

# Terapijski potencijal matičnih stanica u regenerativnoj medicini

---

Grgić, Marko

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:371903>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-16**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Marko Grgić**

**Terapijski potencijal matičnih stanica u regenerativnoj  
medicini**

Diplomski rad



Zagreb, 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET

Marko Grgić

Terapijski potencijal matičnih stanica u regenerativnoj medicini

Diplomski rad

Zagreb, 2019

Ovaj diplomski rad izrađen je na Katedri za patofiziologiju Medicinskog fakulteta

Sveučilišta u Zagrebu, pod vodstvom doc. dr. sc. Filipa Sedlića, dr. med. i predan je

na ocjenu u akademskoj godini 2018./2019.

Mentor rada: doc. dr. sc. Filip Sedlić, dr. med

## **Popis i objašnjenja kratica korištenih u radu:**

3D – trodimenzionalno

AdSC – matična stanica izvedena iz masnog tkiva

AP kinazama – adenzin fosfataza kinaza

ARMD – s dobi povezana makularna degeneracija

BMDMNC – mononuklearna stanica izvedena iz koštane srži

BM-MSC – mezenhimalna matična stanica koštane srži

BMP – koštani morfogenični protein

BMSC – matična stanica koštane srži

CA1 – kortikalna area 1

CA-AdSC – matična stanica izvedena iz masnog tkiva povezana sa srcem

c-Myc – c-mijelocitom

CNS – centralni živčani sustav

DM tip I – diabetes mellitus tip 1

DNA – deoksiribonukleinska kiselina

DPSC – matična stanica zubne pulpe

ECFC – endotelna matična stanica

ESC – embrionalna matična stanica

FOX G1 – forkhead BOX G1

GABA – gama-aminomaslačna kiselina

HCV – hepatitis C virus

HIV – virus humane imunodeficijencije

HLA – humani leukocitni antigen

HSC – hematopoetska matična stanica

HZJZ – Hrvatski zavod za javno zdravstvo

ICM – unutrašnja stanična masa

IESC – matična stanica unutrašnjeg uha

iPSC – inducirana pluripotentna matična stanica

ISC – intestinalna matična stanica

Klf4 – Kruppel-sličan faktor 4

MAB – mezangioblastom

MSC – mezenhimalna matična stanica

Oct 3/4 – oktamer-vežući transkripcijski faktor 4

PBSCs – matična stanica periferne krvi

PNS – periferni živčani sustav

PPC – pankreatična progenitorna stanica

RGC – retinal ganglion cell

SA čvora – sinus atrijski čvor

SCID – teška kombinirana imunodeficijencija

SLE – sistemni eritematozni lupus

SOX2 – SRY (Sex Determining Region Y)-Box 2

SPC – progenitorna stanica kože

SSC – spermatogonijska matična stanica

TGF- $\beta$  – transkripcijski faktor rasta beta

TSC – terapijska matična stanica

TSPSC – tkivno specifična progenitorna matična stanica

UC-MSC – mezenhimalna matična stanica pupkovina

UCSC – matična stanica pupkovine

WHO – Svjetska zdravstvena organizacija

WJ-MSC – mezenhimalna matična stanica Warttonove sluzi

## Sadržaj

1. Sažetak .....	1
2. Summary .....	2
3. Matične stanice .....	3
3.1. Potentnost stanica .....	3
3.2. Vrste matičnih stanica .....	3
3.2.1. Embrionalne matične stanice .....	3
3.2.2. Tkivno specifične progenitorne matične stanice .....	4
3.2.3. Mezenhimalne matične stanice .....	4
3.2.4. Matične stanice pupkovine .....	4
3.2.5. Matične stanice koštane srži .....	4
3.2.6. Inducirane pluripotentne matične stanice .....	4
3.3. ESCs i iPcs kao budućnost liječenja matičnim stanicama .....	4
4. Regeneracija .....	5
4.1. Transplantacija stanica .....	5
5. Matične stanice i regeneracija tkiva .....	6
5.1. Embrionalne matične stanice .....	6
5.1.1. Ozljede kralježnične moždine .....	7
5.1.2. Makularna degeneracija .....	7
5.1.3. Ishemična bolest miokarda .....	7
5.1.4. Jetrena oštećenja .....	7
5.1.5. Diabetes mellitus .....	8
5.1.6. Osteoartritis .....	8
5.1.7. Elektrostimulatori .....	8
5.2. Tkivno specifične progenitorne matične stanice .....	9
5.2.1. Diabetes mellitus .....	9
5.2.2. Neurodentalne bolesti .....	10
5.2.3. Kemo mozak .....	10
5.2.4. Oštećenja sluha .....	10
5.2.5. Bolesti tankog crijeva .....	11
5.2.6. Oštećenja rožnice .....	11
5.2.7. Duchenneova mišićna distrofija .....	11
5.2.8. Bolesti reproduktivnih organa .....	12
5.2.9. Dijabetička retinopatija .....	12
5.2.10. Neplodnost uzrokovana poremećajima u jajovodu .....	12
5.2.11. Ishemijska bolest miokarda .....	12

5.2.12.	Ozljede i oštećenja krvnih žila .....	13
5.3.	Mezenhimalne matične stanice .....	13
5.3.1.	Neurovaskularne bolesti .....	14
5.3.2.	Kronične bolesti zglobova .....	14
5.3.3.	Ozljede rožnice .....	15
5.3.4.	Diabetes mellitus.....	15
5.4.	Matične stanice pupkovine .....	16
5.4.1.	Diabetes mellitus.....	17
5.4.2.	Sistemni eritematozni lupus.....	17
5.4.3.	Peritonealna fibroza .....	17
5.4.4.	Krabbeova bolest .....	17
5.4.5.	Ozljede moždanog tkiva .....	17
5.5.	Matične stanice koštane srži.....	18
5.5.1.	Sindrom stečene imunodeficijencije.....	19
5.5.2.	Trombocitopenija .....	19
5.5.3.	Ozlijede kralježničke moždine .....	19
5.5.4.	Karijes .....	20
5.5.5.	Razvojni poremećaji dijafragme.....	20
5.5.6.	Ciroza jetre .....	20
5.6.	Inducirane pluripotentne matične stanice.....	21
5.6.1.	Bubrežni modeli .....	21
5.6.2.	Makularna degeneracija.....	22
5.6.3.	Alzheimerova bolest.....	22
5.6.4.	Bolesti autističnog spektra .....	22
5.6.5.	Plućni modeli .....	22
5.6.6.	Manjak alfa1-antitripsina .....	22
5.6.7.	Druge bolesti .....	23
6.	Rezultati stanične i genske terapije .....	23
7.	Izazovi u primjeni matičnih stanica u regenerativnoj medicini .....	24
7.1.	Mala ispitivanja, teško provođenje statistike, teškoće reguliranja i reproducibilnosti rezultata .....	24
7.2.	Ekonomske barijere implementiranju regenerativne medicine u šira područja svijeta.....	25
7.3.	Razmatranja isplativosti regenerativne medicine.....	25
7.4.	Zakonska i druga regulativa terapije matičnih stanica i regenerativne medicine .....	25
8.	Zaključak.....	27
9.	Reference .....	28



10.	Životopis .....	31
-----	-----------------	----

## **1. Sažetak**

### **Terapijski potencijal matičnih stanica u regenerativnoj medicini**

**Grgić, M.**

U medicini se ostvarilo zaista izvanrednih dostignuća, međutim još uvijek su neke bolesti potpuna nepoznanica, u smislu liječenja, ali i u smislu njihove etiologije i patofiziologije. Matične stanice pružaju nove mogućnosti koje se danas sve više nastoje izučiti kako bi se riješili ti problemi. Danas se koristi izrazito velik broj matičnih stanica, a osnovne su embrionalne matične stanice, tkivno specifične matične stanice, mezenhimalne matične stanice, matične stanice pupkovine, matične stanice koštane srži i inducirane pluripotentne matične stanice. Sva istraživanja su usmjerena ka njihovom korištenju u regeneraciji tkiva i organa.

U ovom diplomskom radu bavit ću se primjerima korištenja matičnih stanica, kakva su otkrića već napravljena, koja su tek u začetku i koja će se, nadam se, ostvariti u budućnosti. Dotkanuti ću se svih velikih skupina matičnih stanica te ću pokušati staviti istraživanja koja se njima bave u okvire medicine u Hrvatskoj, ali i svijetu te dati naglasak na važnosti tih istraživanja i njihovih mogućih pozitivnih ishoda. Također ću istaknuti i potencijalne opasnosti matičnih stanica, kao i negativnosti njihovog korištenja, ne samo u medicinskom nego i u ekonomskom smislu.

U konačnici, pokušat ću dati što bolji pregled trenutnog stanja regenerativne medicine i eventualnih daljnjih koraka koje treba napraviti.

**Ključne riječi:** matična stanica, regenerativna medicina

## **2. Summary**

### **Therapeutic potential of stem cells in regenerative medicine**

**Grgić, M.**

In medicine, remarkable achievements have come to fruition, but there are still some illnesses of complete ignorance in terms of treatment, but also in terms of their etiology and pathophysiology. Stem cells provide new opportunities that are increasingly being studied today to solve these problems. Today, a large number of stem cells, embryonic stem cells, tissue specific stem cells, mesenchymal stem cells, umbilical chord stem cells, bone marrow stem cells, and induced pluripotent stem cells are used. All trials are focused on their use in tissue and organ regeneration.

In this graduate thesis I will discuss the examples in which stem cells are used, what are the discoveries already made, which are only in the foreseeable future and which, hopefully, will be realized in the future. I will present all major groups of stem cells and try to put research in the medical framework of Croatia, but also of the world to give an emphasis to the importance of these researches and their possible positive outbreaks. I will also highlight the potential dangers of stem cells, as well as the negatives of their use, not only in medical but also in economic terms.

Ultimately, I will try to give a better overview of the current regenerative medicine states and any further steps to be taken.

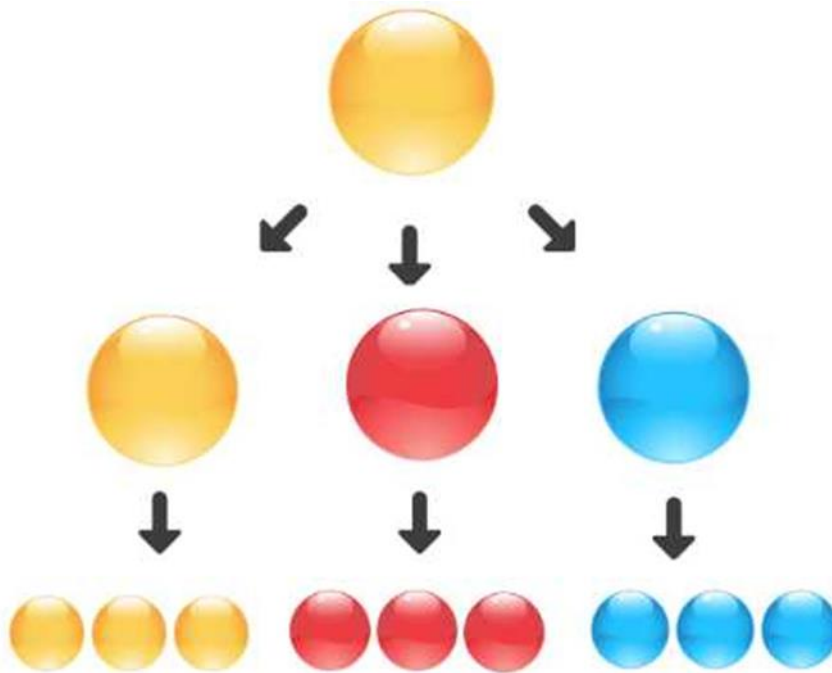
**Key words:** stem cell, regenerative medicine

### 3. Matične stanice

Matične stanice su nediferencirane stanice sa sposobnošću diferencijacije u specifične stanice, ovisno od potreba tijela te s mogućnošću diobe u svrhu održavanja vlastite populacije. [1]

#### 3.1. Potentnost stanica

Zigota je glavni primjer totipotentnosti kao i rana morula, a omogućuje nastanak cijelog organizma kroz transdiferencijaciju, proces linijskog reprogramiranja. (Orkin & Zon, 2008) Pluripotentne su one stanice koje čine unutrašnju masu embrija, mogu se diferencirati u bilo koje stanice embrionalnog tkiva, dakle 3 listića zametnog štita, endoderm, mezoderm i ektoderm, ali nemaju sposobnost diferenciranja u stanice ekstramebrionalnog tkiva. Ova sposobnost označava da se stanica može diferencirati u različita tkiva, ali s bitno većim ograničenjem u odnosu na pluripotentnu stanicu. Glavni primjer su odrasle hematopoetske stanice koje mogu postati stanice crvene ili bijele krvne loze. Za stanice koje imaju mogućnost diferenciranja u samo jedan tip stanica kažemo da su unipotentne stanice. (Bindu A & B, 2012)



Slika 1. Model koji pokazuje potentnost stanica. Preuzeto iz Technology Network [2]

#### 3.2. Vrste matičnih stanica

##### 3.2.1. Embrionalne matične stanice

Embrionalna matična stanica (engl. embryonic stem cell, ESC) je stanica unutrašnje mase blastociste formirane prije implantacije u endometriju uterusa. Ta stanica je pluripotentna i omogućava nastanak svih tkiva našeg organizma.

### **3.2.2. Tkivno specifične progenitorne matične stanice**

Tkivno specifične progenitorne matične stanice (engl. tissue specific progenitor stem cell, TSPSC) su multipotentne stanice koje održavaju homeostazu tkiva kroz diobe i diferencijaciju, a za razliku od ESC-a imaju određenu plastičnost.

### **3.2.3. Mezenhimalne matične stanice**

Mezenhimalne matične stanice (engl. mesenchymal stem cells, MSC) kako im ime sugerira su stanice koje se diferenciraju samo u tkivo mezodermalnog podrijetla, što uključuje tetive, kosti, hrskavice, ligamente, mišiće i neurone.

### **3.2.4. Matične stanice pupkovine**

Matične stanice pupkovine (engl. umbilical cord stem cells, UCSC) multipotentne su stanice, dobivene iz krvi pupkovine, amniona/placente, vene pupkovine ili matriksa stanica pupkovine.

### **3.2.5. Matične stanice koštane srži**

Matične stanice koštane srži, kao i prethodne su multipotentne s mogućnosti diferenciranja u bilo koje stanice crvene ili bijele krvne loze.

