

Liječenje poremećaja centralnog živčanog sustava matičnim stanicama

Selaković, Nika

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

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:217:862015>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-06**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Nika Selaković

**Liječenje poremećaja centralnog živčanog
sustava matičnim stanicama**

Završni rad

Zagreb, 2024.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Nika Selaković

**Treatment of the central nervous system
disorders using stem cells**

Bachelor thesis

Zagreb, 2024.

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu studijskog programa Biologija na Zavodu za animalnu fiziologiju biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom prof. dr. sc. Dubravke Hranilović.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Završni rad

Liječenje poremećaja centralnog živčanog sustava matičnim stanicama

Nika Selaković

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Matične stanice istražuju se već desetljećima zbog svoje sposobnosti da se diferenciraju u različite tipove stanica. Mogu se podijeliti s obzirom na potentnost, koja predstavlja sposobnost stanica da se diferenciraju u različite fenotipske oblike u skladu s lokalnim mikrookruženjem i potrebama organizma, te podrijetlo, odnosno tip tkiva iz kojega se izoliraju. Živčani sustav omogućava percepciju okoliša, odgovor na podražaje, kontrolu tjelesnih funkcija, kretanje, učenje i razmišljanje, a sastoji se od neurona, koji provode živčane impulse, i glija stanica, koje podupiru funkciju neurona. Neurodegeneracijom nazivamo patološka stanja koja zahvaćaju neurone. Posljedično se razvijaju neurodegenerativni poremećaji koje karakterizira spora progresija bolesti i ireverzibilni rast stupnja disfunkcionalnosti neurona i sinapsi u pojedinim dijelovima živčanog sustava. Neurodegenerativne bolesti u posljednjih nekoliko desetljeća zahvaćaju sve veći postotak populacije zbog čega je pronalazak trajnog rješenja i kvalitetne terapije od najveće važnosti. Terapija matičnim stanicama nudi potencijal za liječenje neuralnih bolesti i poremećaja kao što su Parkinsonova bolest, multipla skleroza, Huntingtonova bolest i Alzheimerova bolest. Iako pred znanstvenom zajednicom stoje još brojni izazovi i dileme, uključujući etička pitanja i potencijalne nuspojave terapija, liječenje poremećaja centralnog živčanog sustava matičnim stanicama predstavlja jedno od najperspektivnijih područja moderne medicine s ciljem poboljšanja kvalitete života pacijenata te dugoročnog smanjenja posljedica neurodegeneracije.

Ključne riječi: terapija stanicama, pluripotentnost, neurodegenerativni poremećaji

(26 stranica, 2 slike, 60 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)
Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: prof. dr. sc. Dubravka Hranilović

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Bachelor thesis

Treatment of the central nervous system disorders using stem cells

Nika Selaković

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Stem cells have been researched for decades for their ability to differentiate into different cell types. They can be divided into subtypes using the two criteria: potency, the ability of cells to differentiate into different phenotypic forms in accordance with the local microenvironment and the needs of the organism, and origin, i.e. the type of tissue from which they are isolated. The nervous system enables perception of the environment, response to stimuli, control of bodily functions, movement, learning and thinking, and consists of neurons, which conduct nerve impulses, and glial cells, which support the function of neurons. Pathological conditions affecting neurons are called neurodegeneration. It may lead to neurodegenerative disorders, which are characterized by a slow progression of the disease and an irreversible increase in the degree of dysfunction of neurons and synapses in certain parts of the nervous system. In the last few decades, neurodegenerative diseases have affected an increasing percentage of the population, which is why finding a permanent solution and quality therapy is of utmost importance. Stem cell therapy offers the potential to treat neural diseases and disorders such as Parkinson's disease, multiple sclerosis, Huntington's disease and Alzheimer's disease. Although the scientific community still faces many challenges and dilemmas, including ethical issues and potential side effects of therapies, treatment of disorders of the central nervous system with stem cells represents one of the most promising areas of modern medicine with the aim of improving the quality of life of patients and reducing the long-term consequences of neurodegeneration.

Keywords: cell therapy, pluripotency, neurodegenerative disorders

(26 pages, 2 figures, 60 references, original in: croatian)

Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: prof. Dubravka Hranilović, Ph.D.

Sadržaj

1	Uvod.....	1
2	Povijest istraživanja matičnih stanica	2
3	Podjela matičnih stanica.....	4
3.1	Podjela s obzirom na potentnost.....	4
3.2	Podjela s obzirom na podrijetlo.....	6
3.2.1	Embrionalne matične stanice.....	6
3.2.2	Fetalne matične stanice	7
3.2.3	Odrasle ili adultne matične stanice	10
3.2.4	Inducirane pluripotentne matične stanice.....	10
4	Živčani sustav i neurodegenerativne promjene	12
5	Liječenje neurodegenerativnih bolesti matičnim stanicama	14
5.1	Parkinsonova bolest	14
5.2	Alzheimerova bolest	15
5.3	Huntingtonova bolest.....	16
5.4	Multiplaskleroza.....	17
6	Zaključak.....	18
7	Literatura.....	19
8	Životopis.....	26

1 Uvod

Ideja o vječnom životu i organizmima na kojima se ne vide znakovi starenja prisutna je od davnih vremena. Mogućnost regeneracije cijelih dijelova tijela fascinirala je ljude uslijed promatranja kako vodozemcima reda Caudata nakon autotomije rep ponovno naraste ili kako Hydra ima sposobnost regeneracije cijeloga tijela iz najmanjeg očuvanog fragmenta. Kod odvedenijih sisavaca moć regeneracije je većinski nestala, osim kod Cervidae koji regeneriraju svoje rogove, i ljudi čija jetra ima moć samoregeneracije, moć koja je ovjekovječena u mitu o Prometeju. Moderna medicina je naizgled zagrebala površinu i odabrala smjer u kojem će se kretati po pitanju istraživanja regeneracije i proliferacije staničnih sustava, čak i induciranom diferenciranju staničnih tipova, a riječ je o matičnim stanicama. Matične stanice su nediferencirane stanice pronađene u embrionalnoj, fetalnoj i odrasloj fazi ljudskoga života, a svojom naknadnom diferencijacijom predstavljaju temelje u izgradnji organskih sustava. Dok su embrionalne matične stanice šire rasprostranjene, u fetalnoj i odrasloj fazi postaju tkivno specifične i pronađene su isključivo u već diferenciranim organima (Kolios i Moodley 2012.). Matične stanice imaju ogroman potencijal postati jedna od ključnih tehnika među terapijama regeneracije i obnove tkiva. Postoje kriteriji koji moraju biti zadovoljeni kako bi stanica po definiciji bila matična, a to su: 1) mora imati sposobnost neograničene samoobnove i proizvodnje stanica kćeri koje su identične početnoj stanici i 2) mora imati sposobnost razvoja i diferencijacije u specijaliziranu stanicu koja onda predstavlja gradivni blok zdravog organizma (Biehl i Russel 2009.). Drugo je obilježje iznimno važno za definiciju jer se i tumorske stanice beskonačno mogu dijeliti, ali je njihova dioba okarakterizirana kao nekontrolirana, dok je ona kod matičnih stanica regulirana. Istraživanje potencijala matičnih stanica ide stopu uz stopu s vremenom, prateći trendove u znanosti, namećući brojna etička i politička pitanja zbog čega dobiva znatnu medijsku pažnju. Razina potražnje i količina interesa za ovu specifičnu tehniku nije proporcionalna s mogućnostima ekstrakcije matičnih stanica *in vivo* što je rezultiralo razvojem induciranih matičnih stanica, relativno novom tehnologijom koja nastoji rediferencirati odrasle somatske stanice u uvjetima *in vitro* u pluripotentno stanje molekularnim tehnikama. Zbog teže dostupnosti embrionalnih i fetalnih matičnih stanica, ali i zbog etičkih pitanja koja se vezuju uz njihovo korištenje, rješenje bi se moglo naći u korištenju induciranih matičnih stanica. Usprkos velikom entuzijazmu i optimizmu te mogućnostima koja takva terapija donosi, dosadašnja testiranja nisu ohrabrujuća i znanstvenike čeka dugi put prije nego li terapija induciranim matičnim stanicama postane norma u liječenju.

