

# Primjena pluripotentnih matičnih stanica u terapiji

---

Garmaz, Lucija

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:605169>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-06**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Lucija Garmaz

**Primjena pluripotentnih matičnih stanica u  
terapiji**

Završni rad

Zagreb, 2023.

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Lucija Garmaz

**Application of pluripotent stem cells in  
therapy**

Bachelor thesis

Zagreb, 2023.

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu studijskog programa preddiplomski studij Molekularne biologije na Zavodu za molekularnu biologiju Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Petre Korać.

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

---

Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Završni rad

## Primjena pluripotentnih matičnih stanica u terapiji

Lucija Garmaz

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Pluripotentne matične stanice sposobne su diferencirati se u sve tipove tkiva nekog organizma. Dije se na embrijske (hESC, od eng. *human embryonic stem cells*) i inducirane pluripotentne matične stanice (iPSC, od eng. *induced pluripotent stem cells*). hESC se dobivaju iz blastociste predimplantacijskog embrija, dok se iPSC dobivaju reprogramiranjem somatskih stanica. Matične stanice se koriste primarno za stvaranje životinjskih modela bolesti kako bi se razumjeli mehanizmi bolesti, što je prvi korak na putu do konačnog cilja – oblikovanja terapije. Degenerirano tkivo pacijenata oboljelih od neizlječivih bolesti, bilo da je riječ o nekoj neurološkoj ili kardiovaskularnoj bolesti, smatra se da bi se moglo nadomjestiti poticanjem diferencijacije pluripotentnih matičnih stanica i unosom u oboljele. Neuron i kardiomiociti samo su neki od staničnih tipova u koje se mogu diferencirati pluripotentne stanice. Novija istraživanja pokazuju da je moguće da će se u bližoj budućnosti cijeli organi oblikovati iz iPSC. iPSC su češće korištene nego hESC primarno zbog etičkih razloga – hESC je potrebno izolirati iz embrija, što je za embrij pogubno. Smatra se da bi iPSC mogle revolucionarizirati kliničku terapiju u budućnosti koja je pred nama.

Ključne riječi: hESC, iPSC, terapija, reprogramiranje stanica, transplantacija  
(30 stranica, 6 slika, 81 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)  
Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici.

Mentor: izv. prof. dr. sc. Petra Korac

# BASIC DOCUMENTATION CARD

---

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Bachelor thesis

## Application of pluripotent stem cells in therapy

Lucija Garmaz

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Pluripotent stem cells differentiate into all tissue types of an organism. They can be categorized into embryonic (hESC) and induced pluripotent stem cells (iPSC). hESCs are isolated from blastocysts of pre-implantation embryos, while the source of iPSCs are reprogrammed somatic cells. In therapy, stem cells are primarily used for disease modeling, to understand disease mechanisms, which is the first step towards reaching the ultimate goal – therapy design. Degenerated tissue of the patients suffering from untreatable diseases, such as many neurological or cardiovascular diseases, is believed to be able to be replaced by stimulating the differentiation of pluripotent stem cells and inserting them into the patients. Neurons and cardiomyocytes are just some of the cell types in which pluripotent cells can differentiate and thus compensate for degenerated tissue. New research indicates that it is possible that soon entire organs could be formed only by using iPSCs. iPSCs are favored over hESCs primarily because of ethical reasons – hESCs are isolated from embryos, which is fatal for the embryo. iPSCs are believed to be stem cell type that can revolutionize clinical therapy in the future.

Keywords: hESC, iPSC, therapy, cell reprogramming, transplantation  
(30 pages, 6 figures, 81 references, original in: croatian)  
Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: izv. prof. dr. sc. Petra Korac

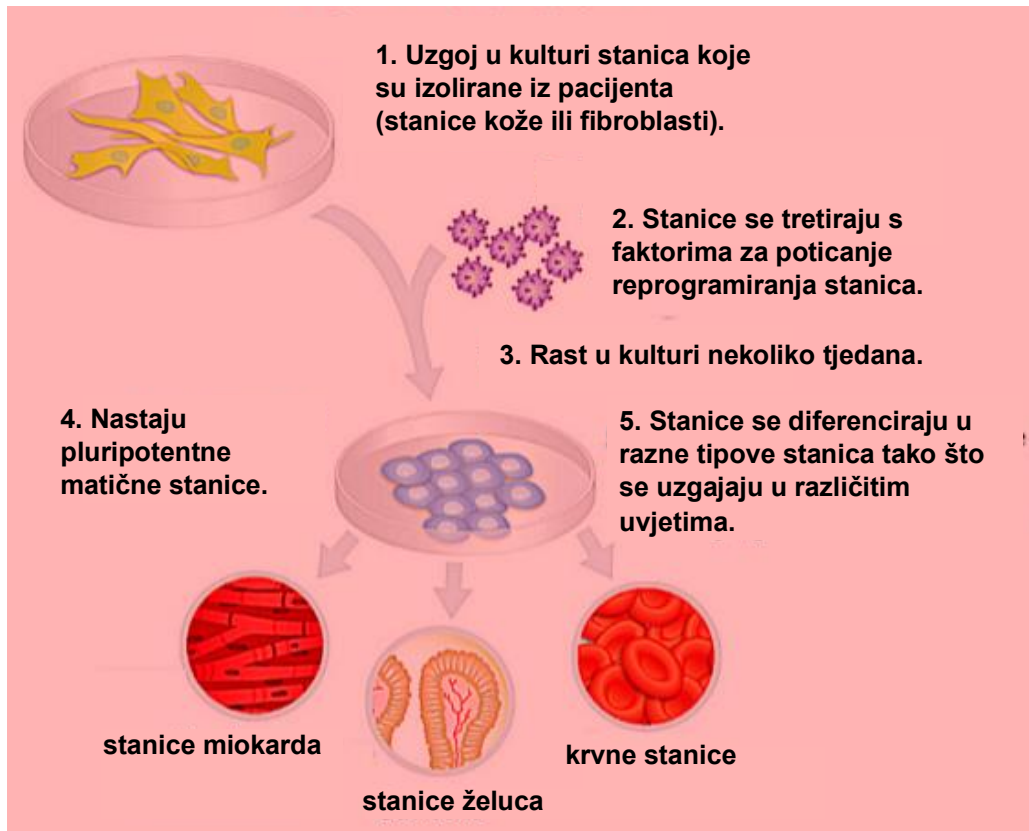
# Sadržaj

1. Uvod.....	1
2. Podjela matičnih stanica.....	2
3. Ljudske embrijske matične stanice .....	5
4. Primjena ljudskih embrijskih matičnih stanica u terapiji.....	7
4.1. Degenerativne bolesti.....	8
4.2. Kardiovaskularne bolesti.....	10
4.3. Hematološki poremećaji.....	10
4.4. Bolesti imunosnog sustava .....	11
5. Inducirane pluripotentne matične stanice.....	12
6. Primjena induciranih pluripotentnih matičnih stanica u terapiji .....	14
6.1. Degenerativne bolesti.....	14
6.2. Kardiovaskularne bolesti.....	16
6.3. Hematološki poremećaji.....	17
6.4. Gubitak funkcije organa .....	18
7. Etička pitanja .....	19
8. Zaključak .....	19
9. Literatura .....	20
10. Životopis .....	30

# 1. Uvod

U današnje vrijeme matične stanice pojam su koji nije ograničen samo na znanstvenu nišu, već se s njime susrećemo svaki dan. Matične stanice su nediferencirane, ali imaju sposobnost diferenciranja u sve vrste stanica koje grade neki organizam. Postoje u embrijima, ali i u brojnim tkivima svih odraslih jedinki, pa tako i ljudi – u koštanoj srži, mozgu, jetri, koži i cirkulaciji (Wobus & Boheler, 2005). Ovisno o tkivu u kojem se nalaze stanice su različitih stupnjeva potentnosti, odnosno sposobnosti diferencijacije – od totipotentnih pa do unipotentnih. Pluripotentne matične stanice sposobne su tvoriti sva tkiva nekog organizma. Embrijske pluripotentne matične stanice zapravo možemo pronaći samo u masi stanica koje tvore embrij u ranoj fazi. Inducirane pluripotentne matične stanice primarno su bile somatske stanice koje se specifičnim metodama reprogramiranja stanica dediferencira tako da na kraju tretmana imaju sve odlike i obilježja pluripotentnih matičnih stanica. Nakon reprogramiranja moguće je dobivene stanice diferencirati ponovno tako da tvore sva tkiva nekog organizma (Slika 1). Uspješno reprogramiranje stanica donijelo je veliki pomak u istraživanju matičnih stanica jer je teško dostupne embrijske matične stanice bilo moguće zamijeniti induciranim pluripotentnim matičnim stanicama koje imaju gotovo identične karakteristike, a rezultati istraživanja ne pokazuju funkcionalne razlike ovih stanica prilikom istraživanja njihovih primjena. Tako se sve ostvarivijom čini budućnost u kojoj će se matične stanice primjenjivati za liječenje raznih bolesti – od kardiovaskularnih pa do degenerativnih bolesti i zatajenja organa. U ovom radu sažet će se dosadašnja saznanja o embrijskim matičnim stanicama te induciranim pluripotentim stanicama i njihovoj primjeni u medicinske svrhe.





**Slika 1.** Prikaz reprogramiranja somatskih stanica kako bi se razvile pluripotentne matične stanice koje imaju sposobnost razvitka u brojna tkiva (preuzeto i prilagođeno iz Aboul-Soud et al., 2021).