### **3.2.6. Inducirane pluripotentne matične stanice**

Inducirane pluripotentne matične stanice su prvi puta dobivene 2006. godine kada su Takahashi i Yamanaka generirali ESC-u nalik stanice genomskim inkomponiranjem 4 faktora SOX2, Oct 3/4, Klf4 i c-Myc u kožne fibroblaste. One su, u suštini embrionalne matične stanice dobivene iz odraslih stanica. [3]

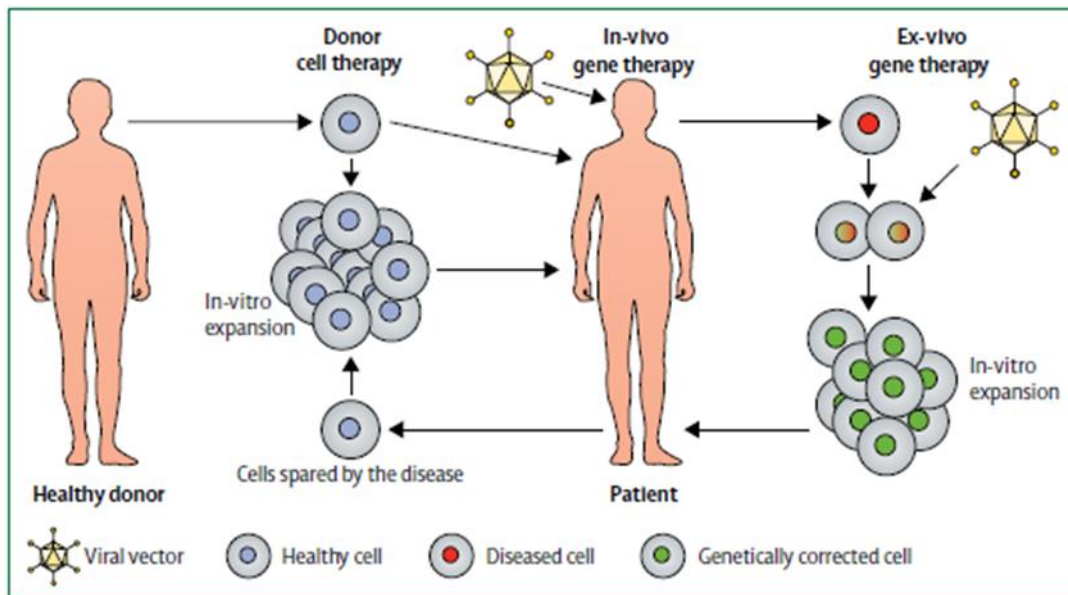
## **3.3. ESCs i iPSCs kao budućnost liječenja matičnim stanicama**

Prema prethodno opisanim karakteristikama ESC-a i iPSC-a možemo uočiti veliki potencijal u budućnosti za korištenje u regenerativnoj medicini. ESCs imaju mogućnost diferenciranja u praktički sve stanice ljudskog organizma, međutim one imaju dva bitna problema. Prvi je svakako imunonekompatibilnost donora i primatelja, koja može uzrokovati odbacivanje presatka i uopće onemogućiti njegovo normalno funkcioniranje u organizmu primatelja. Drugi je nemogućnost da se sve stanice diferenciraju u željeno tkivo i stanice, s mogućom posljedicom da se mali dio nediferenciranih stanica pretvori u teratome, točnije tumore s dezorganiziranim, ali djelomično diferenciranim tkivom u kojem se mogu naći dlake, zubi, masno tkivo, kost i slične strukture. Sa iPSCs se naravno izbjegava imunološka problematika jer su donor i primatelj ista osoba, međutim problem nepotpune diferencijacije još je veći.

## 4. Regeneracija

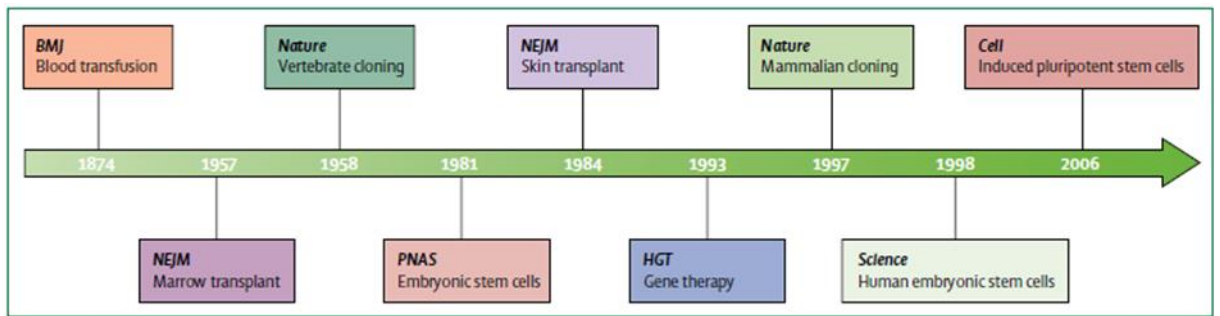
Regeneracija je definirana kao ponovno izrastanje tkiva iz njegovog preostalog dijela. Dobar primjer su jetra i koža, ali na žalost to su tek rijetki organi u ljudskom tijelu koji imaju sposobnost potpune regeneracije.

### 4.1. Transplantacija stanica



**Slika 2:** Transplantacija matičnih stanica. Preuzeto iz International Journal of Cell Biology [3]

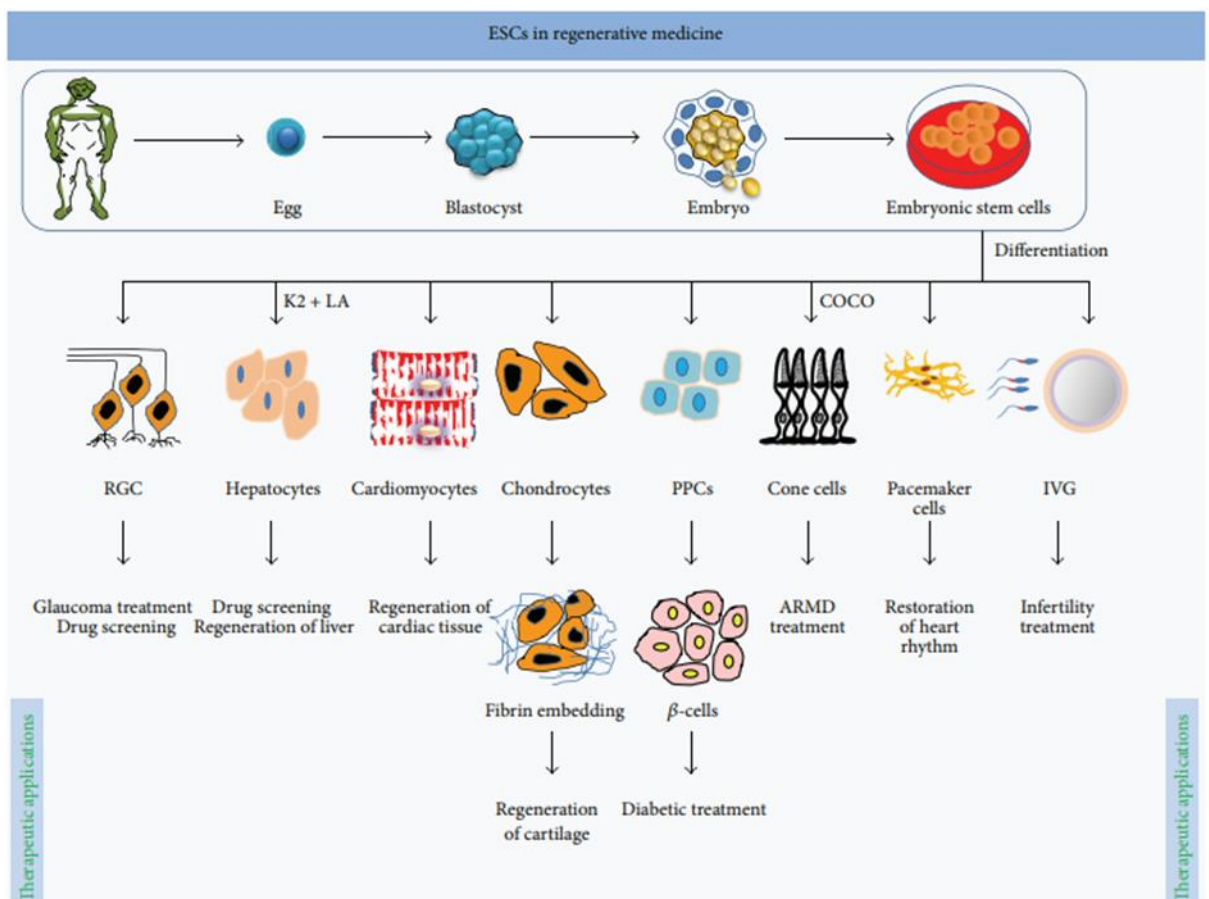
U novim terapijskim postupcima stanice se izoliraju iz davaoca odnosno donora i unose se u primatelja, pri čemu to mogu biti jedna te ista osoba i to se onda naziva autolognom transplantacijom, a ako je riječ o različitim osobama onda se naziva alogenom transplantacijom. Ako se vodimo ovom definicijom onda shvaćamo da se vršila transplantacija stanica puno prije nego što bi se reklo, točnije s transfuzijama pune krvi. Najveći zamah transfuzijska medicina je doživjela 1900. godine kada je Carl Landsteiner otkrio postojanje krvnih grupa u čovjeka i tako su se izbjegle pogubne transfuzijske reakcije. Prvi svjetski rat je potaknuo korištenje transfuzije u velikoj mjeri pogotovo za akutne teške hemoragije. Drugi svjetski rat je zbog ozljeda i bolesti uzrokovanih nuklearnim oružjem omogućio veliki napredak u korištenju transplantacije stanica koštane srži, nakon bolesti kao što je aplastična anemija ili nekih maligniteta koštane srži. U moderno vrijeme autologna transplantacija epitelnih stanica u vidu tretiranja opeklini i ozljeda rožnice postala je jedan od važnijih načina liječenja ovakvih ozljeda. Naravno, nadomještanje ovakvih promjena je puno lakše od oštećenja primjerice moždanih struktura, srčanog mišića ili skeletnog mišića, pri čemu osim što veliki deficiti ovakvih organa predstavljaju po život opasna stanja dodatan problem predstavlja cijeljenje fibrozom koja praktički onemogućuje implantaciju matičnih stanica. Upravo je to navelo na sve veće izučavanje sprječavanja fibroziranja i poticanja angiogeneze, kako bi se formirala pogodnija podloga za transplantaciju stanica. [3]



Slika 3: Značajni povijesni koraci u regenerativnoj medicini. Preuzeto iz Lancet [4]

## 5. Matične stanice i regeneracija tkiva

### 5.1. Embrionalne matične stanice



Slika 4: ESC u regenerativnoj medicini: ESC-i, dobiveni iz ICM-a iz gastrule, imaju ogromna obećanja u regenerativnoj medicini. Te stanice mogu se razlikovati u više od 200 tipova stanica koje predstavljaju tri klice. S definiranim uvjetima kulture ESC-ovi mogu biti pretvoreni u hepatocyte, ganglijske stanice mrežnice, hondrocyte, progenitorske stanice pankreasa, čunjići, kardiomiocyte, stanice pejsmejkera, jaja i spermije koje se mogu koristiti u regeneraciji tkiva i liječenju bolesti na specifičan način. Preuzeto iz International Journal of Cell Biology [3]

### **5.1.1. Ozljede kralježnične moždine**

Ozljede kralježnične moždine kao posljedice trauma, infekcija, tumora, ali i liječenja mogu imati ozbiljne posljedice za pacijenta. Oni mogu postati paraplegični, kvadriplegični s bitno narušenom kvalitetom života. Transplantacija ESCs na mjesto ozljede uz dodavanje vaskulogenih i neurogenih faktora u miševima je omogućila izlječenje ovih ozljeda i potpuno uspostavljanje funkcije. Glavni cilj ovog oblika terapije je osigurati bolju kontrolu tijela, ravnotežu, povratak osjeta koji su se izgubili nakon oštećenja te ponovno omogućavanje pokretanja zahvaćenih dijelova tijela. [5]

### **5.1.2. Makularna degeneracija**

ARMD (age-related macular degeneration) odnosno makularna degeneracija je česta bolest te 4. po redu kao uzrok sljepoće nakon katarakte, glaukoma i preranog rođenja. [6] Iako većinom ne dovodi do potpune sljepoće, bitno narušava vid i time ugrožava osjetilo kojim primamo preko 90% informacija iz okoline. Posljedica toga je otežavanje svakodnevnih aktivnosti kao što su čitanje, pisanje, kuhanje i brojne druge kućanske aktivnosti. Po rođenju ljudi imaju određen broj čunjića i taj broj je konstantan tijekom cijelog života, osim u ovoj bolesti koja dovodi do njegovog progresivnog opadanja. COCO gen može potaknuti ESC-e na diferencijaciju koja će u konačnici formirati čunjiće putem supresije TGF- $\beta$ , BMP i Wnt puteva signalizacije. Plašt ovako dobivenih čunjića se transplantira u novu retinu, no ovo nije dostatno da bi se oporavio vid. [7] Najteži trenutno aspekt liječenja je postupak uspostave sinaptičke povezanosti s aksonima ganglijskih stanica te s čunjićima i retinalnim pigmentnim epitelom. Ključni napredak je bio ostvaren kroz rad znanstvenika s John Hopkins fakulteta koji su uspješno generirali RGCs (retinske ganglijske stanice) iz genetski oblikovanih ESCs. Daljnja istraživanja su usmjerena na stvaranje što boljih veza između RGCs i dobivenih čunjića u biomehaničkim skelama kako bi se omogućilo liječenje makularne degeneracije i eventualno glaukoma. [8]

### **5.1.3. Ishemična bolest miokarda**

Prema podacima državnog zavoda za statistiku 2014. godine vodeći uzrok smrtnosti u Republici Hrvatskoj su bile bolesti cirkulacijskog sustava (570/100.000), a među njima najviše života je odnijela ishemijska bolest miokarda s 21% ukupne smrtnosti. [9] Ovo vodi do zaključka da dosadašnje preventivne i terapijske metode nisu uspješne te ih treba unaprijediti ili tražiti nove. Stoga ne čudi nastojanje da se matičnim stanicama omogući uspješno liječenje. Transplantacijom matičnih stanica se pružaju tri moguća načina liječenja ishemijske bolesti miokarda. Prvi je insercija zrelih kardiomiocita u inficirano tkivo, drugi je implantacija kardiovaskularnih progenitornih stanica, a treći je primjena BMDMNCs (bone marrow derived mononuclear cells). Prvi način ima najviše prednosti zbog svojih električnih, volumnih i drugih osobina. [10] Ključ uspješne terapije je dobiti funkcionalne kardiomiocite iz ESCs genetskim modeliranjem.

