

Matične stanice i njihova primjena u liječenju raka

Kobaš, Marija

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:182:032689>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-18**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Department of Chemistry, Osijek](#)



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku - Odjel za kemiju
Sveučilišni prijediplomski studij Kemija

Marija Kobaš

MATIČNE STANICE I NJIHOVA PRIMJENA U
LIJEČENJU RAKA

Završni rad

Osijek, 2024.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku - Odjel za kemiju
Sveučilišni prijediplomski studij Kemija

Marija Kobaš

MATIČNE STANICE I NJIHOVA PRIMJENA U
LIJEČENJU RAKA

Završni rad

Mentor: izv. prof. dr. sc. Martina Šrajer Gajdošik

Osijek, 2024.

Naziv sveučilišta: Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku – Odjel za kemiju

Naziv studija: Sveučilišni prijediplomski studij Kemija

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Kemija

Znanstvena grana: Biokemija

MATIČNE STANICE I NJIHOVA PRIMJENA U LIJEČENJU RAKA

MARIJA Kobaš

Rad je izrađen na: Sveučilištu u Osijeku – Odjel za kemiju

Mentor: izv. prof. dr. sc. Martina Šrajer Gajdošik

Sažetak: Ljudsko tijelo je iznimno složen organizam s raznolikim tkivima i organima, koji se sastoje od različitih tipova stanica. Fascinantno je promatrati kako se sve te stanice, s različitim funkcijama, razvijaju iz jedne jedine matične stanice. Istraživači diljem svijeta postavljaju temeljna pitanja o tome kako jedna jedina stanica može generirati takvu raznolikost.

Laboratorijska istraživanja matičnih stanica omogućuju razumijevanje njihove sposobnosti transformacije u različite tipove stanica. Proces istraživanja ovih transformacija fascinantna je iz dva glavna razloga, prvo, omogućuje promatranje osnovnih mehanizama koji leže u osnovi razvoja organizma, a drugo, otvara vrata za razvoj novih terapija koje bi mogle revolucionirati medicinu.

Terapija matičnim stanicama, obuhvaćajući različite postupke s matičnim stanicama, nudi nadu u borbi protiv jedne od najsmrtonosnijih bolesti diljem svijeta, odnosno u borbi protiv raka. Matične stanice posjeduju poboljšane sposobnosti ciljanja tumora, potencijalno smanjujući neželjene učinke i poboljšavajući terapijsku učinkovitost kada se koriste u kombinaciji s drugim tretmanima.

Ključne riječi: stanica, istraživanja, terapija, matične stanice, tumori, rak

Jezik izvornika: hrvatski jezik

Završni rad obuhvaća: 32 stranica, 8 slika, 29 literaturnih navoda

Rad prihvaćen: 5. srpnja 2024. godine

Stručno povjerenstvo za ocjenu rada:

1. izv. prof. dr. sc. Martina Medvidović-Kosanović, predsjednica
2. izv. prof. dr. sc. Martina Šrajer Gajdošik, mentorica i članica
3. izv. prof. dr. sc. Tomislav Balić, član
4. doc. dr. sc. Olivera Galović, zamjena člana

Rad je pohranjen: Knjižnica Odjela za kemiju, Kuhačeva 20, 31000, Osijek
Repozitorij Odjela za kemiju, Osijek

University Name: **Josipa Jurja Strossmayera University of Osijek – Department of Chemistry**

Name of study programme: **University Undergraduate study programme in Chemistry**

Scientific area: Natural sciences

Scientific field: Chemistry

Scientific branch: Biochemistry

STEM CELLS AND THEIR APPLICATION IN CANCER TREATMENT

MARIJA KOBASŃ

The paper was created on: Department of chemistry

Supervisor: izv. prof. dr. sc. Martina Šrajer Gajdošik

Abstract: The human body is an extremely complex organism with diverse tissues and organs, which consist of different types of cells. It is fascinating to observe how all these cells, with different functions, develop from a single stem cell. Researchers around the world are asking fundamental questions about how a single cell can generate such diversity.

Laboratory studies of stem cells enable understanding of their ability to transform into different types of cells. The process of researching these transformations is fascinating for two main reasons, firstly, it enables observation of the basic mechanisms underlying the development of the organism, and secondly, it opens the door to the development of new therapies that could revolutionize medicine.

Stem cell therapy, including various stem cell procedures, offers hope in the fight against one of the deadliest diseases worldwide, namely cancer. Stem cells possess improved tumor targeting abilities, potentially reducing side effects and improving therapeutic efficacy when used in combination with other treatments.

Keywords: *cell, research, therapy, stem cells, tumors, cancer*

Original language: Croatian language

Thesis includes: 32 pages, 8 figures, 29 references

Thesis accepted: 5 July, 2024

Reviewers:

1. Martina Medvidović-Kosanović, PhD., associate prof., chair
2. Martina Šrajer Gajdošik, PhD., associate prof., supervisor and member
3. Tomislav Balić, PhD., associate prof., member
4. Olivera Galović, PhD., assistant prof., alternate member

Thesis deposited in: Library of the department of Chemistry, Ulica Franje Kuhaća 20, Osijek
Repository of the Department of Chemistry, Osijek

Sadržaj

1. UVOD	1
2. MATIČNE STANICE	2
2.1. Tipovi matičnih stanica	3
2.1.1. Embrionalne matične stanice	5
2.1.2. Adultne matične stanice	6
2.1.3. Inducirane pluripotentne matične stanice.....	8
2.1.4. Progenitorne matične stanice	11
3. RAK	12
3.1. Vrste raka.....	12
3.2. Nastanak raka	13
3.3. Uzroci raka	15
3.4. Svojstva stanica raka	16
4. MATIČNE STANICE U LIJEČENJU RAKA	21
4.1. Sličnosti i razlike između tumorskih i normalnih matičnih stanica	22
4.2. Transplantacija hematopoetskih matičnih stanica	22
4.2.1. Transplatacija koštane srži	23
4.3. Genetski modificirane matične stanice	24
4.4. Matične stanice kao nositelji onkolitičkih virusa.....	24
4.5. Cjepiva protiv raka	25
5. PREPREKE U PRIMJENI MATIČNIH STANICA	26
5.1. Etički i pravni problemi.....	26
5.2. Nedostatak istraživanja	26
6. ZAKLJUČAK	28
7. POPIS I OBJAŠNJENJA KRATICA KORIŠTENIH U RADU:	29
8. LITERATURA	30

1. UVOD

Ljudsko tijelo je izuzetno složeno, sastavljeno od različitih tkiva i organa, koji su izgrađeni od različitih tipova stanica. Sve te stanice s različitim funkcijama potječu od jedne jedine stanice a to je oplođena jajna stanica, koja je također i matična stanica. Tijekom razvoja embrija, ova se stanica dijeli i diferencira u različite tipove stanica. Što otvara temeljno pitanje: kako jedna stanica može stvoriti toliko različitih vrsta stanica? Pitanje koje istražuje tisuće znanstvenika diljem svijeta, a danas, zahvaljujući biologiji matičnih stanica, mogu ga promatrati iz nove perspektive [1].

Matične stanice imaju potencijal revolucioniranja medicine u narednim desetljećima. Posjeduju veliki potencijal u području regenerativne medicine što ih čini glavnim predmetom istraživanja i za posljedicu ima brz napredak u tom području. Bez matičnih stanica rane se ne bi zacjeljivale, krv, koža i druga tkiva se ne bi obnavljala. Bez ovih bioloških svestranih stanica, živa bića ne bi mogla nastati niti preživjeti [1].

Velike su nade koje se polažu u ove stanice zato što bi upravo one trebale objasniti kako rastu ljudi, životinje i biljke, ali i pomoći u liječenju raznih bolesti kao što je rak, koji je vodeći uzrok smrti u razvijenim i nerazvijenim zemljama te predstavlja sve veće medicinsko opterećenje širom svijeta zbog rasta populacije i starenja [1,2].

Klinička ispitivanja, temeljena na matičnim stanicama, pokazuju njihov veliki potencijal u primjeni kao ciljanih terapija u borbi protiv raka. Ipak, ostaju znanstvene zabrinutosti u vezi s primjenom terapija matičnim stanicama, te su potrebna daljnja istraživanja kako bi se potvrdila primarna klinička ispitivanja [2].

Današnja situacija u istraživanju matičnih stanica usporediva je s istraživanjem gena početkom ovog stoljeća. Kada je postalo poznato oko tri milijarde slova ljudskog genoma, mnogi su mislili da će brzo moći razviti nove lijekove na toj osnovi. Taj san nije ostao neispunjen, ali je realizacija trajala duže nego što se očekivalo, jer je sve složenije nego što se na početku mislilo [1].

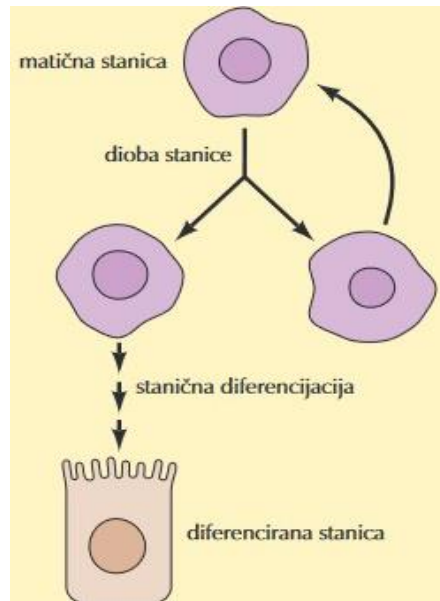
2. MATIČNE STANICE

Rani razvoj karakterizira iznimno brza proliferacija embrionalnih stanica koje se zatim diferenciraju u mnoge specifične vrste stanica koje tvore tkiva i organe višestaničnih organizama [3]. Kako se stanice diferenciraju, njihova brzina proliferacije opada, što znači da unipotentna matična stanica nije sposobna diferencirati se u toliko vrsta stanica kao pluripotentna, [5] te većina stanica u odraslom organizmu ostaje u fazi mirovanja staničnog ciklusa. Neke diferencirane stanice se nikada više ne dijele i ne mogu biti zamijenjene ako propadnu tijekom života organizma. Međutim, mnoga tkiva sadrže stanice koje mogu ponovno započeti proliferaciju kako bi nadomjestile stanice izgubljene zbog oštećenja ili stanične smrti. Osim toga, neka tkiva imaju stanice koje se neprestano dijele cijelog života, zamjenjujući stanice koje brzo propadaju kod odraslih organizama [3].

Stanice kod odraslih organizama mogu se svrstati u tri osnovne skupine s obzirom na njihovu sposobnost proliferacije i zamjene. Neke diferencirane stanice, poput stanica srčanog mišića kod ljudi, nemaju sposobnost diobe i ne mogu se zamijeniti u slučaju ozljede ili stanične smrti. Te stanice nastale su tijekom embrionalnog razvoja, diferencirale su se i ostaju takve tijekom cijelog života organizma. Drugi tip diferenciranih stanica zadržava sposobnost kontrolirane proliferacije. One mogu ući u fazu mirovanja staničnog ciklusa, ali i dalje imaju sposobnost ponovne proliferacije ako je potrebno zamijeniti ozlijeđene ili mrtve stanice. Takve stanice uključuju stanice glatkih mišića, endotelne stanice koje oblažu krvne žile i epitelne stanice nekih unutarnjih organa, poput jetre [3].