## 2. Podjela matičnih stanica

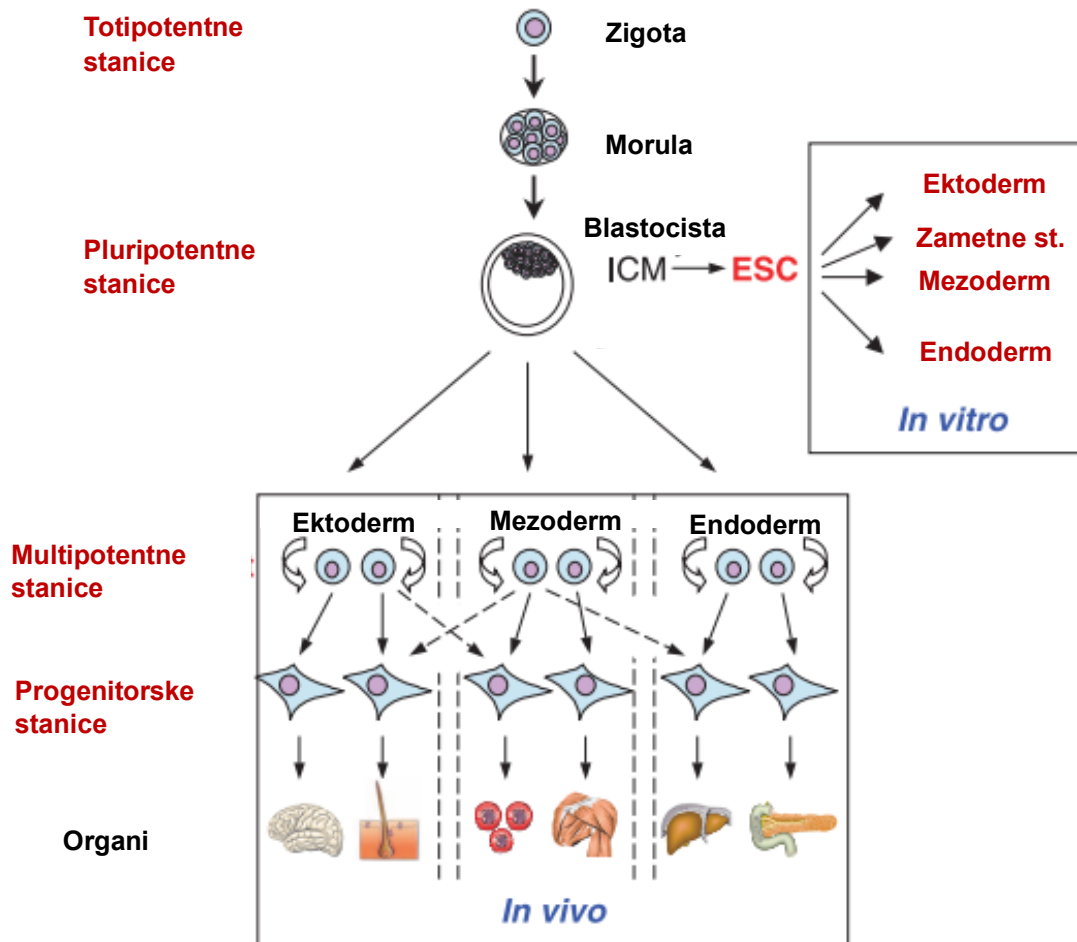
Totipotentnost, koju definiramo kao sposobnost stanice da se iz nje diferencira čitavi embrij i izvanembrijske strukture, javlja se od stadija zigote pa sve do osmostanične morule, a takve matične stanice nazivamo totipotentne. Totipotentne matične stanice imaju najveću sposobnost diferencijacije među svim matičnim stanicama (Zakrzewski et al., 2019).

Totipotentna morula se dalje razvija do blastociste. Blastocista se sastoji od dvije vrste stanica: vanjske tvore trofoblast, dok unutarnje tvore „unutarnju masu stanica“ (ICM, od eng. *inner cell mass*) koju nazivamo embrioblast, dok pojedine stanice embrioblasta nazivamo embrijske matične stanice (Zakrzewski et al., 2019). Stanice blastociste više nemaju obilježje totipotentnosti, već su pluripotentne – iz njih se razvijaju sve stanice koje grade embrij, no ne i one koje tvore izvanembrijske strukture (Wobus & Boheler, 2005). Iz embrioblasta se razvijaju izvanembrijski

endoderm i epiblast iz kojeg se razvija embrij. Od trofoblasta se razvijaju izvanembrijske strukture koje su nužne za preživljavanje embrija, kao što je posteljica koja je nužna za dotok hranjivih tvari i kisika. Iz unutrašnjih stanica blastociste predimplantacijskog embrija dobivaju se embrijske matične stanice (Zakrzewski et al., 2019).

Pluripotentne stanice dalje se razvijaju u multipotentne, oligopotentne i unipotentne, koje sa svakim stupnjem razvoja imaju sve manju sposobnost diferencijacije u različite tipove stanica. Multipotentne matične stanice mogu se diferencirati u stanice koje pripadaju određenoj staničnoj liniji za koju je specijalizirana ta multipotentna stanica. Primjer ovih matičnih stanica su hematopoetske matične stanice koje se mogu diferencirati u nekoliko tipova krvnih stanica. Oligopotentne stanice imaju još užu sposobnost diferencijacije od multipotentnih, a za primjer možemo uzeti mijeloidne matične stanice koje se mogu razviti do različitih tipova leukocita, ali ne i do eritrocita. Unipotentne matične stanice uvijek se diferenciraju u jedan tip stanica, kao što su primjerice dermatociti (Zakrzewski et al., 2019).

Tijekom embriogeneze, formiraju se tri zametna listića (ovaj se proces naziva gastrulacija) – endoderm, mezoderm i ektoderm. Iz tih zametnih listića razvijaju se svi organi odraslog organizma. Matične stanice zametnih listića su multipotentne jer ne mogu tvoriti stanice niti jednog drugog zametnog listića (Biehl & Russell, 2009). Nakon implantacije i gastrulacije, formiraju se i stanice zametnog listića (primordijalne) od kojih se u konačnici formiraju gamete (Thomson & Odorico, 2000). Cijeli proces razvoja specijaliziranog tkiva, od totipotentne matične stanice, pa sve do organa, prikazan je na Slici 2.



**Slika 2.** Hijerarhija matičnih stanica: stanice razvojne faze od zigote do morule su totipotentne, stanice unutrašnje stanične mase blastociste su pluripotentne (izgrađuju sve zametne listiće - endoderm, mezoderm i ektoderm, kao i primordijalne zametne listiće koji su nužni za formiranje muških i ženskih gameta), multipotentne i progenitorske matične stanice karakteristične su za odrasla tkiva te nadoknađuju oštećene stanice u tkivima i organima. ICM – unutarnja masa stanica, ESC – embrijske matične stanice (preuzeto i prilagođeno iz Wobus & Boheler, 2005).

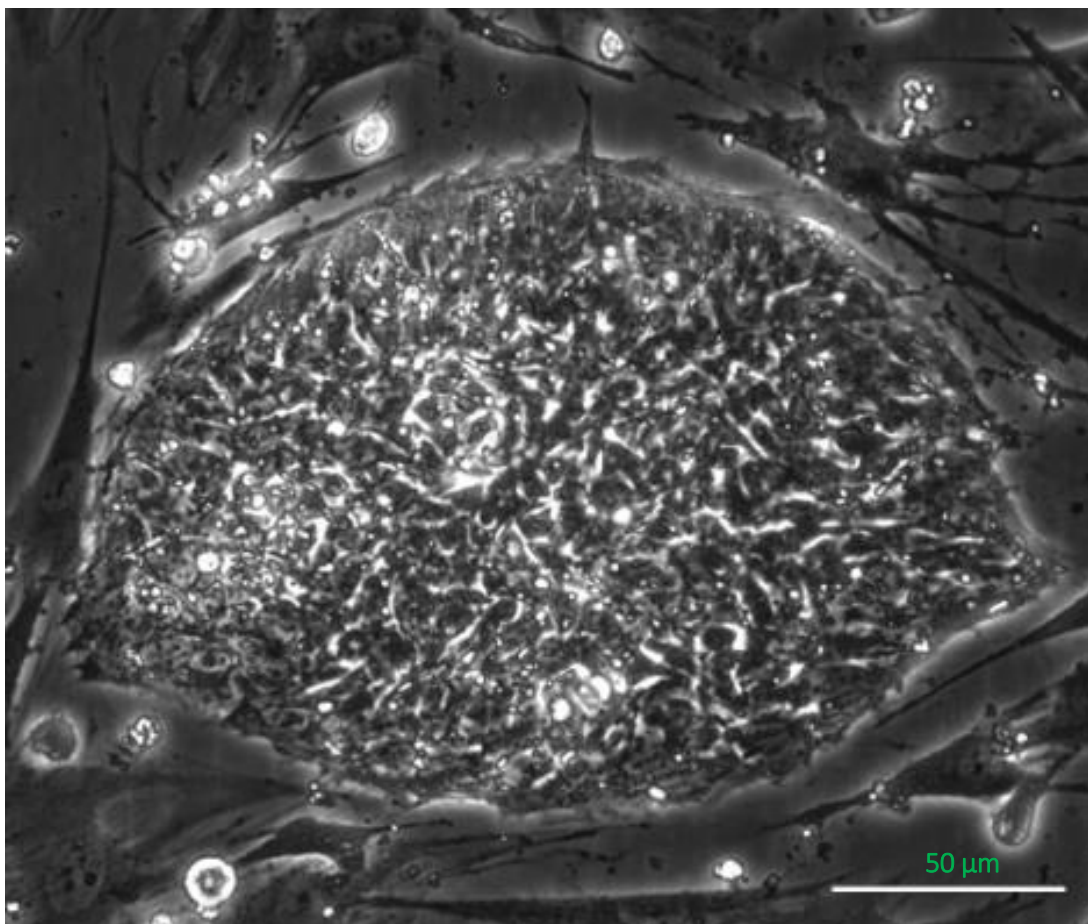
Matične se stanice diferenciraju inducirane ili ekstrinzičnim faktorima – položajem u organizmu, kontaktom s okolnim stanicama i kemijskim tvarima koje se nalaze u tom okolišu - ili intrinzičnim faktorima – onima definiranim genetskim kodom (Zakrzewski et al., 2019). U odraslih organizama, matične stanice dijele se po potrebi ovisno o tkivu u kojem se nalaze – primjerice, matične stanice koštane srži dijele se konstantno, dok se matične stanice gušterače dijele samo uslijed rijetkih fizioloških stanja (Zakrzewski et al., 2019).

Gotovo sve matične stanice, bez obzira na stupanj diferenciranosti, danas su predmet istraživanja kako bi se razvila njihova medicinska primjena.