2 Povijest istraživanja matičnih stanica

Pojam "matične stanice" prvo je bio predložen 1908. godine od strane ruskog histologa Aleksandra Maksimova (Kalra i Tomar 2014.). Pojam je postao popularniji sredinom 20. stoljeća kroz istraživanja provedena na teratokarcinomima, embrionalnim tumorskim stanicama i embrionalnim matičnim stanicama, ali s napretkom u istraživanjima stanične diferencijacije i razvojne biologije odvedenih sisavaca 1970.-ih godina interes je značajno porastao.

Teratokarcinomi su karcinomi najčešće pronađeni u gonadama, mogu biti maligni i benigni, a predstavljaju neorganizirane heterogene nakupine sastavljene od odraslih, diferenciranih tkiva i deformiranih tkiva, primjerice zubi, kose, komada kostiju i mišića (Solter 2006.). Istraživanje teratokarcinoma doživjelo je zamah 1950.-ih godina kada je uzgojeno 129 sojeva laboratorijskih miševa kod kojih je primjećeno spontano formiranje testikularnih teratoma. Maligna priroda navedenih teratoma pripisana je njihovoj sposobnosti rapidne diobe prilikom potkožne ili interperitonealne transplantacije. Drugi bitan eksperiment dokazao je da pojedinačna stanica izolirana iz teratokarcinoma može producirati sve tipove stanica koje su pronađene u teratokarcinomu što nagovještava da stanice teratoma posjeduju određeni oblik matičnih stanica ili samo po sebi posjeduju određen stupanj potentnosti (Kleinsmith i Pierce 1964.).

Sljedeći korak u istraživanjima bio je uspostavljanje kulture stanica teratokarcinoma što je postalo moguće s početkom korištenja hranidbenog sloja stanica (eng. *cell feeder layer*), odnosno tankog sloja stanica koje ne ulaze u diobu, a svojim ekstracelularnim sekretima pomažu u proliferaciji drugih stanica (Llames i sur. 2015.). Korištenje takvih staničnih kultura omogućilo je nastanak gustih kolonija stanica s istaknutom jezgrom, ali kada su te iste stanice premještene u petrijevke u kojima se nisu mogle zalijepiti za podlogu, došlo je do formiranja struktura nalik na embrije (eng. *embryoid bodies*) koje su sadržavale unutarnji sloj matičnih stanica okružen epitelnim stanicama (Evans i Kaufman 1981.). Takve strukture nazivamo embrionalne tumorske stanice.

Za uzgoj embrionalnih stanica sisavaca prvenstveno su se koristile matične stanice laboratorijskih miševa kod kojih su pronađeni svi markeri prisutni u embrionalnim tumorskim stanicama s velikim potencijalom diferencijacije *in vitro* i *in vivo*. Razvojem znanosti postalo je moguće uspostaviti kulture stanica i bez hranidbenog sloja stanica, u prisutnosti kombinacije kemikalija, faktora rasta i matriksa, a u ekstremno kontroliranim uvjetima moguće je i izbjeći

stadij struktura nalik na embrije i razviti embrionalne matične stanice direktno u neuralne matične stanice kroz jednoslojnu kulturu (Conti i sur. 2005.).

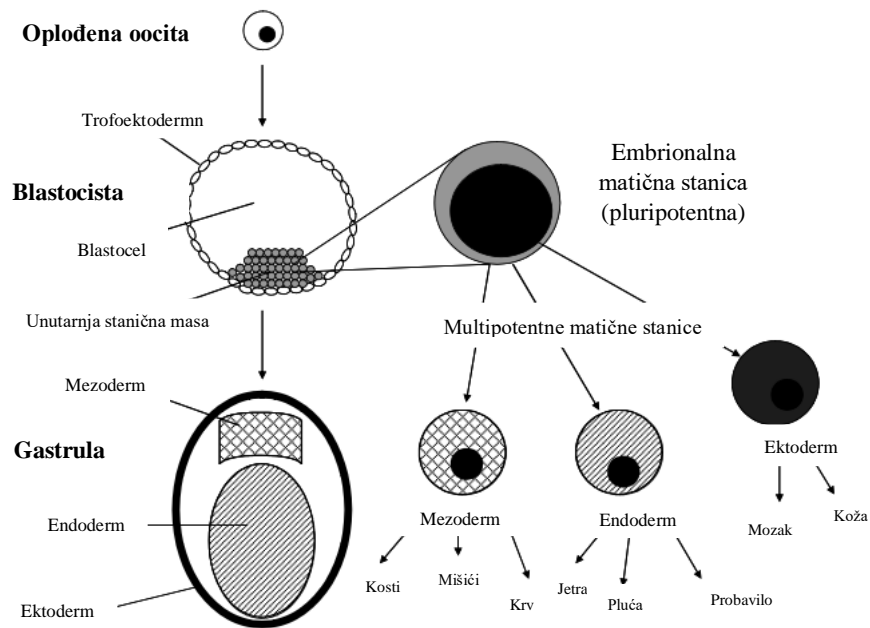
Najveći pomak u istraživanju ljudskih embrionalnih matičnih stanica dogodio se 1998. godine kada je dr. J. A. Thomson izolirao prve ljudske embrionalne stanice (eng. *human embryonal stem cells*, hESC). Eksperiment je proveden na 36 embrija pacijenata koji su prošli kroz umjetnu oplodnju (eng. *in vitro fertilization*, IVF) iz kojih je zatim uspješno izolirano 14 unutarnjih staničnih masa (eng. *inner cell mass*, ICM). 2009. godine su započela prva klinička ispitivanja s hESC. Dr. Shinya Yamanaka i Sir John Gurdon su 2012. godine dobili Nobelovu nagradu za otkriće da se odrasle stanice mogu reprogramirati natrag u pluripotentno stanje (Eguizabal i sur. 2019.).

3 Podjela matičnih stanica

Matične stanice mogu se podijeliti s obzirom na dva kriterija. Prvi kriterij je potentnost što predstavlja sposobnost stanica da se diferenciraju u različite fenotipske oblike, u skladu s lokalnim mikrokruženjem i potrebama organizma, što određuje njihov konačni diferencijacijski put i funkcionalnu sudbinu. Drugi kriterij je podrijetlo, odnosno samo tkivo ili tip tkiva iz kojega se izoliraju.

3.1 Podjela s obzirom na potentnost

Stupanj potentnosti opada sa svakim novim razvojnim stadijem, pa tako između stadija zigote i osmostanične morule govorimo o najvećem diferencijalnom potencijalu - totipotentnosti. Totipotentnost je sposobnost stanica da se diferenciraju u sve stanične tipove, odnosno embrionalne i ekstraembrionalne strukture. Primjer za to je placenta koja služi za dovod hranjivih tvari i kisika prilikom fetalnog razvoja. Daljnjim razvojem morule u blastocistu koja je građena od vanjskog sloja trofoblasta i unutarnjeg nediferenciranog sloja, ICM, stanice postaju pluripotente (Wobus i Boheler 2005.). Pluripotentne stanice daju stanice sva tri zametna listića, ali ne i ekstraembrionalne strukture, odnosno mogu se diferencirati u gotovo sve stanične tipove. Multipotentne matične stanice grade ektoderm, mezoderm i endoderm, pa se mogu diferencirati samo u stanične tipove dotičnog tkiva, primjerice hematopoetske matične stanice iz kojih kasnije nastaju crvene i bijele krvne stanice. Možda najbolje poznate multipotentne matične stanice su one koštane srži koje se koriste u medicinskoj terapiji još od 1960.-ih, ali su recentna istraživanja prikazala kako placenta i krv pupkovine sadrže jednaki, ako ne i veći potencijal multipotentnosti od stanica koštane srži (Biehl 2009.). Oligopotentne matične stanice mogu se diferencirati u svega nekoliko staničnih tipova poput limfoidnih i mijeloidnih matičnih stanica, a unipotentne stanice su one s najnižim stupnjem potentnosti koje mogu razvijati stanice isključivo nalik na same sebe, kao što su mišićne stanice. Proces opadanja stanične potentnosti i razvoj organa iz određenih staničnih tipova prikazan je na Slici 1.



Slika 1. Derivacija matičnih stanica. Tijekom embrionalnog razvoja stanice prolaze kroz procese proliferacije i specijalizacije te se diferenciraju, što dovodi do razvoja oplodene jajne stanice u blastocistu, pa u gastrulu. Pluripotentne matične stanice mogu se prikupiti iz unutarnje mase stanica blastociste koja je na crtežu lagano osjenčana. Multipotentne matične stanice na crtežu prikazane tamnijim obojenjem i dijamantnim uzorkom, mogu se naći u stadiju gastrule. (Biehl i Russell 2009.).