Većina potpuno diferenciranih stanica nema sposobnost dijeljenja, ali mogu biti zamijenjene proliferacijom manje diferenciranih stanica, poznatih kao matične stanice, koje su prisutne u tkivima odraslog organizma. Matične stanice igraju ključnu ulogu u održavanju odraslog tkiva zbog svoje sposobnosti kontinuirane proliferacije i zamjene diferenciranih stanica tijekom cijelog života organizma [3].

Glavna značajka matičnih stanica je njihova sposobnost da diobom stvaraju stanice-kćeri koje se mogu dalje diferencirati ili ostati matične stanice kao što prikazuje slika 1.



Slika 1. Dioba matične stanice [4].

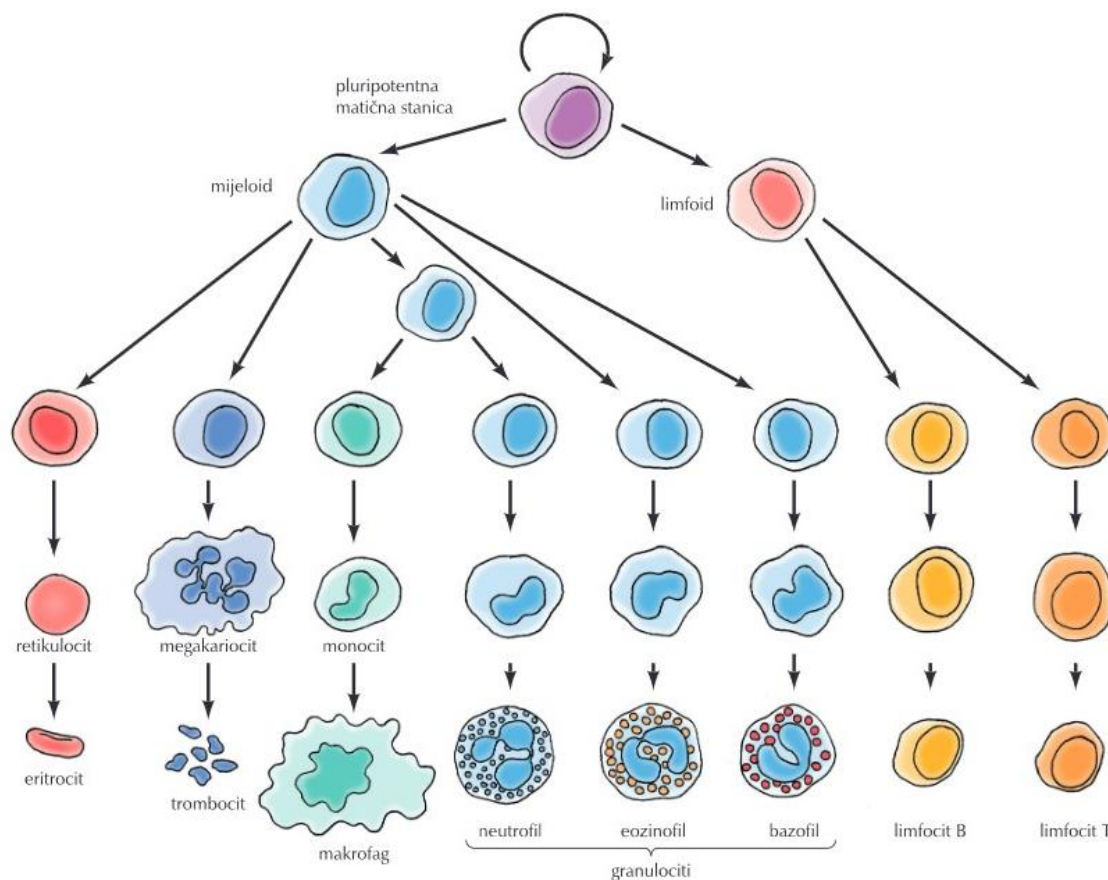
Budući da matične stanice diobom stvaraju nove matične stanice koje mogu, ali ne moraju diferencirati, one predstavljaju samoobnavljajuću populaciju koja služi kao izvor za proizvodnju diferenciranih stanica tijekom cijelog života. Njihova je uloga posebno vidljiva kod određenih vrsta diferenciranih stanica, poput krvnih stanica, epitelnih stanica kože i epitelnih stanica koje oblažu probavni trakt, koje imaju kratak životni vijek i zamjenjuju se kontinuiranom proliferacijom stanica kod odraslih organizama [3].

2.1. Tipovi matičnih stanica

Sve matične stanice potječu od onoga što bi se moglo smatrati krajnjom matičnom stanicom, oplođene jajne stanic, zigote. Zigota se smatra najpotentnijom stanicom jer je totipotentna [6]. Kao totipotentna jedinica, oplođena jajna stanica ima sposobnost diferencijacije u bilo koji tip stanice u tijelu i uključuje sve potrebne informacije za formiranje potpunog organizma [4]. Totipotentne matične stanice mogu se podijeliti i diferencirati u stanice cijelog organizma. Totipotentnost ima najveći potencijal diferencijacije i omogućuje stanicama da formiraju i embrij i izvanembrionalne strukture [5].

Nakon 5. do 6. dana od oplodnje, zigota prelazi u blastocistu i postaje izvor pluripotentnih stanica, postaje sama pluripotentna. Pluripotentne matične stanice formiraju stanice svih tkiva unutar embrija, ali ne i izvanembrionalne strukture kao što je posteljica ili amnijska tekućina. Primjer takvih stanica su embrionalne matične stanice koje potječu iz unutarnje stanične mase embrija. Drugi primjer su inducirane pluripotentne matične stanice [5].

Multipotentne matične stanice imaju uži spektar diferencijacije od pluripotentnih matičnih stanica. Primjer je hematopoetska matična stanica koja se može razviti u nekoliko tipova krvnih stanica. Nakon diferencijacije, hematopoetska matična stanica postaje oligopotentna stanica čija sposobnost diferencijacije tada postaje još manja, postaje ograničena samo na jednu liniju stanica. Oligopotentne matične stanice mogu se diferencirati u nekoliko tipova stanica. Primjer je mijeloidna matična stanica koja se može podijeliti u bijele krvne stanice, ali ne i crvene krvne stanice [5]. Slika 2. prikazuje sve različite vrste krvnih stanica kako se razvijaju od jedne pluripotentne matične stanice u koštanoj srži. Stanice prolaze kroz nekoliko ciklusa stanične diobe, pri čemu se diferenciraju i sazrijevaju, te na posljatku gube sposobnost diferencijacije [4].



Slika 2. Formiranje krvnih stanica [4].

Krvne stanice imaju životni vijek koji je ograničenog trajanja, u intervalu od manje od dana do nekoliko mjeseci. Diobom jedne zajedničke pluripotentne matične stanice u koštanoj srži one neprekidno nastaju. Nasljednici pluripotentne matične stanice u koštanoj srži potom prolaze kroz nekoliko različitih diferencijacija. Nastavljaju s procesom proliferacije te prolaze kroz nekoliko dioba do svoje potpune diferencijacije i tada, kada postanu potpuno diferencirane,

prestaju s proliferacijom. Tako da u principu, održavanje populacije diferencijiranih krvnih stanica ovisi o stalnoj proliferaciji pluripotentne matične stanice [4].

Unipotentne matične stanice karakteriziraju se najužim mogućnostima diferencijacije. Ta ih značajka čini obećavajućim kandidatom za terapijsku upotrebu u regenerativnoj medicini [5].

Na osnovi različitih svojstava, stručnjaci su podijelili matične stanice na nekoliko glavnih skupina a to su embrionalne matične stanice, adultne matične stanice, inducirane pluripotentne matične stanice te zadnja, posebna vrsta koja se zove progenitorne matične stanice. Sve one su na mnoge načine slične ali isto tako postoje i razlike među njima zbog kojih su razvrstane u posebne skupine [8].

2.1.1. Embrionalne matične stanice

Embrionalne matične stanice (engl. *embryonic stem cells*, ESC) su stanice izolirane iz unutarnje mase stanica 3–5 dana starog embrija, poznatog kao blastocista. One su pluripotentne, što znači da imaju potencijal razviti se u bilo koji od tri embrionalna sloja klica (endoderm, mezoderm i ektoderm), a samim time i u bilo koji tip odraslih stanica [8].

Ljudske embrionalne matične stanice (engl. *human embryonic stem cell*, hESC) prvi su put uspješno kultivirane korištenjem embrija iz in vitro oplodnje od strane James Thomsona i suradnika 1998. godine iz unutarnje mase stanica ljudske blastociste [8]. U svojoj izvornoj publikaciji, James Thomson je pokazao da ljudske matične stanice stvaraju benigne tumore, zvane i teratomima, kada se injiciraju u miševе. Ti teratomi sadrže složena tkiva ektodermalnog, mezodermalnog i endodermalnog porijekla (diferencirane stanice svih triju slojeva klica), stvarajući strukture nalik organima, kao što su kosti, zubi, folikuli dlake i plućno tkivo [10]. Ovi rezultati potvrđuju da, uz odgovarajuće vanjske uvjete u laboratorijima, ljudska matična stanica može proći kroz opsežnu proliferaciju tijekom dugih razdoblja u kulturi bez diferencijacije, čime zadržava svoj razvojni potencijal, ali također ukazuju na moguću opasnost. Ako bi embrionalne matične stanice ili njihovi transformirani potomci nakon transplantacije ostali u nediferenciranom stanju, postojala bi mogućnost razvoja po život opasnih tumora (teratokarcinoma) [8,10].

Pluripotentne stanice, ako su dobivene od specifičnih pacijenata, mogu poslužiti kao alat za modeliranje bolesti ili se naknadno diferencirati u specifične tipove stanica za terapiju zamjene kod pacijenata s gubitkom tkiva zbog ozljeda ili degenerativnih bolesti, te se zbog toga polažu velike nade u istraživanju embrionalnih matičnih stanica. Mogućnost formiranja teratoma ostaje jedna od glavnih zabrinutosti za terapiju matičnim stanicama [8]. Kako bi se embrionalne

matične stanice linije mogle koristiti za terapiju i istovremeno isključila mogućnost formiranja tumora, potrebno je ograničiti njihov biološki razvojni program, na primjer djelomičnom diferencijacijom u željenom smjeru [10].

2.1.2. Adultne matične stanice

Odrasle ili adultne matične stanice (engl. *adult stem cell*, ASC) su nezrele stanice koje se nalaze u inače diferenciranim tkivima ili organima. One se obnavljaju cijeli život, generirajući s jedne strane identične kopije sebe same, a s druge strane diferencirajući se u specijalizirane stanice određenog tkiva. Odrasle matične stanice su otkrivene u različitim organima i tkivima zbog čega se zovu i tkivne ili tkivno-specifične matične stanice [10]. Matične stanice tkiva borave u specifičnim regijama tkiva koje nazivamo nišama matičnih stanica. Takva područja mogu biti prisutna u različitim dijelovima tijela poput koštane srži, mozga, krvnih žila, skeletnih mišića, srca, kože, crijeva, jetre itd. U normalnim uvjetima, matične stanice tkiva ostaju neaktivne dok ne budu potrebne za obnavljanje ili popravak tkiva zbog bolesti ili ozljeda. Tada ulaze u proces podjele i diferencijacije kako bi stvorile nove stanice s posebnim funkcijama u tkivu u kojem se nalaze [11].