### 3. Ljudske embrijske matične stanice

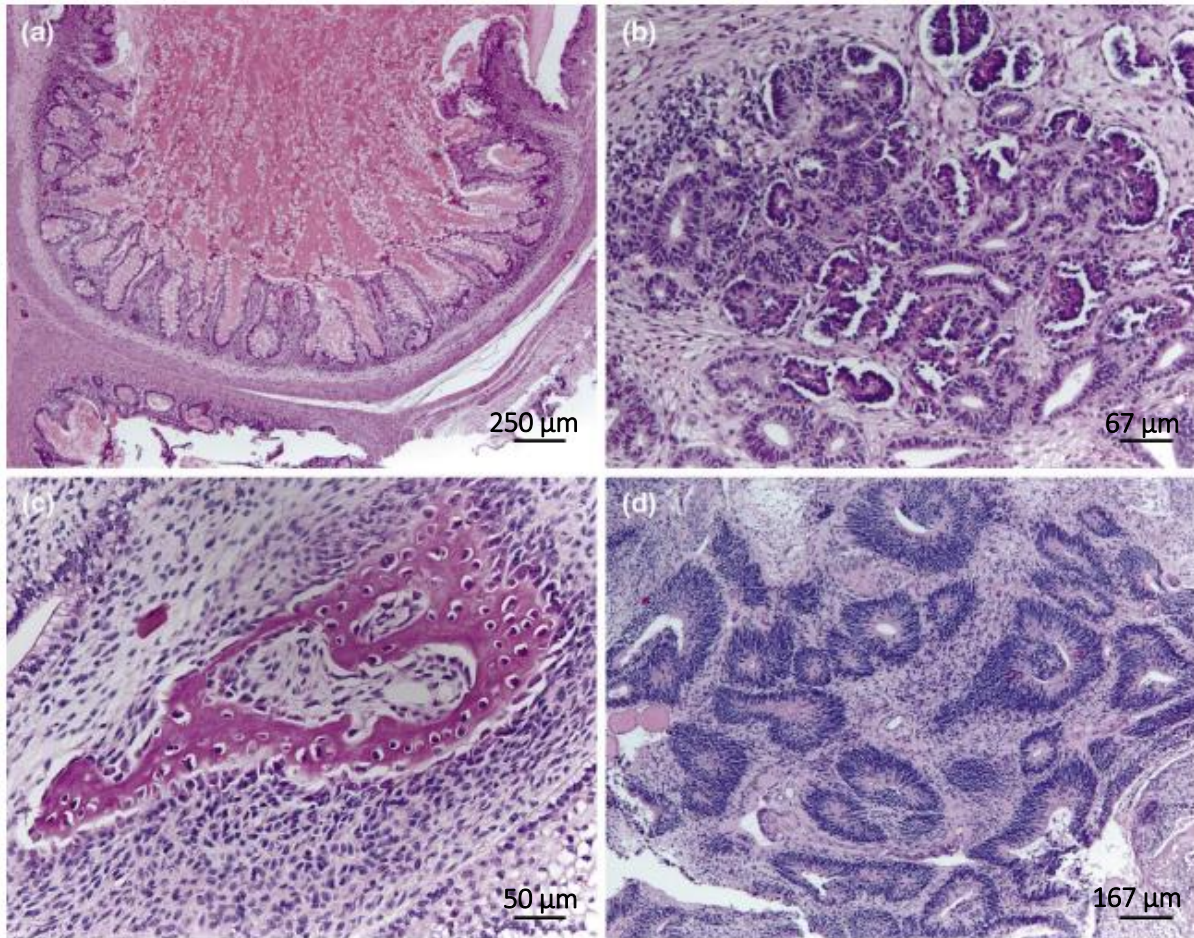
Ljudske embrijske matične stanice prve su okarakterizirali James Thomson i njegova istraživačka skupina u svom radu 1998. (Thomson et al., 1998). Embriji koje su koristili ovi znanstvenici potiču iz neuspješnih trudnoća. Proveli su istraživanja tako što su prvo kirurški odstranili trofoblast, a zatim su unutrašnju masu stanica nasađivali na hranjivu podlogu koja sadrži mišje embrijske fibroblaste (Pera et al., 2000). Na ovaj su način dobili brojne embrijske matične stanice koje su rastašivali dalje kako su se one umnožavale. Sve od tada istražuju se metode primjene hESC u liječenju raznih medicinskih stanja, kao što su ozljeda kralježnice, dijabetes tipa 1, Parkinsonova bolest i druge (Yamanaka, 2020).

hESC se dobivaju iz unutrašnje mase stanica blastociste predimplantacijskog embrija. Glavne karakteristike ovih stanica su mogućnost samoobnavljanja, dugačak period nediferenciranog razvoja te mogućnost formiranja sva tri zametna listića. Uzgojem u kulturi, formiraju relativno plosnate, kompaktne kolonije (Slika 3.) čije stanice imaju veliki omjer jezgre naspram citoplazme (Thomson & Odorico, 2000), a period udvostručenja kolonije iznosi otprilike 30 do 35 sati (Wobus & Boheler, 2005). Za preživljavanje kolonije potrebno je da se u hranidbenoj podlozi nalaze faktori rasta koji potiču od drugih živućih stanica koje imaju slične površinske antigene, transkripcijske faktore i enzimsku aktivnost (primarno je riječ o visokom stupnju aktivnosti alkalne fosfataze) (Biehl & Russell, 2009). Zato se obično ove kolonije uzgajaju na hranidbenoj podlozi s mišjim embrijskim fibroblastima. Kako bi se spriječila diferencijacija, staničnoj kulturi su potrebni signalni proteini Noggin i Wnt (Biehl & Russell, 2009). hESC mogu dugo opstati u kulturi bez da dođe do poremećaja u kariotipu te imaju sposobnost nediferencirane proliferacije čak dulje od godinu dana, a smatra se da je za to zaslužna pojačana ekspresija telomeraza u ovim stanicama (Thomson & Odorico, 2000).



**Slika 3.** Kultura ljudskih embrijskih matičnih stanica na podlozi s mišjim fibroblastima (preuzeto iz Thomson & Odorico, 2000).

Jedna od prvih, i dalje neriješenih, poteškoća razvoja terapije stanicama hESC bila je spoznaja kako injektiranjem hESC u imunokompromitirane miševe dolazi do formiranja teratoma – benignih tumora koji se očituju kao neorganizirane mase sva tri zametna listića (Pera et al., 2000). U njima se često mogu identificirati pojedine tvorbe kao što su glatki mišić, kost, dlake, neuralni epitel, gangliji i slično (Thomson & Odorico, 2000). Histološke preparate tkiva koji pokazuju takva obilježja prikazuje Slika 4. Ovakve reakcije organizma primatelja još su uvijek problem kod primjene hESC u liječenju jer je rizik nastanka teratoma prevelik da bi se provodila istraživanja na pacijentima.



**Slika 4.** Teratomi hESC nakon unošenja u imunokompromitirane miševе diferenciraju u sva tri zametna listića: (a) crijevo, (b) fetusne glomerularne cjevčice, (c) kost, (d) neuralni ektoderm (preuzeto iz Thomson & Odorico, 2000).

## 4. Primjena ljudskih embrijskih matičnih stanica u terapiji

Od prvih istraživanja hESC pa do danas, ove stanice su *in vitro* razvijene do brojnih staničnih linija – kardiomiocita (Kehat et al., 2003), osteocita (Sottile et al., 2003), živčanih stanica (Cohen et al., 2007; Chambers et al., 2009; Kim et al., 2010; Stacpoole et al., 2011), hepatocita (Sasaki et al., 2009). Ukupno se procjenjuje da postoji oko 20 vrsta stanica koje su se uspjele proizvesti iz hESC, što je otvorilo put istraživanju mehanizama i terapija za oko 40 vrsta bolesti (Kobold et al., 2023). U posljednjem desetljeću najviše se radilo na razvoju hESC do stanica pigmentnog epitela mrežnice i stanica prirodnih ubojica (NK, od eng. *natural killer*).

## 4.1. Degenerativne bolesti

Otkriće kako se hESC mogu diferencirati do gotovo svih tipova stanica, među kojima su i neuronske i glija stanice, predstavljala su obećavajući napredak u liječenju nekih neuroloških poremećaja kao što je ozljeda leđne moždine (Ronaghi et al., 2010). Jedna od posljedica ozljede leđne moždine je propadanje oligodendrocita koji zbog upalnog procesa tkiva prolaze kroz staničnu smrt. Ovaj nedostatak mijeliniziranog tkiva dovodi do slabih neuronskih funkcija. Rješenje je primjena hESC – moguće je diferencirati te stanice u oligodendrocite i onda ih unijeti u pacijenta, prilikom čega se vraća funkcionalnost oštećenom dijelu leđne moždine (Nistor et al., 2005). Ovakve su transplantacije provedene na laboratorijskim životinjama. Najveći je rizik ispravna diferencijacija hESC, koje zahtijevaju dugačak proces obrade kako bi se razvili u definirane i pročišćene željene stanične linije (Ronaghi et al., 2010). Neki od faktora koji su nužni za razvoj živčanih prekursorskih stanica iz hESC su vitronektin, retinoična kiselina te proteini „Sonic Hedgehog“ i „Noggin“ (Gil et al., 2009). hESC se često diferenciraju u neuroektodermne stanice ili neuroepitelne matične stanice koje zadržavaju visoki potencijal za diferencijaciju i proliferaciju čak i nakon dugo vremena provedenog u uvjetima *in vitro* (Elkabetz et al., 2008; Koch et al., 2009). Danas se i dalje rade neka slična istraživanja primarno orijentirana na optimiziranje protokola za diferencijaciju hESC i sprječavanje razvoja teratoma nakon transplantacije kako bi se u budućnosti ovaj tretman mogao početi primjenjivati u kliničkoj terapiji (Ronaghi et al., 2010).

Huntingtonova bolest je autosomna dominantna neurodegenerativna bolest do koje dolazi zbog dugačkih ponavljajućih sljedova CAG u genu *HTT*. U uznapredovalim fazama bolesti dolazi do propadanja živčanog tkiva kod oboljelih, a kako ne postoji uspješna terapija, istražuje se primjena matičnih stanica kao potencijalne metode liječenja. Među recentnijim istraživanjima ove bolesti, važno je istaknuti jednu od najvećih kliničkih transplantacija hESC iz 2020. (Bachoud-Lévi et al., 2020) u kojem se u pacijente intracerebralnim injekcijama unosilo fetusno ganglijsko tkivo. Iako rezultati nisu bili uspješni, uočen je potencijal ovakvog istraživanja te je od 2021. u tijeku još jedno slično istraživanje (Drew et al., 2021). Cilj tog istraživanja je definiranje učinkovite doze primarnih fetusnih stanica koje je potrebno unijeti u pacijenta kako bi bio uklonjen postojeći trajni neurološki deficit, a da pri tom ne bi došlo do intrakranijalnog krvarenja ili infekcije.

Dijabetes tipa 1 jedna je od najučestalijih bolesti endokrinog sustava, koju karakterizira hiperglikemija zbog autoimunog razaranja  $\beta$ -stanica gušterače zaduženih za proizvodnju inzulina (Rezania et al., 2014). Uz dosadašnje terapije kao što su egzogeni unos inzulina ili transplantacija  $\beta$ -stanica ili cijele gušterače, sve se više razvija i terapija induciranja nastanka  $\beta$ -stanica ili cijelih Langerhansovih otočića iz matičnih stanica. Poznat je klinički protokol za pripravljanje potrebnih  $\beta$ -stanica *in vitro* od hESC, a tako pripravljene stanice reagiraju na podražaj uzrokovan promjenom koncentracije glukoze i pritom oslobađaju inzulin. Prednost kod ove terapije je što nije nužno integrirati transplantirane stanice direktno u oštećeno tkivo gušterače, već tretman može biti uspješan i ukoliko je transplantacija ektopična, što znatno olakšava liječenje (Merani et al., 2008).

Najnaprednijima se smatraju istraživanja usmjerena na liječenje degenerativnih bolesti mrežnice, preciznije proizvodnju stanica pigmentnog epitela mrežnice ili fotoreceptora (Kobold et al., 2023). Ne postoje efikasne terapije za liječenje bolesti mrežnice koje su uznapredovale dovoljno da dođe do gubitka staničja, što se često događa kod oboljelih od vlažnog oblika senilne makularne degeneracije, *retinitis pigmentosa* ili Stargardtove bolesti (Ahmed et al., 2021). Već prije dvadeset godina provedene su prve indukcije stanica pigmentnog epitela mrežnice iz hESC (Klimanskaya et al., 2004), dovodeći do spoznaja kako je za njih neophodno u protokolu koristiti nikotinamid, aktivin A, transformirajući faktor rasta  $\beta$ , nodalni signalni inhibitor Lefty-A te neke inhibitore signalnog puta Wnt (Ahmed et al., 2021). Na taj je način moguće producirati fotoreceptorske stanice, čunjiće i štapiće, iz hESC, a sličnim protokolom to je moguće postići i iz induciranih pluripotentnih matičnih stanica, što rezultira popravkom vida kod oboljelih. Pokusna istraživanja potvrdila su da ovako proizvedene stanice dolaze u interakciju sa sinapsama u tkivu i okolnim stanicama mrežnice te odgovaraju na svjetlosne podražaje (Lamba et al., 2006, 2009; Singh et al., 2020). Ipak, ostaju brojni problemi i u ovim granama istraživanja, prvenstveno povezani sa slabom produkcijom fotoreceptorskih stanica iz hESC te visokim stupnjem kontaminacije staničnih kultura (Ahmed et al., 2021). Danas je moguće degenerirano tkivo oka zamijeniti i transplantiranim tkivom nastalim od iPSC te se smatra da je upravo ova tehnika pokazala najveću uspješnost i najmanji rizik od nuspojava kod liječenja ovakvih stanja (Wong et al., 2011).