### **5.1.4. Jetrena oštećenja**

Stvaranje funkcionalnih hepatocita ili drugih vrsta stanica osim važne terapijske ima i veliko značenje za in vitro testiranje lijekova za precizno previđanje kliničkih ishoda. [11] Primarne hepatocite moguće je dobiti stimulacijom ESCs te će dobiveni hepatociti imati mogućnost produciranja albumina i apolipoproteina B100. [11] To znači da bi se njihovom aplikacijom na mjesto jetrenog oštećenja moglo postići formiranje zdravog jetrenog tkiva.



### **5.1.5. Diabetes mellitus**

Dijabetes ili šećerna bolest je jedna od najrasprostranjenijih bolesti u razvijenim zemljama. Porast s 30 milijuna oboljelih 1985. na 382 milijuna 2013. godine [12] sugerira njezinu izrazitu raširenost i sve veću učestalost. Bolest je praćena brojnim komplikacijama koje su ili po život opasne ili bitno smanjuju kvalitetu života. Otkriće da transplantacija pankreasnih progenitornih stanica rezultira njihovom diferencijacijom u beta-stanice Langerhansovih otočića te smanjuje glikemiju potaknutu hranom i pretilost u miševa, [13] kao i da dodavanje antidijabetika u režim transdiferencijacije ESCs dovodi do nastanka zrelih beta-stanica s mogućnošću sintetiziranja i lučenja inzulina, dalo je teorijsku mogućnost izlječenja dijabetesa tipa II, dok će se o dijabetesu tip I pričati u daljnjem dijelu rada.

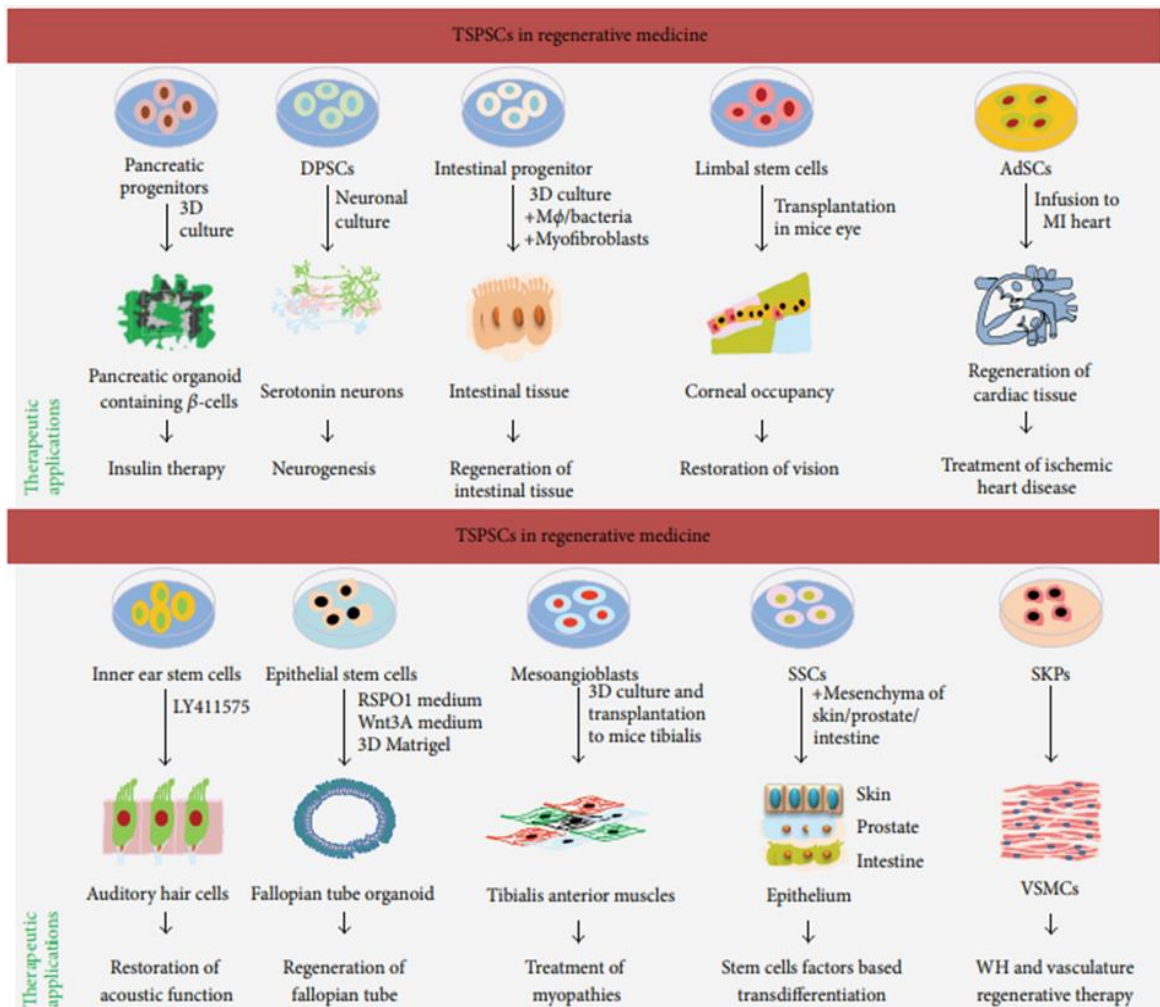
### **5.1.6. Osteoartritis**

Iako osteoartritis nije smrtonosna bolest, ona je jedan od glavnih uzroka radne nesposobnosti populacije te bitno smanjuje kvalitetu života. [14] Nažalost terapijske metode u prošlosti su većinom bile usmjerene na simptomatsko liječenje, a ne izlječenje bolesti. To se sve više mijenja s primjenom matičnih stanica. Humani ESCs transplantirani u koljeno miša oštećeno osteoartritisom su diferencirani u hondrocite. [3] Ti hondrociti uzrokuju izvanredno cijeljenje tkiva u periodu od 12 tjedana. [15]

### **5.1.7. Elektrostimulatori**

Već se dugo upotrebljavaju nebiološki elektrostimulatori u svrhu reguliranja srčanog ritma, međutim, postoji stanovita želja i ideja za stvaranjem bioloških pacemakera pri čemu se znanost opet okreće matičnim stanicama. Prethodno već spominjani kardiomiociti dobiveni iz ESCs su pokazali vrlo dobru elektrofiziološku aktivnost te osim u liječenju ishemijskih oštećenja srca, postavlja se i mogućnost korištenja istih u svrhu kontrole ritma srca.

## 5.2. Tkivno specifične progenitorne matične stanice



**Slika 5:** TSPSC u regenerativnoj medicini: tkivne specifične matične i progenitorske stanice imaju potencijal da se diferenciraju u druge stanice tkivo. Karakteristične matične stanice unutarnjeg uha mogu se pretvoriti u slušne stanice kose, progenitore kože u glatke mišićne krvnih žila stanice, mezangioblasti u prednje mišićne tibialisa, te matične stanice zubne pulpe u serotonininske stanice. 3D-kultura TSPSC-a u kompleksnom biomaterijalu stvaraju tkivne organoide, kao što su pankreasni organoidi iz progenitora pankreasa, organoidi crijevnog tkiva iz intestinalnog matičnim stanicama, i organoidima jajovoda iz epitelnih stanica jajovoda. Transplantacija TSPSC-a regenerira ciljano tkivo kao što je regeneracija mišića tibialisa iz mezangioblasta, srčanog tkiva iz AdSC-a i tkiva rožnice iz limbalnih matičnih stanica. Rast stanica i faktori transformacije koje luče TSPSCs mogu promijeniti sudbinu stanica da postanu druge vrste stanica, tako da SSC kokultura s kožom, prostatom i crijevni mezenhim pretvaraju te stanice iz MSC-a u epitelne stanice. Preuzeto iz International Journal of Cell Biology [3]

### 5.2.1. Diabetes mellitus

TSPSCs svoju glavnu zadaću provode kroz kontinuiranu diobu te na taj način održavaju homeostazu tkiva. [3] Prema potentnosti definiramo ih kao multipotentne stanice koje imaju sposobnost diferenciranja u nekoliko staničnih tipova. Najveći problem kod ovog tipa matičnih stanica je nemogućnost dobivanja dovoljnog broja stanica za istraživačke i potencijalno terapijske svrhe. PPCs,

pankreatične progenitorne stanice su primjer matičnih stanica ovog tipa koje se naveliko izučavaju uz nadu stvaranja funkcionalnih stanica koje će omogućiti liječenje bolesti endokrinog dijela pankreasa pretežito tu misleći na dijabetes. Inzulin kao glavni produkt  $\beta$ -stanica Langerhansovih otočića ima negativan utjecaj na diferencijaciju PPCs u upravo te stanice. Također je proučavanjem rasta ovih stanica potvrđena važnost međustaničnog signaliziranja i efekta niše. Uočeno je da stanice puno brže rastu i diferenciraju se kada nisu u sklopu kulture samo istovjetnih stanica već su okružene i drugim stanicama.

### **5.2.2. Neurodentalne bolesti**

DPSCs, matične stanice dentalne pulpe imaju mogućnost relativno jednostavnog prikupljanja, a najčešća mjesta s kojih se one uzimaju su periodontalni ligament, apikalna papila, decidua zuba i dentalni folikul. Uočena je njihova velika sposobnost diferenciranja u neurone i to, ukoliko se uzgajaju u neuronalnom kemijskom mediju, mješovite kulturne neurone prema tranismitorima koje stvaraju i otpuštaju u sinaptičku pukotinu, uključujući gabergičke, kolinergičke i glutaminergičke neurone. Upravo zbog ovih sposobnosti DPSCs se smatraju budućnošću u liječenju neurodentalnih bolesti. Međutim, uočen je nedostatak kalijjskih i natrijskih ionskih kanala na tako uzgojenim neuronima što onemogućava spontano generiranje električnih potencijala te adekvatni odgovora na okolišne podražaje.

### **5.2.3. Kemo mozak**

Kemo mozak, jedna od ozbiljnih posljedica kemoterapije, često opisivana kao smanjena „oštrina“ uma, nerijetko se javlja u ljudi prije, za vrijeme i nakon kemoterapije. Iako može biti uzrokovan i samim rakom kao i njegovim komplikacijama, najčešće se povezuje s kemoterapijom. Simptomi kemoterapije uključuju oštećenje pamćenja, gubitak koncentracije, govorno i psihomotorno usporavanje, probleme koordinacije pažnje i učenja i poremećaj izvršnih funkcija. [16] Uočeno je da transplantacijom humanih matičnih stanica mozga u miševе omogućava popravlanje njihovih kognitivnih sposobnosti, unutar mjesec dana od početka samog terapijskog postupka. Mehanizam njihovog djelovanje je takav da se transplantirane matične stanice diferenciraju u astroglijalne i neuronalne stanice te smanjuju upalu navedenog područja i u konačnici obnavljaju mikrogljalnu funkciju. Također je uočeno da transplantacijom tih stanica u isto područje nakon čega slijedi kemoterapija usmjerava piramidalne i granulirane stanice girusa i CA1 subpolja hipokampusa što dovodi do smanjenja gustoće spinoznih i dendritičkih stanica te je time uočena moguća terapijska primjena navedenih matičnih stanica.

### **5.2.4. Oštećenja sluha**

Gluhoća se definira kao djelomični ili potpuni gubitak sluha te može biti uzrokovana različitim faktorima, ali je i sastavni dio starenja. [17] Kako bi se poboljšala kvaliteta života starijih ljudi koji imaju poteškoća sa sluhom proizvode se brojni uređaji, međutim niti jedan do sada nije uspio u potpunosti nadomjestiti funkciju ljudskog unutrašnjeg uha te je naglasak stavljen na korištenje matičnih stanica, točnije matičnih stanica unutrašnjeg uha (engl. inner ear stem cell, IESC), upravo u tu svrhu. Ključ je bio pronalazak Y-sekretaza inhibitora koji inhibira Notch signalni sustav čime omogućava provedbu diferencijacije progenitora u stanice unutaršnjeg uha. Upravo navedeno je vrlo uspješno izvedeno u miševa te je uočeno da im je uspješno vraćen sluh i kod potpune gluhoće.

### 5.2.5. Bolesti tankog crijeva

Hrvatska je u samom svjetskom vrhu što se tiče transplantacijske medicine, te se ona pokazala kao vrlo uspješna metoda liječenja brojnih terminalnih stanja i bolesti pojedinih organa. Tako se počela sve češće upotrebljavati i transplantacija crijeva. Međutim, iako efikasna, još uvijek je transplantacija daleko od savršene metode liječenja pacijenata, prvenstveno radi imunološke nekompatibilnosti, koja može izazvati neželjene reakcije, odnosno zahtjeva imunosupresivnu terapiju. [18] Navedene nepoželjne stavke koje prate transplantaciju bi se mogle izbjeći s razvijanjem crijeva in vitro u 3D matricama. Već su se počele stvarati strukture kripta i vila te se uspješno omentalno implementirati u pasa. Na ovaj način se pruža mogućnost liječenja velikog broja bolesti različitih etiologija, od karcinoma, upalnih bolesti crijeva, vaskularnih bolesti crijeva i brojnih drugih koje dovode do oštećenja probavne cijevi. Time je omogućeno korištenje tkivno specifičnih matičnih stanica intestinalnog sustava (ISCs).

### 5.2.6. Oštećenja rožnice

Rožnica je prozirni dio vanjskog omotača oka koji prekriva iris, pupilu i anteriornu komoru, i zajedno s lećom i prednjom sobicom čini refleksijski aparat oka. [19] Njena oštećenja nisu rijetka te jedino oštećenje epitela omogućuje potpunu regeneraciju, dok oštećenje ostalih slojeva, a pogotovo endotela dovodi do stvaranja ožiljkastog tkiva koje onemogućuje rožnici da normalno propušta i lomi zrake svjetlosti, onemogućavajući na taj način funkcioniranje oka. Limbalne matične stanice bazalnog limbalnog epitela ili endotela označene s ABCB5 genom su tkivno specifične stanice koje pružaju veliku mogućnost regeneracije rožnice. Te humane progenitorne stanice diferenciraju se u stanice kornee kad ih se implementira u oko miša. Smatra se da je od velike pomoći u tako dobrom prihvaćanju fenomen kojeg nazivamo krv-oko barijera. Ta barijera je u suštini sastavljena od dviju barijera, prva je krv-očna vodica barijera, druga je krv-retina barijera te pruža ovom dijelu našeg organizma specifične imunološke karakteristike i s toga ga nazivamo imunoprivilegirano područje. [20] To znači da je odgovor našeg imunološkog sustava na strane antigene u ovom području drugačiji.