3.2 Podjela s obzirom na podrijetlo

Matične stanice se mogu podijeliti u četiri kategorije s obzirom na podrijetlo: embrionalne matične stanice, fetalne, odrasle ili adultne i inducirane pluripotentne matične stanice. U pravilu, embrionalne i inducirane pluripotentne matične stanice su pluripotentne dok su adultne oligo- ili unipotentne (Kolios i Moodley 2013.).

3.2.1 Embrionalne matične stanice

Embrionalne matične stanice (eng. *embryonic stem cells*, ESC) izolirane su iz unutarnje mase stanica (ICM) blastocista prije nego li bi se dogodila implantacija embrija *in vivo*, najčešće 4-6 dana nakon oplodnje (Kalra i Tomar 2014.). Pluripotentne su i mogu se razviti u stanice sva tri zametna listića, ali se isto tako mogu zadržati u nediferenciranom stanju u kulturi (Yao i sur. 2006.). Mišje embrionalne matične stanice prvo su izolirane 1981. godine i uspostavila se kultura nediferenciranih stanica dodavanjem inhibirajućeg faktora leukemije (eng. *leukemia inhibiting factor*, LIF) u podlogu ili, alternativno, na hranjivoj podlozi od mišjih embrionalnih fibroblasta (eng. *mouse embryonic fibroblast*, MEF) (Evans i Kaufman 1981.). Thomsonovo istraživanje 1998. godine prvo je donijelo uvid u izolaciju i uspostavu kulture ljudskih embrionalnih matičnih stanica (eng. *human embryonal stem cells*, hESC). Prije izolacije hESC istraživanja su se provodila na raznim skupinama životinja, primarno na miševima i primatima, ali kasnije se pokazalo da su rezultati istraživanja i metode korištene na miševima uspješnije kod uspostave kulture hESC nego one korištene kod primata. Svojstva koja su korištena za definiciju ESC bila su: i) stanica je morala nastati iz pluripotentne populacije stanica, ii) mora zadržavati normalan kariotip tijekom duplikacije, iii) besmrtna je i može se beskonačno dijeliti, iv) klonovi matične stanice moraju se moći spontano diferencirati u ekstraembrionalne i somatske stanice sva tri zametna listića (Pera i sur. 2000.). Matične stanice primata drugačije su morfologije od mišjih i nisu pokazivale jednaki potencijal za rast prilikom izolacije niti su zadovoljavale zadnje traženo svojstvo (Pera i sur. 2000.) Kada su hESC uzgajane u petrijevkama na podlozi od MEF-a, formirale su se ravne, kompaktne kolonije sa stanicama koje su imale veliki omjer jezgre i citoplazme; dolazi do ekspresije transkripcijskog faktora Octamer-4 (Oct-4), pojave nestina, intermedijarnog filameta koji je prekursor neuroektodermalnih i mezodermalnih stanica, te je zabilježena iznimno visoka telomerazna aktivnost (Biwas i Hutchins 2007.). Uklanjanjem LIF-a ili hranidbenog sloja stanica iz kulture, kao i preseljenjem adherentnih stanica u suspenziju, dolazi do formiranja nakupina stanica nalik na embrije (eng. *embryoid bodies*) kod kojih, nakon ponovnog uspostavljanja adherentne kulture, dolazi do specijalizacije stanica (Rippon i Bishop 2004.). Trodimenzionalne kulture

"organa" uspostavljene prilikom manipuliranja okolišnih uvjeta kultura hESC mogu biti korištene za farmakološka testiranja što će znatno smanjiti broj životinja u laboratorijima, ali i ubrzati istraživanja ljudskih bolesti.

3.2.1.1 *Embrionalne zametne stanice*

Nakon procesa implantacije i gastrulacije naglo počinje opadati stupanj potentnosti stanica. Istovremeno dolazi do razvoja diploidnih prvobitnih zametnih stanica (eng. *primordial germ cells*, PGC) iz sloja epiblastnih stanica koje zatim migriraju na područje spolnog grebena gdje prolaze kroz mejozu i formiraju spermije ili oocite (Thomson i Odorico 2000.) Spolni greben je somatski prekursor gonada u oba spola, a gradi ga ponajviše mezenhimsko tkivo (Tanaka i Niskinakamura 2014.). PGC se izoliraju iz fetalnih gonada terminiranih fetusa 7-9 tjedana nakon implantacije (Turnpenny i sur. 2003.). Embrionalne zametne stanice (eng. *embryonic germ cells*, EGC) su izvedene iz PGC. Prilikom uspostave kulture stanica, EGC su formirale više sferične kolonije, različite od kompaktnih i ravnih kolonija hESC. Uzgajane su na MEF-podlogama u prisutnosti LIF-a, fibroblastnog faktora rasta i forskolina, a unatoč razlici u morfologiji EGC su eksprimirale iste embrionalne antigene kao i ESC (SSEA-3 i SSEA-4) te su zadržale normalan kariotip kroz dugotrajni boravak u kulturi stanica kao i hESC (Thomson i Odorico 2000.). hESC i hEGC predstavljaju neograničeni izvor euploidnih i nediferenciranih stanica za istraživanje fiziologije i patologije ljudskih stanica, a mogu biti i osnova za multiplikaciju tkiva potpuno tkivno-specifične matične stanice kao što je srčano tkivo (Thomson i Odorico 2000.).

3.2.2 Fetalne matične stanice

Kako primjena fetalnih matičnih stanica (Slika 2.) nije sputavana političkim i vjerskim razlozima, one nam pružaju drugačiji uvid u mogućnosti terapije. Mogu se izolirati direktno iz fetusa ili iz ekstraembrionalnih struktura (Marcus i Woodbury 2007.). Prve izolirane fetalne matične stanice bile su hematopoetske prirode, izolirane iz pupkovine (Shamblott i sur. 1998.). Osim što izolacija fetalnih stanica ne predstavlja rizik za pacijetново zdravlje kao kod primjerice izolacije adultnih matičnih stanica, količina stanica koja se može izolirati i iznimna kapacitet za multiplikaciju znatno olakšavaju proces i povećavaju broj stanica koji se može uzgojiti. I dok neki tvrde da sama potentnost fetalnih matičnih stanica nije determinirana, drugi tvrde da se ponajviše radi o multipotentnim stanicama (Marcus i Woodbury 2007.).

3.2.2.1 Amnionska tekućina

Amnionska tekućina uvelike se koristi za dijagnoze genetskih bolesti, a nedavna istraživanja nagovještavaju da se može koristiti i kao rezervar multipotentnih fetalnih stanica. Amnionska tekućina predstavlja heterogenu populaciju stanica raznih morfologija, od urogenitalne i respiratorne do probavne i epitelne prirode (Marcus i Woodbury 2007.), ali važno je napomenuti da s odmakom vremena, u različitim stadijima gestacije, u amnionskoj tekućini je prisutan drugačiji sastav stanica (Pappa i Anagnou 2009.; Guillot 2006.). Mezenhimske matične stanice amnionske tekućine prvo su izolirane 2003., a u uvjetima *in vitro* sposobne su diferencirati u fibroblaste, adipocite i osteoblaste (Marcus i Woodbury 2007.). Spomenute stanice izolirane su iz svega 2 mL amnionske tekućine tijekom drugog tromjesečja trudnoće, a nakon četiri tjedna u kulturi stanica naraslo je > 180 milijuna stanica (In 't Anker i sur. 2003.). Stanice su prikazivale normalan kariotip, ekspimirale su marker Oct-4, ranije pronađen kod hESC i zadržavale su telomeraznu aktivnost tijekom dugotrajne kulture. Izvedene stanice su se u kulturi zatim diferencirale u hepatocite, osteocite, miocite i neurone (Marcus i Woodbury 2007.) i iako je istraživanje još u ranoj fazi, preliminarni rezultati su zadovoljavajući.