## 4.2. Kardiovaskularne bolesti

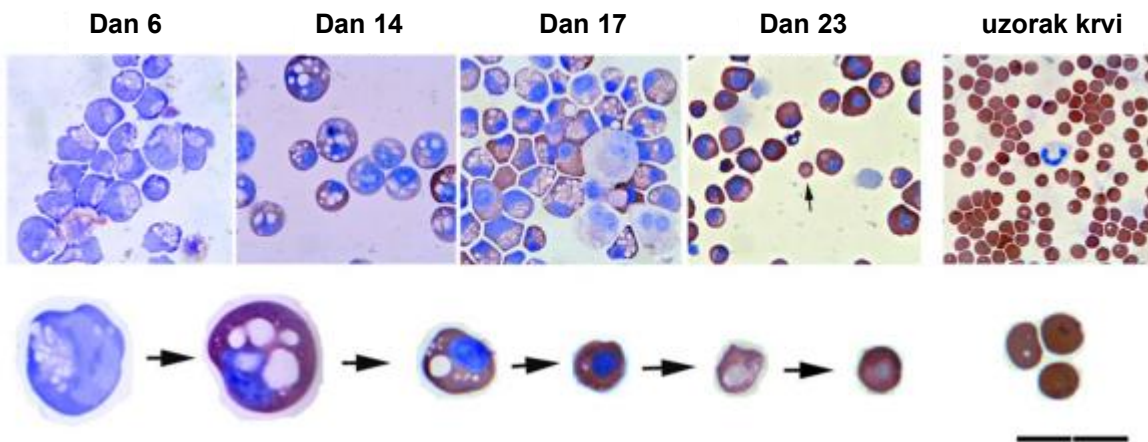
Kardiovaskularne bolesti vodeći su uzrok smrti i invaliditeta u svijetu, a zahvaćaju srce i krvožilni sustav. Srčano staničje vrlo je osjetljivo na nedostatak kisika te slabe regenerativne moći zbog čega često dolazi do nekroze stanica kardiomiocita. Zbog kompleksnosti operacija srca i ograničenih ublažavanja simptoma srčanih stanja lijekovima, fokus istraživanja postala je terapija matičnim stanicama (Correia et al., 2023). Proizvodnja kardiomiocita iz embrijskih matičnih stanica pokazala se mogućom, a terapija se iskušala primarno za stanja kao što su zatajenje srca, zatajenje lijevog ventrikula te ishemijska bolest srca (Chen et al., 2020). Iako se ovakva terapija pokazala mogućom kod štakora (Caspi et al., 2007), svinja (Kehat et al., 2004) te nekih primata (Chong et al., 2014), iz etičkih razloga se ne podupire daljnji rad s hESC, već se istražuju mogućnosti korištenja iPSC za proizvodnju kardiomiocita. Osim etičkih razloga, korištenje hESC u ovakve svrhe nije idealno zbog visokog rizika od imunosne reakcije i razvoja teratoma te slabe vijabilnosti stanica nakon transplantacije u oboljele.

## 4.3. Hematološki poremećaji

Hematološki se poremećaji najčešće tretiraju nadoknađivanjem deficitarnih zrelih eritrocita koji se razvijaju kroz kompleksan proces eritropoeze. Nedostatak ovog pristupa je to što zreli eritrociti nemaju sposobnost proliferacije što znači da se moraju stalno diferencirati iz eritroblasta ukoliko ih manjka. Zbog kompleksnosti eritropoeze, u koju su uključeni brojni faktori rasta i hormoni, to je zahtjevan proces. Zato se češće podliježe transfuziji krvi, no ona također ima svoje nedostatke, primarno vezane za nekompatibilnost povezanu s razlikom u krvnim grupama i Rh-antigenima davatelja i primatelja te povećanim rizikom infekcije.

Mogućnost hematopoetske primjene hESC pojavila se uspješnim razvojem eritrocita iz hESC (Lu et al., 2008) (Slika 5). Tako proizvedeni eritrociti imaju sposobnost prenošenja kisika jednaku kao i eritrociti proizvedeni u uvjetima *in vivo*. Važno je i da takvi eritrociti reagiraju na promjenu u pH i koncentraciji 2,3-difosfoglicerata (Lu et al., 2008). Na morfološkoj razini uočljivo je da prilikom formiranja eritrocita iz hESC dolazi do značajnog smanjenja stanica, kondenzacije kromatina te izbacivanja jezgre. Analizom pomoću antitijela za  $\beta$ -globin uočeno je kako nakon 28 dana

kultiviranja 16% stanica sadrži  $\beta$ -globinske lance (Lu et al., 2008). Eritrocite dobivene od hESC moguće je i genotipizirati, točnije pokazuju raznovrsnost s obzirom na Rh-faktor i AB0-krvne grupe. Smatra se da bi ovakva proizvodnja eritrocita mogla pronaći primjenu u liječenju  $\beta$ -talasemije, srpaste anemije i sličnih stanja, ali mogla bi biti korisna i na dnevnoj bazi prilikom pomanjkanja krvi za transfuziju.



**Slika 5.** Sazrijevanje zrelih eritrocita iz hESC *in vitro*. Značajne promjene do kojih dolazi su povećanje razine hemoglobina te smanjenje cjelokupnog volumena stanice. Stanice su bojene Wright-Giemsa bojom i benzidinom te promatrane pod uvećanjem 200x (preuzeto i prilagođeno iz Lu et al., 2008).

#### 4.4. Bolesti imunskog sustava

Važna i jako zastupljena su i istraživanja povezana s imunskim sustavom, pri čemu su iz hESC proizvedene stanice slične NK-stanicama, a ovakva su istraživanja druga najzastupljenija kad je riječ o terapiji koja koristi hESC (Kobold et al., 2023). Velika važnost ovih istraživanja leži u sposobnosti ovako proizvedenih stanica da ciljaju tumore u različitim razvojnim fazama, a djeluju i *in vitro* i *in vivo* (Zhu & Kaufman, 2019). Dokaz tome je nekoliko istraživanja čiji rezultati su pokazali kako NK-stanice dobivene iz hESC uspješno uklanjaju tumorske stanice unesene u imunokompromitiranog miša te čak ublažavaju simptome infekcije HIV-om *in vitro* (Ni et al., 2011, 2014; Woll et al., 2009). NK-stanice dobivene iz hESC, ali i iz iPSC, brzo tvore homogene kulture koje imaju fenotip, transkriptom te funkcije gotovo identične prirodnim NK-stanicama (Knorr et al., 2013). Nakon trojtjednog razvoja kulture stanice se ispituju primarno na sposobnost

razaranja tumorigenih stanica različitim imunološkim testovima, a rezultati su pokazali kako je moguće dobiti odrasle NK-stanice normalne citotoksičnosti (Zhu & Kaufman, 2019). Dodatna je prednost NK-stanica proizvedenih *in vitro* što se mogu genetički modificirati tako da se na hESC djeluje transpozonomima ili virusima, pa nastaju uniformne NK-stanične linije sa željenim svojstvima. hESC je relativno jednostavno manipulirati tehnikama genetičkog inženjerstva CRISPR/Cas9 i TALEN, pa se može napraviti delecija određenih gena koje se želi izbaciti iz genoma NK-stanica (Zhu & Kaufman, 2019).

Važno je naglasiti kako se danas hESC zamjenjuju s iPSC iz primarno etičkih razloga, ali korištenje iPSC ima i dodatne pozitivne karakteristike poput lakše dostupnosti, a jednakog potencijala u terapiji.

## 5. Inducirane pluripotentne matične stanice

Veliki pomak u terapiji matičnim stanicama dogodio se 2006. godine, kada je objavljen prvi rad o reprogramiranju diferenciranih mišjih stanica u embrijski stadij (Takahashi & Yamanaka, 2006). Sljedeće godine postignuto je reprogramiranje humanih somatskih stanica na isti način (Takahashi et al., 2007). Takahashi i Yamanaka proučavali su pluripotentnost, vodeći se činjenicama kako se somatske stanice mogu reprogramirati tako da se njihove jezgre prenesu u oocite (Wilmut et al., 1997) ili fuzijom s embrijskim matičnim stanicama (Cowan et al., 2005; Tada et al., 2001). Tako su došli do hipoteze da neoplođena jajna stanica, kao i embrijske matične stanice, sadrže faktore koji održavaju pluripotentnost te bi ti faktori isto mogli izazvati pluripotentnost ako ih se unese u somatske stanice. U konačnici, ovi su znanstvenici uspjeli inducirati pluripotentnost kod diferenciranih stanica mišjih fibroblasta pomoću specifičnih faktora rasta. Iako je u početnom istraživanju za induciranje pluripotentnosti korišteno 24 transkripcijska faktora, obradom podataka pokazalo se kako su za indukciju pluripotentnosti nužna samo četiri. Riječ je o transkripcijskim faktorima za koje je poznato da sudjeluju u održavanju pluripotentnosti ranih stadija embrija i embrijskih matičnih stanica: Oct3/4 (Nichols et al., 1998; Niwa et al., 2000), Sox2 (Avilion et al., 2003) te Nanog (I. Chambers et al., 2003; Mitsui et al., 2003). Pokazano je i da su za postizanje pluripotentnosti nužni Oct3/4 i Sox2, dok je važnost Nanog transkripcijskog faktora zanemariva.

Nešto kasnije, utvrđena su još dva transkripcijska faktora velike važnosti za održavanje pluripotentnosti, a to su c-Myc i Klf4. Protein c-Myc ima široku funkciju, a neke od njih su poticanje proliferacije i transformacije stanica (Adhikary & Eilers, 2005). Dodatna važnost ovog proteina je što potječe acetilaciju histona (Fernandez et al., 2003), što omogućava bolje vezanje Oct3/4 i Sox2 na vezna mjesta koja su za njih specifična. Klf4 djeluje na proliferaciju stanica suprotno od c-Myc – inhibira stanične diobe. Suprotno djelovanje ova dva faktora nužno je za razvoj iPSC kako bi se brojnost stanica u kulturi održavala optimalnom. Osim ove uloge, Klf4 također inhibira p53 (Rowland et al., 2005), a smatra se da je posljedica toga povećavanje koncentracije faktora koji potječu proliferaciju. Potvrđeno je kako p53 utječe na smanjenje koncentracije Nanog transkripcijskog faktora (Lin et al., 2005), pa se može pretpostaviti da slično djeluje i na druge transkripcijske faktore sličnih funkcija. Pokazano je kako je moguća i alternativna varijanta – transkripcijski faktori Nanog i Lin28 mogu zamijeniti c-Myc i Klf4 prilikom staničnog reprogramiranja somatskih stanica u pluripotentne stanice (Yu et al., 2007).

