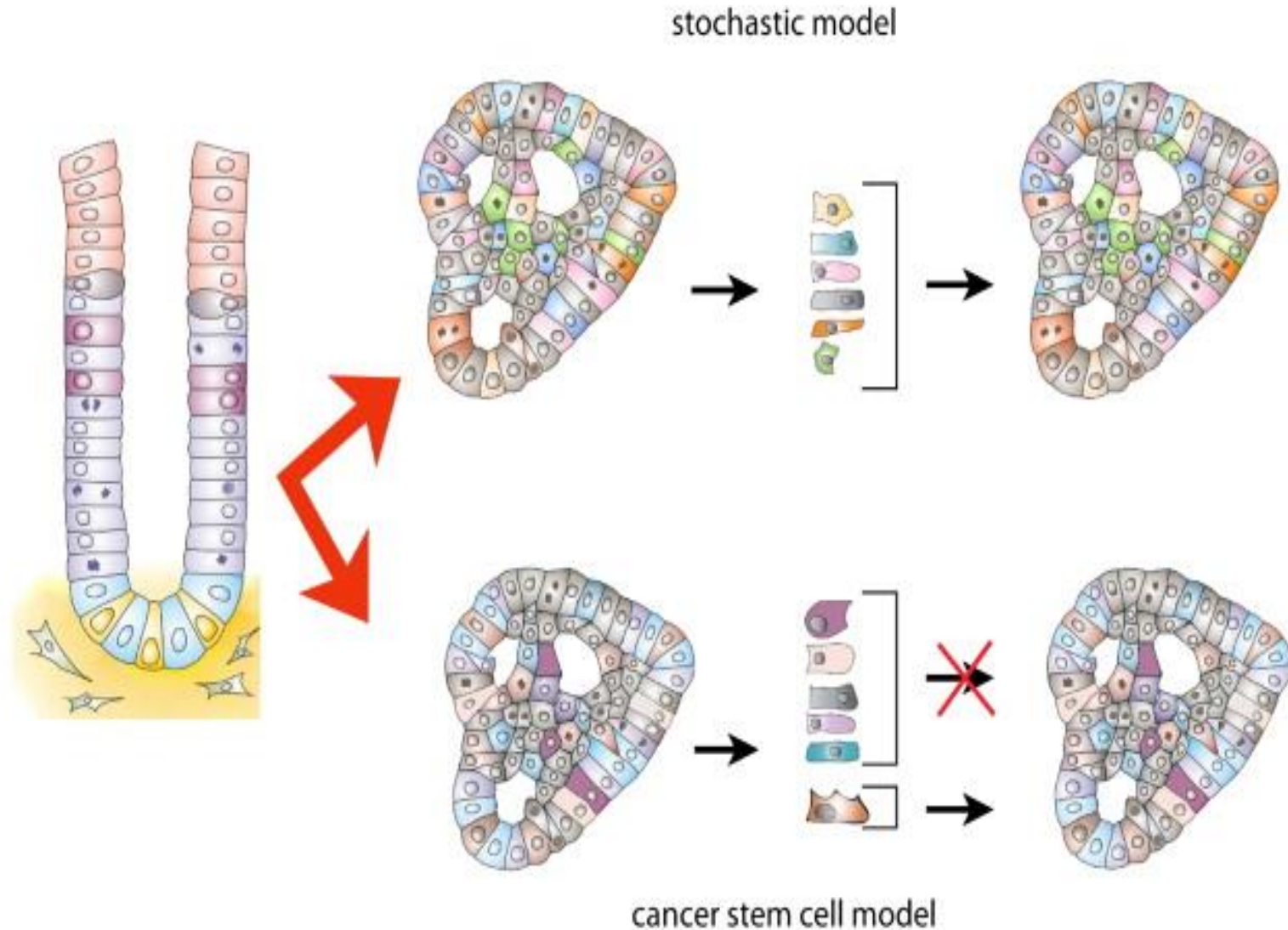
Random  
Stochastic



Hierarchical  
Cancer stem cell