### 5.2.7. Duchenneova mišićna distrofija

Duchenneova mišićna distrofija, bolest je već dugo poznata i od velikog interesa za proučavanje. Općenito se ističe da se prenosi X-vezano i recesivno, što znači da većinom obolijevaju dječaci, dok kod djevojčica može biti izražena ako su heterozigoti za taj gen ali s puno blažim simptomima. [21] Ova bolest dovodi do progresivnog uništavanja mišićnog te zamjene s masnim tkivom zbog čega nekad mišići izgledaju veće (pseudohipertrofija). Ne samo da bolest onemogućava normalne svakodnevne aktivnosti, može dovesti i do zatajenja funkcije respiratorne muskulature s posljedičnim kolapsom disanja i smrću. Upravo iz ovih razloga pojavilo se veliko zanimanje za implantacijom mezoangioblasta (MABs) u oštećeno mišićno tkivo. Važno je za naglasiti da MABs moraju biti posebno genetički dizajnirani da proizvode placentalni PDGF jer upravo on predstavlja važnu kariku u kemokinskom djelovanju na brojne stanice, makrofage, angioblaste, fibroblaste i ostale. [22] Migriranjem tih stanica u područje mezoangioblasta omogućava se diferencijacija stanica u željene miocite jer se stvara pogodni stanični mikrookoliš.

### **5.2.8. Bolesti reproduktivnih organa**

Jedne od najvažnijih tkivno specifičnih matičnih stanica su spermatogonijske matične stanice (SSCs). One imaju sposobnost da preko epitelnih i mezenhimalnih stanica produciraju loze spermatogonálnih stanica stvarajući efekt niše, što se koristilo za in vivo transplantaciju SSC-a zajedno s mezenhimom uterusa, prostate i kože, pri čemu su SSC postale epitelne stanice tkiva kojem mezenhim pripada. Time je dodatno potvrđena važnost efekta niše, a što je još bitnije otvorena je mogućnost liječenja velikog broja bolesti koje zahvaćaju ove organe. Primjerice, rak prostate dijeli drugo mjesto najčešćih karcinoma zajedno s karcinomom debelog crijeva i rektuma u Republici Hrvatskoj i mogućnost ponovnog stvaranja tkiva prostate nakon njezinog uklanjanja je iznimno važna. [23] Također je rak, ali i druge bolesti kao endometrioza veliki problem žena, a danas se javlja sve češće u reproduktivnoj dobi.

### **5.2.9. Dijabetička retinopatija**

Dijabetička retinopatija, bolest od koje boluje 100 mil. ljudi na svijetu, danas je definirana kao više neurovaskularna nego mikrovaskularna bolest prema svojoj patofiziologiji te je jedan od vodećih uzroka gubitka vida osoba koje su po dobi radno sposobne. [24] Progresivnim slabljenjem vaskularizacije retine dolazi do degeneracije mrežnice i posljedičnog ispada u vidnom polju, kasnije i gubitka vida. [25] Međutim, intravitrealnom injekcijom adipoznih deriviranih matičnih stanica (ADSCs) omogućuje se revaskularizacija u miševa. Uočeno je da ukoliko su matične stanice dobivene od zdravog donora, odnosno onog s urednom glikemijom, sadrže više vazoprotektivnih čimbenika čime omogućavaju bolju vaskularizaciju. Naravno, nužno je još adekvatno standardizirati točan broj ADSCs koje se trebaju injicirati da bi učinak bio optimalan. Treba također naglasiti da i druge tkivno specifične matične stanice pružaju mogućnost da ih se koristi u svrhu obnavljanja mikrocirkulacije retine.

### **5.2.10. Neplodnost uzrokovana poremećajima u jajovodu**

Oplodnja, proces spajanja muške spolne stanice, spermija, i ženske spolne stanice, jajne stanice, odvija se u cjevolikom organu ženskog spolnog sustava koji povezuje jajnike s maternicom, zvanom jajovod. Različite upalne bolesti infektivne i neinfektivne imaju mogućnost stvaranja jake reakcije tkiva, koja može uzrokovati smanjenu pokretljivost trepetljika cilindričnog epitela, nedostatak peristaltičkog gibanja stijenke navedenog organa, kao i potpunu upalnu reakciju sa stvaranjem velike količine veziva koje stvara fizičku barijeru prolasku jajne stanice kroz kanal. To može dovesti do brojnih komplikacija, primjerice ektopične trudnoće. Također jajovod je mjesto najčešćeg nastanka karcinom jajnika koji je na 4. mjestu po učestalosti u ženskog spola. [26] Navedene pojave naglašavaju važnost spoznaje da in vitro 3D organoidna kultura klinički prikupljenih stanica, ne samo da diferencira stanice epitela u cilindrične i sekretorne nego i pomaže u njihovom održavanju na životu. Ovo ima još jednu veliku prednost, s obzirom da današnje tehnologije ne pružaju mogućnost adekvatnog proučavanja etiologije karcinoma jajovoda zbog nemogućnosti održavanja kulture epitelnih stanica. Tako da 3D organoidna kultura upravo pruža mogućnost izučavanja mogućih uzroka nastanka karcinoma jajovoda.

### **5.2.11. Ishemijska bolest miokarda**

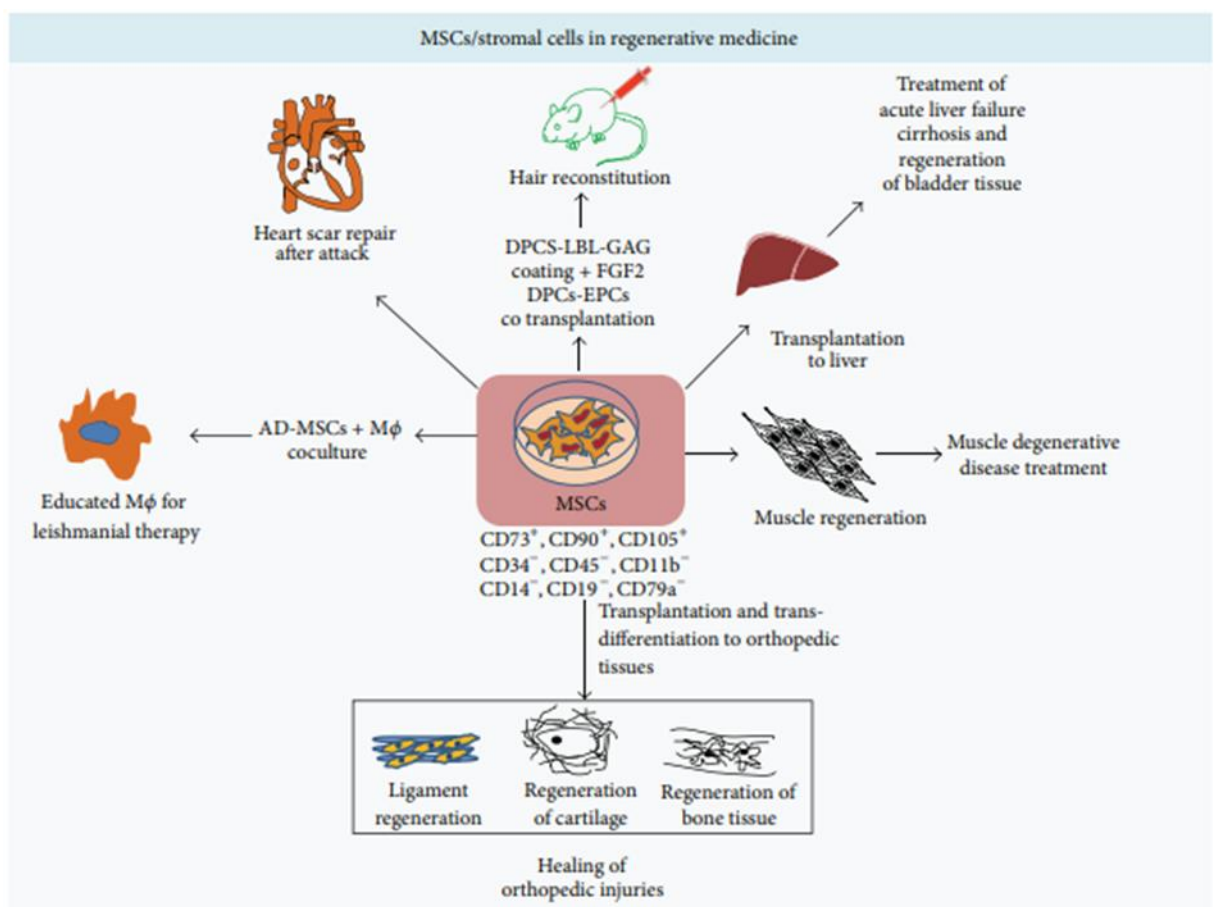
Već prije je bilo govora o važnosti novih metoda mogućeg liječenja ishemične bolesti miokarda te se pružila nova mogućnost korištenja subkutanih visceralno tkivno specifičnih kardijalnih adipoznih deriviranih matičnih stanica (CA-AdSCs). Njihovom primjenom i mogućnošću diferencijacije u

endotelne stanice krvnih žila, glatke mišićne stanice krvnih žila i kardiomiocite prepoznaje ih se kao superiornije AdSC-ima u liječenju ishemične bolesti miokarda.

### 5.2.12. Ozljede i oštećenja krvnih žila

Govoreći o vaskularnim strukturama i stanicama svakako treba spomenuti i kožne progenitorne stanice (SPCs), dobivene od papila kože, dlaka i folikula dlake koje se mogu diferencirati i na taj način pomoći u zalječivanju ozljeda i oštećenja krvnih žila. No, osim u vaskularne, SPCs se mogu diferencirati u Schwannove stanice, adipocite, hondrocite i neurone, što im daje važno mjesto u regenerativnoj medicini.

### 5.3. Mezenhimalne matične stanice



**Slika 6:** MSC u regenerativnoj medicini: mezenhimalne matične stanice su CD73 +, CD90 +, CD105 +, CD34-, CD45-, CD11b-, CD14-, CD19-, i CD79a - stanice, također poznate kao stromalne stanice. Ovdje prikazani tjelesni MTK ne uzimaju u obzir MSC koštane srži i pupkovine. Nakon transplantacije i transdiferencijacije ovi tjelesni centri se regeneriraju u tkivo hrskavice, kostiju i mišiće. Srčani udar i ciroza jetre mogu se liječiti iz MSC-a. ECM obloga osigurava niša za MSC-ove koji se regeneriraju u folikul dlake kose, stimulirajući rast kose. Preuzeto iz International Journal of Cell Biology [3]

Mezenhimalne matične stanice (MSCs) su stanice koje što zbog svog jedinstvenog imunomodulatornog djelovanja, a što zbog multipotentnosti kada je riječ o diferenciranju pružaju široke mogućnosti u liječenju različitih ozljeda i bolesti. Ključ njihovog imunomodulatornog djelovanja je sadržana u njihovoj sposobnosti lučenja važnih bioaktivnih molekula koje su se pokazale izuzetno bitnima u liječenju različitih bolesti, a ponajviše DM tipa I.

### 5.3.1. Neurovaskularne bolesti

MSCs u neurovaskularnoj regeneraciji su se pokazale kao izuzetno važne, jer endotelne progenitorne stanice (EPCs) nisu bile dostatne da bi se stvorila samoodrživa mikrovaskularna. EPCs se mogu ekstrahirati iz unutrašnjih i vanjskih slojeva krvnih žila kao i perivaskularnih struktura, dok se MSCs većinom dobivaju iz tkiva koštane srži. EPCs kako im i samo ime sugerira diferencijacijom mogu stvoriti odrasle endotelne stanice, a MSCs imaju širu paletu mogućih loza prema kojima se mogu diferencirati, i to u osteoblaste, hondroците, miocite te adipocite. Ključna stavka je međudjelovanje EPCs i MSCs koje na mjestu oštećenja ili bolesti imaju sposobnost stvaranja čvrstih i stabilnih vaskularnih struktura u procesu angiogeneze i neovaskularizacije. Ovo je omogućeno staničnim međudjelovanjem koje je pak ostvareno kaspaznim intracelularnim signalnim putem kao i mitogen aktiviranim proteinskim kinazama (MAP kinazama) te se bez MSCs, samo s EPCs stvaraju puno krhkije vaskularne strukture koje lakše pucaju. Također je dobre rezultate pokazala i kokultura MSCs i ECFCs (endotelne stanice koje formiraju kolonije) u sličnim uvjetima i sa sličnim zadatcima.



**Slika 7:** a) epitelne matične stanice potpomognute mezenhimalnim matičnim stanicama stvaraju funkcionalnu krvnu žilu b) epitelne matične stanice same formiraju krvnu žilu se endotelom, bez pravog središnjeg sloja zbog čega krvna žila ne opstaje Preuzeto iz Stem Cells International [27]

### 5.3.2. Kronične bolesti zglobova

Kronične bolesti koje ne utječu na duljinu ljudskog života već na njegovu kvalitetu su svakako reumatoidni artritis i osteoartritis. Ove bolesti bitno umanjuju radnu sposobnost, produljuju vrijeme boravka na bolovanju što ih čini velikim financijskim problemom. Iako je razvoj ortopedije, novih tehnika i materijala pozitivno utjecao na poboljšanje kvalitete života, ali liječenje podrazumijeva dugačke operacije koja zahtijevaju duge rehabilitacije, što dodatno produbljuje financijski aspekt ovih bolesti. Stoga ni malo ne čudi što vidimo da se istraživanja okreću matičnim stanicama i njihovom potencijalu da ih se iskoristi u ovom obliku regenerativne medicine. Na životinjskim modelima uspješno je pomoću MSCs omogućena regeneracija hrskavice i kosti, s dodatnim pozitivnim otkrićem da se ove stanice mogu čak i perkutano postavljati u zglobove, što je velika prednost zbog kraćeg trajanja operativnog zahvata, isključivanja potrebe za općom anestezijom i duge postoperativne rehabilitacije. MSCs, koje su se in vitro diferencirale u hondrogenične, osteogenične i adipogenične linije su bile uzete

iz 3 intraoralna koštana područja i zubne pulpe. Nove metode koje uključuju 3D printere i mogućnosti reguliranja biokruženja su slijedeći korak u dobivanju hrskavice jer se još uvijek nije dobila u potpunosti funkcionalna hrskavica.