3.2.2.2 Amnionska membrana

Amnionska membrana ili amnion je otporna, prozirna struktura koja obavija gestacijsku vreću i štiti fetus tijekom trudnoće. Predstavlja unutrašnji sloj fetalnih membrana, a građena je od tankog epitela, bazalne membrane i strome od vezivnog tkiva koja nije prožeta krvnim žilama (Insausti i sur. 2010.). Razvoj placente i embrionalnih membrana započinje implantacijom blastociste 5-6 dana nakon oplodnje, a sam amnionski epitel se formira iz epiblastnog sloja (Insausti i sur. 2010.). Nedavna istraživanja su među stanicama amnionske membrane, primarno među amnionskim epitelnim stanicama, identificirala svega 10% stanica koje su ekspimirale marker matičnih stanica SSEA-4, ali se ta niska vrijednost pripisala mogućnosti da je plastičnost navedenih stanica limitirana na pregastrulacijsku fazu razvoja (Pappa i Anagnou 2009.). U kasnijim istraživanjima te su stanice demonstrirale mogućnost diferencijacije u stanice sva tri zametna listića (Miki i sur. 2005.; Miki i Strom 2006.).

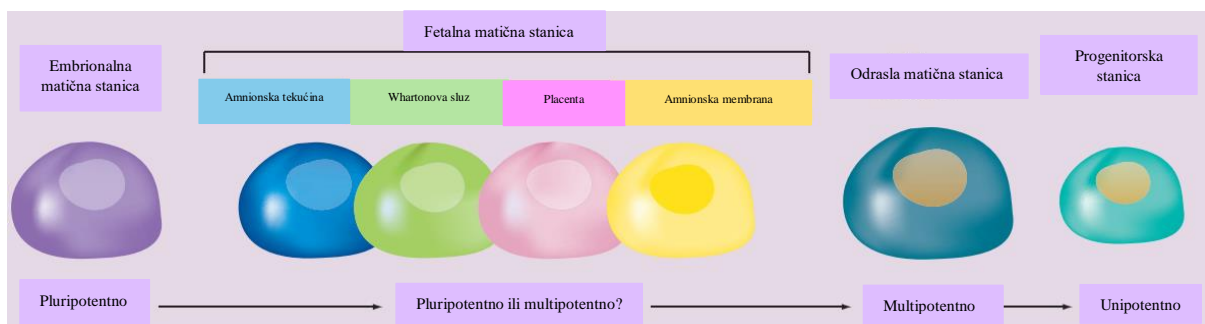
3.2.2.3 Whartonova sluz

Kroz pupčanu vrpцу prolaze dvije arterije i jedna vena koje su zaštićene vezivnim tkivom građanim od proteoglikana – Whartonovom sluzi. Ekstracelularni matriks te sluzi sadrži nedavno otkrivenu masu matičnih stanica nazvanu matične stanice matriksa pupčane vrpce (eng. *umbilical cord matrix stem cells*, UCMSC), a pretpostavlja se da pojedinačna pupčana vrpca sadrži oko 400 000 takvih stanica (Marcus i Woodbury 2007.). UCMSC ekspimiraju marker Oct-4 i *in vitro* pokazuju sposobnost diferencijacije u koštane, mišićne i masne stanice

(Conconi i sur. 2006.; Wang i sur. 2004.), a u kontroliranim uvjetima diferenciraju u kardiomicete i neurone (Mitchell i sur. 2003.). Transplantacije UCMSC u tkiva laboratorijskih miševa pokazale su se uspješnim s tim da su se stanice transplantirane u mišji mozak diferencirale u neurone i glija stanice (Ding i sur. 2007.).

3.2.2.4 Placenta

Placenta predstavlja strukturu poveznicu između fetusa i majke preko koje fetus dobavlja hranjive tvari. Izvedenica je trofoblastnog sloja blastociste. Matične stanice izvedene iz stanica placente (eng. *placental-derived stem cells*, PDSC) eksprimiraju markere mezenhimalnih stanica, ali prikazuju fibroblasnu morfologiju i pluripotentni marker Oct-4. PDSC mogu preživjeti i do 20 presađivanja u kulturi i zabilježena je diferencijacija *in vitro* u osteoblaste i adipoblaste (Marcus i Woodbury 2007.). Istraživanja *in vivo* zabilježila su integraciju transplantiranih stanica u mozak odraslog laboratorijskog štakora, a istraživanje *in utero* gdje su PDSC-e inkorporirane u fetus ovce, pokazalo je integraciju PDSC u nekoliko različitih tkiva poput koštane srži, jetre i srca (Marcus i Woodbury 2007.).



Slika 2. Trenutni model razvojnog položaja i stupnja potentnosti fetalnih matičnih stanica izoliranih tijekom gestacije. Iz pluripotentnih embrionalnih matičnih stanica razvijaju se fetalne matične stanice o čijem stupnju potentnosti znanstvenici i dalje diskutiraju. Fetalne matične stanice mogu se izolirati iz nekoliko tkiva, odnosno amnionske tekućine, Whartonove sluzi, placente i amnionske membrane. Daljnim razvojem organizma dolazi do pada stupnja potentnosti na multipotentnost kod odraslih matičnih stanica, a progenitorske stanice koje uvjetuju razvoju specifičnih tkiva su unipotentne. (Pappa i Anagnou 2009.).

3.2.3 Odrasle ili adultne matične stanice

Kada govorimo o adultnim matičnim stanicama, najčešće govorimo o tkivno-specifičnim matičnim stanicama poput hematopoetskih, neuralnih, epidermalnih i mezenhimalnih stanica. Unatoč činjenici da demonstriraju sva četiri prijašnje navedena svojstva matičnih stanica, znanstvenici se sve više oslanjaju na pojam stanične plastičnosti kada je riječ o adultnim matičnim stanicama. Minimalni kriteriji za definiranje plastičnosti stanice su: i) sposobnost samoobnove, ii) diferencijacija u jedan tip stanice izvornog tkiva i barem u jedan tip stanice drugog tkiva, iii) funkcionalna diferencijacija *in vivo* u jedan tip stanice iz izvornog tkiva i barem u jedan tip stanice drugog tkiva (Verfaillie 2002.). Nadaleko najbolje istražene su matične stanice koštane srži, a znanstvenici su ustvrdili da se, osim u hematopoetske i mezenhimalne stanice, mogu diferencirati i u stanice krvnih žila (Asahara i sur. 1999.), mišića, pa čak i regenerirati živčani sustav (Mezey i sur. 2000.).

3.2.4 Inducirane pluripotentne matične stanice

Inducirane pluripotentne matične stanice (eng. *induced pluripotent stem cells*, iPSC) umjetno su izvedene iz adultnih, diferenciranih somatskih stanica koristeći tehnike prisiljenog izražavanja pluripotentnih gena uslijed tretiranja kultura "reprogramirajućim" transkripcijskim faktorima (Bellin i sur. 2012.). iPSC dijele mnoga obilježja s hESC uključujući morfologiju, površinske antigene, telomeraznu aktivnost i proliferaciju (Takahashi i sur. 2007.), a osim toga imaju normalan kariotip i sposobnost diferencijacije u stanice izvedenice sva tri zametna listića (Yu i sur. 2007.). Relativno nova tehnologija uporabe iPSC mogla bi unaprijediti zdravstvo kreirajući personalizirane terapije za pacijente i specifične stanične linije za karakteristične bolesti. iPSC mogu se diferencirati u neurone (Liu, H. i Zhang 2011.) i kardiomiocite (Blumridge i sur. 2012.) pri čemu se zadržavaju genetski profili osoba čiji su uzorci uzeti. Samo reprogramiranje diferenciranih somatskih stanica vršilo se putem vanjske manipulacije transkripcijskim faktorima OCT4, SOX2 u kombinaciji s KLF4 i MYC ili NANOG i LIN28 (Takahashi i sur. 2007.; Yu i sur. 2007.). Točne metode dediferenciranja somatskih stanica razlikuju se od tkiva do tkiva što uzrokuje razlike između induciranih pluripotentnih stanica unatoč naizgled jednakom stadiju diferencijacije. Tretirane stanice su na neki način "nezrele", što se podrazumijeva s obzirom da se tek očekuje da se diferenciraju. Prije kreiranja individualne terapije iznimno je važno potaknuti "sazrijevanje" takvih stanica kako ne bi pokazivale prerane znakove "starenja". Primjerice, fetalni kardiomiociti otporni su na hipertrofiju (u ovom slučaju govorimo o povećanju samih stanica, ne o hipertrofiji u

tradicionalnom smislu), pa ukoliko razvijemo heterogeno tkivo koristeći te stanice, nećemo biti u mogućnosti razlikovati zdrave fetalne kardiomiocite i bolesne odrasle stanice (Bellin i sur. 2012.). Istraživanja iPSC napreduju iznimno brzo, ali potrebno je producirati veliki broj staničnih linija za eksperimentiranje prije nego li takva terapija postane norma u modernoj medicini. Retroviralni vektori i onkogeni c-Myc koji se koriste za induciranje reprogramiranja somatskih stanica u kliničkim istraživanjima mogu uzrokovati razvoj tumora zbog čega su znanstvenici u potrazi za alternativama (Kolios i Moodley 2013.).