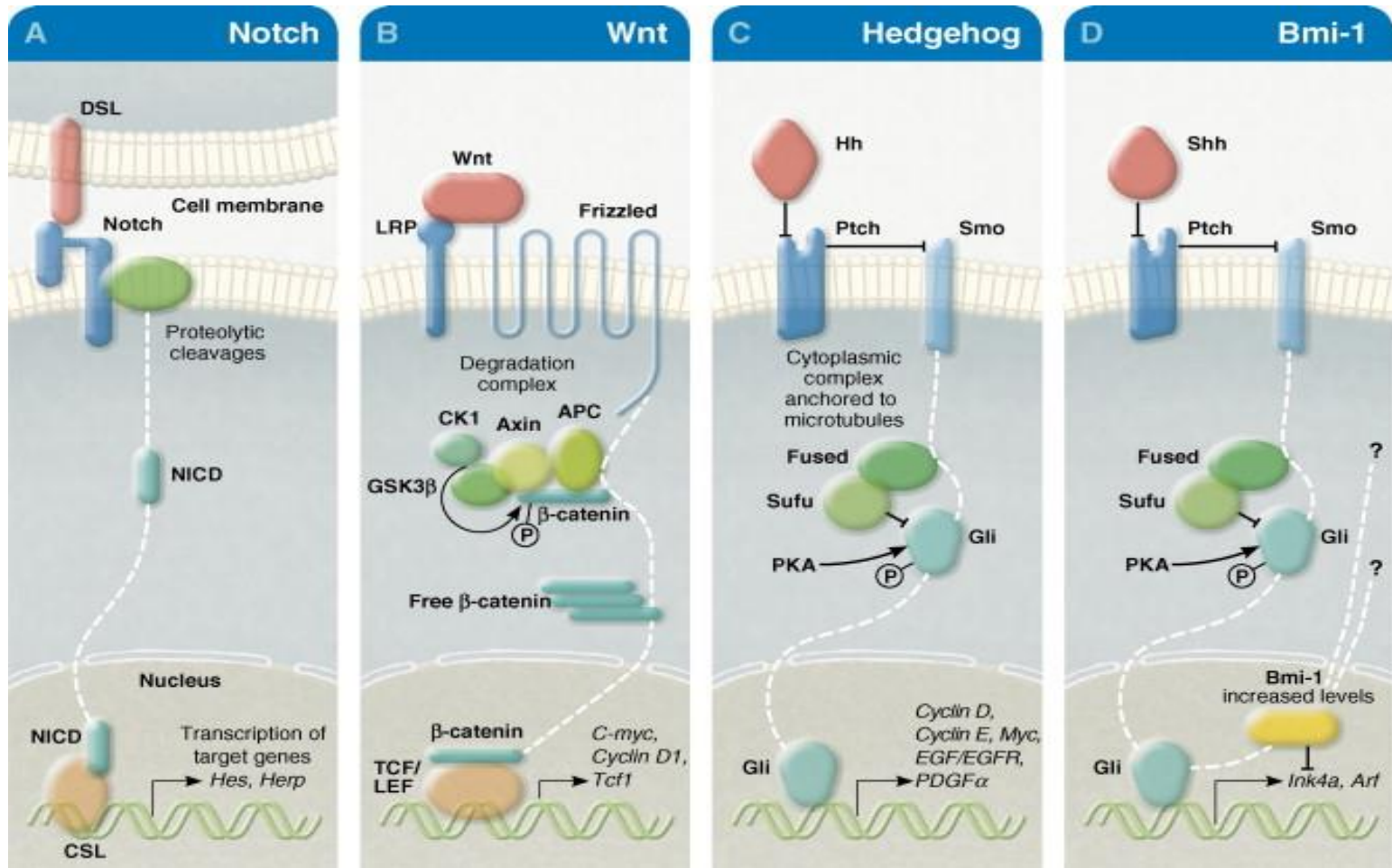
# Модел туморских матичних ћелија и стохистички модел у танком цреву