### 5.3.3. Ozljede rožnice

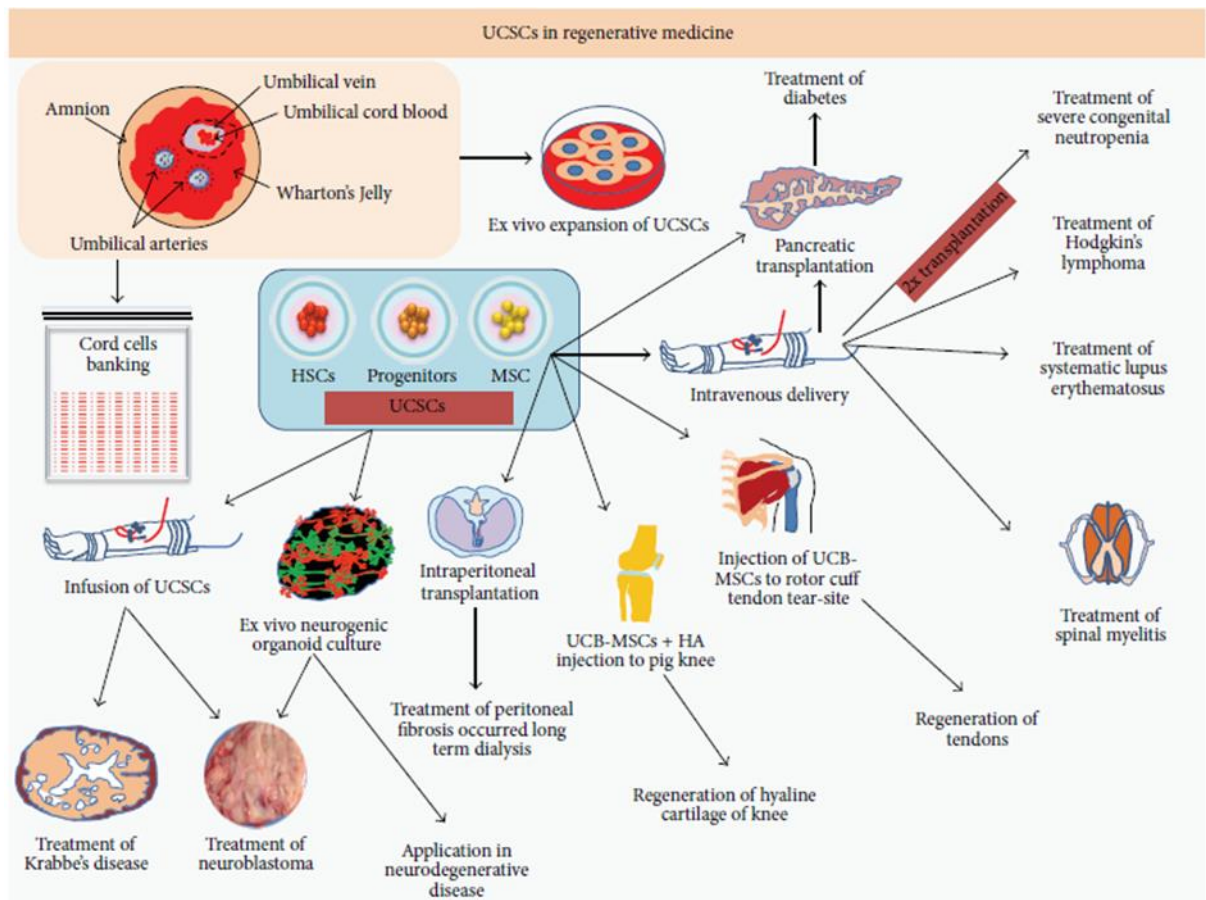
Kornea je sastavni dio refrakternog sustava oka i najvećim dijelom sudjeluje u lomu zraka svjetlosti u oku. [28] Međutim svojstva koja joj upravo omogućuju da zauzme ovako važno mjesto u našem oku joj u isto vrijeme onemogućuju adekvatno regeneriranje nakon ozljeda, upala ili operativnih zahvata. Stoga je velika potreba da se pojave nove metode liječenja bolesti koje zahvaćaju rožnicu te su se znanstvenici okrenuli matičnim stanicama. Uviđeno je da BM-MSCs (matične stanice derivirane od koštane srži) imaju mogućnost in vitro stvaranja stanica s istim površinskim markerima kao što imaju i keratociti. Problem nastaje u tome što nema dokaza da se in vivo može dobiti funkcionalni keratocit. Jedna studija je pokazala da BM-MSCs u amnionskoj membrani koja služi kao scaffold i tako aplicirane u kemijski ozlijeđeno oko štakora se postiže upalna reakcija, ali nije došlo do stvaranja novog tkiva rožnice. Druga studija s druge strane je koristila BrdU pozitivne BM-MSCs uzete od zečeve te ih aplicirala na oko ozlijeđeno alkalnom tvari. U ovom slučaju pak došlo je do jako dobrog odgovora. Međutim ne treba zanemariti ni mogućnost in vitro stvaranja rožnice jer današnje kirurške metode omogućavaju postavljanje tako dobivene kornee na mjesto ozlijeđene, kao što je već opisano u odjeljku o transplantaciji stanica. Dok se epitelne stanice rožnice tijekom života dijele i osim oštećenja njihov broj se neće smanjivati, endotelne stanice koje pokazuju izuzetnu važnost u održavanju dinamike očne vode u prednjoj komori oka te dodatno dehidriraju rožnicu i tako čuvaju njezine refraktorne sposobnosti, se gube tijekom života. [28] Stoga otkriće da UC-MSCs (mezenhimalne matične stanice pupkovine) i BM-MSCs imaju potencijal diferenciranja upravo u te stanice je otvorio vrata novim metodama liječenja u oftalmologiji.

### 5.3.4. Diabetes mellitus

Već je bilo govora o dijabetesu pri čemu je kod ESCs bilo predominantno govora o DM tip II, u slučaju MSCs je ipak težište stavljeno na DM tip I i njezinoj problematici koja danas iako bitno manje nego prije ipak skraćuje život pacijentima koji su oboljeli od ove bolesti. U novije vrijeme je otkrivena autoimunosna narav u nastajanju DM tip I stoga je odlučeno da će se u liječenju ove bolesti okrenuti ka imunomodulacijskim opcijama. [29] Pokušava se iskoristiti imunomodulatorna vrijednost MSCs i brojne studije su pokazale veliku uspješnost te je usporedba između autologne i alogene transplantacije pokazala da je puno uspješnije korištenje kompatibilnih alogenih transplantanata. [30] Još jedna zanimljivost je otkrivena kada su se koristile humane MSCs iz koštane srži i periferne krvi u miševa, da ne samo da poboljšavaju funkciju pankreasnih beta stanica Langerhansovih otočića nego je izolirana humana DNA iz bubrega što upućuje na moguću imunomodulatornu aktivnost i u tom organu, a doveli su do značajnog smanjenja razina glukoze u krvi i povećali razine inzulina. Povučene su i usporedbe između MSCs dobivenih iz placente i onih dobivenih iz pupkovine te je zaključak da su u ovom slučaju stanice dobivene iz placente pokazale bolje rezultate i omogućile bolju kontrolu glukoze i inzulina preko imunomodulacije.



## 5.4. Matične stanice pupkovine



**Slika 8:** UCSC u regenerativnoj medicini: pupčana vrpca, lako dostupan izvor matičnih stanica, pojavila se kao futuristički izvor za personaliziranu terapiju matičnim stanicama. Transplantacija UCSC-a bolesnicima s Krabbeovom bolesti obnavlja mijelinsko tkivo i oporavlja neuroblastom obnavljanjem homeostaze tkiva. UCSC-ovi organoidi su lako dostupni izvori tkiva za liječenje neurodegenerativna bolest. Peritonealna fibroza uzrokovana dugotrajnom dijalizom, degeneracija tetivnog tkiva i defekt hijalinske hrskavice može se regenerirati UCSCs. Intravenska injekcija UCSC-a omogućuje liječenje dijabetesa, spinalnog mijelitisa, sistemskog eritematoznog lupusa, Hodgkinova limfoma i kongenitalne neuropatije. Bankovne matične stanice krvne linije koriste dugotrajan izvor matičnih stanica za personaliziranu terapiju i regeneraciju lijek. Preuzeto iz International Journal of Cell Biology [3]

Velika prednost matičnih stanica pupkovine je u tome što je pristup njima relativno lagan i neinvazivan. [31] Prije se pupkovina odbacivala, ali sa spoznajom da je ona kao i njena krv bogata matičnim stanicama i to mezenhimalnim (MSCs) i hematopoetskim (HSCs) matičnim stanicama sve se više čuva upravo radi očuvanja navedenih stanica. Postoji mogućnost javnog čuvanja, pri čemu to znači da se doniraju matične stanice djeteta i njihova je velika značajka u tome da upravo one mogu biti korištene ukoliko se ne može naći HLA kompatibilnog donora za BMSCs ili PBSCs, što bitno može olakšati liječenje različitih malignih bolesti stanica krvne loze, ali i drugih bolesti koje same razaraju koštanu srž ili njihovo liječenje dovodi do njezina uništenja. [32] Osim javnog skladištenje UCSCs se mogu skladištiti i privatno što uključuje puno više personaliziran i individualiziran pristup, a znamo da je ključ kako današnje tako i buduće medicine upravo takav pristup pacijentu.

#### **5.4.1. Diabetes mellitus**

Osim navedenih pogodnosti čuvanja UCSCs imaju mogućnost da se one iz krvi i one iz Whartonove sluzi, želatinozne substancije iz pupkovine (WJ-MSCs) koriste za stvaranje beta-stanica Langerhansovih otočića, što se pokazalo vrlo efikasno u liječenju dijabetesa u streptomycinom inducirane šećerne bolesti miševa. Valja istaknuti da je unošenje navedenih stanica moguće i izravnom transplantacijom, ali i intravenski. Oba načina su rezultirala normaliziranjem razine inzulina u krvi te smanjenje broja upalnih stanica u gušterači, odnosno manje autoimuno razaranje tog tkiva.

#### **5.4.2. Sistemni eritematozni lupus**

Vrlo slično se može vidjeti i efikasno korištenje WJ-MSCs u tretiranju sistemskog eritematoznog lupusa (SLE), autoimune bolesti koja targetira vezivno tkivo čovjeka. Praćenjem 40 pacijenata koji boluju od SLE uočilo se smanjenje indeksa aktivnosti bolesti sistemskog eritematoznog lupusa, a još značajnije je da se nakon multiplih injiciranja ovih stanica intravenski omogućilo dugotrajno zadržavanje remisije bolesti.

#### **5.4.3. Peritonealna fibroza**

Trenutačno je na svijetu preko 1 milijun ljudi na dijalizi. [33] Jedan od oblika dijalize je peritonealna dijaliza, koja kao jednu od teških posljedica ima peritonealnu fibrozu. Međutim otkriveno je da je intraperitonealnim unošenjem WJ-MSCs upravo ova posljedica izbjegnuta jer je onemogućeno propadanje epitelnih stanica i fibroziranje kao posljedica.

Također je uočeno da domaćinov imunostni sustav može štetno djelovati na HSCs i općenito na transfuzijske procedure te je upravo infuzijom WJ-MSCs bitno smanjeno štetno djelovanje i očuvana terapija.

#### **5.4.4. Krabbeova bolest**

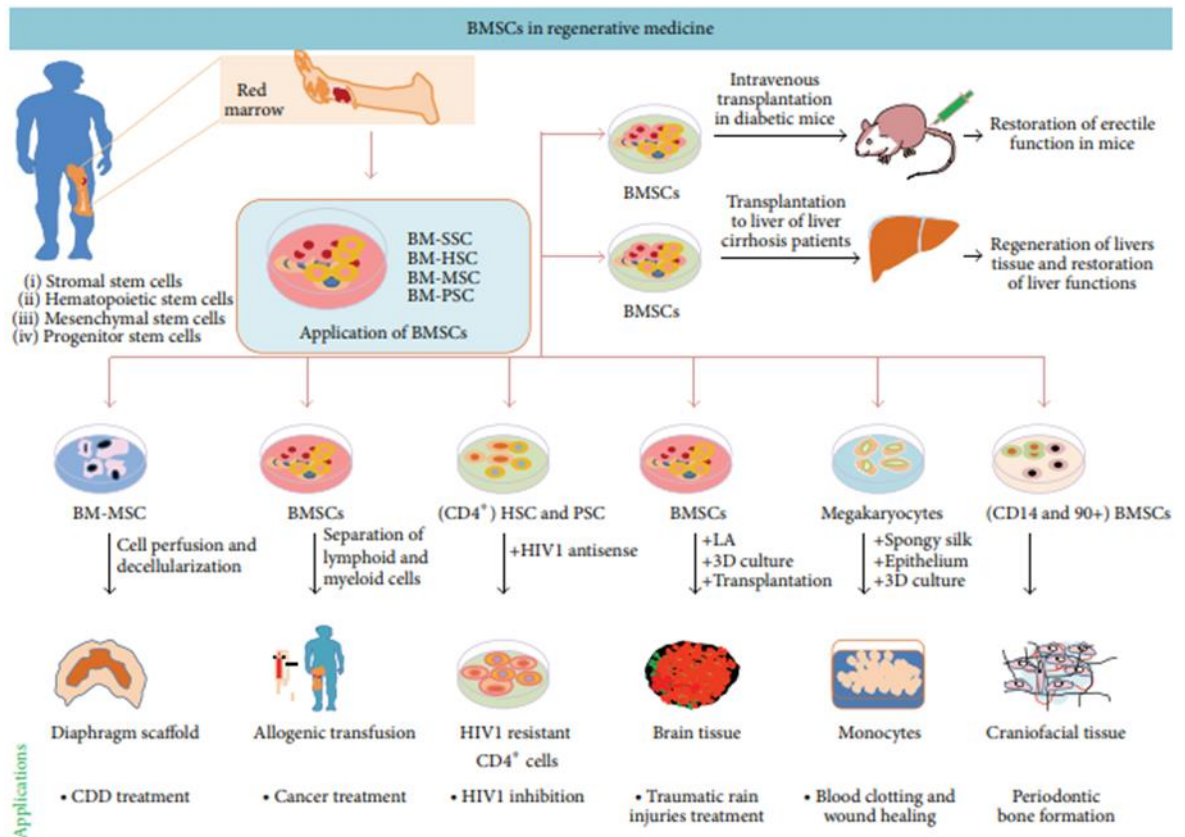
Osim WJ-MSCs kao što je već rečeno u pupkovini se može naći još matičnih stanica, a posebno treba istaknuti perivaskularne MSCs koje su primitivnije od WJ-MSCs, što im daje određene prednosti, pogotovo u liječenju lizosomskih bolesti nakupljanja. Primjer takve je Krabbeova bolest, u čijoj patofiziologiji je nedostatak enzima sinteze mijelina, što vodi u nemogućnost mijeliniziranja kako perifernog tako i centralnog živčanog sustava s posljedičnom smrću djeteta unutar 2 godine. Međutim ranim prepoznavanjem asimptomatskih pacijenata i transplantacijom navedenih UCSCs se omogućio značajan oporavak i CNS-a i PNS-a sa 100% preživljenjem, dok je u simptomatskih bolesnika na žalost preživljenje svega 45%. Upravo ova statistika pokazuje ne samo važnost ranog otkrivanja bolesti nego i veliku efikasnost UCSCs u liječenju. Tay-Sachsova, Sandhoffova i adrenoleukodistrofija tek su neke u nizu bolesti koje imaju veliki potencijal da se liječe na ovaj način.