Danas se primarni ljudski kožni fibroblasti lako mogu proizvesti iz uzorka dobivenog biopsijom kože (Park et al., 2008) (Slika 6). Postoje razni kokteli transkripcijskih faktora, koji osim najvažnija četiri često uključuju i druge faktore koji pospješuju cijeli proces, a koje se koristi za reprogramiranje stanica kako bi nastale iPSC, i to metodom retrovirusne transdukcije transkripcijskih faktora. Metodom RT-PCR može se potvrditi prisutnost staničnih markera koje inače povezujemo s embrijskim stanicama u kolonijama nastalih iPSC (Takahashi & Yamanaka, 2006). Osim toga, ove kolonije karakterizira ista morfologija koja je prisutna i u embrijskim stanicama: okruglasti oblik, velika jezgra i oskudna citoplazma, a odgovara i vrijeme duplikacije stanica koje za hESC iznosi približno 17 sati, a za iPSC tek nešto više. Kako su transkripcijski faktori nužni za proces reprogramiranja potencijalno onkogeni zbog svog utjecaja na proliferaciju stanica, klinička je primjena ipak ograničena te je puno više zastupljena proizvodnja iPSC *in vitro*, što omogućava uspješno modeliranje razvoja bolesti te u konačnici pomaže identifikaciji uzroka bolesti.



**Slika 6.** Pregled pripreme ljudskih kožnih fibroblasta i izolacije iPSC. Izoliran je uzorak kože biopsijom te je 6 mm tkiva nasadeno na podlogu za razvoj kožnih fibroblasta. Fibroblasti su potom tretirani s retroviralnim vektorima koji su omogućili ekspresiju transkripcijskih faktora Oct4, Sox2, Myc i Klf4. Tretirane stanice inkubiraju se u mediju za hESC dok ne postanu uočljive kolonije iPSC koje se dalje nasaduju (preuzeto i prilagođeno Park et al., 2008).

## 6. Primjena induciranih pluripotentnih matičnih stanica u terapiji

Proučavanjem životinjskih modela došlo se do nekoliko značajnih mogućih primjena iPSC u terapiji, kao što su liječenje genetičkih poremećaja (npr. srpasta anemija) i degenerativnih stanja kao što su dijabetes ili Alzheimerova bolest. Također, uočena je mogućnost korištenja iPSC za transplataciju organa bez potrebe za imunosupresijom (Hanna et al., 2007; Stadtfeld & Hochedlinger, 2010).

### 6.1. Degenerativne bolesti

Neurodegenerativna i psihijatrijska stanja često karakteriziraju strukturne i funkcionalne promjene tkiva s kompleksnim genetičkim promjenama. iPSC se primarno koriste za razumijevanje mehanizma bolesti, što je prvi korak do razvoja terapije. Primjerice, provedeno je istraživanje koje pokazuje kako se mogu proizvesti iPSC iz tkiva bliskih članova obitelji pacijenata oboljelih od

shizofrenije, pri čemu donori imaju mutaciju pomaka okvira čitanja u genu koji kodira za protein DISC1. Poznato je kako je mutacija u ovom proteinu razlog nepravilnoj regulaciji ekspresije nekih gena važnih za sinapsu. Promjena u ekspresiji tih gena predispozicija je za nastanak nepravilnosti u sinapsama što može dovesti do shizofrenije. Uređivanjem genoma iPSC, dobiveni su izogeni sojevi čija je jedina razlika mutacija u genu *DISC1*. Rezultati su ukazali kako svi mutirani proteini DISC1 uzrokuju promjene u ekspresiji gena važnih za rad sinapse te smanjenje brojnosti sinaptičkih vezikula u neuronima prednjeg mozga. Dakle, uvođenjem mutacije povezane sa psihijatrijskim stanjem dolazi do sinaptičkog deficita i transkripcijske deregulacije u neuronima, što je jedan novi molekularni mehanizam koji omogućava supresiju bolesti (Wen et al., 2014).

Parkinsonova bolest progresivni je poremećaj centralnog živčanog sustava do koje dolazi zbog oštećenja ili gubitka nigrostrijatnih dopaminergičkih neurona (Aboul-Soud et al., 2021). Kako biokemijski mehanizam ove bolesti još nije najjasnije razlučen, modeli s matičnim stanicama koriste se primarno za bolje razumijevanje bolesti, a sekundarno i za liječenje. Provedeno je istraživanje na temelju korištenja lentivirusnih vektora koji su inducibilni doksiciklinom i izrezivani rekombinazom Cre-Lox, kojim se potaknuo nastanak iPSC koje imaju funkciju dopaminskih neurona te sadrže sve pluripotentne karakteristike (Soldner et al., 2009). Drugo značajno istraživanje u ovom području imalo je za cilj pospješiti transplantaciju dopaminergičnih neurona nastalih iz iPSC kod oboljelih glodavaca. Rezultati su pokazali da se jedna stanična linija integrirala u moždano tkivo 16 tjedana nakon transplantacije te obnovila motoričku funkciju koja je prethodno narušena tretiranjem 6-hidroksidopaminom (6-OHDA) (Sundberg et al., 2013). Važno je i opažanje kako su neuralne stanice nastale iz iPSC preživjele u organizmima pacijenata dulje od jedne godine bez imunosupresijske reakcije, što je još jedan pokazatelj sigurnosti iPSC u transplantaciji.

Terapija iPSC se sve više spominje i u kontekstu dijabetesa tipa 1 zbog veće efikasnosti i manjih rizika od odbijanja tkiva i imunosupresije nego što je to primjenom hESC. Više su puta uspješno inducirane  $\beta$ -stanice koje proizvode inzulin kao odgovor na podražaj, primjerice KCl (D'Amour et al., 2006). Ipak, ove stanice nisu idealne jer postoje problemi s izlučivanjem glukagona i somatostatina te njihovom koregulacijom. Smatraju se uspješnijima indukcija nastanka endodermalnih stanica gušterače i Langerhansovih otočića iz iPSC, a u ovakvim se slučajevima naknadno diferenciraju funkcionalne  $\beta$ -stanice. Za diferencijaciju ovih iPSC potrebni su faktori

rasta koji su ključni i u analognim procesima *in vivo*, a to su Nodal, Wnt, retinoična kiselina, Hedgehog faktori, epidermni i fibroblastni faktor rasta, Notch te koštani morfogeni protein. Svi oni imaju ulogu u aktivaciji ili inhibiciji u nekim koracima signalnog puta. Kao nastavak ovih istraživanja, pretpostavlja se da će se pokušati diferencirati cijela gušterača (Kondo et al., 2018).

## 6.2. Kardiovaskularne bolesti

Terapija iPSC proučava se za nekoliko srčanih stanja, kao što su sindrom dugog QT-a (LQTS, od eng. *long QT syndrome*), dilatativna kardiomiopatija (DCM, od eng. *dilated cardiomyopathy*), hipertrofna kardiomiopatija (HCM, od eng. *hypertrophic cardiomyopathy*), aritmogena kardiomiopatija desne klijetke (ARVC, od eng. *arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy*), obiteljska plućna arterijska hipertenzija (FPAH, od eng. *familial pulmonary arterial hypertension*), Williams-Beurenov sindrom (WBS) te Marfanov sindrom (MFS) (Ye et al., 2018).

LQTS je aritmijski poremećaj koji na elektrokardiogramu karakterizira produljeni QT interval i abnormalan T-val. U ovo stanje uključeno je 17 gena, a najučestalija terapija je primjena  $\beta$ -blokatora ili kirurški zahvat. iPSC se u ovom kontekstu koriste za pospješene dijagnosticiranja i razvoj alternativnog načina terapije. Ideja je da se iz iPSC razviju kardiomiociti (iPSC-CM) (Wu et al., 2019) koji se kultiviraju u uvjetima različitih stimulansa, a potom fenotipiziraju te razdvajaju na patogene i benigne varijante. Unutar ovog istraživanja također su definirani faktori koji uzrokuju LQTS, a to su primarno povećana ekspresija gena *DLG2*, *KCNE4*, *PTRF* i *HTR2C* te smanjena ekspresija *CAMKV*. DCM je bolest srca u kojoj zbog poremećene sistoličke funkcije dolazi do proširenja klijetke i pretklijetke. Istraživanja iPSC povezana s ovom bolesti primarno se fokusiraju na razumijevanje mehanizma rada srčanog mišića i proteoma važnog za taj mehanizam. Promatrane mutirane iPSC-CM oboljelih imaju poremećenu strukturu sarkomera, oslabljeni odgovor  $\beta$ -adrenergičnih receptora, povećano izbacivanje iona (primarno kalcijevih) i visoke razine angiotenzina II (Schick et al., 2018). HCM je rezultat nepravilne dijastole zbog čega dolazi do zadebljanja miokarda. Modeli iPSC-CM izrađeni su od uzorka tkiva preuzetog iz pacijenata koji su naslijedili HCM putem mutirane majčinske mitohondrijske 16S rRNA (gen *MT-RNR2*). Model je pokazao da zbog točkaste mutacije dolazi do promijenjene funkcije mitohondrija,

smanjene ekspresije mitohondrijskih proteina, niskih razina ATP-a i posljedično povećane stope unutarstaničnih koncentracija iona kalcija zbog čega dolazi do bolesti (Li et al., 2018). ARVC je bolest miokarda uzrokovana mutacijama u genima koji kodiraju dijelove dezmosoma, koji čine međustanične veze na površini miokarda, zbog čega dolazi do aritmije. FPAH je nasljedni oblik plućne arterijske hipertenzije, stanja povećanog tlaka u arterijama pluća. Modeli iPSC pokazali su kako mutacija u *BMPR2* u petini slučajeva uzrokuje ovu bolest, a također su ista istraživanja pokazala kako se simptomi mogu spriječiti povećanom ekspresijom *BIRC3* (Gu et al., 2017). WBS je posljedica delecije genomskog materijala, a od brojnih simptoma ovog genetičkog poremećaja, jedni od najčešćih su kardiovaskularni problemi. Korištenjem iPSC dokazan je deficit elastina kod oboljelih uzrokovan haploinsuficijencijom zbog čega su glatki mišići oboljelih visoko proliferativni, no nezreli i nefunkcionalni, a takvo stanje tretira se povećanjem ekspresije elastina ili korištenjem antiproliferativnih tvari kao što je rapamicin (Kinneer et al., 2013). MFS je poremećaj vezivnog tkiva koji u ozbiljnijim slučajevima obuhvaća kardiovaskularni sustav, često na način da se ne razvijaju pravilni srčani zalisci koji su izgrađeni upravo od vezivnog tkiva. Korištenjem iPSC definirani su uzroci ovog sindroma – akumulacija promijenjenog fibrilina-1, degradacija izvanstaničnog matriksa te promjene povezane s transkripcijskim faktorom  $\beta$  (Granata et al., 2017). Navedeni primjeri samo su neki od brojnih dokaza kako se iPSC uspješno koriste za modeliranje i razumijevanje raznih kardiovaskularnih stanja, a vjeruje se kako će se u budućnosti ciljati i na razvijanje preciznih terapija za svaku od ovih dijagnoza, u čemu će ulogu vjerojatno imati i inducirane matične stanice.

