

Besmrtne stanice koje su promijenile svijet - HeLa stanice

Brautović, Lucija

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:166:912978>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-10**

Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Science](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



Sveučilište u Splitu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Odjel za Biologiju

Lucija Brautović

**Besmrtnne stanice koje su promijenile svijet –
HeLa stanice**

Završni rad

Split, 2023.

Sveučilište u Splitu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Odjel za Biologiju

Lucija Brautović

**Besmrtnne stanice koje su promijenile svijet –
HeLa stanice**

Završni rad

Split, 2023.

Ovaj rad, izrađen pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Željane Fredotović predan je na ocjenu Odjelu za biologiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Splitu radi stjecanja zvanja „prvostupnica biologije“.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Splitu

Završni rad

Prirodoslovno-matematički fakultet

Odjel za biologiju

Ruđera Boškovića 33, 21 000 Split, Hrvatska

BESMRTNE STANICE KOJE SU PROMIJENILE SVIJET – HELA STANICE

Lucija Brautović

Sažetak

Prva besmrtna stanična linija, poznata pod imenom HeLa, bila je jedno u nizu važnih otkrića prošlog stoljeća. To je izuzetno plodna i izdržljiva kultura stanica raka grlića maternice uzgojena u 20. st. tijekom liječenja pacijentice Henriette Lacks. HeLa stanice pokazuju jedinstvene karakteristike kao što su brza replikacija, visoka stopa rasta i sposobnost preživljavanja u različitim uvjetima. To ih čini neprocjenjivim alatom za proučavanje stanične biologije, genetike i procesa molekularne biologije. Stanice su revolucionirale biomedicinska istraživanja i imale su dubok utjecaj na različita znanstvena polja, uključujući istraživanje raka, virologiju, imunologiju i testiranje lijekova. Uvelike su doprinijele značajnim medicinskim otkrićima, razvoju lijekova, mnogobrojnih cjepiva, poput cjepiva protiv virusa HIV, virusa SARS-CoV-2 i dječje paralize, proučavanju leukemije i raznih vrsta raka. Međutim, korištenje HeLa stanica izazvalo je etičku zabrinutost zbog nedostatka informiranog pristanka Henriette Lacks i njezine obitelji. Cilj ovoga rada je ukazati na značaj prve ljudske stanične kulture u medicini, biologiji, biokemiji, otkrivanju i utjecaju lijekova, razvoju cjepiva, te u mnogim drugim područjima.

Ključne riječi: HeLa stanice, stanična kultura, Henrietta Lacks, cjepiva

Rad sadrži: 21 strana, 3 grafička prikaza, 27 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Mentor: izv. prof. dr. sc. Željana Fredotović, Prirodoslovno – matematički fakultet Split

Ocjenjivači: izv. prof. dr. sc. Željana Fredotović, *Prirodoslovno – matematički fakultet Split*

izv. prof. dr. sc. Ana Maravić, *Prirodoslovno – matematički fakultet Split*

izv. prof. dr. sc. Elma Vuko, *Prirodoslovno – matematički fakultet Split*

Rad prihvaćen: rujan, 2023.

Basic documentation card

University of Split

Bachelor thesis

Faculty of science

Biology department

Ruđera Boškovića 33, 21 000 Split, Croatia

THE IMMORTAL CELLS THAT CHANGED THE WORLD – HELA CELLS

Lucija Brautović

Abstract

The first immortal cell line, known as HeLa, was one of a series of important discoveries of the last century. It is an extremely fertile and durable culture of cervical cancer cells grown in the 20th century during the treatment of patient Henrietta Lacks. HeLa cells exhibit unique characteristics such as rapid replication, high growth rate, and the ability to survive in a variety of conditions. This makes them an invaluable tool for studying cell biology, genetics and molecular biology processes. Cells have revolutionized biomedical research and have had a profound impact on various scientific fields, including cancer research, virology, immunology and drug testing. She greatly contributed to significant medical discoveries, the development of medicines, numerous vaccines, such as vaccines against the HIV virus, the SARS-CoV-2 virus and polio, the study of the leukemia and various types of cancer. However, the use of HeLa cells raised ethical concerns due to the lack of informed consent from Henrietta Lacks and her family. The aim of this paper is to point out the importance of the first human cell culture in medicine, biology, biochemistry, the discovery and influence of drugs, the development of vaccines, and in many other fields.