#### **5.4.5. Ozljede moždanog tkiva**

Brojne ozljede mogu ostaviti velike nepopunjene prostore u moždanom tkivu, međutim transplantacijom UCSCs na mjesto ozljede može dovesti do stvaranja organoida s prekursorima matičnih stanica i nesazrijelih neurona koji se mogu diferencirati u neurone i omogućiti cijeljenje. Osim

trauma, radijacija može dovesti do mijelitisa leđne moždine, iako ova posljedica može nastati tek 6-24 godine nakon ekspozicije. Paralelno uvođenje UCSCs štiti pacijente od razvoja tog poremećaja. Valja spomenuti i razarajuće učinke terapije neuroblastoma koja zahtjeva ponovno uspostavljanje hematopoeze nakon terapije. Iako su obećavale na ovom području BMSCs, ipak su se odvojeno izučavali učinci i UCSCs, te je transplantacija homolognih UCSCs u kliničkim uvjetima dala jako dobre rezultate bez povezivih nuspojava.

## 5.5. Matične stanice koštane srži



**Slika 9: BMSC u regenerativnoj medicini:** Koštana srž, koštano tkivo meke spužve koje se sastojalo od stromalnih, hematopoetskih i mezenhimalnih i matičnih progenitornih stanica, odgovorno je za stvaranje krvi. Čak i halo-HLA odgovara BMSCs može izliječiti od bolesti i regenerirati tkivo. BMSCs mogu regenerirati kraniofacijalno tkivo, moždano tkivo, tkivo dijafragme i tkivo jetre te vratiti erektilnu funkciju i ove multipotentne matične stanice mogu izliječiti domaćina od raka i infekcije HIV-om i HCV-om. Preuzeto iz International Journal of Cell Biology [3]

Već su nekoliko puta prethodno bile spominjane matične stanice iz koštane srži, ali one već dugi niz godina imaju veliku važnost u medicini te zaslužuju svoje poglavlje. Koštana srž je zaslužna za produkciju krvnih stanica, pri tome se sve crvene krvne stanice i krvne pločice stvaraju u koštanoj srži, kao i većina bijelih krvnih stanica s iznimkom pojedinih tipova limfocita. [34] Razlikujemo crvenu i bijelu koštanu srž, koje se osim po boji razlikuju i po zadaći, pri čemu crvena koštana srž stvara prethodno spomenute stanice i u dječjoj dobi se nalazi u većini kostiju, te odrastanjem biva zamijenjena žutom koštanom srži koja stvara masne stanice i poneke bijele krvne stanice Crvena koštana srž se u odrasloj

dobi može naći u kostima pelvisa, pretežito ilijačnoj kosti, sternumu, kostima kranija, rebrima, kralješcima i skapulima. Matične stanice koštane srži se još od 80.-tih godina prošlog stoljeća koriste u liječenju pojedinih karcinoma. Otkrićem učinka lijekova stimulatora koštane srži kao što su filgrastim i sargramostin omogućeno je korištenje i PBSCs. [35] U svakom slučaju bit uspješne transplantacije je HLA podudarnost da bi se izbjegla reakcija odbacivanja presatka, a puna kompatibilnost je moguća samo u obitelji i samo ako je riječ o jednojajčanim blizancima. Međutim uočeno je da ne mora nužno postojati potpuna podudarnost jer se današnjim dostignućima medicine i djelomična podudarnost može u značajnoj mjeri iskoristiti.

#### **5.5.1. Sindrom stečene imunodeficijencije**

Znamo da je AIDS odnosno bolest uzrokovana HIV virusom danas globalni problem, dok je antiretrovirusna terapija pružila način kontroliranja bolesti. Prema podacima WHO 2017. godine je 940.000 ljudi umrlo od direktnih posljedica infekcije HIV-om, a terapija na žalost nije dostupna svima niti je povoljna, a zahtjeva doživotno liječenje. [36] Upravo zbog toga je zanimljiva mogućnost u kojoj se koriste BMSCs koje su posebno genetski modificirane da stvaraju HIV1 antagonističku RNA, koja je specifično napravljena da cilja HIV1 genom. To je moguća alternativa antiretrovirusnoj terapiji u liječenju HIV infekcije. U idealnim uvjetima dostatna bi bila injekcija samo jedne doze HIV1 rezistentnih BMSCs u pacijente da zaustavi širenje bolesti. Nažalost istraživanja na ovu temu su ograničena brojnim problemima te će se trebati još neko vrijeme pričekati s korištenjem navedene metode u liječenju.

#### **5.5.2. Trombocitopenija**

Različite bolesti mogu dovesti do oštećenja trombocita ili krvnih pločica, ključnih u procesu koagulacije krvi. Nove metode omogućuju ex vivo stvaranje mikrookoliša u kojem navedeni krvni elementi mogu biti diferencirani. Za to je potreban mikrookoliš u kojem se nalaze mikrotubuli, svilena spužva te obilje kemijskih elemenata koji stvaraju medij kulture sličan onome u ljudskoj koštanoj srži, u takvom mediju kokulture megakariocita i embrionalnih matičnih stanica omogućava stvaranje trombocita. Ovo je upravo metoda budućnosti u liječenju opekline, kao i nekih drugih bolesti i poremećaja koji dovode do disfunkcije ili pada u broju trombocita.

#### **5.5.3. Ozljede kralježničke moždine**

U prijašnjim paragrafima uz ozljede kralježničke moždine bilo je spominjano i njihove liječenje. Sada će biti riječ o ozljedi samog mozga, bilo traumatskoj ili nekoj drugoj, pri čemu dolazi do oštećenja neuralnih matičnih stanica koje mozak nema mogućnosti replicirati. Međutim oporavak se može postići s BMSCs, a pogotovo u kombinaciji s lipoičnom kiselinom koja se inače naveliko koristi u diabetogenim neuropatijama i neuropatijama uzrokovanim multiplom sklerozom. Ono što se s njom postiže je neurovaskularizacija, koja je postignuta već 8 tjedana od samog oštećenja. Neurovaskularizacija je sama signal koji privlači mikrogliju i već nakon 16 tjedana dolazi do oporavka cijelokupnog moždanog tkiva, što predstavlja vrlo napredne mogućnosti u liječenju ovakvih poteškoća.

#### **5.5.4. Karijes**

Iako je karijes naveliko preventabilna bolest, u SAD-u je to jedna od najčešćih kroničnih infektivnih bolesti sa mogućim teškim komplikacijama koje zahtijevaju nakon infekcije peridentalnog tkiva, velike operacije sa micanjem značajnih dijelova kostiju maksile ili mandibule i posljedično transplantacije nove kosti. [37] CD14+ i CD90+ matične stanice izvedene iz koštane srži još su poznate i kao terapijske matične stanice (TSCs) i imaju sposobnost regeneriranja alveolarne kosti na što se mogu postavljati implantanti kao zamjena za zube. Upravo ova metoda omogućuje da se transplantacija kosti izbjegne.

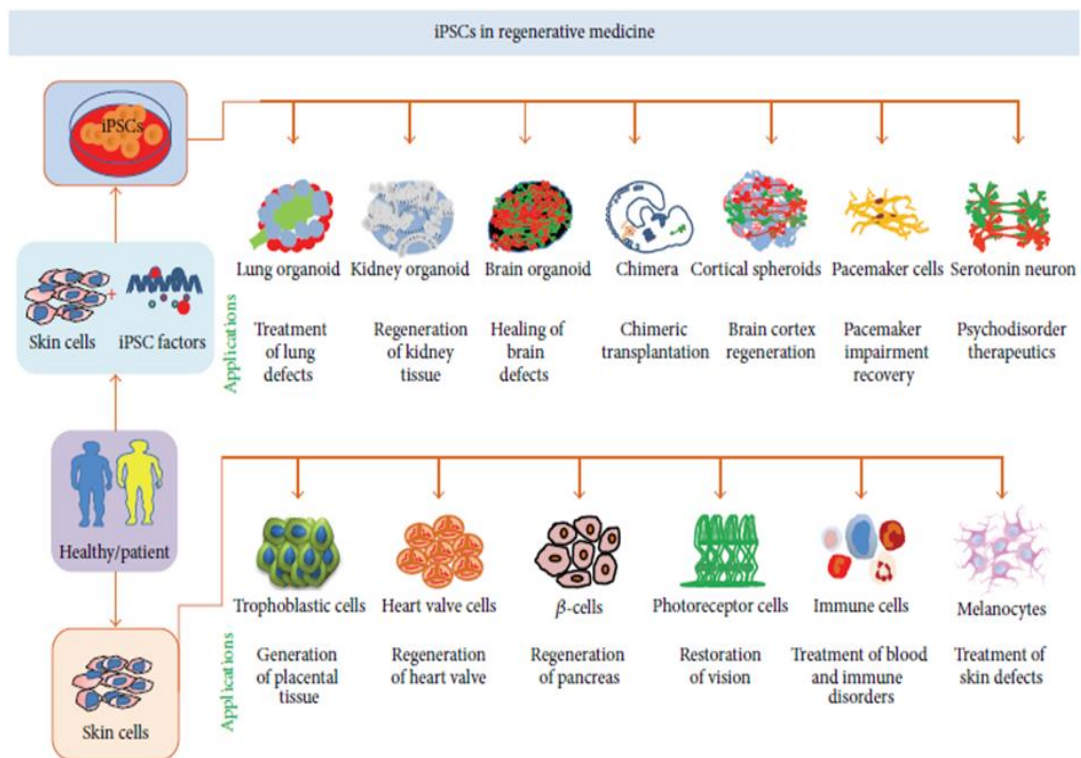
#### **5.5.5. Razvojni poremećaji dijafragme**

Svakako treba nadodati da nova istraživanja uzimaju u obzir i tkivnu nišu. Najbolji primjer za to su novije metode pokušaja liječenja razvojnih poremećaja dijafragme. Kako je dijafragma ključan mišić u procesu disanja poremećaji mogu dovesti do značajnih poteškoća, a dosadašnje metode su većinom bile kirurške naravi u obliku rekonstrukcija koje nisu uvijek davale željene rezultate. Međutim ukoliko se koristi posebna tehnologija tkivnog inženjeringa kojom se dobije decelularizirana dijafragma i u takvu dijafragmu inseriraju BMSCs može se postići stvaranje u potpunosti funkcionalne dijafragme te na taj način postiže izlječenje prethodno opisanih bolesti.

#### **5.5.6. Ciroza jetre**

Također valja spomenuti da su pojedine studije pokazale mogućnost oporavka cirotične jetre pomoću BMSCs jer je implantiranje tih matičnih stanica pokazalo u štakora bitno smanjenje jetrenih proba, što bi sugeriralo smanjenje jetrene lezije i poboljšanje u koagulogramu što pak ukazuje na oporavak jetrene funkcije. Uz navedenu studiju, još je jedna pokazala svestranost BMSCs, jer je izučavala korištenje BMSCs u liječenju dijabetogene erektilne disfunkcije štakora i dala je pozitivne rezultate.

## 5.6. Inducirane pluripotentne matične stanice



**Slika 10: iPSCs u regenerativnoj medicini.** Korištenje iPSC tehnologije, fibroblasti kože i drugih tkiva odraslih, terminalno diferencirane stanice mogu se transformirati u ESC-slične stanice. Moguće je da se odrasle stanice mogu transformirati u stanice različitih linija zaobilazeći fazu pluripotencije. Kultura specifična za tkivo može transformirati stanice kože da postanu trofoblast, stanice srčanog zaliska, fotoreceptorske stanice, imunološke stanice, melanociti i tako dalje. Kompleksiranje ECM-a s iPSC-om omogućuje stvaranje organoida tkiva u plućima, bubrega, mozga i drugih organa u tijelu. Slično kao i ESC, iPSC-ovi se također mogu transformirati u stanice koje predstavljaju tri klična sloja kao što su stanice pejsmejкера i serotonininske stanice. Preuzeto iz International Journal of Cell Biology [3]

### 5.6.1. Bubrežni modeli

Kao što je već napisano iPSCs su stanice koje su dobivene iz diferenciranih stanica genetskim modeliranjem, što pruža mnoge mogućnosti. [38] Primjer za to su svakako bubrežne stanice dobivene iz odraslih diferenciranih keratocita, odnosno stanica kože. Ove stanice nemaju ekskretornu funkciju odraslih bubrega, niti mogu filtrirati adekvatno ljudsku krv kao potpuno funkcionalni bubrezi. Prema morfologiji i funkcionalnim karakteristikama najviše naliče stanicama nefrona 3 mjeseca starog fetusa. Ne mogu se još uvijek koristiti u svrhu liječenja oštećenja bubrega ili dobivanje cijelog funkcionalnog organa, što je, zapravo, dosta daleko s obzirom na dosadašnja postignuća. Međutim ovakvi modeli imaju velike značajke u smislu proučavanja farmakokinetike određenih lijekova kao i eventualne toksičnosti novih lijekova, kao i između ostaloga proučavanje određenih poremećaja, njihovog razvoja, eventualnog sprečavanja, usporavanja ili u najboljem slučaju liječenja.

### **5.6.2. Makularna degeneracija**

U prethodnom tekstu je napisano o pokušajima liječenja ARMD pomoću ESCs, ali kako je to jedan od najčešćih uzroka sljepoće u starijoj životnoj dobi, ne čudi što se i s iPCs pokušava liječiti poremećaj. [39] Izučavanje na štakorima je pokazalo da je moguće s iPCs spriječiti progresiju bolesti s 5-6 slojeva fotoreceptorskih nukleusa čime se postiže znatno poboljšanje oštine vida u bolesnome oku.

### **5.6.3. Alzheimerova bolest**

Alzheimerova bolest vodeći je uzrok demencije u čovjeka, procjenjuje se da 24 milijuna ljudi boluje od navedene bolesti te se smatra da će se taj broj podvostručiti svakih 20 godina, što je pogodovano starenjem stanovništva, iako moguće i drugim faktorima. [40] Smatra se da degeneracija interneurona koji su po svojoj neurotransmiterskoj prirodi gabergički, tj stvaraju i u sinapsu otpuštaju inhibitornu gama-aminomaslačnu kiselinu (GABA). Genomskom integracijom različitih gena je omogućeno da se iz ljudskih odraslih, kao i mišjih fibroblasta dobiju upravo ovakvi interneuroni (iGABA-INS). Transplantacijom takvih interneurona u razvijajući embrio dolazi do izlječenja genetskih ili stečenih poremećaja gabergičkih neurona. Pri tome se tim stanicama gubi trag i u razvijenom mozgu se mogu naći potpuno funkcionalni gabergički interneuroni.