# Сигнални путеви матичних ћелија тумора

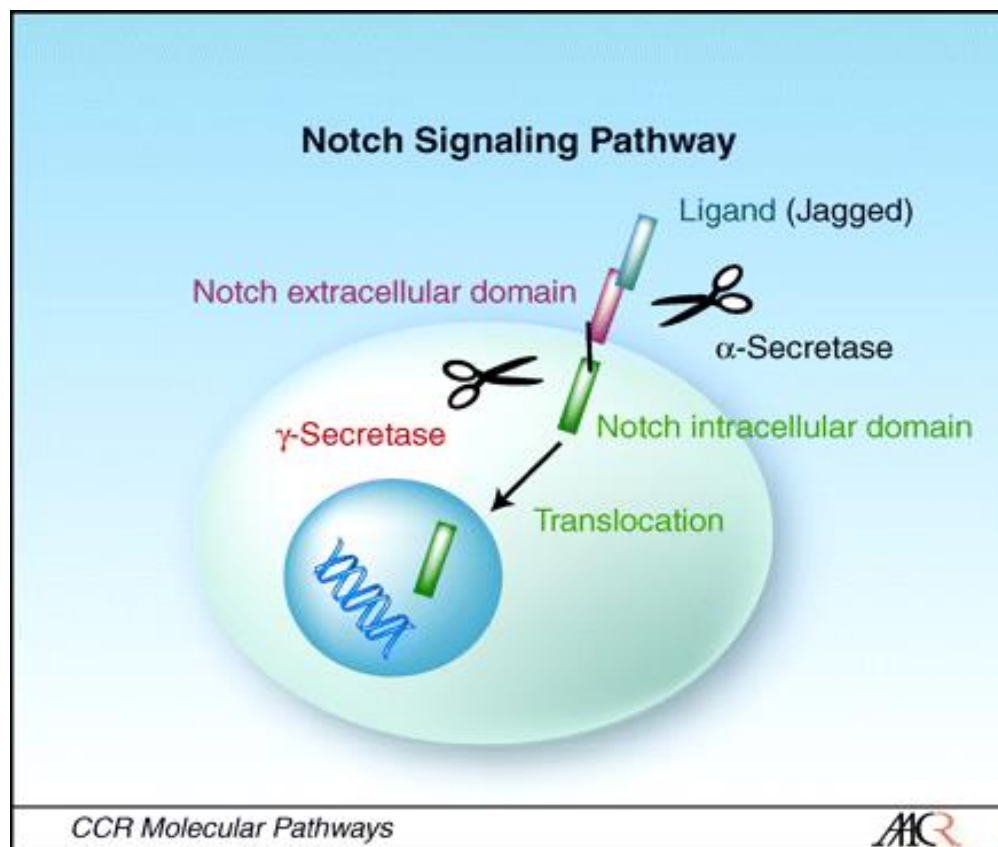
- Најважнији сигнални путеви за канцерске матичне ћелије су Notch и Wnt сигнални пут, али последња истраживања указују и на значај Hedgehog и Bmi-1 сигналних путева.