4 Živčani sustav i neurodegenerativne promjene

Živčani sustav najbitniji je organski sustav po pitanju primanja informacija i percepcije okoliša, odgovoran je za kontrolu svih tjelesnih funkcija, od primanja podražaja do formiranja misli. Njegovom aktivnošću omogućeno nam je kretanje, reagiranje na vanjske podržaje, učenje i razmišljanje.

Strukturno je podijeljen na središnji (eng. *central nervous system*, CNS), koji čine mozak i leđna moždina te periferni (eng. *periferal nervous system*, PNS), građen od živaca koji ulaze u i izlaze iz CNS-a. Postoji i funkcionalna podjela živčanog sustava na aferentni koji u CNS donosi osjetilne informacije i eferentni, koji aktivacijom skeletnih mišića ili unutarnjih organa generira odgovor na procesirani podražaj.

Osnovna građevna jedinica živčanog sustava je živčana stanica ili neuron koja se sastoji od dendrita koji kratkim nastavcima primaju podražaje, tijela stanice u kojem je pohranjena jezgra i aksona, duljeg ogranka stanice koji provodi akcijski potencijal. Osim neurona, ključnu ulogu u građi živčanog sustava čine i glija stanice pružajući potporu i igrajući važnu ulogu u održavanju funkcije neurona (Garman 2011.).

Neurodegeneracija općenito predstavlja patološka stanja koja zahvaćaju neurone. Posljedično dolazi do razvoja neurodegenerativnih poremećaja koji su definirani kao grupa poremećaja s heterogenim kliničkim simptomima (Przedborski 2003.), a okarakterizirani su sporom progresijom bolesti i ireverzibilnim rastom stupnja disfunkcionalnosti neurona i sinapsi u odabranim područjima živčanog sustava koji onda rezultiraju različitim kliničkim slikama i tijekovima bolesti za pojedine pacijente (Jellinger 2010.). Kompleksnost građe živčanog sustava uvelike otežava točnu determinaciju inicijacije bolesti. Gubitak funkcionalnosti neurona najčešće se pripisuje intracelularnoj ili ekstracelularnoj akumulaciji toksičnih konformacija proteina (eng. *protein misfolding* ili *toxic conformations*), oksidativnom stresu, poremećenoj funkciji mitohondrija i neurotropina te neuroinflamaciji mikroglia-stanica (Jellinger 2010.). Mikroglia-stanice su tip makrofaga u mozgu i leđnoj moždini te su dio urođenog imunološkog sustava. U zdravih osoba, mikroglia-stanice proizvode protuupalne i neurotrofne faktore. Prilikom aktivacije imunskog sustava zbog ulaska patogena u organizam, mikroglia potiče upalni odgovor kojem je uloga unaprijediti imunski odgovor. U većini slučajeva, odgovor mikroglia-stanica je samoregulirajući te dolazi do njihove deaktivacije nakon što je infekcija iskorijenjena. Inamacija mikroglia-stanica ne predstavlja

nužno inicijacijski faktor za neurodegenerativne poremećaje, ali doprinosi progresiji bolesti (Glass i sur. 2010.).

Unatoč evidentnim promjenama na staničnoj razini, znanstvenici i dalje nisu sigurni što je točno pokretač razvoja neurodegenerativnih poremećaja. Smatra se da je začetak bolesti kombinacija ne samo promjena u neuronima, već i genetika, izloženost raznim okolišnim uvjetima i egzogeni čimbenici povezani sa starenjem (Jellinger 2010.). Za sada još ne postoji efektivna terapija koja bi mogla obrnuti neurodegenerativni proces te zaustaviti bolest prije nego li se uopće razvije, ali se istražuje mogućnost tretmana matičnim stanicama koje bi mogle smanjiti simptome i poboljšati kvalitetu života oboljelih.

5 Liječenje neurodegenerativnih bolesti matičnim stanicama

5.1 Parkinsonova bolest

Parkinsonova bolest je vrlo česti neurodegenerativni poremećaj koji obuhvaća više od 2% populacije starije od 65 godina, a neki od simptoma uključuju bradikineziju, ukočenost u mišićima, tremor i slabu ravnotežu (Politis i Lindvall 2012.). Kao uzrok navedenih simptoma navodi se degeneracija dopaminergičnih neurona crne tvari (lat. *substantia nigra pars compacta*). Osim gubitka neurona, sekundarni simptom Parkinsonove bolesti je pojava intracelularnih nakupina fibrila nazvanih Lewyjeva tijela, koja se sastoje od akumuliranih proteina (Arenas 2002.). Točan uzrok selektivne degeneracije neurona još je nepoznat, ali sumnja se da je posljedica oksidativnog stresa, poremećaja rada mitohondrija ili ekscitotoksičnosti (Arenas 2002.).

Dosadašnji oblik terapije obuhvaća kombinaciju prekursora dopamina, L-DOPA, i inhibitora razgradnje dopamina, carbidopa, koji povećavaju sintezu i oslobađanje dopamina iz živčanih okončina te time smanjuju rigidnost pokreta u ranim stadijima razvoja bolesti (Arenas 2002.). Novije terapije matičnim stanicama uključuju jedan od dva pristupa: i) uzgoj dopaminergičnih neurona iz embrionalnih, multipotentnih ili neuralnih matičnih stanica, ili ii) manipulaciju multipotentnih stanica kako bi oslobađale neurotrofične faktore (Arenas 2002.).

Embrionalne i inducirane pluripotentne matične stanice su idealni kandidati za razvoj terapije jer se mogu diferencirati u tkivno-specifične stanične linije. Uz to, odabirom povoljne kombinacije humanih leukocitnih antigena (HLA) mogu biti i personalizirane, odnosno specifično generirane za svakog pojedinačnog pacijenta, što znatno umanjuje imunski odgovor zbog histokompatibilnost prilikom transplantacije (Stoddard-Bennett i Pera 2019.). *In vitro* je moguće izazvati mutacije na staničnim linijama izvedenima iz iPSC kako bi se umanjio mogući genetski utjecaj na razvoj bolesti i odumiranje neurona te se manipuliranjem razina oksidativnog stresa koristeći brojne lijekove mogu promatrati promjene u morfologiji i fiziologiji stanice bez da se dovodi u opasnost ljudsko zdravlje (Stoddard-Bennet i Pera 2019.).

5.2 Alzheimerova bolest

Alzheimerova bolest je progresivni neurodegenerativni poremećaj koji se manifestira kao smanjena sposobnost govora i razumijevanja, slaba koordinacija pokreta, gubitak pamćenja i kognitivnih sposobnosti. Bolest ponajprije zahvaća hipokampus, cerebralni korteks i amigdalnu (Choi i sur. 2014.). Alzheimerova bolest se može pojavljivati u dva podtipa: familijalni, nasljedni oblik koji se pojavljuje u minimalno dvije uzastopne generacije, i sporadični. Familijalni tip najčešće je posljedica mutacije tri gena: gena za amiloidni prekursor, gena za presenilin-1 (PS-1) te gena za presenilin-2 (PS-2). Sporadični tip je posljedica međudjelovanja okolišnih faktora i rizičnih gena poput gena za apolipoproteine (ApoE) (Li i sur. 2014.). Patološke karakteristike ove bolesti obuhvaćaju β -amiloidne ($A\beta$) plakove koji nastaju kao posljedica neispravnog djelovanja gena za amiloidni prekursor proteina, hiperfosforilacije neuroprotektivnog proteina tau, povećanu aktivnost mikroglialnih stanica koje uzrokuju neuroinflamaciju i gubitak neurona i sinapsi (Abdi i sur. 2022.).