Prema njihovom potencijalu za diferencijaciju, tkivne matične stanice se klasificiraju kao multipotentne stanice, što znači da imaju sposobnost diferencijacije u nekoliko različitih tipova stanica prisutnih u tkivu u kojem se nalaze. Kada dođe do stanične diobe, tkivne matične stanice imaju dvije mogućnosti. Prva je simetrična dioba, gdje se formiraju dvije identične matične stanice kćeri. Druga mogućnost je asimetrična dioba, koja rezultira jednom identičnom matičnom stanicom kćeri koja zadržava sposobnost samoobnove, dok druga postaje progenitorska stanica kćeri ili mogu nastati dvije različite progenitorske stanice kćeri koje nastavljaju proces proliferacije i postupne diferencijacije [12].

Korištenje odraslih matičnih stanica za liječenje ljudskih bolesti bilo bi zanimljivo iz različitih razloga. S jedne strane, zadatak odrasle matične stanice je formiranje različitih stanica određenog tkiva. Stoga bi idealno bilo da transplantacija odraslih matičnih stanica omogući regeneraciju svih tih različitih tipova stanica. S druge strane, pokazano je da barem neke matične stanice mogu migrirati prema oštećenom tkivu. Takva sposobnost bi značajno olakšala operacije jer ne bi bilo potrebno precizno ciljati željeno tkivo tijekom transplantacije [10].

Plastičnost je sposobnost stanice da se razvija ne samo u stanice tipa tkiva u kojem se nalazi, već i u stanice drugog tkiva. Istraživanja su dokazala da to specifično svojstvo imaju adultne matične stanice. Ovisno o stupnju plastičnosti, razlikuju se unipotentne, oligopotentne,

multipotentne ili pluripotentne stanice. Otkriće da odrasle matične stanice mogu posjedovati pluripotentnost bilo je veliko iznenađenje, budući da se pretpostavljalo da matične stanice koje potječu iz jednog od tri embrionalna sloja klica (ektoderm, mezoderm ili endoderm) ne mogu generirati potomstvo iz druga dva embrionalna sloja klica. Međutim, tu su pretpostavku opovrgnula različita istraživanja koja su, između ostalog, pokazala da matične stanice iz koštane srži, koje same potječu iz mezoderma, mogu diferencirati u glavne tipove stanica u mozgu (neurone, glije i astrocite), koji pak potječu iz ektoderma. Također, matične stanice mozga su se diferencirale u krvne i mišićne stanice, dok su živčane matične stanice iz mozga odraslih miševa, ubrizgavanjem u blastociste, imale sposobnost formirati stanice iz sva tri embrionalna sloja klica. [10].

Odrasle matične stanice su vrlo rijetke te ih je teško identificirati, a još teže izolirati od drugih stanica u odgovarajućim organima. Stoga trenutno nije moguće isključiti mogućnost da se u određenom tkivu nalazi više vrsta matičnih stanica [10]. Prema položaju u tijelu, odrasle matične stanice se mogu podijeliti s obzirom na tkivo, pa se tako razlikuju hematopoetske (krvotvorne) matične stanice, mezenhimske matične stanice, matične stanice u crijevu, jetri, kosti i hrskavici, epidermi, mozgu, gušterači i oku [12].

Hematopoetske (krvotvorne) matične stanice (engl. *hematopoietic stem cell*, HSC) iz koštane srži su najbolje karakterizirane odrasle matične stanice [10]. Sve krvne stanice nastaju kroz proces proliferacije i diferencijacije krvotvornih matičnih stanica u specijaliziranom tkivu koje proizvodi krv, a taj proces se zove hematopoeza [12]. Ne nalaze ih samo u koštanoj srži, već i u fetalnoj jetri i slezeni, kao i u krvi posteljice i pupkovini [10]. Pod određenim eksperimentalnim uvjetima, hematopoetske matične stanice mogu formirati tipove stanica koji nisu dio krvi, poput stanica jetre. Dodatna istraživanja upućuju na to da se hematopoetske matične stanice mogu diferencirati u različite vrste stanica koje se integriraju u specifična tkiva, poput stanica skeletnih mišića, srčanih mišića, krvnih žila i mozga. Jedna pojedinačna hematopoetska matična stanica može se diferencirati u stanice sva tri embrionalna sloja klica. Slično tome, to vrijedi i za drugu vrstu matičnih stanica iz koštane srži, poznate i kao mezenhimalne matične stanice (engl. *mesenchymal stem cell*, MSC) [10].

Mezenhimalne matične stanice mogu, poput hematopoetskih matičnih stanica, tvoriti potomke svih triju embrionalna sloja klica, na primjer, daju sve oblike vezivnog i potpornog tkiva, poprečnoprugastu muskulaturu, gotovo sve glatke mišićne stanice, srčani mišić i endotel žila [10]. Mezenhimske matične stanice prisutne u koštanoj srži imaju sposobnost diferencijacije u kost ili hrskavicu kada su izložene odgovarajućim uvjetima. Osim ovih univerzalnih stanica, u kosti i hrskavici postoje specifične matične stanice koje se aktiviraju nakon ozljede. U samoj

kosti nalaze se i nespecifične matične stanice kao i specifične progenitorske stanice za kosti. Kada dođe do prijeloma kosti, koštana srž je izložena, što dovodi do obilnog krvarenja i formiranja hematoma, čime se stvara povoljno okruženje za regeneraciju kosti. Suprotno tome, hrskavica ima ograničen kapacitet za regeneraciju nakon ozljede. To je zbog činjenice da su matične stanice koje sudjeluju u obnovi hrskavice malobrojne, a njihovi regulacijski faktori su ograničeni. Smatra se da ove matične stanice potječu iz mišića, kosti ili drugih okolnih tkiva koja nisu hrskavična, što dodatno otežava proces regeneracije hrskavice [12].

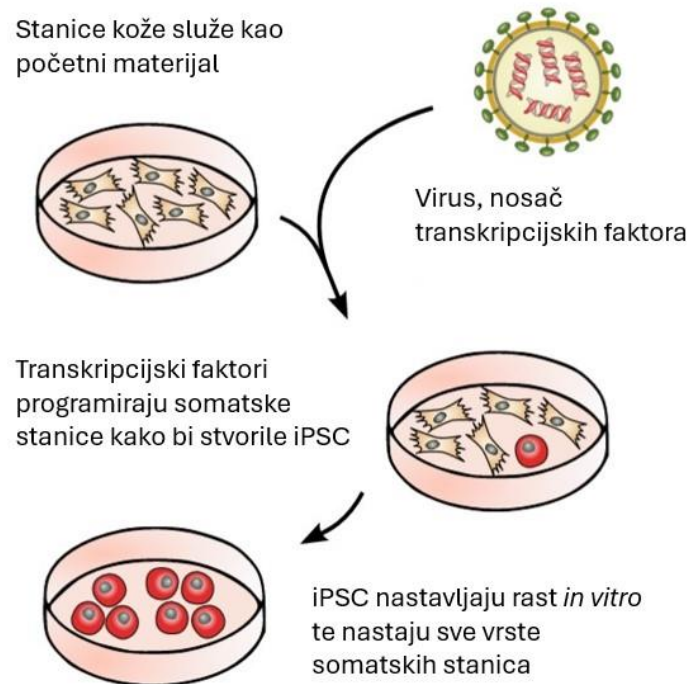
Do sada nisu uspješno izolirane MSC iz ljudi starijih od 50 godina. Jedan od razloga za to može biti taj što se odrasle matične stanice također podvrgavaju procesu starenja. Nadalje, prema jednoj uobičajenoj hipotezi, ljudsko tijelo je programirano za životni vijek od oko 45 godina. Izuzetno važno pitanje je i jesu li ljudske MSC uopće prikladne za terapijske svrhe. Ako je to slučaj, može se očekivati puno od ovog tipa matičnih stanica iz koštane srži u budućnosti [10]. Ljudska jetra je poznata po svojoj izvanrednoj sposobnosti brzog obnavljanja. Za razliku od većine drugih organa, njeno izvorno tkivo može se obnoviti unutar samo dva do tri tjedna, što omogućava osobi da preživi čak i nakon kirurškog uklanjanja značajnog dijela jetre. Proces regeneracije jetre uključuje različite tipove stanica i mehanizama, koji se aktiviraju ovisno o stupnju oštećenja. Konkretno, u slučaju jetre, regeneracija je često potaknuta transplantacijom stanica donora, što omogućava obnovu funkcionalnog tkiva [12].

Mnogobrojne su prepreke i problemi prisutni koje treba prevladati prije nego što se odrasle matične stanice mogu koristiti u terapijske svrhe. Prvi problem je taj što su matične stanice prisutne u organima samo u malom broju. Međutim, da bi se odrasle matične stanice mogle smisljeno koristiti, moraju biti dostupne u većim količinama ili obogaćene. To direktno dovodi do drugog problema, nedostatka znanja o učinkovitim i optimalnim uvjetima kulture i diferencijacije za odrasle matične stanice. To je uglavnom zbog činjenice da se malo zna o staničnom okruženju matičnih stanica u organima i o faktorima rasta koji se stvaraju u tim okruženjima [10]. Još jedan problem je moguće odbacivanje stanica od strane imunološkog sustava. Zbog malog broja odraslih matičnih stanica u tkivima, one su, kao što je već rečeno, vrlo teške za izoliranje, zbog čega većina transplantacija koštane srži sadrži brojne različite tipove stanica [10].