Key words: HeLa cell line, cell culture, Henrietta Lacks, vaccines

Work contains: 21 pages, 3 figures, 27 references. Original language: Croatian

Supervisor: Željana Fredotović, PhD, Assoc. Prof., *Faculty of Science University of Split*

Reviewers: Željana Fredotović, PhD, Assoc. Prof., *Faculty of Science University of Split*

Ana Maravić, PhD, Assoc. Prof., *Faculty of Science University of Split*

Elma Vuko, PhD, Assoc. Prof., *Faculty of Science University of Split*

Thesis accepted: Septembar, 2023.

IZJAVA

kojom izjavljujem s punom materijalnom i moralnom odgovornošću da sam završni rad pod naslovom **BESMRTNE STANICE KOJE SU PROMIJENILE SVIJET – HELA STANICE** izradila samostalno pod voditeljstvom izv. prof. dr. sc. Željane Fredotović. U radu sam primijenila metodologiju znanstveno-istraživačkog rada i koristila literaturu koja je navedena na kraju završnog rada. Tuđe spoznaje, stavove, zaključke, teorije i zakonitosti koje sam izravno ili parafrazirajući navela u završnom radu na uobičajen, standardan način citirala sam i povezala fusnotama s korištenim bibliografskim jedinicama. Rad je pisan u duhu hrvatskog jezika.

Studentica:

Lucija Brautović

Sadržaj

1. Uvod	1
2. Razrada teme	2
2.1. Kultura tkiva i uzgoj stanica.....	2
2.2. Život Henriette Lacks.....	4
2.3. HeLa stanice.....	6
2.3.1. Znanstvena i medicinska dostignuća	8
2.3.2. Kontaminacija kulture tkiva	10
2.3.3. HeLa stanice i COVID-19	11
2.3.4. Zanimljivosti.....	13
2.3.5. Kontroverza	15
3. Zaključak	17
4. Literatura	18

1. Uvod

Stanična linija HeLa bila je prva besmrtna ljudska stanična linija koju su George Otto Gey, Margaret Gey i Mary Kucibek prvi izolirali iz pacijentice Henriette Lacks i razvili u bolnici Johns Hopkins u Baltimoreu, Maryland, 1951. Besmrtna stanična linija je klaster stanica koje se kontinuirano umnožavaju *in vitro* tj. same od sebe izvan organizma od kojeg potječu. HeLa stanice dobile su naziv po prva dva početna slova imena i prezimena žene kojoj je uzet uzorak. Znanstvenici u svojim istraživanjima koriste besmrtne ljudske stanične linije kako bi istražili način na koji stanice funkcioniraju kod ljudi te tako potencijalno otkrili lijekove i metode za liječenje raznih bolesti. Iako je stanična linija HeLa pridonijela napretku u biomedicinskim, biološkim i molekularnim istraživanjima dvadesetog stoljeća, njezina je uporaba u medicinskim istraživanjima bila kontroverzna jer sama Henrietta Lacks nije znala da se njezine stanice koriste u takve svrhe i samim time nikada nije dala odobrenje za rad na istim. Od 2020. godine znanstvenici ponovno nastavljaju koristiti staničnu liniju HeLa u istraživanjima koja vode znanstvenom napretku, u smislu razvoja cjepiva i identifikacije mnogih temeljnih mehanizama bolesti.

2. Razrada teme

2.1. Kultura tkiva i uzgoj stanica

Kultura tkiva je metoda biološkog istraživanja u kojoj se fragmenti tkiva životinje ili biljke prenose u umjetni okoliš u kojem mogu preživjeti i funkcionirati. Uzgajano tkivo može se sastojati od jedne stanice, populacije stanica, dijela organa ili čak cijelog organa. Stanice u kulturi mogu se razmnožavati te tako promijeniti veličinu, oblik ili funkciju. Pokazuju specijaliziranu aktivnost i komunikaciju s drugim stanicama, kao na primjer, mišićne stanice koje se mogu kontrahirati.