Terapije matičnim stanicama za Alzheimerovu bolest dijele se na endogene popravke i egzogenu terapiju matičnim stanicama. Endogeni popravci promoviraju proliferaciju, migraciju i diferencijaciju neuralnih matičnih stanica. Egzogena terapija obuhvaća transfer autolognih i alogenskih mezenhimskih, embrionalnih i induciranih pluripotentnih matičnih stanica (Abdi i sur. 2022)

Neuralne matične stanice (eng. *neural stem cells*, NSC) se primarno nalaze u subgranularnoj zoni nazubljene vijuge hipokampusa i subventrikularnoj zoni koja okružuje lateralne ventrikule; to su također regije u kojima se odvija adultna neurogeneza (Kezele i Fužinac-Smojver 2017.). Terapijski potencijal NSC potiče iz njihovog parakrinog efekta. U životnjskim modelima, transplantacija NSC-a s potencijalom sekrecije faktora rasta dovela je do neurogeneze i poboljšanja kognitivnih funkcija, a transplantacija ljudskih NSC-a s visokom ekspresijom kolin acetiltransferaze može smanjiti deficite u učenju i prostornoj osvještenosti (Ager i Davis, 2015.). Osim toga, iz NSC se može izolirati BDNF (eng. *brain-derived neurotrophic factor*) koji povećava gustoću sinapsi u hipokampusu i broj kolinergičnih neurona (Liu, X.-Y. i sur. 2020.).

Embrionalne matične stanice se mogu diferencirati u kolinergične neurone prednjeg mozga te time poboljšati prostornu osvještenost i učenje u laboratorijskih štakora (Liu, Y. i sur. 2013.), ali je korištenje ESC u kliničke svrhe za sada još limitirano zbog visokog rizika od nastanka teratoma. Nadalje, zbog etičkih kontroverzi koje okružuju korištenje ESC-a, bolju alternativu

pruža terapija induciranim pluripotentnim matičnim stanicama (iPSC). iPSC predstavljaju važan model za istraživanje degenerativne funkcije APP-a u slučajevima familijanog tipa Alzheimerove bolesti, a glija stanice izvedene iz iPSC mogu se koristiti za proučavanje inflamatornog odgovora tkiva tijekom progresije bolesti (Liu X.-Y. i sur. 2020.). Mezenhimske stanice pupkovine (eng. *umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells*, ucb-MSC) korištene na laboratorijskim životinjama pokazuju obećavajuće rezultate koji obuhvaćaju poboljšano prostorno učenje i usporavaju gubitak pamćenja, a drugi predloženi modeli za koje se smatra da mogu biti poboljšani uporabom ucb-MSC uključuju redukciju A β plakova i hiperfosforilacije tau proteina te promociju antiinflamatornih citokina (Lee i sur. 2012.).

5.3 Huntingtonova bolest

Huntingtonova bolest je autosomalno-dominantna, neurodegenerativna, nasljedna bolest koja se razvija kao posljedica širenja CAG regije unutar eksona 1 huntingtonovog (*HTT*) gena (Choi i Hong 2017.). Proteini mutiranog *HTT* gena (mHTT) mogu u kontaktu s drugim staničnim proteinima formirati agregate koji onda narušavaju intracelularni transport i smanjuju funkcionalnost proteosoma (Haddad i sur. 2016.), a sam mHTT negativno regulira BDNF (eng. *brain-derived neurotrophic factor*) (Choi i sur. 2017.). Neurodegeneracija prilikom razvoja Huntingtonove bolesti ponajprije zahvaća striatum i cerebralni korteks, a u kasnijim stadijima i hipokampus i hipotalamus (Connor 2018.). Neki od simptoma uključuju trzanje i nevoljne pokrete koji se ne mogu kontrolirati, gubitak pamćenja, slabu koncentraciju, probleme s govorom i hodom te padavicu (Walker 2007.).

Neuralne matične stanice mogu se diferencirati iz raznih tipova matičnih stanica, ali metoda koja se rijetko koristi je diferencijacija iz hESC zbog velikog rizika razvoja teratoma i zbog etičkih kontroverzi. Iz tog razloga, najčešće se koriste tkivno-specifične multipotentne matične stanice poput mezenhimskih ili drugih neuralnih stanica koje pokazuju manju sklonost ravoju tumora i veliki potencijal samoobnove i široki spektar stanica u koje se mogu diferencirati (Choi i Hong 2017.).

Istraživanja na životinjskim modelima pokazala su da NSC izvedene iz stanica mozga dobro preživljavaju transplantaciju te se jednoliko rasprostanjuju po oštećenom tkivu mozga (Ryu i sur. 2004.), a osim toga poboljšavaju pokrete i umanjuju psihološke simptome bolesti (Barker i sur. 2013.). Pristup liječenju Huntingtonove bolesti induciranim pluripotentnim matičnim stanicama (iPSC) temelji se na pretpostavci da će autologna transplantacija takvih stanica umanjiti mogućnost imunodne reakcije organizma i odbacivanje tkiva. U kulturama stanica,

diferencijacija iPSC u iNSC se provodila pomoću retroviralnih i lentiviralnih vektora koji su u stanice unosili transkripcijske faktore (Choi i Hong 2017.). Mezenskimske matične stanice koštane srži je relativno jednostavno izolirati, a testiranja *in vitro* i *in vivo* pokazala su da posjeduju potencijal za diferencijaciju u stanice s neuronalnim i glijalnim staničnim markerima. Korištenje MSC također zaobilazi etičke probleme povezane s korištenjem embrionalnih i fetalnih ESC i NSC (Choi i Hong 2017.).

5.4 Multipla skleroza

Multipla skleroza je autoimuna bolest koja pogađa sve više mladih ljudi. Bolest je okarakterizirana inflamacijom i demijelinizacijom ili astroglijalnom proliferacijom i neurodegradacijom (Hauser i Cree 2020.). Propadanje živčanog tkiva zadržava se na području središnjeg živčanog sustava i ne zahvaća periferni. Multiplaskleroza može biti progresivna, tijekom koje je degradacija živčanog sustava konstantna i debilitirajuća, ili se može javljati u valovima između kojih su epizode remisije (Hauser i Cree 2020.).

Transplantacija hematopoetskih matičnih stanica jedan je od najranijih oblika terapija za liječenje multipleskleroze i trenutno je jedina klinički priznata metoda rada. Terapija podrazumijeva resetiranje imunskog sustava njegovom degradacijom i naknadnom transplantacijom matičnih stanica koje taj sustav mogu obnoviti u odsutnosti autoimunih stanica (Smith i sur. 2021.). Počela su testiranja drugih metoda liječenja matičnim stanicama, ali ona su još u ranim fazama. Mezenhimske matične stanice pokazale su se kao dobar model *in vitro* i *in vivo* za diferencijaciju u astrocite, oligodendrocite i neurone, ali je sposobnost šire željene diferencijacije *in vivo* ograničena i nezadovoljavajuća (Smith i sur. 2021.). Uporaba odraslih NSC smatra se obećavajućom zbog sposobnosti diferencijacije u neuronalnu staničnu liniju, malenog rizika za razvoj tumora i predstavlja, manipulacijama staničnih kultura uslijed izolacije iz pacijenta, visoko specifičnu i personaliziranu terapiju. Problem s NSC predstavlja nemogućnost uzgoja velike količine stanica *in vitro* te rizičnost izolacije samih stanica (Smith i sur. 2021.). Naposlijetku, inducirane pluripotentne matične stanice ponovno su se pokazale kao idealan model za nastavak istraživanja zbog svoje svestrane prirode, jednostavnosti uzgoja kultura u velikom broju i mogućnosti manipulacije kako bi se suprimirao imunski odgovor prilikom transplantacije, a i zbog niskog rizika od razvoja tumora.

6 Zaključak

Matične stanice predstavljaju revolucionaran pristup u liječenju akutnih ozljeda te kroničnih bolesti i poremećaja centralnog živčanog sustava. Kao i svim ostalim terapijama, cilj im je smanjiti ili potpuno anulirati simptome čime se poboljšava kvaliteta života pacijenata. Od najranijih istraživanja teratokarcinoma preko razvijenijih tehnika izolacije i manipulacije induciranim pluripotentnim matičnim stanicama, znanstvenici pokušavaju pronaći način da u tijelu oboljele osobe prilikom insercije i transplantacije matičnih stanica ne dođe do razvoja malignih struktura. Izolacija embrionalnih matičnih stanica pokazala se kao daleko najkontroverznija tehnika te se zbog toga aktivno traži alternativa. Odgovor su znanstvenici pronašli u matičnim stanicama raznih fetalnih tkiva, odraslim matičnim stanicama i induciranim pluripotentnim matičnim stanicama.