2.1.3. Inducirane pluripotentne matične stanice

Godine 2006., japanski stručnjaci Takahashi i Yamanaka, otkrili su da ekspresija četiri transkripcijska faktora izvan normalnog mjesta ekspresije gena inducira pluripotentnost kod

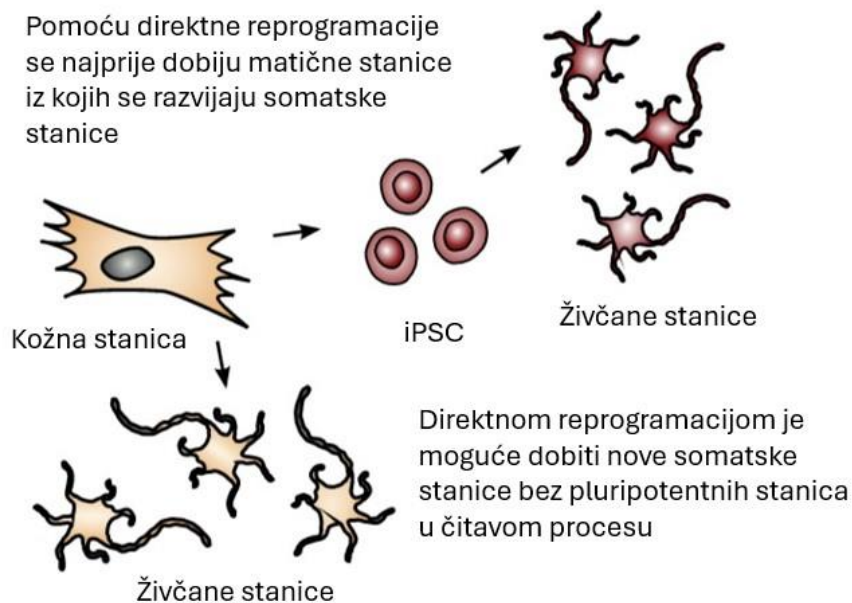
somatskih stanica [13]. Inducirane pluripotentne matične stanice (engl. *induced pluripotent stem cell*, iPSC) koje su stručnjaci dobili su bile iz mišijih fibroblasta, a odmah iduće godine isti znanstvenici su dobili takve stanice iz ljudskih fibroblasta. Stanice su po svim osobinama vrlo slične originalnim embrionalnim matičnim stanicama [14]. Ovaj postupak, nazvan „reprogramiranje“, od tada se koristi za dobivanje induciranih pluripotentnih matičnih stanica iz somatskih stanica. Reprogramiranje opisuje postupak u molekularnoj biologiji kojim se somatske stanice manipuliraju tako da pokazuju karakteristike i diferencijacijski potencijal pluripotentnih matičnih stanica. To bi se moglo nazvati obrnutim procesom diferencijacije [13]. Ove inducirane pluripotentne matične stanice svojim svojstvima vrlo su slične embrionalnim matičnim stanicama i, osim neograničene dostupnosti, imaju prednost da njihovo istraživanje ne izaziva etičke dileme. Poput embrionalnih matičnih stanica, one su pluripotentne i gotovo neograničeno se mogu obnavljati. Također, slične su embrionalnim matičnim stanicama u svojoj morfologiji. Međutim, postoje naznake da inducirane pluripotentne matične stanice imaju veću genetsku nestabilnost. Do sada je reprogramiranje i diferencijacija induciranih pluripotentnih matičnih stanica u određene linije stanica još uvijek neefikasna. Prisutnost nediferenciranih stanica povezana je s nastankom teratoma. Sigurnost primjene induciranih pluripotentnih matičnih stanica do sada je istražena samo u nekoliko kliničkih studija [13]. Inducirane pluripotentne matične stanice mogu se generirati iz somatskih stanica izražavanjem četiri transkripcijska faktora. Izražavanje ključnih transkripcijskih faktora može se postići, između ostalog, putem virusnih nosača koji unose odgovarajuću DNA u stanicu [13], slika 3. [16].



Slika 3. Dobivanje iPSC procesom „reprogramiranja“. Preuzeto i prilagođeno: [16].

Budući da korištenje induciranih pluripotentnih matičnih stanica zaobilazi kontroverznu upotrebu zametaka i omogućava postizanje potpune potencijalnosti čak i kod odraslih stanica, čini se da su izgledi za primjenu takvih stanica, koje imaju karakteristike embrionalnih matičnih stanica, u terapiji zamjene stanica sve bliži [15].

„Onaj tko može mnogo, ponekad je i opasan“, to se odnosi na sve matične stanice ali najviše na pluripotentne matične stanice tj. na embrionalne matične stanice i inducirane pluripotentne matične stanice. Iz njih nastaju sva tjelesna tkiva, ali i rijetka vrsta raka, teratom. Stoga su nedavno pokrenute studije koje se bave „direktnom reprogramacijom“ (Slika 4.). Za razliku od reprogramiranja koje uključuje matične stanice, kod direktne reprogramacije uopće nisu uključene matične stanice. Tu je smanjena ili čak potpuno eliminirana opasnost od raka. Postupak je isti kao i kod dobivanja iPSC, najprije se ubacuju transkripcijski faktori u somatske stanice koji brzo preuzimaju kontrolu i mijenjajući identitet stanice. Odabir transkripcijskih faktora gena je takav da se ne stvaraju pluripotentne matične stanice, već druge somatske stanice. Vjerojatnost za nastanak raka je smanjena, ali i dalje postoji, stoga metoda direktne reprogramacije još nema primjenu u medicini [17].



Slika 4. „Direktna reprogramacija“, dobivanje ciljanih somatskih stanica. Preuzeto i prilagođeno: [17].

2.1.4. Progenitorne matične stanice

Progenitorne stanice su specifičnije od matičnih stanica, s naglašenom sklonošću diferenciranju u ciljane stanice. Za razliku od matičnih stanica, njihov proliferativni kapacitet je ograničen. Nalaze se na sredini diferencijacijskog puta između matičnih stanica i potpuno diferenciranih stanica. Potentnost ovih stanica ovisi o tipu njihove „roditeljske“ matične stanice i niši u kojoj se nalaze, pri čemu su najčešće oligopotentne ili unipotentne. Većinom su u stanju mirovanja ili povremeno aktivne, s ciljem održavanja postojećih stanica tkiva i organa, slično kao i adultne matične stanice [18].

3. RAK

Rak se razvija kada regulacijski mehanizmi normalnih stanica zakažu, što dovodi do nekontroliranog rasta i diobe stanica. Uobičajeno, u višestaničnim organizmima, stanice su pažljivo regulirane kako bi zadovoljile potrebe cijelog organizma. Međutim, stanice raka gube tu kontrolu te nekontrolirano rastu i šire se po tijelu, ometajući normalno funkcioniranje tkiva i organa [3].

Osnovni uzrok raka kao bolesti je trajno narušena proliferacija stanica. Umjesto da odgovaraju na signale koji kontroliraju ponašanje normalnih stanica, stanice raka nekontrolirano rastu i dijele se, infiltrirajući normalna tkiva i organe te se šireći po cijelom tijelu. Ovaj generalizirani gubitak kontrole rasta, karakterističan za stanice raka, nastaje uslijed nakupljanja poremećaja u različitim staničnim regulacijskim sustavima. To se manifestira na različite načine, čime se stanice raka značajno razlikuju od normalnih stanica [3].

3.1. Vrste raka

Rak može nastati zbog poremećaja proliferacije bilo koje vrste stanica u tijelu, što rezultira više od stotinu različitih vrsta raka, koje se značajno razlikuju po ponašanju i odgovoru na liječenje. Ključna stvar u patologiji raka je razlikovanje benignih (dobročudnih) od malignih (zloćudnih) tumora. Tumor je izraz za svaku nenormalnu proliferaciju stanica koja može biti dobroćudna ili zloćudna. Na primjer, dobroćudni tumor poput kožne bradavice ostaje ograničen na mjesto gdje je nastao i ne širi se u susjedna tkiva niti u udaljene dijelove tijela. S druge strane, zloćudni tumor ima sposobnost invazije susjednih tkiva i širenja po cijelom tijelu putem krvožilnog ili limfnog sustava, što se naziva metastazama. Pojam „rak“ odnosi se isključivo na zloćudne tumore, a njihova sposobnost širenja i metastaziranja čini ih posebno opasnim. Dok se dobroćudni tumori obično mogu kirurški ukloniti, zloćudni tumori često zahtijevaju kompleksnije metode liječenja zbog njihovog širenja na udaljene dijelove tijela, što otežava potpuno izlječenje lokalnim tretmanima [3].

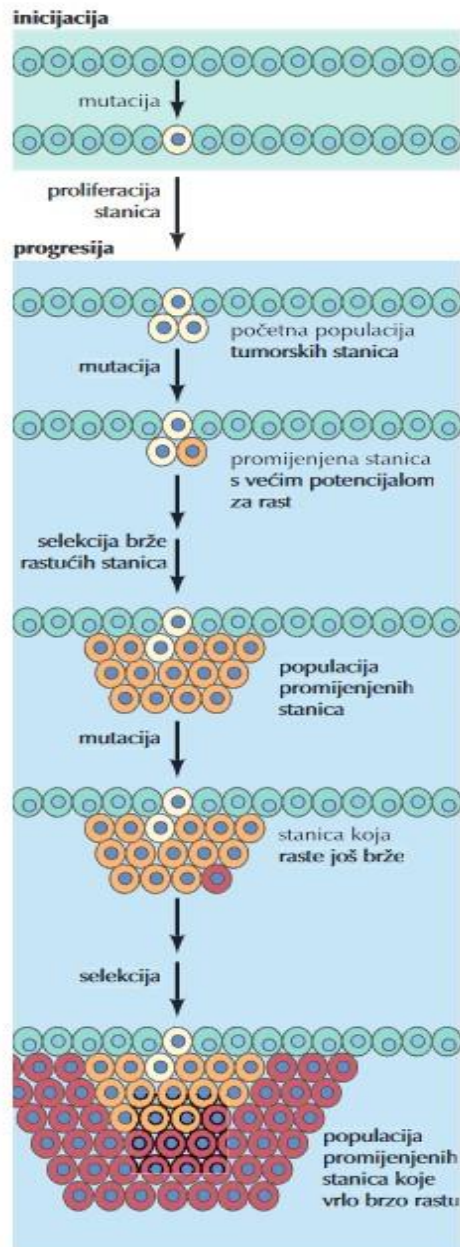
Tumori, bilo dobroćudni ili zloćudni, klasificiraju se prema vrsti stanica iz kojih potječu. Većina tumora može se svrstati u jednu od tri glavne skupine: karcinomi, sarkomi te leukemije i limfomi. Karcinomi, koji čine otprilike 90 % slučajeva raka u ljudi, predstavljaju zloćudne bolesti epitelnih stanica. Sarkomi su rijetki kod ljudi i manifestiraju se kao čvrsti tumori vezivnih tkiva poput mišića, kostiju, hrskavice te specifičnih vrsta vezivnih tkiva. Leukemije i limfomi, koji obuhvaćaju oko 7 % zloćudnih bolesti kod ljudi, razvijaju se iz krvotvornih stanica i stanica imunološkog sustava [3].

Daljnja klasifikacija tumora temelji se na tkivu iz kojeg potječu te vrsti zahvaćenih stanica. Na primjer, karcinom pluća nastaje iz plućnog tkiva, dok fibrosarkomi potječu iz fibroblasta, a eritroidne leukemije iz preteča eritrocita. Ova detaljna klasifikacija pomaže u preciznijem razumijevanju i liječenju različitih vrsta tumora, omogućujući ciljaniji pristup terapijama ovisno o specifičnom tipu stanica i tkiva zahvaćenih bolešću [3].

3.2. Nastanak raka

Jedno od temeljnih svojstava raka je klonalnost tumora, nastanak tumora iz jedne stanice koja počinje nenormalno proliferirati [3].

Klonsko podrijetlo tumora ne znači da je početna stanica odmah imala sve karakteristike stanice raka. Umjesto toga, rak nastaje kroz višestupanjski proces u kojem stanice postupno postaju zloćudne zbog niza progresivnih promjena. Jedan od pokazatelja da se radi o višestupanjskom procesu je činjenica da se većina slučajeva raka javlja u kasnijoj životnoj dobi [3]. Razvoj tumora počinje kada jedna mutirana stanica počne abnormalno proliferirati što pokazuje slika 5. [3].



Slika 5. Stupnjevi razvoja tumora. Razvoj tumora počinje kada jedna mutirana stanica počne abnormalno proliferirati. Naknadne mutacije i selekcija stanica koje brže rastu unutar te populacije rezultiraju progresijom tumora, koji s vremenom raste sve brže i postaje sve zloćudniji [3].