### **5.6.4. Bolesti autističnog spektra**

Već je bilo nekoliko primjera u kojima se nisu matične stanice koristile samo u direktnom liječenju već i u dijagnostičke svrhe kao i za ispitivanje novih lijekova te ponašanje određenih bolesti. Tako je i primjer dobivanja kortikalnih sferoida iz iPCs koji su sačinjeni od perifernih i kortikalnih neurona te nalikuju mozgu fetusa u razvoju prema translacijskim i elektrofiziološkim osobinama. iPCs dobivene od pacijenata koji boluju od bolesti iz autističnog spektra se mogu koristiti za dobivanje prethodno navedenih kortikalnih sferoida koji podsjećaju na fetalni mozak nekoliko mjeseci nakon gestacije. Idiopatsko stanje ovih ogranoida je gotovo identično onome u bolesnika s poremećajem iz autističnog spektra, pri čemu se u oba slučaja vidi znatno više gabaergičkih inhibicijskih neurona kao i jača ekspresija forkhead Box G1 (FOX G1) te je upravo ova spoznaja navela na razmišljanje da je FOX G1 vrlo važan faktor u nastajanju autizma.

### **5.6.5. Plućni modeli**

Vrlo slično je uspješno postignuto s plućima. Minijaturni organoidi pluća sastoje se od epitelnih i mezenhimalnih stanica te su građeni od velikih dišnih puteva, ali i alveolarnih struktura. Kako pluća mogu biti oštećena iz različitih uzroka, od tuberkuloze do lijekova i karcinoma, upravo ovi organoidi nam pružaju široku mogućnost izučavanja učinaka određenih antituberkulotika, ali i antitumorskih lijekova. Ove stavke mogu bitno ubrzati kliničke studije i smanjiti potrebu za izlaganjem ispitanika riziku.

### **5.6.6. Manjak alfa1-antitripsina**

Svakako treba spomenuti i manjak alfa1-antitripsina, genetsku bolest nastalu mutacijom para baza, što vodi u stvaranje nefunkcionalnog alfa1-antitripsina. Navedeni protein je inhibitor neutrofilne elastaze, tako da dovodi do uništavanja dvaju organa, jetre zbog nakupljanja u hepatocitima koje oštećuje i pluća

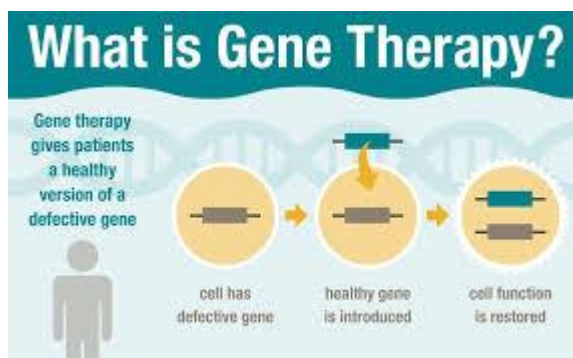
gdje nedostaje inhibicija neutrofilne elastaze. [41] Izvođenje iPC-hepatocita od pacijenata koji boluju od ove bolesti, može nam omogućiti proučavanje patofiziologije bolesti i specifičnog djelovanja lijekova.

### 5.6.7. Druge bolesti

Još poneki primjeri korištenja iPCs su formiranje serotoninskih neurona i njihovo implantiranje u nucleus raphe, što se smatra mogućim načinom liječenja bipolarnog poremećaja, shizofrenije i depresije. Također se mogu diferencirati ventrikularne stanice koje mogu zamijeniti pacemakere jer imaju funkciju vrlo sličnu onoj SA čvora. S druge strane kao i većina matičnih stanica mogu se koristiti za liječenje dijabetesa. Ono što je možda i najintrigantnije je usađivanje ljudskih iPCs u mišiju gastrulu što vodi kolonizaciji i diferencijaciji u 3 sloja nalik na 3 zametna sloja u sklopu zametnog štita i korak je ka premošćivanju barijere čovjeka i miša, a smatra se da se ona može još lakše premostiti ako su sisavci još sličniji.

## 6. Rezultati stanične i genske terapije

Ovaj odjeljak je posvećen sažimanju prethodnih primjera u studijama koje su provedene na ljudima. Tako je svakako potrebno spomenuti liječenje kongenitalnih imunskih poremećaja koji uključuju nedostatak adenzin deaminaze, tešku kombiniranu imunodeficienciju (SCID) i Wiskott-Aldrichov sindrom. Liječenje nedostatka adenzin deaminaze je dobilo komercijalnog korištenja, a terapija je temeljena na transplantaciji autolognih genetski izmijenjenih CD34+ hematopoetskih matičnih stanica. Slična metoda je zatim upotrijebljena za liječenje beta-talasemije, a odnedavno i x-vezane adrenoleukodistrofije, bolesti u kojoj je riječ o poremećaju ATP-vežućeg transportera s posljedičnom demijelinizacijom. Također je i metakromatska leukodistrofija primjer bolesti koja se liječi autolognom transplantacijom genetski promijenjenih CD34+ stanica, pri čemu se omogućava stvaranje enzima aril-sulfataze koji je defektan.



**Slika 11:** Osnovi principi korištenja i djelovanja genske terapije. Preuzeto iz mybioscore.com [42]

Nažalost postoje i brojni primjermi neuspješnih primjena matičnih stanica. Svakako je važan primjer Duchennova mišićna distrofija u kojoj je glavni problem bilo loše primanje presatka, što je rezultiralo opstajanjem tek manjeg broja stanica u primatelja i posljedično tome vrlo niskoj funkciji mišića. Iz sličnog razloga je neuspješno bilo liječenje Parkinsonove bolesti, iako je to bolest koja je anatomski lokalizirana u *substantia nigra* što ju čini puno lakšom za liječenje od drugih, kao što je multipla skleroza koja ima difuzne promjene u područjima koja su teško dostupna za transplantaciju matičnih stanica.



U prethodnim odjeljcima su navedeni brojni primjeri uspješnog korištenja matičnih stanica u liječenju infarkta miokarda u miševa. Međutim određeni pokusi su uvidjeli smrt ljudskih pacijenata, ponajviše zbog neadekvatne električne funkcije novog tkiva. To proizlazi iz činjenice da su transplantirane stanice nalik embrionalnim što znači da će biti volumenom manje od adultnih. Osim toga su i drugačijih električnih svojstava.

Slično kao i kod infarkta miokarda problematična je transplantacija matičnih stanica u svrhu liječenja dijabetesa, što zbog stalne potrebe za imunosupresivnom terapijom, što zbog nemogućnosti postizanja dugotrajne kontrole glikemije u bolesnika.

Svakako je važno za napomenuti da danas postoji puno veće znanje o mogućim imunosnim reakcijama kao i mogućim malignim ishodima nego prije, pa se danas zna da uspješno korištenje vektora u pretkliničkim pokusima na sisavcima ne jamči i uspjeh kod ljudi. Nažalost do te spoznaje se došlo tek nakon teške imunosne reakcije i oštećenja jetara pri liječenju hemofilije B pomoću adenovirusa koji bi omogućio u hepatocitima dugotrajno stvaranje faktora IX koagulacijske kaskade. Smrtni ishod je uslijedio i pri korištenju adenovirusa koji bi potaknuo produkciju ornitin transkarbamilaze jer je u jednog pacijenta došlo do prekomjerne imunosne reakcije, a u drugog teška upalna reakcija s zatajenjem organskih sustava. Osim imunosne strane moguće stvaranje maligniteta je također negativna nuspojava genske i stanične terapije, pri čemu su glavni primjer petero djece koje se liječilo od SCID-a pri čemu je došlo do implementiranja virusne DNA u promotorsku regiju protoonkogeno s posljedičnim razvojem T-stanične proliferativne bolesti. Naravno, ovi neželjeni događaji su otkrili prema čemu se daljnja istraživanja trebaju usmjeriti i koje korekcije se trebaju napraviti.

## **7. Izazovi u primjeni matičnih stanica u regenerativnoj medicini**

### **7.1. Mala ispitivanja, teško provođenje statistike, teškoće reguliranja i reproducibilnosti rezultata**

Za razliku od uobičajenih metoda ispitivanja određenog terapijskog postupka u kojem se koriste velike studije na širokoj populaciji, kada je riječ o matičnim stanicama većinom je riječ o malim istraživanjima na vrlo reduciranoj populaciji. To je ili posljedica iznimno rijetkog pojavljivanja bolesti u općoj populaciji ili pak pretjerano velikog rizika provođenja terapije i mogućih katastrofičnih posljedica za ispitanike. To je uzrok nedostatka podataka koji su postali uobičajeni za lijekove koji se svakodnevno koriste pa čak i one koji nisu toliko često u uporabi. Postoje iznimke i u ovome pa je tako primjerice u prethodno spominjanoj terapiji SCID-a rezultat vrlo jasan, preživljenje ili smrt tako da neke značajnije studije nisu potrebne, ali kao što je već napisano ovo je iznimka, a ne pravilo i većinom je potrebno ipak provesti adekvatno istraživanje. [43] Slična je priča i s Glyberom, adenovirusom koji je kodiran da omogućiti produkciju protein fosfolipaza enzima nakon što je unesen intramuskularno. Krajnji rezultat je izostajanje napadaja akutnog pankreasa u pacijenata koji imaju genetski defekt i manjak navedenog enzima. [44] Veliki problem u tome je cijena istraživanja koja je izrazito visoka. Ono što svakako može donekle uvjeriti investitore je razvoj iPSCs i 3D organoida, o kojima je bilo riječi u prethodnim dijelovima rada, koji omogućavaju testiranja na animalnim modelima što ipak pruža određenu sigurnost u provođenju kliničkih istraživanja. [45] Istraživanja moraju biti veća kako bi se dobili valjani podatci koji će prezentirati efikasnost ili neefikasnost terapije te je jako teško proširiti mala ispitivanja. Osim toga ova prepreka može dovesti i do puno opasnije pojave, a to je uljepšavanje podataka istraživanja, odnosno izuzimanje pacijenata s negativnim rezultatima iz istraživanja. To vuče za sobom potrebu za provjerom podataka, točnije njihove reproducibilnosti, no ni to nije toliko jednostavno za

provesti jer će se teško izdvojiti novac, kao i rad i vrijeme ljudi koji su neovisni da potvrde nečijeg pronalaska. Nažalost sve navedeno može dovesti do nepovjerenja javnosti u cjelokupni koncept terapije matičnim stanicama te je potrebno da investitori, ali i časopisi pokažu volju i želju da se istraživanja nastave.

## **7.2. Ekonomske barijere implementiranju regenerativne medicine u šira područja svijeta**

Svakako je ključan problem regenerativne medicini, kako za sad mala istraživanja u laboratorijima i u ranim fazama kliničkih studija povećati i omogućiti da financijski budu što dostupnija široj populaciji. Vjerojatno nužan korak u ovom procesu će biti automatizacija produkcije. Također velika barijera je uopće stvoriti adekvatne prostorije i zgrade u kojima bi se provodila istraživanja u regenerativnoj medicini. Donekle je problem što većina investitora uopće ne zna kako bi takva postrojenja trebala izgledati. Međutim Ujedinjeno Kraljevstvo je uspjelo oformiti Centar za inovativnu proizvodnju u regenerativnoj medicini, što znači da se i ova barijera može premostiti. Za navedena postrojenja i općenito istraživanja postoji rizik od velikog gubitka novca te je tu ključno da oni koji nemaju toliki problem od velikih gubitaka budu uključeni u razvoj, primjerice državne institucije. Samim njihovim uključivanjem, a pogotovo daljnjom progresijom cijelog koncepta će vjerojatno potaknuti i investitore iz javnog sektora da financijski podrže projekt.

## **7.3. Razmatranja isplativosti regenerativne medicine**

Regenerativna medicina ima mogućnost bitnog smanjenja troškova zdravstvenog sustava, pogotovo dugoročno gledano, jer neke terapije koje traju jako dugo pa i doživotno mogu biti zamijenjene kratkim možda i jednokratnim terapijskim postupcima. Međutim treba isto tako istaknuti da je cijena regenerativne medicine izrazito visoka, a uspješno je liječenje omogućeno te ponekim rijetkim bolestima, tako da nije jasno koliko bi uopće bilo efikasno u liječenju poligenih i učestalijih bolesti. Upravo je to ključno pitanje te je na žalost jako malo studija uopće provedeno koje bi razmotrile isplativost regenerativne medicine, pogotovo s obzirom na izdatke koje ona podrazumijeva. Glavni primjer je Duchennova mišićna distrofija koja je bolest s velikim financijskim izdancima tijekom dugog vremenskog perioda, koja bi značajno rasteretila nacionalne zdravstvene sustave ukoliko bi se našla adekvatna terapija. [46] Međutim treba isto tako naglasiti da bi uvođenje nove terapije ove bolesti zahtijevalo velike izdatke u kratkom vremenu i neki sustavi nisu voljni ili jednostavno ne mogu sebi to priuštiti, već im je prihvatljivije trošiti novac kroz nekoliko godina ili čak desetljeća. Također za isplativost terapije ona mora biti jako dobrotvorna za pacijenta, tako da postoji mogućnost da će se u početku, dok se dalje ne razvije regenerativna medicina ciljati upravo takve bolesti. [47] Počinju se razvijati modeli i algoritmi koji će pronaći bolesti i terapije koje bi odgovarale prethodno spomenutima, čime je svakako moguće da će se napraviti korak naprijed u uvođenju regenerativne medicine.

## **7.4. Zakonska i druga regulativa terapije matičnih stanica i regenerativne medicine**

Problem nije da zakonska regulativa ne postoji, ona postoji, ali ne može se sa sigurnošću tvrditi da je primjerena. Neminovno je da će zakonska regulativa uvijek biti korak iza u odnosu na napredovanje znanosti, ali je bitno da se stalno obnavlja. Korist od ovoga naravno će imati pacijenti jer će biti manje izloženi riziku od nuspojava, međutim treba isto tako navesti da je dobra zakonska regulativa u interesu i investitora. Vrlo je jednostavan razlog, što je bolje reguliran program to je manja vjerojatnost da će se napraviti greške te posljedično tome upropastiti cjelokupno istraživanje, a naravno samim

time donijeti velike gubitke ulagačima. Također je bitno da zakonska regulativa bude što efikasnija jer ako nije, samo pokušavanje udovoljavanja stavkama te regulative, koja možda nisu potrebna može rezultirati velikim financijskim izdancima. Također valja navesti da je jako bitno i adekvatno imenovanje istraživanja koja uključuje regenerativnu medicinu jer primjerice, ako se pretražuje ClinicalTrials.gov dobije se 265 pronađenih istraživanja vezanih uz regenerativnu medicinu, što je malo. S druge strane preko 36 tisuća rezultata se dobije ako se traži „stanična terapija“, koji tako mogu promaći publikacijama i citatima čime će se istraživanja jednostavno zanemariti i izgubiti. [4] Tako da se vidi važnost adekvatne regulacije na svim razinama.