Neurodegenerativne bolesti u posljednjih nekoliko desetljeća zahvaćaju sve veći postotak populacije zbog čega je pronalazak trajnog rješenja i kvalitetne terapije od najveće važnosti. Napredak u biotehnologiji i regenerativnoj medicini otvorio je vrata mogućnosti da matične stanice postanu norma u borbi protiv poremećaja centralnog živčanog sustava. Uz to, korištenje matičnih stanica uvelike otvara mogućnost razvoja individualnih terapija prema potrebama svakog pojedinog pacijenta.

Unatoč optimizmu, pred znanstvenom zajednicom stoje još brojni izazovi i dileme, uključujući etička pitanja i potencijalne nuspojave terapija, kao i cijeli opus studija koje bi mogle garantirati sigurnost i efikasnost takvih tretmana u budućnosti.

7 Literatura

Abdi, S., Javanmehr, N., Ghasemi-Kasman, M., Bali, H. Y., Pirzadeh, M. (2022) “Stem cell-based therapeutic and diagnostic approaches in Alzheimer’s disease,” *Current neuropharmacology*, 20(6), pp. 1093–1115. doi: 10.2174/1570159x20666211231090659.

Ager, R. R., Davis, J. L., Agazaryan, A., Benavente, F., Poon, W. W. et al. (2015) “Human neural stem cells improve cognition and promote synaptic growth in two complementary transgenic models of Alzheimer’s disease and neuronal loss,” *Hippocampus*, 25(7), pp. 813–826. doi: 10.1002/hipo.22405.

Arenas, E. (2002) “Stem cells in the treatment of Parkinson’s disease,” *Brain research bulletin*, 57(6), pp. 795–808. doi: 10.1016/s0361-9230(01)00772-9.

Asahara, T., Masuda, H., Takahashi, T., Kalka, C., Pastore, C., Silver, M., Kearne, M. et al. (1999) “Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization,” *Circulation research*, 85(3), pp. 221–228. doi: 10.1161/01.res.85.3.221.

Barker, R. A., Mason, S. L., Harrower, T. P., Swain, R. A., Ho, A. K., Sahakian, B. J. et al (2013) “The long-term safety and efficacy of bilateral transplantation of human fetal striatal tissue in patients with mild to moderate Huntington’s disease,” *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 84(6), pp. 657–665. doi: 10.1136/jnnp-2012-302441.

Bellin, M., Marchetto, M. C., Gage, F. H., Mummery, C. L. (2012) “Induced pluripotent stem cells: the new patient?,” *Nature reviews. Molecular cell biology*, 13(11), pp. 713–726. doi: 10.1038/nrm3448.

Biehl, J. K. and Russell, B. (2009) “Introduction to stem cell therapy,” *The Journal of cardiovascular nursing*, 24(2), pp. 98–103. doi: 10.1097/jcn.0b013e318197a6a5.

Biswas, A. and Hutchins, R. (2007) “Embryonic stem cells,” *Stem cells and development*, 16(2), pp. 213–222. doi: 10.1089/scd.2006.0081.

Burridge, P. W., Keller, G., Gold, J. D., Wu, J. C. (2012) “Production of DE Novo cardiomyocytes: Human pluripotent stem cell differentiation and direct reprogramming,” *Cell stem cell*, 10(1), pp. 16–28. doi: 10.1016/j.stem.2011.12.013.

- Choi, K.-A. and Hong, S. (2017) “Induced neural stem cells as a means of treatment in Huntington’s disease,” *Expert opinion on biological therapy*, 17(11), pp. 1–11. doi: 10.1080/14712598.2017.1365133.
- Choi, S. S., Lee, S.-R., Kim, S. U., Lee, H. J. (2014) “Alzheimer’s disease and stem cell therapy,” *Experimental neurobiology*, 23(1), pp. 45–52. doi: 10.5607/en.2014.23.1.45.
- Conconi, M. T., Burra, P., Di Liddo, R., Calore, C., Turetta, M., Bellini, S. et al (2006) “CD105(+) cells from Wharton’s jelly show in vitro and in vivo myogenic differentiative potential,” *International journal of molecular medicine*, 18(6).
- Connor, B. (2018) “Concise review: The use of stem cells for understanding and treating Huntington’s disease,” *Stem cells (Dayton, Ohio)*, 36(2), pp. 146–160. doi: 10.1002/stem.2747.
- Conti, L., Pollard, S. M., Gorba, T., Reitano, E., Toselli, M. et al (2005) “Niche-independent symmetrical self-renewal of a mammalian tissue stem cell,” *PLoS biology*, 3(9), p. e283. doi: 10.1371/journal.pbio.0030283.
- Ding, D.-C., Shyu, W.-C., Chiang, M.-F., Lin, S.-Z., Chang, Y.-C. et al (2007) “Enhancement of neuroplasticity through upregulation of β 1-integrin in human umbilical cord-derived stromal cell implanted stroke model,” *Neurobiology of disease*, 27(3), pp. 339–353. doi: 10.1016/j.nbd.2007.06.010.
- Eguizabal, C., Aran, B., Chuva de Sousa Lopes, S. M., Geens, M., Heindryckx, B. et al (2019) “Two decades of embryonic stem cells: a historical overview,” *Human reproduction open*, 2019(1). doi: 10.1093/hropen/hoy024.
- Evans, M. J. and Kaufman, M. H. (1981) “Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos,” *Nature*, 292(5819), pp. 154–156. doi: 10.1038/292154a0.
- Garman, R. H. (2011) “Histology of the central nervous system,” *Toxicologic pathology*, 39(1), pp. 22–35. doi: 10.1177/0192623310389621.
- Glass, C. K., Saijo, K., Winner, B., Marchetto, M. C., Gage, F. H. (2010) “Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration,” *Cell*, 140(6), pp. 918–934. doi: 10.1016/j.cell.2010.02.016.

Grubić Kezele, T., Fužinac-Smojver, A., Čurko-Cofek, B., Jakovac, H. i Turković, K. "Adultna neurogeneza – naglasak na subgranularnu i subventrikularnu zonu u sisavaca." *Medicina Fluminensis* 53, br. 2 (2017): 136-146.

Guillot, P., O'Donoghue, K., Kurata, H., Fisk, N. (2006) "Fetal stem cells: Betwixt and between," *Seminars in reproductive medicine*, 24(5), pp. 340–347. doi: 10.1055/s-2006-952149.

Haddad, M. S., Wenceslau, C. V., Pompeia, C., Kerkis, I. (2016) "Cell-based technologies for Huntington's disease," *Dementia & neuropsychologia*, 10(4), pp. 287–295. doi: 10.1590/s1980-5764-2016dn1004006.

Hauser, S. L. and Cree, B. A. C. (2020) "Treatment of multiple sclerosis: A review," *The American journal of medicine*, 133(12), pp. 1380-1390.e2. doi: 10.1016/j.amjmed.2020.05.049.

Insausti, C. L., Blanquer, M., Bleda, P., Iniesta, P., Majado, M. J., Castellanos, G., Moraleda, J. M., (2010) "The amniotic membrane as a source of stem cells," *Histology and histopathology*, 25(1). doi: 10.14670/HH-25.91.

in 't Anker, P. S., Scherjon, S. A., Kleijburg-van der Keur, C., Noort, W. A., Claas, F. H. J., Willemze, R.. (2003) "Amniotic fluid as a novel source of mesenchymal stem cells for therapeutic transplantation," *Blood*, 102(4), pp. 1548–1549. doi: 10.1182/blood-2003-04-1291.

Jellinger, K. A. (2010) "Basic mechanisms of neurodegeneration: a critical update," *Journal of cellular and molecular medicine*, 14(3), pp. 457–487. doi: 10.1111/j.1582-4934.2010.01010.x.

Kalra, K. and Tomar, P. C. (2014) "Stem cell: Basics, classification and applications," *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*. Available at: <https://www.semanticscholar.org/paper/bc887910522365f0e2fcddfc00c0b194c9e28733> (Accessed: August 18, 2024).

Kleinsmith, L.J. and Pierce Jr., G.B. (1964) "MULTIPOTENTIALITY OF SINGLE EMBRYONAL CARCINOMA CELLS," *Cancer research*, 24.