Na staničnoj razini, nastanak raka može se promatrati kao višestupanjski proces koji uključuje mutacije i selekciju stanica s povećanom sposobnošću proliferacije, preživljavanja, širenja i metastaziranja. Vjeruje se da je prvi korak u ovom procesu, poznat kao inicijacija tumora, rezultat genetičke promjene koja uzrokuje abnormalnu proliferaciju jedne stanice. Ta proliferacija dovodi do prekomjernog rasta monoklonske populacije tumorskih stanica.

Progresija tumora nastavlja se nakupljanjem dodatnih mutacija u populaciji tumorskih stanica. Neke od ovih mutacija, kao što su one koje omogućuju brži rast, pružaju selektivnu prednost stanici u kojoj su se pojavile, čime njezini potomci postaju dominantna populacija u tumoru. Taj proces, nazvan klonska selekcija, omogućuje stvaranje novih klonova tumorskih stanica zbog svojstava poput bržeg rasta, preživljavanja, širenja ili metastaziranja, koja im daju selektivnu prednost nad drugim stanicama. U tumorima je klonska selekcija stalan proces, što rezultira njihovim postupnim ubrzavanjem rasta i proliferacije te povećanjem zloćudnosti [3]. Najraniji stadij u razvoju tumora je povećana proliferacija stanica. U početku, od jedne stanice iz proliferirajuće populacije, stvara se mala dobroćudna novotvorina, poput adenoma ili polipa. Daljnje epizode klonske selekcije rezultiraju stvaranjem većih adenoma s većim proliferativnim potencijalom. Iz tih dobroćudnih adenoma potom se razvijaju zloćudni karcinomi, koji se odlikuju širenjem tumorskih stanica kroz bazalnu laminu u susjedna tkiva. Stanice raka nastavljaju proliferirati i širiti se u okolna tkiva. Uz to, šire se u krvne i limfne žile, što im omogućuje metastaziranje u razne dijelove organizma [3].

3.3. Uzroci raka

Tvari koje uzrokuju rak nazivaju se karcinogenima. Otkriveni su kroz istraživanja na pokusnim životinjama. Budući da je nastanak zloćudne bolesti složen proces koji se odvija u više koraka, mnogi čimbenici mogu utjecati na vjerojatnost razvoja raka, pa je u većini slučajeva pretjerano pojednostavnjeno govoriti o jednom uzroku raka. Unatoč tome, poznato je da mnogi agensi, uključujući zračenje, kemikalije i viruse, uzrokuju rak kod pokusnih životinja i ljudi [3].

Zračenje i mnogi kemijski karcinogeni djeluju tako da oštećuju DNA i izazivaju mutacije, dok drugi karcinogeni ne uzrokuju mutacije, već potiču razvoj raka stimulirajući proliferaciju stanica. Takvi spojevi nazivaju se promotorima tumora. Oni uzrokuju povećanje broja dioba stanica, omogućujući staničnoj populaciji koja proliferira da u ranim fazama razvoja tumora nadmaši ostale stanične klonove. Klasičan primjer su forbolni esteri, koji potiču proliferaciju stanica aktiviranjem protein-kinaze C. Način njihovog djelovanja razjašnjen je istraživanjima kemijski induciranih tumora kože kod miševa. U ovom modelu proces tumorigeneze započinje jednim izlaganjem miševa mutagenim karcinogenima. Međutim, tumori se ne razvijaju ako se miševi nakon toga ne izlože promotoru tumora (obično forbolnom esteru) koji stimulira proliferaciju mutiranih stanica [3].

Hormoni, posebno estrogene, igraju ključnu ulogu u promicanju razvoja određenih oblika raka kod ljudi. Na primjer, estrogene potiču proliferaciju stanica endometrija, što može značajno

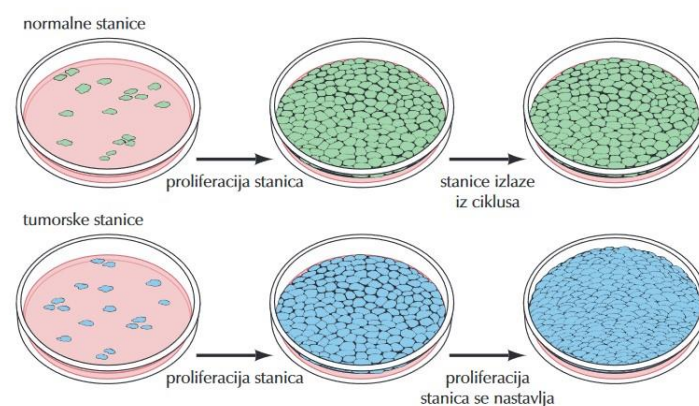
povećati predispoziciju žena za razvoj raka trupa maternice. Dugotrajna terapija visokim dozama estrogena u postmenopauzi povećava ovaj rizik, međutim, dodavanje progesterona može značajno smanjiti ovaj rizik. Progesteron inhibira stimulatívni učinak estrogena na proliferaciju stanica endometrija, pružajući time učinkovitu strategiju za minimaliziranje rizika od razvoja karcinoma trupa maternice [3].

Pored izloženosti kemikalijama i zračenju, virusi su također poznati uzročnici raka kod pokusnih životinja i ljudi. U ljudi, rak jetre i grlića maternice su među najčešćim vrstama raka izazvanim virusima, čineći zajedno 10 do 20 % svih slučajeva raka globalno. Važno je napomenuti da ti virusi nisu samo uzročnici raka, već su njihova istraživanja imala i ključnu ulogu u razumijevanju molekularnih mehanizama koji leže u osnovi razvoja raka, bez obzira na to jesu li oni inducirani virusima ili nevirusnim karcinogenima [3].

3.4. Svojstva stanica raka

Nekontrolirani proliferativni proces stanica raka nastaje kao posljedica kumulacije raznih neuravnoteženih procesa u stanici. Ovaj se odnos ogleda u različitim aspektima ponašanja po kojima se stanice raka razlikuju od odgovarajućih normalnih stanica. Tipično, stanice raka pokazuju poremećaje u mehanizmima koji reguliraju proliferaciju, diferencijaciju i preživljavanje, što u cjelini opisuje zloćudni tumor na staničnoj razini [3].

Neovisan rast stanica raka u staničnoj kulturi pokazuje analogno ponašanje kao i u *in vivo* uvjetima. Ključna razlika između stanica raka i normalnih stanica u kulturi leži u činjenici da normalne stanice pokazuju inhibiciju proliferacije u ovisnosti o gustoći stanica [3].

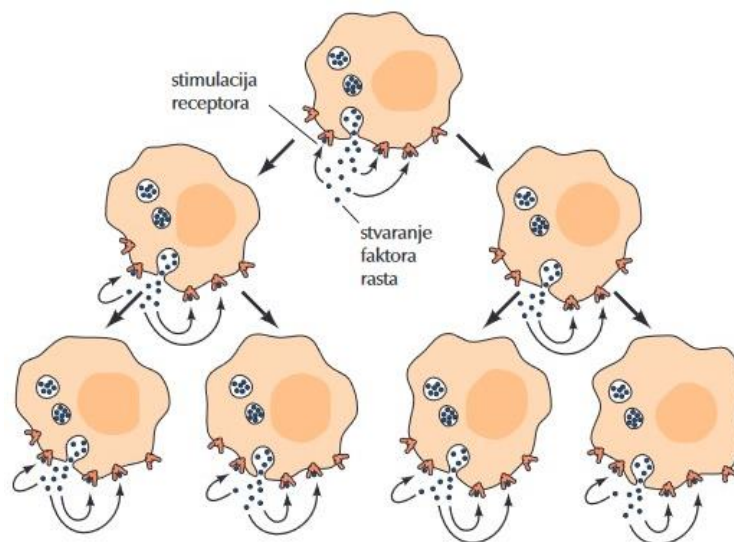


Slika 6. Inhibicija rasta stanica u ovisnosti o gustoći stanica. Normalne stanice u kulturi proliferiraju sve dok ne postignu određenu gustoću stanica, nakon čega prestaju s daljnjim ulaskom u stanični ciklus. Za razliku od toga, tumorske stanice proliferiraju neovisno o gustoći stanica, kontinuirano se dijele unatoč gustoći okoline [3].

Normalne stanice u kulturi proliferiraju do trenutka kada postignu odgovarajuću gustoću, što djelomično ovisi o dostupnosti faktora rasta prisutnih u mediju (obično u obliku seruma). Nakon postizanja te gustoće, proliferacija se zaustavlja, a stanice ulaze u fazu mirovanja. Međutim, većina tumorskih stanica ne reagira na inhibiciju proliferacije ovisnu o gustoći. Umjesto da odgovore na signale koji normalno dovode do prestanka proliferacije i ulaska u fazu mirovanja, tumorske stanice nastavljaju rasti u kulturi sve dok ne postignu visoku gustoću, što odražava nekontroliranu proliferaciju u *in vivo* uvjetima (Slika 6.) [3].

Povezana s tim je i činjenica da mnoge stanice raka imaju smanjenu ovisnost o izvanstaničnim faktorima rasta. Za određene tipove stanica, posebno fibroblaste, prisutnost faktora rasta u serumu ključna je za njihovu sposobnost proliferacije u kulturi. Potreba ovih stanica za faktorima rasta usko je povezana s fenomenom inhibicije ovisne o gustoći stanica, jer je gustoća pri kojoj normalni fibroblasti prelaze u fazu mirovanja proporcionalna koncentraciji faktora rasta prisutnih u mediju. Mnoge tumorske stanice imaju manju potrebu za faktorima rasta od odgovarajućih normalnih stanica što pridonosi nereguliranoj proliferaciji tumorskih stanica *in vitro* i *in vivo* [3].

U rijetkim slučajevima stanice raka same stvaraju faktore rasta koji stimuliraju njihovu proliferaciju, što prikazuje slika 7. [3].



Slika 7. Autokrini stimulacija stanica raka. Stanica sama proizvodi faktor rasta na koji reagira, što rezultira stalnom poticajnom proliferacijom [3].

Takvo nenormalno stvaranje faktora rasta unutar stanica, na koje same reagiraju, rezultira stalnom samopoticajnom diobom stanica (autokrini stimulacija rasta), smanjujući ovisnost stanica raka o faktorima rasta izvan njezinih uobičajenih izvora. U drugim slučajevima, smanjena ovisnost stanica raka o faktorima rasta proizlazi iz poremećaja unutarstaničnih

signalnih puteva, kao što je deregulacija aktivnosti receptora za faktore rasta ili drugih proteina (poput Ras proteina ili proteina-kinaza), koji normalno posreduju u signalnom putu koji potiče staničnu proliferaciju [3].