### 6.3. Hematološki poremećaji

Hematološke bolesti, kao što su akutna mijeloična leukemija (AML), mijelodisplastični sindrom (MDS) ili mijeloproliferativne neoplazme (MPN), mogu se tretirati uz klonove iPSC nastale iz tkiva koštane srži ili krvi te razvijanjem sustava CRISPR/Cas9 popravka mutacije. Ova stanja često su posljedice točkastih mutacija te se upravo te mutacije definiraju razvojem klonova iPSC koji se nalaze u različitim stadijima razvoja bolesti. Jednom kad je definirana mutacija, ona se može ispraviti uređivanjem genoma tehnikom CRISPR/Cas9 (Papapetrou, 2018).



Razvija se i liječenje  $\beta$ -talasemije uz pomoć iPSC tako što se uvode insercijske mutacije za  $\beta$ -globinske gene u iPSC koje se zatim kloniraju i integriraju u pacijente kao dio vektora (Boulad et al., 2014). Uvođenje mutacija u iPSC sigurnije je nego insercija u hematopoetske progenitorske stanice koje eksprimiraju CD34 oboljelih od  $\beta$ -talasemije jer tako genom domaćina ostaje stabilniji te je manji rizik da će doći do negativnih posljedica. Mutacije se u iPSC uvode na specifična mjesta koja se smatraju sigurnima. Takva mjesta dijelovi su genoma koji prilikom unosa stranog genetičkog materijala ne gube stabilnost pa ne dolazi do promjena u postojećem genomu niti u unesenim genima (Papapetrou & Schambach, 2016).

Moguća je i diferencijacija zrelih eritrocita iz iPSC, premda se ova metoda ne koristi često zbog mogućnosti proizvodnje kroz proces diferencijacije hematopoetskih matičnih stanica.

## 6.4. Gubitak funkcije organa

Transplantacija organa najčešća je metoda intervencije kod zatajenja organa pacijenta, no ona sa sobom nosi mnoge teškoće kao što su nedostatak donora, identifikacija podudaranja antigena HLA davatelja i primatelja, rizik od infekcije ili odbacivanja i slično.

Velik broj istraživanja bavi se formiranjem inducirane jetre (Ding & Cowan, 2013; Fox & Duncan, 2013; Willenbring & Soto-Gutierrez, 2013) na način da se formiraju stanice slične hepatocitima, koje predstavljaju većinu tkiva jetre te su nužne za održavanje homeostaze. Diferenciraju se uz faktore kao što su aktivin A, fibroblastni faktor rasta 2 (FGF2) i koštani morfogenetski protein 4 (BMP4). Ovako inducirani hepatociti obavljaju većinu jetrenih funkcija, kao što su pohrana lipida i glikogena ili sinteza ureje.

Pokazalo se kako je moguće iskoristiti matične stanice i kako bi se regenerirala pluća. To je vrlo značajno jer je brzina regeneracije pluća vrlo malena, pa čak i manja oštećenja mogu uzrokovati komplicirana medicinska stanja (Aboul-Soud et al., 2021). Osim iPSC, za regeneraciju pluća uspješnima su se pokazale i matične stanice koštane srži, kao i hESC. Neka su istraživanja pokazala kako je moguće regenerirati kompletno plućno krilo, no takva su istraživanja tek u začetku (Cortiella et al., 2010; Ghaedi et al., 2013).

## 7. Etička pitanja

Istraživanja mogućnosti primjene hESC u terapiji sa sobom nose brojna ograničenja, od kojih su neka najznačajnija visoki troškovi takvih istraživanja i malen broj postojećih staničnih linija (Park et al., 2008). Ipak, najveće je ograničenje što se hESC dobivaju jedino iz ljudskih embrija, koji takav proces izolacije ne mogu preživjeti. Na početku je rješenje za to bilo korištenje embrija čovjeku sličnih životinja, primarno primata, a danas se češće koriste iPSC. Potvrđeno je kako iPSC dovoljno nalikuju hESC da bi ih mogle zamijeniti u istraživanjima. Prilikom reprogramiranja dolazi do reaktivacije utišanih gena u stanicama, pa se tako u uzorcima koji potječu od ženki aktivira nasumično utišani X kromosom (Maherali et al., 2007). Histoni poprimaju modifikacije koje nalikuju onima u hESC, ukazujući kako ekspresija svih gena u iPSC odgovara ekspresiji karakterističnoj za embrijske stanice (Maherali et al., 2007). Važnost hESC i dalje je značajna jer su to jedine stanice koje su uistinu pluripotentne.

## 8. Zaključak

Nakon nekoliko desetljeća proučavanja matičnih stanica, sa sigurnošću možemo istaknuti važnost ovakve vrste terapije. Rezultati istraživanja iPSC koji se postižu svakodnevno ukazuju na to da nismo daleko od budućnosti u kojoj je moguće da se određene bolesti, prvenstveno neurološke, tretiraju unošenjem tkiva proizvedenog *in vitro* u oboljele. Ukoliko istraživanja nastave imati jednako perspektivne rezultate, izgledno je da ćemo kroz još nekoliko desetljeća rada na matičnim stanicama ući u razdoblje naglog skoka u razvoju terapija za dosad neizlječive bolesti, povećavajući tako kvalitetu života velikog broja ljudi.

## 9. Literatura

Aboul-Soud, M. A. M., Alzahrani, A. J., & Mahmoud, A. (2021). Induced pluripotent stem cells (Ipscs)—roles in regenerative therapies, disease modelling and drug screening. In *Cells* (Vol. 10, Issue 9). MDPI. <https://doi.org/10.3390/cells10092319>

Adhikary, S., & Eilers, M. (2005). Transcriptional regulation and transformation by Myc proteins. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 6(8), 635–645. <https://doi.org/10.1038/NRM1703>

Ahmed, I., Johnston Jr, R. J., & Singh, M. S. (2021). Pluripotent stem cell therapy for retinal diseases. *Annals of Translational Medicine*, 9(15), 1279–1279. <https://doi.org/10.21037/ATM-20-4747>

Avilion, A. A., Nicolis, S. K., Pevny, L. H., Perez, L., Vivian, N., & Lovell-Badge, R. (2003). Multipotent cell lineages in early mouse development depend on SOX2 function. *Genes & Development*, 17(1), 126–140. <https://doi.org/10.1101/GAD.224503>

Bachoud-Lévi, A. C., Schramm, C., Remy, P., Aubin, G., Blond, S., Bocket, L., Brugières, P., Calvas, F., Calvier, E., Cassim, F., Challine, D., Gagou, C. S., de Langavant, L. C., Collier, F., Cottencin, O., David, P., Damier, P., Delliaux, M., Delmaire, C., ... Hantraye, P. (2020). Human Fetal Cell Therapy in Huntington’s Disease: A Randomized, Multicenter, Phase II Trial. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 35(8), 1323–1335. <https://doi.org/10.1002/MDS.28201>

Biehl, J. K., & Russell, B. (2009). Introduction to Stem Cell Therapy. *Journal of Cardiovascular Nursing*, 24(2), 98–103. <https://doi.org/10.1097/JCN.0b013e318197a6a5>

Boulad, F., Wang, X., Qu, J., Taylor, C., Ferro, L., Karponi, G., Bartido, S., Giardina, P., Heller, G., Prockop, S. E., Maggio, A., Sadelain, M., & Rivière, I. (2014). Safe mobilization of CD34+ cells in adults with  $\beta$ -thalassemia and validation of effective globin gene transfer for clinical investigation. *Blood*, 123(10), 1483–1486. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2013-06-507178>

Caspi, O., Huber, I., Kehat, I., Habib, M., Arbel, G., Gepstein, A., Yankelson, L., Aronson, D., Beyar, R., & Gepstein, L. (2007). Transplantation of human embryonic stem cell-derived

cardiomyocytes improves myocardial performance in infarcted rat hearts. *Journal of the American College of Cardiology*, 50(19), 1884–1893. <https://doi.org/10.1016/J.JACC.2007.07.054>

Chambers, I., Colby, D., Robertson, M., Nichols, J., Lee, S., Tweedie, S., & Smith, A. (2003). Functional Expression Cloning of Nanog, a Pluripotency Sustaining Factor in Embryonic Stem Cells. *Cell*, 113(5), 643–655. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00392-1](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00392-1)

Chambers, S. M., Fasano, C. A., Papapetrou, E. P., Tomishima, M., Sadelain, M., & Studer, L. (2009). Highly efficient neural conversion of human ES and iPS cells by dual inhibition of SMAD signaling. *Nature Biotechnology* 2009 27:3, 27(3), 275–280. <https://doi.org/10.1038/nbt.1529>

Chen, K., Huang, Y., Singh, R., & Wang, Z. Z. (2020). Arrhythmogenic risks of stem cell replacement therapy for cardiovascular diseases. *Journal of Cellular Physiology*, 235(9), 6257–6267. <https://doi.org/10.1002/JCP.29554>

Chong, J. J. H., Yang, X., Don, C. W., Minami, E., Liu, Y. W., Weyers, J. J., Mahoney, W. M., Van Biber, B., Cook, S. M., Palpant, N. J., Gantz, J. A., Fugate, J. A., Muskheli, V., Gough, G. M., Vogel, K. W., Astley, C. A., Hotchkiss, C. E., Baldessari, A., Pabon, L., ... Murry, C. E. (2014). Human embryonic-stem-cell-derived cardiomyocytes regenerate non-human primate hearts. *Nature*, 510(7504), 273–277. <https://doi.org/10.1038/NATURE13233>

Cohen, M. A., Itsykson, P., & Reubinoff, B. E. (2007). Neural differentiation of human ES cells. *Current Protocols in Cell Biology*, Chapter 23(1). <https://doi.org/10.1002/0471143030.CB2307S36>

Correia, C. D., Ferreira, A., Fernandes, M. T., Silva, B. M., Esteves, F., Leitão, H. S., Bragança, J., & Calado, S. M. (2023). Human Stem Cells for Cardiac Disease Modeling and Preclinical and Clinical Applications-Are We on the Road to Success? *Cells*, 12(13), 1727. <https://doi.org/10.3390/CELLS12131727>

Cortiella, J., Niles, J., Cantu, A., Brettler, A., Pham, A., Vargas, G., Winston, S., Wang, J., Walls, S., & Nichols, J. E. (2010). Influence of acellular natural lung matrix on murine embryonic stem cell differentiation and tissue formation. *Tissue Engineering. Part A*, 16(8), 2565–2580. <https://doi.org/10.1089/TEN.TEA.2009.0730>