### **7.5. Balansiranje između rizika i dobiti**

Kako Hermansson i Hanson sugeriraju postoje 3 stranke u postupcima koji imaju određeni rizik u svom provođenju: 1. oni koji prolaze kroz postupak i koji su pod rizikom, 2. oni koji kontroliraju ekspoziciju riziku i 3. oni koji mogu imati benefite zbog provođenja postupka. Etički je najispravnije kada bi jedna osoba bila u sve 3 stranke, a najlošija je opcija ukoliko oni koji su izloženi riziku niti imaju benefite niti mogu kontrolirati uvjete. Svakako je potrebno staviti naglasak na izravne dobrobiti i štetnosti jer su puno manje određene individualnim razlikama u odnosu na neizravne. [48] Upravo je to razlog zbog kojeg Helsinška deklaracija veći fokus stavlja na rizike u pojedinaca ili grupa koje su involvirane u istraživanje nego na generalnu zajednicu. Izravni benefiti i štetnosti će kako studija dalje progredira ka višim fazama biti puno bolje kontrolirani, a očekivanja od individualnih benefita postaju puno veća. Također bi dobro vođen sustav upravljanja trebao omogućiti i kontrolu nad indirektnim rizicima, uz ostvarivanje što više indirektnih dobrobitosti. Rizici bi mogli biti kontrolirani kroz dvije ključne stavke, to su upravljanje sustavom i informirani pristanak. Pri tome upravljanje sustavom predstavlja okvir poticaja, profesionalnih standarda, regulacija, norma i socijalnih očekivanja prema očuvanju prava i promocije javnog interesa. Informirani pristanak predstavlja izrazito bitan dio kada je riječ o rizicima i benefitima, pri čemu treba biti jako oprezan da se ne iskorištava nada pacijenata, bilo zbog financijske koristi ili uopće pristanka na sudjelovanje u istraživanju. [49] Sam informirani pristanak će imati različitu ulogu, ovisno od sustava kao i koliki utjecaj će imati paternalizam. Općenito, treba razlikovati blagi paternalizam u kojem se odbija sudjelovanje pacijenta u istraživanju zbog smatranja da nemaju dovoljnu količinu informacija o istraživanju ili nisu dobro shvatili sve stavke. [50] S druge strane teški paternalizam onemogućuje sudjelovanje u istraživanju na temelju jednostavne procjene da pacijentu jednostavno istraživanje neće pomoći. Naravno, u praksi je puno teže opravdati teški oblik paternalizma.

## 8. Zaključak

Regenerativna medicina i matične stanice pružaju široke mogućnosti i nove opcije u liječenju bolesti, pogotovo primjerice poligenskih kroničnih bolesti u kojima već duže vremena nije bilo značajnijeg napretka ili ideja kojima bi se pružilo adekvatno liječenje. No, osim ovih vrlo učestalih bolesti, regenerativna medicina je već dala jako dobre rezultate u rijetkim bolestima, što svakako ne treba zanemariti jer su one vrlo često jako teške te rezultiraju smrću ili pak teškim oštećenjima koje bitno smanjuju kvalitetu života. One se najčešće nažalost manifestiraju u jako ranoj životnoj dobi što znači da cijeli život imaju jak utjecaj na pacijenta. Osim izravnih terapijskih pogodnosti, matične stanice kao pokusni modeli mogu dati izrazito dobar uvid u razvoj određenih bolesti, efikasnosti terapija u tim bolestima, ali i omogućiti istraživanje eventualnog štetnog djelovanja pojedinih lijekova, dijagnostičkih ili terapijskih postupaka. Naravno, treba također naglasiti da je riječ o još uvijek nepoznatom području, točnije, nepoznatom u smislu kliničkog djelovanja u pacijenata i dugoročnog učinka. Trebat će još istraživanja da bi se osiguralo da matične stanice budu terapijske, a ne štetne. Uz to je bitno za uočiti očite probleme regenerativne medicine u financijskom smislu i to ne samo financiranja novih projekata nego i adekvatnog kontroliranja tih projekata. U konačnici treba osigurati i dostatne resurse da bi se terapija koja je efikasna i ima značajnu dobrobit za pacijenta mogla provesti na način da bude dostupna u širem smislu, a ne u užoj skupini pojedinaca. Sve u svemu, ostaje mnogo nepoznanica i problema vezane uz terapiju matičnim stanicama. Ipak, one svakako daju nadu u moguće nove metode liječenja koje bi trebale pomoći izrazito velikoj populaciji što je ohrabrujuće.

## 9. Reference

- [1] R. Brunauer, S. Alavez, and B. K. Kennedy, "Stem Cell Models: A Guide to Understand and Mitigate Aging?," *Gerontology*, vol. 63, no. 1, pp. 84–90, 2017.
- [2] A. MacDonald, "Cell Potency: Totipotent vs Pluripotent vs Multipotent Stem Cells," *Technol. Netw.*, 2018.
- [3] R. S. Mahla, "Stem cells applications in regenerative medicine and disease therapeutics," *Int. J. Cell Biol.*, vol. 2016, 2016.
- [4] G. Cossu *et al.*, "Lancet Commission: Stem cells and regenerative medicine," *Lancet*, vol. 391, no. 10123, pp. 883–910, 2017.
- [5] G. Shroff and R. Gupta, "Human embryonic stem cells in the treatment of patients with spinal cord injury.," *Ann. Neurosci.*, vol. 22, no. 4, pp. 208–216, Oct. 2015.
- [6] "National Eye Institute." [Online]. Available: [https://nei.nih.gov/health/maculardegen/armd\\_facts](https://nei.nih.gov/health/maculardegen/armd_facts).
- [7] S. Zhou *et al.*, "Differentiation of human embryonic stem cells into cone photoreceptors through simultaneous inhibition of BMP, TGFbeta and Wnt signaling.," *Development*, vol. 142, no. 19, pp. 3294–3306, Oct. 2015.
- [8] V. M. Sluch *et al.*, "Differentiation of human ESCs to retinal ganglion cells using a CRISPR engineered reporter cell line.," *Sci. Rep.*, vol. 5, p. 16595, Nov. 2015.
- [9] "HZJZ." [Online]. Available: <https://www.hzjz.hr/sluzba-epidemiologija-prevencija-nezaraznih-bolesti/odjel-za-srcano-zilne-bolesti/>.
- [10] S. Fernandes *et al.*, "Comparison of Human Embryonic Stem Cell-Derived Cardiomyocytes, Cardiovascular Progenitors, and Bone Marrow Mononuclear Cells for Cardiac Repair.," *Stem cell reports*, vol. 5, no. 5, pp. 753–762, Nov. 2015.
- [11] Y. Avior *et al.*, "Microbial-derived lithocholic acid and vitamin K2 drive the metabolic maturation of pluripotent stem cells-derived and fetal hepatocytes.," *Hepatology*, vol. 62, no. 1, pp. 265–278, Jul. 2015.
- [12] D. L. Kasper, S. L. Hauser, J. L. Jameson, A. S. Fauci, D. L. Longo, and J. Loscalzo, *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 19. izd. New York, 2015.
- [13] J. E. Bruin *et al.*, "Treating diet-induced diabetes and obesity with human embryonic stem cell-derived pancreatic progenitor cells and antidiabetic drugs.," *Stem cell reports*, vol. 4, no. 4, pp. 605–620, Apr. 2015.
- [14] M. Katić and I. Švab, *Obiteljska medicina*. Zagreb: Alfa, 2013.
- [15] A. Cheng *et al.*, "Cartilage repair using human embryonic stem cell-derived chondroprogenitors.," *Stem Cells Transl. Med.*, vol. 3, no. 11, pp. 1287–1294, Nov. 2014.
- [16] G. Szentmartoni, Z. Makkos, and M. Dank, "[Chemobrain].," *Neuropsychopharmacol. Hung.*, vol. 20, no. 3, pp. 112–116, Sep. 2018.
- [17] "Encyclopædia Britannica Online Inc. 2011.," 2012. .
- [18] J. Chinen and R. H. Buckley, "Transplantation immunology: solid organ and bone marrow.," *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 125, no. 2 Suppl 2, pp. S324-35, Feb. 2010.

- [19] B. Cassin and S. Solomon, *Dictionary of Eye Terminology*. 1990.
- [20] J. Cunha-Vaz, R. Bernardes, and C. Lobo, "Blood-retinal barrier.," *Eur. J. Ophthalmol.*, vol. 21 Suppl 6, pp. S3-9, 2011.
- [21] E. M. Yiu and A. J. Kornberg, "Duchenne muscular dystrophy.," *J. Paediatr. Child Health*, vol. 51, no. 8, pp. 759–764, Aug. 2015.
- [22] A. Kazlauskas, "PDGFs and their receptors.," *Gene*, vol. 614, pp. 1–7, May 2017.
- [23] "Hrvatska liga protiv raka prostate." [Online]. Available: <http://hlpr.hr/rak/vijest/rak-prostate>.
- [24] "National Eye Institute." [Online]. Available: <https://nei.nih.gov/health/diabetic/retinopathy>.
- [25] L. Z. Heng *et al.*, "Diabetic retinopathy: pathogenesis, clinical grading, management and future developments.," *Diabet. Med.*, vol. 30, no. 6, pp. 640–650, Jun. 2013.
- [26] "onkologija.hr." [Online]. Available: <http://www.onkologija.hr/rak-jajnika/rak-jajnika-statistika/>.
- [27] R. Rohban and T. R. Pieber, "Mesenchymal stem and progenitor cells in regeneration: Tissue specificity and regenerative potential," *Stem Cells Int.*, vol. 2017, 2017.
- [28] B. Cerovski, *Oftalmologija i optometrija*, 2. izd. Zagreb: Medicinska naklada, 2015.
- [29] "Pancreas Islet Transplantation for Patients With Type 1 Diabetes Mellitus: A Clinical Evidence Review.," *Ont. Health Technol. Assess. Ser.*, vol. 15, no. 16, pp. 1–84, 2015.
- [30] P. Fiorina *et al.*, "Immunomodulatory function of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in experimental autoimmune type 1 diabetes.," *J. Immunol.*, vol. 183, no. 2, pp. 993–1004, Jul. 2009.
- [31] M. L. Weiss and D. L. Troyer, "Stem Cell Rev," 2006.
- [32] M. D. Talwadekar, V. P. Kale, and L. S. Limaye, "Placenta-derived mesenchymal stem cells possess better immunoregulatory properties compared to their cord-derived counterparts-a paired sample study.," *Sci. Rep.*, vol. 5, p. 15784, Oct. 2015.
- [33] M. M. Centre, "The epidemiology of chronic kidney disease," vol. 67, pp. 14–18, 2005.
- [34] T. B. Poulton, W. D. Murphy, J. L. Duerk, C. C. Chapek, and D. H. Feiglin, "Bone marrow reconversion in adults who are smokers: MR Imaging findings.," *Am. J. Roentgenol.*, vol. 161, no. 6, pp. 1217–1221, Dec. 1993.
- [35] G. B. Katzung, B. S. Masters, and J. A. Trevor, *Temeljna i klinička farmakologija*, 11. izd. Zagreb: Medicinska naklada, 2011.
- [36] "WHO." [Online]. Available: [https://www.who.int/gho/hiv/epidemic\\_status/deaths/en/](https://www.who.int/gho/hiv/epidemic_status/deaths/en/).
- [37] R. M. Benjamin, "Oral health: the silent epidemic.," *Public Health Rep.*, vol. 125, no. 2, pp. 158–159, 2010.
- [38] S. Mitalipov and D. Wolf, "Totipotency, Pluripotency and Nuclear Reprogramming," ) *Eng. Stem Cells. Adv. Biochem. Eng. / Biotechnol.*, vol. 114, 2009.
- [39] "Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013.," *Lancet (London, England)*, vol. 386, no. 9995, pp. 743–800, Aug. 2015.

- [40] R. Mayeux and Y. Stern, "Epidemiology of Alzheimer disease.," *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, vol. 2, no. 8, Aug. 2012.
- [41] D. D. Marciniuk *et al.*, "Alpha-1 antitrypsin deficiency targeted testing and augmentation therapy: a Canadian Thoracic Society clinical practice guideline.," *Can. Respir. J.*, vol. 19, no. 2, pp. 109–116, 2012.
- [42] "MyBioScore.com." [Online]. Available: <https://www.mybiosource.com/learn/fluorescence-guided-suicide-gene-delivery/>.
- [43] A. Biffi *et al.*, "Lentiviral hematopoietic stem cell gene therapy benefits metachromatic leukodystrophy.," *Science*, vol. 341, no. 6148, p. 1233158, Aug. 2013.
- [44] D. Melchiorri *et al.*, "Regulatory evaluation of Glybera in Europe - two committees, one mission.," *Nature reviews. Drug discovery*, vol. 12, no. 9. England, p. 719, Sep-2013.
- [45] H. Clevers, "Modeling Development and Disease with Organoids.," *Cell*, vol. 165, no. 7, pp. 1586–1597, Jun. 2016.
- [46] E. Landfeldt *et al.*, "The burden of Duchenne muscular dystrophy: an international, cross-sectional study.," *Neurology*, vol. 83, no. 6, pp. 529–536, Aug. 2014.
- [47] S. Simoens, "Pricing and reimbursement of orphan drugs: the need for more transparency.," *Orphanet J. Rare Dis.*, vol. 6, p. 42, Jun. 2011.
- [48] "World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects.," *JAMA*, vol. 310, no. 20, pp. 2191–2194, Nov. 2013.
- [49] S. J. L. Edwards and J. Wilson, "Hard paternalism, fairness and clinical research: why not?," *Bioethics*, vol. 26, no. 2, pp. 68–75, Feb. 2012.
- [50] C. L. Sprung, L. A. Eidelman, and A. Steinberg, "Is the patient's right to die evolving into a duty to die?: Medical decision making and ethical evaluations in health care.," *J. Eval. Clin. Pract.*, vol. 3, no. 1, pp. 69–75, Feb. 1997.

## **10. Životopis**

Rođen sam u Zagrebu, pohađao OŠ Ivan Filipović te poslije opću VII. gimnaziju. U tom periodu sam sudjelovao na natjecanjima iz matematike i biologije te se bavio košarkom i išao u glazbenu školu u kojoj sam svirao violončelo. 2013. godine sam upisao Medicinski fakultet u Zagrebu, na prvoj godini sam dobio dekanovu nagradu, a od 3. sam stipendist grada Zagreba za nadarene studente. Također sam u studentskoj udruzi EMSA koja organizira ZIMS i DSS (od ove godine EMSS). Jako me zanima kirurgija i to vaskularna kirurgija zbog čega surađujem sa odjelom vaskularne kirurgije u KB Dubrava. U slobodno vrijeme igram nogomet i košarku, a općenito volim putovati i upoznavati nove ljude.