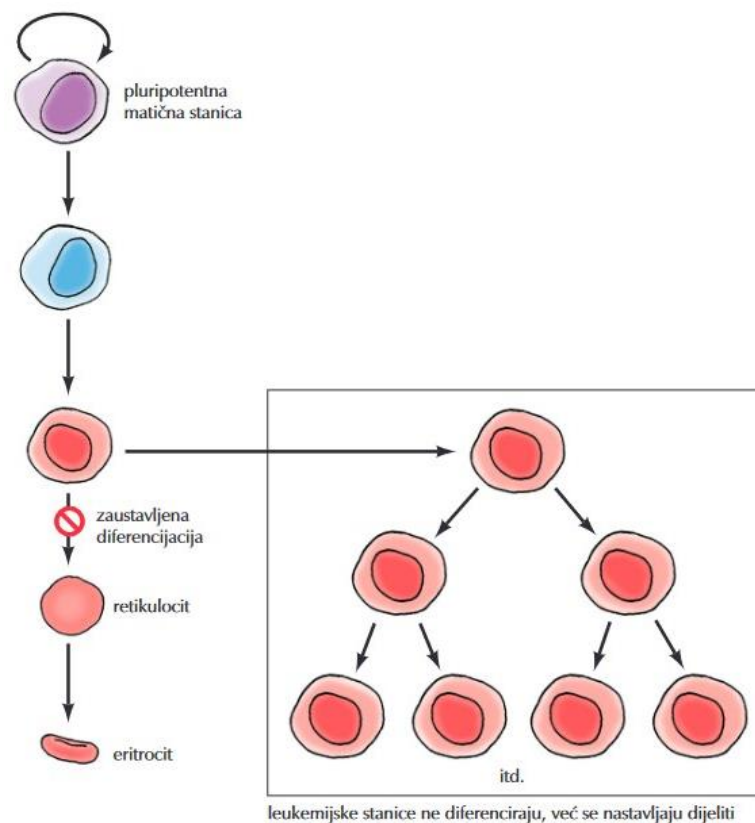
Interakcije među stanicama i između stanica i ekstracelularnog matriksa manje su učinkovite kod stanica raka u usporedbi s normalnim stanicama. Većina stanica raka ima slabiju adheziju u odnosu na normalne stanice, što često proizlazi iz niže ekspresije adhezijskih molekula na njihovoj površini. Smanjena ekspresija staničnih adhezijskih molekula čini stanice raka manje ograničenima u interakcijama s drugim stanicama i komponentama tkiva, što olakšava njihovu sposobnost širenja i metastaziranja. Smanjena adhezivnost stanica raka također dovodi do promjena u morfologiji i citoskeletu. Mnoge tumorske stanice imaju okrugliji oblik u usporedbi s normalnim, djelomice zbog slabijeg prijanjanja za ekstracelularni matriks ili susjedne stanice [3].

Postoji jasna distinkcija između normalnih stanica i stanica raka kada je u pitanju fenomen dodirne inhibicije. Normalni fibroblasti se kreću duž površine posudice za kulturu sve dok ne dođu u kontakt sa susjednom stanicom. Nakon toga, daljnje migracije prestaju, a normalne stanice se međusobno povezuju stvarajući uredan sloj na dnu posudice za kulturu. Nasuprot tome, tumorske stanice nastavljaju migrirati čak i nakon što dođu u kontakt sa susjedima, prelazeći jedna preko druge i rastući neuredno u više slojeva. Osim što zaustavlja kretanje, dodir sa susjednim stanicama također inhibira proliferaciju mnogih normalnih stanica, za razliku od stanica raka koje nisu osjetljive na dodirnu inhibiciju rasta [3].

Ostale dvije karakteristike stanica raka imaju značajan utjecaj na njihovu sposobnost interakcije s drugim komponentama tkiva te stoga igraju ključnu ulogu u širenju i metastaziranju tumora. Prvo, većina malignih stanica proizvodi proteaze koje razgrađuju komponente ekstracelularnog matriksa, što omogućuje stanicama raka da se prošire u susjedna normalna tkiva. Drugo, stanice raka luče faktore koji potiču formiranje novih krvnih žila (angiogeneza). Angiogeneza je neophodna za kontinuirani rast tumora većeg od otprilike milijun stanica, jer su u toj fazi tumora potrebne nove krvne žile kako bi se osigurala opskrba proliferirajućih tumorskih stanica kisikom i hranjivim tvarima. Ti faktori potiču proliferaciju endotelnih stanica u zidovima kapilara u okolnom tkivu, što rezultira formiranjem novih kapilara u tumoru. Formiranje novih krvnih žila nije važno samo za održavanje rasta tumora, već i za proces metastaziranja. Novoformirane kapilare, potaknute angiogeničkim stimulacijama, aktivno se šire, omogućavajući tumorskim stanicama da lako prodru kroz njih i uđu u krvožilni sustav, započinjući tako proces metastaziranja [3]. U nekim slučajevima stanice raka brže rastu od krvnih žila koje ih opskrbljuju kisikom te u tome slučaju tijekom rasta stanice tumora ne

dobivaju dovoljno kisika tj. doživljavaju hipoksiju koja može imati za posljedicu brži rast samih tumorskih stanica i promjene u glikolitičkom putu [19].

Još jedna karakteristika koja je uobičajena kod većine stanica raka je nedostatak normalne diferencijacije. Ovaj poremećaj u zrelosti stanica često je povezan s disbalansom u proliferaciji, jer većina potpuno diferenciranih stanica ne prolazi kroz proces diobe. Umjesto da nastave sa svojim uobičajenim programom diferencijacije, stanice raka ostaju blokirane u ranoj fazi diferencijacije koja je karakteristična za kontinuiranu aktivnu proliferaciju. Leukemije pružaju posebno dobar primjer ove povezanosti između poremećaja diferencijacije i malignosti bolesti. Sve zrele krvne stanice potječu iz iste matične stanice u koštanoj srži, a njeni potomci se usmjeravaju prema različitim smjerovima diferencijacije. Na primjer, neke od njih se diferenciraju u eritrocite, dok se iz drugih razvijaju limfociti, granulociti ili makrofagi. Tijekom diferencijacije, sve ove stanice prolaze kroz nekoliko rundi diobe, no dioba se zaustavlja nakon što potpuno sazru. Za razliku od toga, leukemijske stanice ne sazrijevaju u potpunosti, što je prikazano na slici 8.



Slika 8. Poremećaj diferencijacije i leukemije [3].

Tijekom procesa sazrijevanja, preteče diferenciranih stanica se nekoliko puta podijele, ali u kasnijim fazama diferencijacije, dioba stanica se zaustavlja. Leukemijske stanice ostaju

blokirane u ranim fazama diferencijacije u kojima su još uvijek sposobne za diobu i umnažanje [3].

Programirana stanična smrt, poznata kao apoptoza, ključni je element u programu diferencijacije mnogih vrsta stanica, uključujući i krvne stanice. U mnogim slučajevima stanice raka izbjegavaju apoptozu, što rezultira njihovim duljim preživljavanjem u usporedbi s odgovarajućim normalnim stanicama. Nedostatak apoptoze kod tumorskih stanica značajno doprinosi nastanku tumora. Na primjer, preživljavanje mnogih normalnih stanica ovisi o signalima faktora rasta ili ekstracelularnog matriksa koji sprječavaju apoptozu. Nasuprot tome, tumorske stanice često preživljavaju čak i bez prisutnosti faktora rasta koji su neophodni za preživljavanje normalnih stanica. Mogućnost tumorskih stanica da izbjegnu apoptozu kad im nedostaju normalni signali iz okoliša može biti ključna ne samo za nastanak primarnog tumora, već i za preživljavanje i rast metastaza u tkivima gdje nije uobičajeno. Normalne se stanice također podvrgavaju apoptozi nakon oštećenja DNA, dok mnoge stanice raka to ne čine. U takvim slučajevima, odsutnost apoptoze povećava otpornost tumorskih stanica na zračenje i mnoge citostatike koji djeluju na način da oštećuju DNA [3].

4. MATIČNE STANICE U LIJEČENJU RAKA

Prema jednom od modela, tumor se sastoji od nekoliko stanica s karakteristikama matičnih stanica i sposobnošću samoobnavljanja, kao i od preteča stanica koje se intenzivno umnožavaju. Iz tih preteča stanica, razvijaju se manje ili više diferencirane stanice stvarne tumorske mase [20].

Prethodno opisani model tumora objašnjava zašto se tumori često vraćaju nakon uspješne kemoterapije i godina remisije. Današnje terapije obično djeluju na stanični ciklus ili diobu stanica i eliminiraju prvenstveno zrelije, brzo dijeleće stanice. Matične stanice koje se dijele rjeđe često ostaju nedostupne terapijskim metodama. Molekularna karakterizacija tih stanica i njihova razlika od normalnih matičnih stanica omogućuje identifikaciju novih terapijskih pristupa [20].

Klasične metode liječenja malignih tumora, poput kemoterapije i radioterapije, često uspješno reduciraju većinu tumorskog tkiva. Međutim, unatoč tome, ponovna pojava tumora nakon terapije nije rijetka pojava. Povećana otpornost stanica raka matičnih stanica na primijenjenu terapiju smatra se ključnim faktorom za ponovnu pojavu tumorskog rasta [23].

Kemorezistenciju matičnih tumorskih stanica prvenstveno određuje njihova kompleksna biologija, obuhvaćujući epigenetičke modifikacije, promijenjene obrasce signalnih putova ključnih za održavanje njihove diferencijacije i samoobnavljanja, te metaboličke i imunološke adaptacije. Stoga je nužno temeljito razumijevanje bioloških karakteristika ovih stanica kako bi se razvili ciljani lijekovi koji ciljaju specifične biološke značajke koje su inherentne samo matičnim tumorskim stanicama. Integracija ovih ciljanih terapija s konvencionalnim metodama antitumorske terapije ima potencijal za potpuno eliminiranje tumorskog tkiva i sprječavanje recidiva tumora [23].

Razvijene su različite strategije za liječenje raka pomoću terapije matičnim stanicama, uključujući transplantaciju HSC, infuziju MSC za post-kancerogeno liječenje, korištenje matičnih stanica kao terapeutskih nosača, generiranje imunih efektorskih stanica i proizvodnju cjepiva. Transplantacija HSC koristi se za rekonstrukciju krvotvornih stanica i leukocita nakon intenzivne kemoterapije ili radioterapije. Matične stanice se u liječenju raka mogu koristiti kao nosači različitih agenasa u svrhu: (i) zaštite terapeutskih sredstava od brze biološke razgradnje, (ii) smanjenje nuspojava u organizmu i (iii) povećanje lokalnih razina terapeutika zbog izražene sposobnosti matičnih stanica da ciljaju tumorske stanice. ESC i iPSC mogu se koristiti za proizvodnju efektorskih imunih stanica. Osim toga, ESC i iPSC mogu biti potencijalni izvori za proizvodnju cjepiva protiv raka [25].

4.1. Sličnosti i razlike između tumorskih i normalnih matičnih stanica

Normalne matične stanice i tumorske matične stanice (engl. *cancer stem cell*, CSC) obje služe kao ključni, trajni izvor novonastalih diferenciranih stanica. Međutim, diferencijacijska sposobnost tumorskih matičnih stanica je u većini slučajeva značajno ograničena u usporedbi s normalnim stanicama tkiva. Za obje vrste stanica, normalne matične stanice i tumorske matične stanice, vrijedi činjenica da zrelije stanice obično prolaze programiranu staničnu smrt (apoptozu) nakon određenog broja dioba, dok je ta sposobnost ograničena ili potpuno odsutna kod tumorskih matičnih stanica [24].

Smatra se da normalne matične stanice, a isto tako i tumorske matične stanice imaju mehanizme koji sprječavaju ulazak i zadržavanje određenih toksina. Ovaj biološki koncept vjerojatno sprječava naglo smanjenje broja matičnih stanica u slučaju izloženosti toksinima. Molekularni mehanizmi koji stoje iza ove zaštitne funkcije djelomično su poznati. Važan dio zaštitnog sustava čine ionske pumpe na staničnoj membrani. Pokazalo se da ovi kanali brzo ispumpavaju toksine iz stanica. Nažalost, ovo vrijedi i za mnoge lijekove, što često rezultira primarnom otpornošću matičnih stanica na različite lijekove. Uz to, tumorskim matičnim stanicama često nedostaju transporteri lijekova (također ionski kanali) preko kojih bi mogli apsorbirati odgovarajuće lijekove [24].