- Cowan, C. A., Atienza, J., Melton, D. A., & Eggan, K. (2005). Nuclear reprogramming of somatic cells after fusion with human embryonic stem cells. *Science (New York, N.Y.)*, 309(5739), 1369–1373. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1116447>
- D'Amour, K. A., Bang, A. G., Eliazer, S., Kelly, O. G., Agulnick, A. D., Smart, N. G., Moorman, M. A., Kroon, E., Carpenter, M. K., & Baetge, E. E. (2006). Production of pancreatic hormone-expressing endocrine cells from human embryonic stem cells. *Nature Biotechnology*, 24(11), 1392–1401. <https://doi.org/10.1038/NBT1259>
- Ding, Q., & Cowan, C. A. (2013). Liver in a dish. *Cell Research*, 23(11), 1242–1243. <https://doi.org/10.1038/CR.2013.117>
- Drew, C. J. G., Sharouf, F., Randell, E., Brookes-Howell, L., Smallman, K., Sewell, B., Burrell, A., Kirby, N., Mills, L., Precious, S., Pallmann, P., Gillespie, D., Hood, K., Busse, M., Gray, W. P., & Rosser, A. (2021). Protocol for an open label: phase I trial within a cohort of foetal cell transplants in people with Huntington's disease. *Brain Communications*, 3(1), fcaa230–fcaa230. <https://doi.org/10.1093/BRAINCOMMS/FCAA230>
- Elkabetz, Y., Panagiotakos, G., Al Shamy, G., Socci, N. D., Tabar, V., & Studer, L. (2008). Human ES cell-derived neural rosettes reveal a functionally distinct early neural stem cell stage. *Genes & Development*, 22(2), 152–165. <https://doi.org/10.1101/GAD.1616208>
- Fernandez, P. C., Frank, S. R., Wang, L., Schroeder, M., Liu, S., Greene, J., Cocito, A., & Amati, B. (2003). Genomic targets of the human c-Myc protein. *Genes & Development*, 17(9), 1115–1129. <https://doi.org/10.1101/GAD.1067003>
- Fox, I. J., & Duncan, S. A. (2013). Engineering liver tissue from induced pluripotent stem cells: a first step in generating new organs for transplantation? *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 58(6), 2198–2201. <https://doi.org/10.1002/HEP.26737>
- Ghaedi, M., Calle, E. A., Mendez, J. J., Gard, A. L., Balestrini, J., Booth, A., Bove, P. F., Gui, L., White, E. S., & Niklason, L. E. (2013). Human iPS cell-derived alveolar epithelium repopulates lung extracellular matrix. *The Journal of Clinical Investigation*, 123(11), 4950–4962. <https://doi.org/10.1172/JCI68793>

Gil, J. E., Woo, D. H., Shim, J. H., Kim, S. E., You, H. J., Park, S. H., Paek, S. H., Kim, S. K., & Kim, J. H. (2009). Vitronectin promotes oligodendrocyte differentiation during neurogenesis of human embryonic stem cells. *FEBS Letters*, 583(3), 561–567. <https://doi.org/10.1016/J.FEBSLET.2008.12.061>

Granata, A., Serrano, F., Bernard, W. G., McNamara, M., Low, L., Sastry, P., & Sinha, S. (2017). An iPSC-derived vascular model of Marfan syndrome identifies key mediators of smooth muscle cell death. *Nature Genetics*, 49(1), 97–109. <https://doi.org/10.1038/NG.3723>

Gu, M., Shao, N. Y., Sa, S., Li, D., Termglinchan, V., Ameen, M., Karakikes, I., Sosa, G., Grubert, F., Lee, J., Cao, A., Taylor, S., Ma, Y., Zhao, Z., Chappell, J., Hamid, R., Austin, E. D., Gold, J. D., Wu, J. C., ... Rabinovitch, M. (2017). Patient-Specific iPSC-Derived Endothelial Cells Uncover Pathways that Protect against Pulmonary Hypertension in BMPR2 Mutation Carriers. *Cell Stem Cell*, 20(4), 490-504.e5. <https://doi.org/10.1016/J.STEM.2016.08.019>

Hanna, J., Wernig, M., Markoulaki, S., Sun, C. W., Meissner, A., Cassady, J. P., Beard, C., Brambrink, T., Wu, L. C., Townes, T. M., & Jaenisch, R. (2007). Treatment of sickle cell anemia mouse model with iPS cells generated from autologous skin. *Science*, 318(5858), 1920–1923. [https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1152092/SUPPL\\_FILE/HANNA\\_SOM.PDF](https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1152092/SUPPL_FILE/HANNA_SOM.PDF)

Kehat, I., Amit, M., Gepstein, A., Huber, I., Itskovitz-Eldor, J., & Gepstein, L. (2003). Development of cardiomyocytes from human ES cells. *Methods in Enzymology*, 365, 461–473. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(03\)65032-9](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(03)65032-9)

Kehat, I., Khimovich, L., Caspi, O., Gepstein, A., Shofti, R., Arbel, G., Huber, I., Satin, J., Itskovitz-Eldor, J., & Gepstein, L. (2004). Electromechanical integration of cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells. *Nature Biotechnology*, 22(10), 1282–1289. <https://doi.org/10.1038/NBT1014>

Kim, D. S., Lee, J. S., Leem, J. W., Huh, Y. J., Kim, J. Y., Kim, H. S., Park, I. H., Daley, G. Q., Hwang, D. Y., & Kim, D. W. (2010). Robust enhancement of neural differentiation from human ES and iPS cells regardless of their innate difference in differentiation propensity. *Stem Cell Reviews and Reports*, 6(2), 270–281. <https://doi.org/10.1007/S12015-010-9138-1>

Kinnear, C., Chang, W. Y., Khattak, S., Hinek, A., Thompson, T., Rodrigues, D. de C., Kennedy, K., Mahmut, N., Pasceri, P., Stanford, W. L., Ellis, J., & Mital, S. (2013). Modeling and Rescue of the Vascular Phenotype of Williams-Beuren Syndrome in Patient Induced Pluripotent Stem Cells. *Stem Cells Translational Medicine*, 2(1), 2. <https://doi.org/10.5966/SCTM.2012-0054>

Klimanskaya, I., Hipp, J., Rezai, K. A., West, M., Atala, A., & Lanza, R. (2004). Derivation and comparative assessment of retinal pigment epithelium from human embryonic stem cells using transcriptomics. *Cloning and Stem Cells*, 6(3), 217–245. <https://doi.org/10.1089/CLO.2004.6.217>

Knorr, D. A., Ni, Z., Hermanson, D., Hexum, M. K., Bendzick, L., Cooper, L. J. N., Lee, D. A., & Kaufman, D. S. (2013). Clinical-Scale Derivation of Natural Killer Cells From Human Pluripotent Stem Cells for Cancer Therapy. *Stem Cells Translational Medicine*, 2(4), 274–283. <https://doi.org/10.5966/SCTM.2012-0084>

Kobold, S., Bultjer, N., Stacey, G., Mueller, S. C., Kurtz, A., & Mah, N. (2023). History and current status of clinical studies using human pluripotent stem cells. In *Stem Cell Reports*. Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2023.03.005>

Koch, P., Opitz, T., Steinbeck, J. A., Ladewig, J., & Brüstle, O. (2009). A rosette-type, self-renewing human ES cell-derived neural stem cell with potential for in vitro instruction and synaptic integration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(9), 3225–3230. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0808387106>

Kondo, Y., Toyoda, T., Inagaki, N., & Osafune, K. (2018). iPSC technology-based regenerative therapy for diabetes. *Journal of Diabetes Investigation*, 9(2), 234–243. <https://doi.org/10.1111/JDI.12702>

Lamba, D. A., Gust, J., & Reh, T. A. (2009). Transplantation of human embryonic stem cell-derived photoreceptors restores some visual function in Crx-deficient mice. *Cell Stem Cell*, 4(1), 73–79. <https://doi.org/10.1016/J.STEM.2008.10.015>

Lamba, D. A., Karl, M. O., Ware, C. B., & Reh, T. A. (2006). Efficient generation of retinal progenitor cells from human embryonic stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(34), 12769–12774. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0601990103>

Li, S., Pan, H., Tan, C., Sun, Y., Song, Y., Zhang, X., Yang, W., Wang, X., Li, D., Dai, Y., Ma, Q., Xu, C., Zhu, X., Kang, L., Fu, Y., Xu, X., Shu, J., Zhou, N., Han, F., ... Yan, Q. (2018). Mitochondrial Dysfunctions Contribute to Hypertrophic Cardiomyopathy in Patient iPSC-Derived Cardiomyocytes with MT-RNR2 Mutation. *Stem Cell Reports*, 10(3), 808. <https://doi.org/10.1016/J.STEMCR.2018.01.013>

Lin, T., Chao, C., Saito, S., Mazur, S. J., Murphy, M. E., Appella, E., & Xu, Y. (2005). p53 induces differentiation of mouse embryonic stem cells by suppressing Nanog expression. *Nature Cell Biology*, 7(2), 165–171. <https://doi.org/10.1038/NCB1211>

Lu, S. J., Feng, Q., Park, J. S., Vida, L., Lee, B. S., Strausbauch, M., Wettstein, P. J., Honig, G. R., & Lanza, R. (2008). Biologic properties and enucleation of red blood cells from human embryonic stem cells. *Blood*, 112(12), 4475–4484. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2008-05-157198>

Maherali, N., Sridharan, R., Xie, W., Utikal, J., Eminli, S., Arnold, K., Stadtfeld, M., Yachechko, R., Tchieu, J., Jaenisch, R., Plath, K., & Hochedlinger, K. (2007). Directly reprogrammed fibroblasts show global epigenetic remodeling and widespread tissue contribution. *Cell Stem Cell*, 1(1), 55–70. <https://doi.org/10.1016/J.STEM.2007.05.014>

Merani, S., Toso, C., Emamaullee, J., & Shapiro, A. M. J. (2008). Optimal implantation site for pancreatic islet transplantation. *The British Journal of Surgery*, 95(12), 1449–1461. <https://doi.org/10.1002/BJS.6391>

Mitsui, K., Tokuzawa, Y., Itoh, H., Segawa, K., Murakami, M., Takahashi, K., Maruyama, M., Maeda, M., & Yamanaka, S. (2003). The Homeoprotein Nanog Is Required for Maintenance of Pluripotency in Mouse Epiblast and ES Cells. *Cell*, 113(5), 631–642. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00393-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00393-3)

Ni, Z., Knorr, D. A., Bendzick, L., Allred, J., & Kaufman, D. S. (2014). Expression of Chimeric Receptor CD4ζ by Natural Killer Cells Derived from Human Pluripotent Stem Cells Improves In Vitro Activity but Does Not Enhance Suppression of HIV Infection In Vivo. *Stem Cells*, 32(4), 1021–1031. <https://doi.org/10.1002/STEM.1611>

Ni, Z., Knorr, D. A., Clouser, C. L., Hexum, M. K., Southern, P., Mansky, L. M., Park, I.-H., & Kaufman, D. S. (2011). Human Pluripotent Stem Cells Produce Natural Killer Cells That Mediate



Anti-HIV-1 Activity by Utilizing Diverse Cellular Mechanisms. *Journal of Virology*, 85(1), 43–50. <https://doi.org/10.1128/JVI.01774-10/ASSET/F4EC9535-383C-41DA-960F-E36837F5CF4D/ASSETS/GRAPHIC/ZJV9990940420005.JPEG>