- Kolios, G. and Moodley, Y. (2013) “Introduction to stem cells and regenerative medicine,” *Respiration; international review of thoracic diseases*, 85(1), pp. 3–10. doi: 10.1159/000345615.
- Lee, H. J., Lee, J. K., Lee, H., Carter, J. E., Chang, J. W., Oh, W. et al (2012) “Human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells improve neuropathology and cognitive impairment in an Alzheimer’s disease mouse model through modulation of neuroinflammation,” *Neurobiology of aging*, 33(3), pp. 588–602. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2010.03.024.
- Li, M., Guo, K. and Ikehara, S. (2014) “Stem cell treatment for Alzheimer’s disease,” *International journal of molecular sciences*, 15(10), pp. 19226–19238. doi: 10.3390/ijms151019226.
- Liu, H. and Zhang, S.-C. (2011) “Specification of neuronal and glial subtypes from human pluripotent stem cells,” *Cellular and molecular life sciences: CMLS*, 68(24), pp. 3995–4008. doi: 10.1007/s00018-011-0770-y.
- Liu, X.-Y., Yang, L.-P. and Zhao, L. (2020) “Stem cell therapy for Alzheimer’s disease,” *World journal of stem cells*, 12(8), pp. 787–802. doi: 10.4252/wjsc.v12.i8.787.
- Liu, Y., Weick, J. P., Liu, H., Krencik, R., Zhang, X. et al (2013) “Medial ganglionic eminence–like cells derived from human embryonic stem cells correct learning and memory deficits,” *Nature biotechnology*, 31(5), pp. 440–447. doi: 10.1038/nbt.2565.
- Llames, S., García-Pérez, E., Meana, Á., Larcher, F., and del Río, M. (2015). *Feeder Layer Cell Actions and Applications. Tissue Engineering Part B: Reviews*, 21(4), 345–353. doi:10.1089/ten.teb.2014.0547
- Marcus, A. J. and Woodbury, D. (2008) “Fetal stem cells from extra-embryonic tissues: do not discard,” *Journal of cellular and molecular medicine*, 12(3), pp. 730–742. doi: 10.1111/j.1582-4934.2008.00221.x.
- Mezey, É., Chandross, K. J., Harta, G., Maki, R. A., McKercher, S. R. (2000) “Turning blood into brain: Cells bearing neuronal antigens generated in vivo from bone marrow,” *Science (New York, N.Y.)*, 290(5497), pp. 1779–1782. doi: 10.1126/science.290.5497.1779.

- Miki, T., Lehmann, T., Cai, H., Stolz, D. B., Strom, S. C. (2005) “Stem cell characteristics of amniotic epithelial cells,” *Stem cells* (Dayton, Ohio), 23(10), pp. 1549–1559. doi: 10.1634/stemcells.2004-0357.
- Miki, T. and Strom, S. C. (2006) “Amnion-derived pluripotent/multipotent stem cells,” *Stem cell reviews*, 2(2), pp. 133–141. doi: 10.1007/s12015-006-0020-0.
- Mitchell, K. E., Weiss, M. L., Mitchell, B. M., Martin, P., Davis, D. et al (2003) “Matrix cells from wharton’s jelly form neurons and Glia,” *Stem cells* (Dayton, Ohio), 21(1), pp. 50–60. doi: 10.1634/stemcells.21-1-50.
- Pappa, K. I. and Anagnou, N. P. (2009) “Novel Sources of Fetal Stem Cells: Where do they Fit on the Developmental Continuum?,” *Regenerative medicine*, 4(3), pp. 423–433. doi: 10.2217/rme.09.12.
- Pera, M. F., Reubinoff, B. and Trounson, A. (2000) “Human embryonic stem cells,” *Journal of cell science*, 113(1), pp. 5–10. doi: 10.1242/jcs.113.1.5.
- Politis, M. and Lindvall, O. (2012) “Clinical application of stem cell therapy in Parkinson’s disease,” *BMC medicine*, 10(1). doi: 10.1186/1741-7015-10-1.
- Przedborski, S., Vila, M. and Jackson-Lewis, V. (1 2003) “Series Introduction: Neurodegeneration: What is it and where are we?,” *The journal of clinical investigation*, 111(1), pp. 3–10. doi: 10.1172/jci17522.
- Rippon, H. J. and Bishop, A. E. (2004) “Embryonic stem cells,” *Cell proliferation*, 37(1), pp. 23–34. doi: 10.1111/j.1365-2184.2004.00298.x.
- Ryu, J K., Kim, J., Cho, S. J., Hatori, K., Nagai, A. et al (2004) “Proactive transplantation of human neural stem cells prevents degeneration of striatal neurons in a rat model of Huntington disease,” *Neurobiology of disease*, 16(1), pp. 68–77. doi: 10.1016/j.nbd.2004.01.016.
- Shamblott, M. J., Axelman, J., Wang, S., Bugg, E. M., Littlefield, J. W. et al (1998) “Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(23), pp. 13726–13731. doi: 10.1073/pnas.95.23.13726.
- Smith, J. A., Nicaise, A. M., Ionescu, R.-B., Hamel, R., Peruzzotti-Jametti, L., Pluchino, S. (2021) “Stem cell therapies for progressive multiple sclerosis,” *Frontiers in cell and developmental biology*, 9. doi: 10.3389/fcell.2021.696434.

- Solter, D. (2006) "From teratocarcinomas to embryonic stem cells and beyond: a history of embryonic stem cell research," *Nature reviews. Genetics*, 7(4), pp. 319–327. doi: 10.1038/nrg1827.
- Stoddard-Bennett, T. and Reijo Pera, R. (2019) "Treatment of Parkinson's disease through personalized medicine and induced pluripotent stem cells," *Cells (Basel, Switzerland)*, 8(1), p. 26. doi: 10.3390/cells8010026.
- Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., Narita, M., Ichisaka, T. et al (2007) "Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors," *Cell*, 131(5), pp. 861–872. doi: 10.1016/j.cell.2007.11.019.
- Tanaka, S. S. and Nishinakamura, R. (2014) "Regulation of male sex determination: genital ridge formation and Sry activation in mice," *Cellular and molecular life sciences: CMLS*, 71(24), pp. 4781–4802. doi: 10.1007/s00018-014-1703-3.
- Thomson, J. A. and Odorico, J. S. (2000) "Human embryonic stem cell and embryonic germ cell lines," *Trends in biotechnology*, 18(2), pp. 53–57. doi: 10.1016/s0167-7799(99)01410-9.
- Turnpenny, L., Brickwood, S., Spalluto, C. M., Piper, K., Cameron, I. T. et al (2003) "Derivation of human embryonic germ cells: An alternative source of pluripotent stem cells," *Stem cells (Dayton, Ohio)*, 21(5), pp. 598–609. doi: 10.1634/stemcells.21-5-598.
- Verfaillie, C. M. (2002) "Adult stem cells: assessing the case for pluripotency," *Trends in cell biology*, 12(11), pp. 502–508. doi: 10.1016/s0962-8924(02)02386-3.
- Walker, F. O. (2007) "Huntington's disease," *Lancet*, 369(9557), pp. 218–228. doi: 10.1016/s0140-6736(07)60111-1.
- Wang, H.-S., Hung, S.-C., Peng, S.-T., Huang, C.-C., Wei, H.-M. et al (2004) "Mesenchymal stem cells in the wharton's jelly of the human umbilical cord," *Stem cells (Dayton, Ohio)*, 22(7), pp. 1330–1337. doi: 10.1634/stemcells.2004-0013.
- Wobus, A. M. and Boheler, K. R. (2005) "Embryonic stem cells: Prospects for developmental biology and cell therapy," *Physiological reviews*, 85(2), pp. 635–678. doi: 10.1152/physrev.00054.2003.
- Yao, S., Chen, S., Clark, J., Hao, E., Beattie, G. M. et al (2006) "Long-term self-renewal and directed differentiation of human embryonic stem cells in chemically defined

conditions,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(18), pp. 6907–6912. doi: 10.1073/pnas.0602280103.

Yu, J., Vodyanik, M. A., Smuga-Otto, K., Antosiewicz-Bourget, J., Frane, J. L. et al (2007) “Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells,” *Science (New York, N.Y.)*, 318(5858), pp. 1917–1920. doi: 10.1126/science.1151526.

8 Životopis

Nika Selaković rođena je 25. srpnja 2002. godine u Puli gdje je završila osnovnu i srednju školu (opću gimnaziju). 2021. godine upisala je prijediplomski studij, smjer Biologija na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. 2023. godine odradila je stručnu praksu na Zavodu za zoologiju u sklopu biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta pod mentorstvom prof. dr. sc. Ivane Maguire.