Postoji niz funkcionalnih interakcija na molekularnoj i staničnoj razini koje ukazuju na sličnosti između normalnih matičnih stanica i tumorskih matičnih stanica. Također, primijećeno je da se tumorske matične stanice i normalne matične stanice koriste sličnim signalnim putevima. Postoje također i jasne sličnosti u obrascima ekspresije gena i u epigenetskim regulatornim obrascima između matičnih stanica i CSC [24].

4.2. Transplantacija hematopoetskih matičnih stanica

Hematopoetske matične stanice posebno se koriste u liječenju hematoloških bolesti i kao dio terapije onkoloških bolesti [13]. Presađivanje HSC široko je klinički primijenjivano kako bi se olakšao doživotni hematološki oporavak nakon liječenja malignih bolesti visokim dozama radioterapije ili kemoterapije. Ovaj tretman ima za cilj rekonstituirati koštanu srž, djelujući tako da opskrbljuje matične stanice koje se diferenciraju u željeni tip krvne stanice [26]. Transplantacija hematopoetskih matičnih stanica (engl. *hematopoietic stem cell transplantation*, HSCT) uključuje prijenos krvotvornih matičnih stanica s donora na primatelja. Ako su donor i primatelj ista osoba, postupak se naziva autologna transplantacija hematopoetskih matičnih stanica. S druge strane, ako su donor i primatelj genetski različiti, postupak se naziva

alogeni HSCT [21]. Transplantacija hematopoetskih matičnih stanica predstavlja ključnu terapijsku metodu u liječenju raznih hematoloških bolesti prvenstveno u liječenju bolesti poput leukemije, limfoma i sindroma zatajenja koštane srži. Ova procedura omogućava ponovno uspostavljanje zdravog hematopoetskog sustava kod pacijenata čiji je koštana srž oštećena ili uništena uslijed bolesti ili agresivnih terapija kao što su kemoterapija i zračenje. Osim toga, ovaj postupak se sada široko istražuje u kliničkim ispitivanjima, u kombinaciji s kemoterapijom ili imunoterapijom, za liječenje drugih vrsta raka, poput tumora mozga, neuroblastoma, sarkoma i karcinoma dojke [21,25]. U mnogim slučajevima, posebno kod visokorizičnih leukemija, HSCT nudi jedinu mogućnost za dugoročno preživljenje i potencijalno izlječenje [24]. HSCT se uglavnom odnosi na primjenu hematopoetskih progenitorskih stanica iz koštane srži, periferne krvi ili pupkovine [21].

4.2.1. Transplantacija koštane srži

Najdetaljnije istražene su matične stanice koštane srži, koje su izvor više od polovice različitih tipova krvnih i imunoloških stanica. Budući da su sposobne proizvesti više vrsta stanica unutar barem jedne obitelji stanica, nazivaju se multipotentnima [22]. Ideja da neke odrasle matične stanice mogu biti iznenađujuće svestrane nastala je 1969. godine u Seattleu kada je liječnik E. D. Thomas spasio život pacijentu s rakom krvi presađivanjem koštane srži od primatelja koji je u srodstvu sa pacijentom. Nakon presađivanja koštane srži, potomci stranih stanica, diferencirane matične stanice presađene koštane srži, su se pojavili u potpuno različitim tkivima pacijenta. Iz toga su neki istraživači zaključili da matične stanice koštane srži, u odgovarajućim uvjetima, mogu sudjelovati u stvaranju gotovo svakog tkiva. Thomas je 1990. godine dobio Nobelovu nagradu za medicinu [22,28]. U prvim godinama, ovaj je postupak još uvijek predstavljao rizik koji su samo rijetki preživjeli. Imunološki sustav pacijenta napadao je doniranu koštanu srž, ubijajući strane matične stanice i tako sprječavajući obnavljanje krvi, što je rezultiralo smrću oboljelog. Tek su osamdesetih godina prošlog stoljeća liječnici stavili pod kontrolu reakciju odbacivanja i od tada se metoda presađivanja koštane srži smatra pouzdanom. Od tada je obavljeno više od milijun transplantacija koštane srži. To je jako učinkovit postupak, ali i opasan. Prije same transplantacije pacijent je izložen zračenju i agresivnoj kemoterapiji kako bi se u potpunosti uklonila njegova koštana srž. To sprječava „stari“ imunološki sistem da odbaci novu koštanu srž. Nakon transplantacije postoji mogućnost da donirana koštana srž napadne pacijenta, u tome slučaju je bitno da se darivatelj i primatelj što bolje podudaraju, da su u krvnom srodstvu. Ali, čak i ako postoji dobro podudaranje, prvih nekoliko tjedana nakon

transplantacije matičnih stanica ostaje kritično vrijeme jer pacijent i dalje ima malo imunoloških stanica koje su osjetljive na razne infekcije [28].

Rak krvi danas je u mnogim slučajevima izlječiv, a tome je pridonijela upravo transplantacija koštane srži. Sedamdesetih godina prošlog stoljeća leukemija kod djeca je bila gotovo uvijek smrtonosna, ali danas je stopa preživljavanja najmanje 80 % [28].

4.3. Genetski modificirane matične stanice

Najčešće matične stanice koje se genetski modificiraju su MSC. Takve su matične stanice virusno transducirane kako bi poboljšale ekspresiju i izlučivanje citokina koji djeluje na tumorske stanice ili određenih enzima koji kataliziraju pretvorbu prolijekova u aktivne molekule koji pokazuju veću toksičnost za tumorske stanice. Primjer takvog prolijeka je 5-fluorocitozin (5-FC), koji se dodatkom genetski modificiranih MSC s povećanom ekspresijom enzima citozin-deaminaze, učinkovitije prevodi u tumor-toksični 5-fluororacil (5-FU) [25].

4.4. Matične stanice kao nositelji onkolitičkih virusa

Onkolitički virusi su virusi koji imaju sposobnost uništavanja tumorskih stanica, čime potencijalno mogu poslužiti kao terapija za različite vrste karcinoma. Ovi virusi se razlikuju od tradicionalnih terapijskih metoda jer ciljaju tumorske stanice u kojima se repliciraju i ubijaju ih, dok istovremeno minimalno oštećuju normalne stanice tkiva. Onkolitički virusi mogu inducirati proces uništenja tumorskih matičnih stanica i isto tako otpustiti „signale opasnosti“ za aktiviranje imunoloških stanica kako bi poboljšale lizu tumorskih stanica [25]. Neki onkološki virusi su dizajnirani da prepoznaju specifične receptore koji su prisutni samo na tumorskim stanicama. Nakon ulaska u stanicu ili jezgru stanice tumora, započinju replikaciju koja dovodi do nakupljanja viriona koji dovode do litičke smrti stanice tumora [29].

Onkološki virusi se izvide nizom modifikacija iz jednolančanih ili dvolančanih DNA ili RNA virusa prema vrsti nukleinske kiseline, od kojih su najzastupljeniji ssRNA (engl. single stranded RNA) i dsDNA (engl. double stranden DNA). dsDNA virusi uglavnom uključuju adenovirus, virus vakcinije i herpesvirus dok ssRNA poliovirus, virus ospica i mnoge druge [29].

Međutim, imunološke stanice mogu lako prepoznati gole onkolitičke viruse i brzo ih ukloniti iz tijela. Matične stanice mogle bi biti obećavajući nosači za zaštitu i isporuku onkolitičkih virusa na mjesta tumora, što je i utvrđeno raznim kliničkim istraživanjima na miševima. Ali, učinkovitost nositelja matičnih stanica ovisi o njihovim terapijskim učincima kao i o odnosu između stanica nositelja i tumorskih stanica. Druga istraživanja pokazala su da inducirane

matične stanice nisu podržale replikaciju virusa, ali veći broj virusa se mogao osloboditi u toku istraživanja iz same inducirane matične stanice [25].

4.5. Cjepiva protiv raka

Terapije koje ciljano utječu na tumorske matične stanice značajno bi poboljšale učinkovitost u borbi protiv raka. Među različitim pristupima takvih ciljanih terapija, proizvodnja cjepiva protiv raka vrlo je obećavajuća zbog njihove visoke imunogenosti. Cjepiva protiv raka mogu se proizvesti iz onkofetalnih peptida ili cijelih stanica koje su dobivene iz embrionalnih ili induciranih pluripotentnih matičnih stanica. Proizvodnja ovih cjepiva najčešće uključuje unošenje antigena u neke vrste imunoloških stanica, koje se zatim koriste za generiranje T-stanica *in vivo* ili *in vitro* koje bi bile sposobne boriti se protiv uzroka njihovog nastanka [25]. Glavni problemi su mogućnost stvaranja tetratoma i indukcija autoimunosti. U usporedbi s ksenogenskim izvorom, utvrđeno je da su homologna ESC i autogena iPSC cjepiva učinkovitija u sprječavanju ponovne pojave tumora kod miševa, što je dokazano pojačanom proliferacijom imunoloških stanica miša. Međutim, ta se cjepiva trebaju koristiti kao preventivni tretman, a ne kao terapijski tretman jer jednokratna upotreba cjepiva bilo onkofekalnih peptidnih cjepiva ili onih podrijetlom iz ESC i iPSC. Tumori s jakim imunosupresivnim mikrookruženjem mogli bi smanjiti učinkovitost liječenja cjepivom zbog mehanizma brzog izlaska koji sprječava da se imunološka stanica zadržava u njegovom okruženju. Kako bi se poboljšao antitumorski imunitet, nužna je kombinacija s drugim terapijama, kao što su kirurgija, terapija zračenjem, kemoterapija i inhibitori imunoloških kontrolnih točaka [25].

5. PREPREKE U PRIMJENI MATIČNIH STANICA

5.1. Etički i pravni problemi

Značajno je, za zakonsku regulaciju istraživanja matičnih stanica to što su u svim zemljama diskusije i zakonski propisi počeli tek kada istraživanje više nije bilo zaustavljivo. Kao posljedica toga, većina zemalja pokrenula je debatu o statusu i zaštiti ljudskog života, terapijskim mogućnostima i slobodi istraživanja. No, najviše pažnje privlače i dalje pitanja o vrijednosti ljudskog života te statusu embrija. Postoji neslaganje, posebice u pogledu toga kada bi embrij trebao biti smatran takvim, odnosno kada bi trebao biti pod posebnom zaštitom ili imati vlastita prava [26].