Nichols, J., Zevnik, B., Anastassiadis, K., Niwa, H., Klewe-Nebenius, D., Chambers, I., Schöler, H., & Smith, A. (1998). Formation of Pluripotent Stem Cells in the Mammalian Embryo Depends on the POU Transcription Factor Oct4. *Cell*, 95(3), 379–391. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81769-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81769-9)

Nistor, G. I., Totoiu, M. O., Haque, N., Carpenter, M. K., & Keirstead, H. S. (2005). Human embryonic stem cells differentiate into oligodendrocytes in high purity and myelinate after spinal cord transplantation. *Glia*, 49(3), 385–396. <https://doi.org/10.1002/GLIA.20127>

Niwa, H., Miyazaki, J.-I., & Smith, A. G. (2000). Quantitative expression of Oct-3/4 defines differentiation, dedifferentiation or self-renewal of ES cells. [http://genetics.nature.com/supplementary\\_info/](http://genetics.nature.com/supplementary_info/)

Papapetrou, E. P. (2018). Induced Pluripotent Stem Cells to Model Blood Diseases. *Blood*, 132(Supplement 1), SCI-15. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2018-99-109425>

Papapetrou, E. P., & Schambach, A. (2016). Gene Insertion Into Genomic Safe Harbors for Human Gene Therapy. *Molecular Therapy : The Journal of the American Society of Gene Therapy*, 24(4), 678–684. <https://doi.org/10.1038/MT.2016.38>

Park, I. H., Lerou, P. H., Zhao, R., Huo, H., & Daley, G. Q. (2008). Generation of human-induced pluripotent stem cells. *Nature Protocols*, 3(7), 1180–1186. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.92>

Pera, M. F., Reubinoff, B., & Trounson, A. (2000). Human embryonic stem cells. *Journal of Cell Science*, 113(1), 5–10.

Rezania, A., Bruin, J. E., Arora, P., Rubin, A., Batushansky, I., Asadi, A., O'Dwyer, S., Quiskamp, N., Mojibian, M., Albrecht, T., Yang, Y. H. C., Johnson, J. D., & Kieffer, T. J. (2014). Reversal of diabetes with insulin-producing cells derived in vitro from human pluripotent stem cells. *Nature Biotechnology*, 32(11), 1121–1133. <https://doi.org/10.1038/NBT.3033>

Ronaghi, M., Erceg, S., Moreno-Manzano, V., & Stojkovic, M. (2010). Challenges of stem cell therapy for spinal cord injury: human embryonic stem cells, endogenous neural stem cells, or

induced pluripotent stem cells? *Stem Cells* (Dayton, Ohio), 28(1), 93–99. <https://doi.org/10.1002/STEM.253>

Rowland, B. D., Bernards, R., & Peeper, D. S. (2005). The KLF4 tumour suppressor is a transcriptional repressor of p53 that acts as a context-dependent oncogene. *Nature Cell Biology*, 7(11), 1074–1082. <https://doi.org/10.1038/NCB1314>

Sasaki, K., Ichikawa, H., Takei, S., No, H. S., Tomotsune, D., Kano, Y., Yokoyama, T., Sirasawa, S., Mogi, A., Yoshie, S., Sakaki, S., Yamada, S., Matsumoto, K., Mizuguchi, M., Yue, F., & Tanaka, Y. (2009). Hepatocyte differentiation from human ES cells using the simple embryoid body formation method and the staged-additional cocktail. *TheScientificWorldJournal*, 9, 884–890. <https://doi.org/10.1100/TSW.2009.97>

Schick, R., Mekies, L. N., Shemer, Y., Eisen, B., Hallas, T., Jehuda, R. Ben, Ben-Ari, M., Szantai, A., Willi, L., Shulman, R., Gramlich, M., Pane, L. S., My, I., Freimark, D., Murgia, M., Santamaria, G., Gherghiceanu, M., Arad, M., Moretti, A., & Binah, O. (2018). Functional abnormalities in induced Pluripotent Stem Cell-derived cardiomyocytes generated from titin-mutated patients with dilated cardiomyopathy. *PloS One*, 13(10). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0205719>

Singh, M. S., Park, S. S., Albin, T. A., Canto-Soler, M. V., Klassen, H., MacLaren, R. E., Takahashi, M., Nagiel, A., Schwartz, S. D., & Bharti, K. (2020). Retinal stem cell transplantation: Balancing safety and potential. *Progress in Retinal and Eye Research*, 75. <https://doi.org/10.1016/J.PRETEYERES.2019.100779>

Soldner, F., Hockemeyer, D., Beard, C., Gao, Q., Bell, G. W., Cook, E. G., Hargus, G., Blak, A., Cooper, O., Mitalipova, M., Isacson, O., & Jaenisch, R. (2009). Parkinson's Disease Patient-Derived Induced Pluripotent Stem Cells Free of Viral Reprogramming Factors. *Cell*, 136(5), 964. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2009.02.013>

Sottile, V., Thomson, A., & McWhir, J. (2003). In vitro osteogenic differentiation of human ES cells. *Cloning and Stem Cells*, 5(2), 149–155. <https://doi.org/10.1089/153623003322234759>

Stacpoole, S. R. L., Bilican, B., Webber, D. J., Luzhynskaya, A., He, X. L., Compston, A., Karadottir, R., Franklin, R. J. M., & Chandran, S. (2011). Derivation of neural precursor cells from human ES cells at 3% O<sub>2</sub> is efficient, enhances survival and presents no barrier to regional

specification and functional differentiation. *Cell Death and Differentiation*, 18(6), 1016. <https://doi.org/10.1038/CDD.2010.171>

Stadtfeld, M., & Hochedlinger, K. (2010). Induced pluripotency: History, mechanisms, and applications. In *Genes and Development* (Vol. 24, Issue 20, pp. 2239–2263). <https://doi.org/10.1101/gad.1963910>

Sundberg, M., Bogetofte, H., Lawson, T., Jansson, J., Smith, G., Astradsson, A., Moore, M., Osborn, T., Cooper, O., Spealman, R., Hallett, P., & Isacson, O. (2013). Improved cell therapy protocols for Parkinson's disease based on differentiation efficiency and safety of hESC-, hiPSC-, and non-human primate iPSC-derived dopaminergic neurons. *Stem Cells* (Dayton, Ohio), 31(8), 1548–1562. <https://doi.org/10.1002/STEM.1415>

Tada, M., Takahama, Y., Abe, K., Nakatsuji, N., & Tada, T. (2001). Nuclear reprogramming of somatic cells by in vitro hybridization with ES cells. *Current Biology: CB*, 11(19), 1553–1558. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(01\)00459-6](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(01)00459-6)

Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., Narita, M., Ichisaka, T., Tomoda, K., & Yamanaka, S. (2007). Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*, 131(5), 861–872. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2007.11.019>

Takahashi, K., & Yamanaka, S. (2006). Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell*, 126(4), 663–676. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.07.024>

Thomson, J. A., Itskovitz-Eldor, J., Shapiro, S. S., Waknitz, M. A., Swiergiel, J. J., Marshall, V. S., & Jones, J. M. (1998). Embryonic Stem Cell Lines Derived from Human Blastocysts. *Science*, 282(5395), 1145–1147. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.282.5391.1145>

Thomson, J. A., & Odorico, J. S. (2000). Human embryonic stem cell and embryonic germ cell lines. *Trends in Biotechnology*, 18(2), 53–57.

Wen, Z., Nguyen, H. N., Guo, Z., Lalli, M. A., Wang, X., Su, Y., Kim, N. S., Yoon, K. J., Shin, J., Zhang, C., Makri, G., Nauen, D., Yu, H., Guzman, E., Chiang, C. H., Yoritomo, N., Kaibuchi, K., Zou, J., Christian, K. M., ... Ming, G. L. (2014). Synaptic dysregulation in a human iPSC model of mental disorders. *Nature*, 515(7527), 414–418. <https://doi.org/10.1038/NATURE13716>

- Willenbring, H., & Soto-Gutierrez, A. (2013). Transplantable Liver Organoids Made From Only Three Ingredients. *Cell Stem Cell*, 13(2), 139–140. <https://doi.org/10.1016/J.STEM.2013.07.014>
- Wilmut, I., Schnieke, A. E., McWhir, J., Kind, A. J., & Campbell, K. H. S. (1997). Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 1997 385:6619, 385(6619), 810–813. <https://doi.org/10.1038/385810a0>
- Wobus, A. M., & Boheler, K. R. (2005). Embryonic stem cells: Prospects for developmental biology and cell therapy. *Physiological Reviews*, 85(2), 635–678. <https://doi.org/10.1152/PHYSREV.00054.2003>
- Woll, P. S., Grzywacz, B., Tian, X., Marcus, R. K., Knorr, D. A., Verneris, M. R., & Kaufman, D. S. (2009). Human embryonic stem cells differentiate into a homogeneous population of natural killer cells with potent in vivo antitumor activity. *Blood*, 113(24), 6094–6101. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2008-06-165225>
- Wong, I. Y. H., Poon, M. W., Pang, R. T. W., Lian, Q., & Wong, D. (2011). Promises of stem cell therapy for retinal degenerative diseases. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 249(10), 1439. <https://doi.org/10.1007/S00417-011-1764-Z>
- Wu, J. C., Garg, P., Yoshida, Y., Yamanaka, S., Gepstein, L., Hulot, J. S., Knollmann, B. C., & Schwartz, P. J. (2019). Towards Precision Medicine With Human iPSCs for Cardiac Channelopathies. *Circulation Research*, 125(6), 653–658. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.119.315209>
- Yamanaka, S. (2020). Pluripotent Stem Cell-Based Cell Therapy—Promise and Challenges. In *Cell Stem Cell* (Vol. 27, Issue 4, pp. 523–531). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.09.014>
- Ye, L., Ni, X., Zhao, Z. A., Lei, W., & Hu, S. (2018). The Application of Induced Pluripotent Stem Cells in Cardiac Disease Modeling and Drug Testing. *Journal of Cardiovascular Translational Research*, 11(5), 366–374. <https://doi.org/10.1007/S12265-018-9811-3>
- 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* (New York, N.Y.), 318(5858), 1917–1920. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1151526>

Zakrzewski, W., Dobrzyński, M., Szymonowicz, M., & Rybak, Z. (2019). Stem cells: Past, present, and future. In *Stem Cell Research and Therapy* (Vol. 10, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s13287-019-1165-5>

Zhu, H., & Kaufman, D. S. (2019). An Improved Method to Produce Clinical-Scale Natural Killer Cells from Human Pluripotent Stem Cells. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.), 2048, 107–119. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9728-2\\_12](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9728-2_12)

## 10. Životopis

Rođena sam u Splitu 18. prosinca 2001. godine. Tamo završavam osnovnoškolsko obrazovanje u OŠ Skalice, a potom srednjoškolsko obrazovanje u III. gimnaziji, koju pohađam do 2020. Iste godine upisujem prijediplomski studij Molekularna biologija na Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Zbog odličnog prosjeka tijekom cijelog obrazovanja, u srednjoj školi i na fakultetu primam stipendije za izvrsnost. Područja na koja u budućnosti namjeravam usmjeriti svoje interese su biomedicina, razvojna biologija i embriologija te bioinformatika.