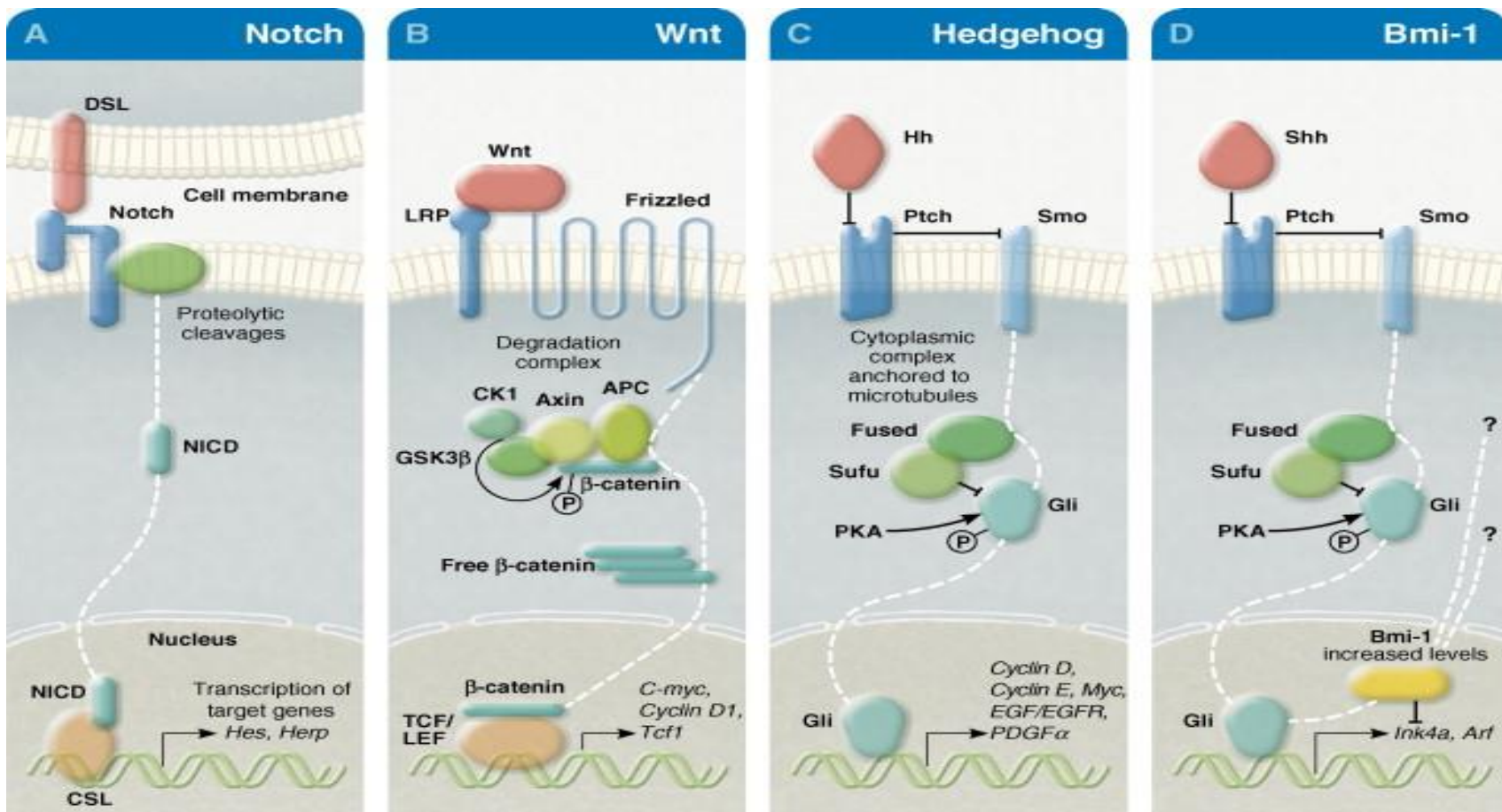
# Notch сигнални пут

- По везивању DSL лиганада (Delta, Serrate, Lag-2) за Notch трансмембрански рецептор суседне ћелије, долази до протеолитичке разградње рецептора и ослобађања унутарћелијског домена NICD (енгл. *Notch Intra-Cellular Domain*) који се премешта у једро.