Raspon etičkih argumenata za i protiv istraživanja matičnih stanica je iznimno širok i slojevit [26]. Kritičari istraživanja na embrionalnim matičnim stanicama smatraju da je uništenje embrija slično abortusu. Oni vjeruju da je embrij živo biće, budući da ima potencijal da se potpuno razvije u odraslu osobu. Dodatni argument protiv istraživanja na embrionalnim matičnim stanicama je taj što se danas u terapijama već široko koriste odrasle matične stanice, što dovodi do zaključka da nije potrebno ni započinjati istraživanja na embrionalnim stanicama [27]. Pristaše istraživanja na embrionalnim matičnim stanicama smatraju da embrij koji još nije implantiran u maternicu nema psihološka, emocionalna ni fizička svojstva koja povezujemo s osobom, što ih čini prikladnima za upotrebu u korist pacijenata. Dodatni argument u korist takvih istraživanja je da su embriji korišteni u procesu umjetne oplodnje i da bi inače bili uništeni, pa se stoga smatraju korisnima za poboljšanje ljudskih života. Također vjeruju da embriji koji su već uništeni nakon legalnih abortusa trebaju biti iskorišteni u istraživanjima kako bi se poboljšali ljudski životi, umjesto da se jednostavno odbace [27].

5.2. Nedostatak istraživanja

Osim etičkih i pravih problema koji se javljaju prilikom istraživanja i primjene matičnih stanica tu su mnogi dokazi koji pokazuju kako terapija matičnim stanicama može povećati rizik od formiranja novih tumora [27].

Kada se mikrookruženje matičnih stanica nepovoljno promijeni, normalne matične stanice mogu se transformirati u tumorske matične stanice, što potom dovodi do stvaranja cijelog tumorskog tkiva. Kod čovjeka, endogene matične stanice su strogo nadzirane od strane drugih okolnih stanica. Međutim, transplantirane matične stanice koje su izložene vanjskim uvjetima tijekom kulture prije transplantacije mogle bi promijeniti svoju genomsku ekspresiju i naknadni

fenotip. Što je kultura dulja, to se matične stanice približavaju stanicama raka. Utvrđeno je da se 45,8 % mehenzimalnih matičnih stanica spontano transformiralo u maligne stanice nakon jednog duljeg mjeseca u kulturi. Iako je ovaj fenomen još uvijek kontroverzan, važno je napomenuti da uvjete kulture treba strogo kontrolirati kako bi se smanjile negativne promjene u matičnim stanicama [25].

6. ZAKLJUČAK

Matične stanice su trenutno jedno od najuzbudljivijih područja u molekularnoj biologiji i medicini jer predstavljaju potencijalno neiscrpan izvor nediferenciranih stanica. Uz odgovarajući poticaj, ove stanice imaju sposobnost da se diferenciraju u različite tipove stanica u tijelu, te na taj način zamijene oštećene ili uništene stanice i tkiva. Ovaj pristup ima potencijal liječenja nekih od najtežih urođenih i stečenih bolesti i stanja.

Za medicinsku upotrebu uglavnom su dostupne multipotentne, hematopoetske i mezenhimalne matične stanice. Hematopoetske matične stanice danas se prvenstveno dobivaju iz periferne krvi, ali i iz koštane srži i krvi iz pupkovine te se koriste prvenstveno u liječenju hematoloških bolesti. Mezenhimalne matične stanice mogu se izolirati, među ostalim, iz koštane srži, masnog tkiva i pupkovine.

Brojne su primjene matičnih stanica u liječenju raka bilo u obliku cjepiva dobivenim iz matičnih stanica ili direktnom transplantacijom matičnih stanica. Danas je najučinkovitija primjena matičnih stanica iz koštane srži pri liječenju leukemije. Takav pristup liječenju raka je izrazito učinkovit i djelotvoran ali isto tako vuče sa sobom i smrtonosne rizike od samog početka tretmana.

Budući da je to relativno mlado područje istraživanja i unatoč raznim okolnostima koji priječe daljnja istraživanja, potrebno je duže vremena da se pojedina istraživanja dovedu do kraja i donesu jasni zaključci.

7. POPIS I OBJAŠNJENJA KRATICA KORIŠTENIH U RADU:

ASC- engl. *adult stem cell*; adulta ili odrasla matična stanica

CSC- engl. *cancer stem cell*; matična tumorska stanica

ESC- engl. *embryonic stem cell*; embrionalna matična stanica

hESC- engl. *human embryonic stem cell*; ljudska embrionalna matična stanica

HSC – engl. *hematopoietic stem cell*; hematopoetska matična stanica

HSCT- engl. *hematopoietic stem cell transplantation*; transplantacija hematopoetskih matičnih stanica

iPSC – engl. *induced pluripotent stem cell*; inducirana pluripotentna matična stanica

MSC – engl. *mesenchymal stem cell*; mezenhimalna matična stanica

8. LITERATURA

1. B. Thores, O. Guilloid, S. MacNeil, E. J. Robertson, M. R. Rosen, D. Solter, M. Hunt, A. Heuss, M. Duetz-Schmucki, I. Roditi. Schweizerischer Nationalfonds zur Forderung der wissenschaftlichen Forschung: Stammzell und regenerative Medizin. **2010**. URL: https://www.snf.ch/media/de/OJWFGwTyIelfgoXh/nfp63_programmportraet_d.pdf (2.6.2024).
2. C.-L. Zhang, T. Huang, Bi-Li Wu, Wen-Xi He, D. Liu, Stem cells in cancer therapy: opportunities and challenges. *Oncotarget*, **2017**, *11*, 75756-75766.
3. G. M. Cooper, R. E. Hausman. Stanica: *Molekularni pristup*. Zagreb, Medicinska naklada. **2004**. 591-670.
4. S. Sell. Stem Cells Handbook. Humana Press, New York, **2013**, 41- 419.
5. A. T. Mohammadi, S. Shafagn, H. Bagheri, N. S. F. Gohari. Stem cell: For Researchers. ResearchGate, **2022**. URL: https://www.researchgate.net/publication/364811384_Stem_cell_book (2.6.2024).
6. U. Knippschild, C. C. Gunes, M. Honicka, J. Bischof, P. Xu. Stammzellen und Regenerative Medizin, **2022**. URL: https://www.uni-ulm.de/fileadmin/website_uni_ulm/adprostu/Studiengaenge/BM_Wiss/Module/stz_leseprobe.pdf (2.6.2024).
7. N. Vogelstein, B. R. Bloom, C. S. Goodman, P. A. King, G. M. McKhann, M. L. Weisfeldt, K. R. Merikangas. Stem cells: *and the future of regenerative medicine*. Washington, D. C., National Academy Press **2003**. 19-50.
8. M. A. Hayat. Stem Cells and Cancer Stem Cells 1: *Therapeutic Applications in Disease and Injury*. USA, Springer. **2012**. 3-180.
9. The editors of Encyclopedia Britannica. Major histocompatibility complex: genetics, **2024**. URL: <https://www.britannica.com/science/major-histocompatibility-complex> (2.6.2024).
10. H. R. Scholer. Das Potenzial von Stammzellen: Eine Bestandsaufnahme, Verlag, Springer, **2004**. URL: <https://www.westfalenpatent.de/wp-content/uploads/2016/10/MS-Potenzial-von-Stammzellen-1.pdf> (2.6.2024).
11. National Institutes of Health, Stem Cell Basics, **2024**. URL: <https://stemcells.nih.gov/info/basics/stc-basics/#stc-I> (2.6.2024).
12. A. Bongos, E. H. Lee. Stem Cells: *From Bench to Bedside*, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., Singapur **2005**. 14-544.

13. H. Stepan. Stammzellen und therapeutische Anwendungsmöglichkeiten. Anerkannte Fortbildung, Köln, **2018**. 1-16. URL: https://www.deutschesarztportal.de/download/public/cme/rp_cme_07_v20180614.pdf (2.6.2024).
14. L. Ye, C. Swingen, J. Zhang, Induced pluripotent stem cells and their potential for basic and clinical sciences, Bentham Science Publishers, **2013**. 63-72. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3584308/> (2.6.2024).
15. S. Gajović, Nastavni tekst: *Embrionalne matične stanice*, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, **2004**. 32-34. URL: <http://medicinar.mef.hr/assets/arhiva/maticne-stanice2.pdf> (2.6.2024).
16. Wissensschau.de, Induzierte pluripotente Zellen: Stammzellen aus dem Labor. URL: https://www.wissensschau.de/stammzellen/ips_zellen.php (2.6.2024).
16. Wissensschau.de, Induzierte pluripotente Zellen: Stammzellen aus dem Labor. URL: https://www.wissensschau.de/stammzellen/ips_zellen.php (2.6.2024).
17. Wissensschau.de, Direkte Reprogrammierung: Umwandlung ohne Stammzellen. URL: https://www.wissensschau.de/stammzellen/direkte_reprogrammierung_ohne_stammzellen.php (1.7.2024).
18. R. M. Seaberg, D. van der Kooy. Stem and Progenitor Cells: *The Premature Desertion of Rigorous Definitions*, Trends in Neurosciences, Toronto, Canada. **2003**. 31-125.
19. J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer. Biokemija. 6. izdanje (englesko), 1. izdanje (hrvatsko). Zagreb, Školska knjiga. **2013**. 457-458.
20. G. Furstenberger. Stammzellen, Tumore und Tumorstammzellen: Steht die Onkologie vor einem Paradigmenwechsel?, **2007**, 24-25. URL: <https://www.rosenfluh.ch/media/onkologie/2007/04/StammzellenTumore-und-Tumorstammzellen.pdf> (2.6.2024).
21. K. Turksen. Cell Biology and Translational Medicine, Stem Cells in Regenerative Medicine: *Advances and Challenges*. Ottawa, Canada, Springer. **2018**. 41-170.
22. R. Lanza, N. Rosenthal. Biotechnologie: Die Verheissung von Stammzellen, **2004**. 34-42. URL: https://www.zmbh.uni-heidelberg.de/Gruss/Teaching/Einfuehrung_Biologie/2.pdf (2.6.2024).
23. A. S. Codd, T. Kanaseki, T. Torigo, Z. Tabi. Cancer stem cells as targets for immunotherapy. Japan, John Wiley & Sons Ltd. **2017**. 304-314.
24. H. Karlic, H. Herrmann, A. Schulenburg, T. W. Grunt, S. Laffer, I. Mirkina, R. Hubmann, M. Shehata, B. Marian, E. Selzer, M. Pfeilstocker, E. Pittermann, U. Jager, H. Pehamberger,

- C. Zielinski, P. Valent, Tumore-stammzellforschung: Basis und herausforderung für Diagnostik und Therapie. Wiener klinische Wochenschrift. **2010**. *122*, 1-14.
25. D. Chu, T. t. Nguyen, N. L. B. Tien, D. Tran, J. Jeong, P. G. Anh, V. V. Zhanh, D. T. Truong, T. C. Dinh. Recent Progress of Stem Cell Therapy in Cancer Treatment: Molecular Mechanisms and Potential Applications. *Cells*. **2020**. *9(3)*, 1-19.
26. C. Kopetzki, U. H. J. Kortner, Stammzellforschung: *Ethische und rechtliche Aspekte*, Wien, Springer Vienna. **2008**. 33-350.
27. I. Murray. Explore stem cells: Stem Cell Controversy. URL: <https://www.explorestemcells.co.uk/StemCellControversy.html> (2.6.2024).
28. Wissensschau.de, Knochenmarktransplantation: Die erste Stammzelltherapie. URL: https://www.wissensschau.de/stammzellen/knochenmark_transplantation.php (1.7.2024).
29. D. Lin, Y. Shen, T. Liang. Oncolytic virotherapy: basic principles, recent advances and future directions. URL: <https://www.nature.com/articles/s41392-023-01407-6> (4.7.2024.)