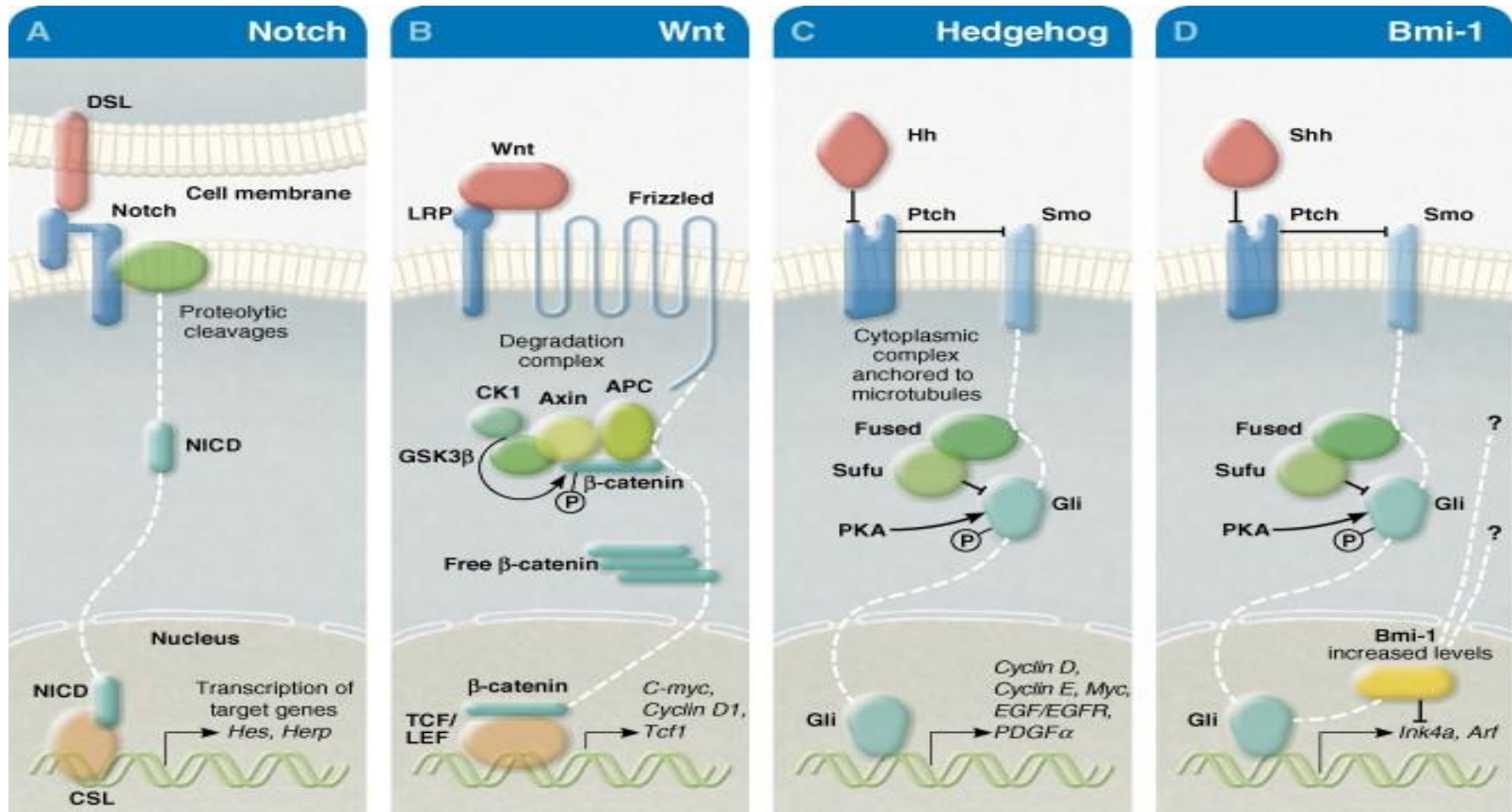
# Notch сигнални пут

- По транслокацији у једро NICD интерагује са ДНК везујућим протеином CSL. Након тога CSL се „претвара“ у транскрипциони активатор Notch циљних гена (*Hes* и *Herp*) чијом активацијом ћелија остаје у недиференцираном облику.



# Wnt сигнални пут

- Везивањем Wnt протеина за површински *Frizzled* рецептор доводи до активације DSH протеина ( *Dishevelled family proteins*) који има улогу да инхибише комплекс axin/GSK-3/APC.  $\beta$ -catenin улази у једро и интерагује са транскрипционим факторима из фамилије TCF/LEF и утиче на експресију одређених gena



# Hedgehog сигнални пут

Започиње везивањем Hedgehog протеина (Sonic Hedgehog (Shh), Indian Hedgehog (Ihh), Desert Hedgehog (Dhh)) за трансмембрански Patched рецептор чиме инхибирају његову активност, што за последицу има фосфорилацију и транслокацију Smoothened протеина на површину ћелије.

У унутарћелијском спровођењу сигнала са Smoothened протеина учествују Gli протеини чија се разградња спречава у присуству Hedgehog протеина.

Gli протеина који се даље транспортују у једро где активирају транскрипцију гена.