Stanice se mogu uzgajati u mediju kulture biološkog podrijetla kao što je krvni serum ili ekstrakt tkiva, u kemijski definiranom sintetičkom mediju ili u mješavini to dvoje. Medij mora sadržavati odgovarajuće omjere potrebnih hranjivih tvari za stanice koje se proučavaju i mora biti odgovarajuće kiseo ili bazičan. Kulture se obično uzgajaju kao pojedinačni slojevi stanica na staklenoj ili plastičnoj površini ili kao suspenzija u tekućem ili polukrutom mediju.

Da bi se pokrenula kultura, sićušni uzorak tkiva se rasprši na ili u mediju, a tikvica, epruveta ili ploča koja sadrži kulturu se zatim inkubira, obično na temperaturi bliskoj onoj u normalnom okruženju tkiva. Održavaju se sterilni uvjeti kako bi se spriječila kontaminacija mikroorganizmima. Kulture ponekad započinju iz pojedinačnih stanica, što rezultira proizvodnjom jedinstvenih bioloških populacija koje se nazivaju klonovi. Pojedinačne stanice obično stvaraju kolonije unutar 10 do 14 dana od početka uzgoja.

Postoje dvije glavne vrste kultura: primarne (smrtne) kulture i kulture utvrđenih (besmrtnih) staničnih linija. Primarne kulture sastoje se od normalnih stanica, tkiva ili organa koji su izrezani izravno iz tkiva prikupljenog biopsijom iz živog organizma. Suprotno njima, besmrtnne stanične linije, kao što su HeLa stanice, su linije koje se mogu održavati na neodređeno vrijeme. Takve stanične linije općenito su izvedene iz biopsija tumora pacijenata ili mogu biti generirane iz primarnih stanica koje su prošle mutacije. To ih čini izdržljivima i plodnima za znanstvena istraživanja [1].

Prije 1950-ih istraživači su pokušavali uzgojiti ljudske stanice u laboratoriju, ali te se stanice nisu mogle održati i razmnožavati dulje od nekoliko tjedana. Otprilike u to vrijeme praksa kulture tkiva

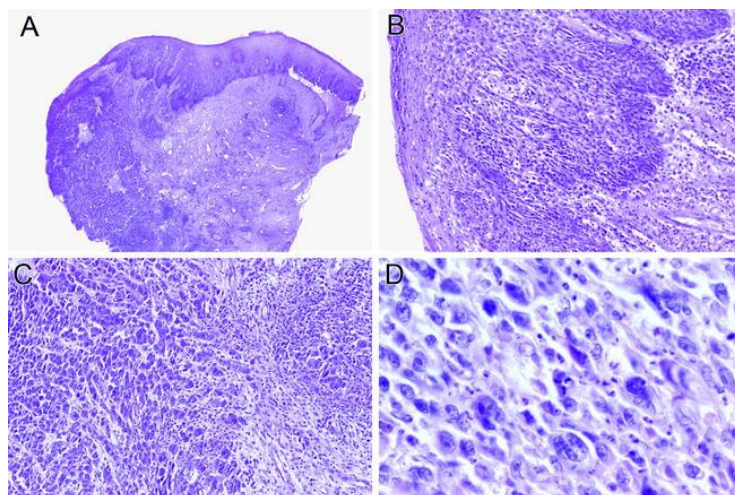
razlikovala se od suvremene prakse. Kultura tkiva zahtijeva upotrebu hranjivih medija koje tkiva opskrbljuju hranjivim tvarima kako bi se omogućio njihov održivi opstanak. Međutim, 1950-ih još nije postojala standardizirana oprema ili hranjivi mediji za uzgoj stanica. Kao takvi, istraživači su često razvijali vlastite medije u laboratoriju. Također, obično se nisu koristile sterilne tehnike za koje se pokazalo da sprječavaju kontaminaciju bioloških materijala [2].

2.2. Život Henriette Lacks

Henrietta Lacks bila je Afroamerikanka rođena 1. kolovoza 1920. godine u Virginiji, SAD. Njeno pravo ime je zapravo Loretta Pleasant, a danas je još uvijek nepoznato zašto je nazivaju Henrietta Lacks. Umrula je 1951. godine od agresivnog adenokarcinoma grlića maternice [1].

Kao 30-godišnjakinja dolazi u Ginekološku kliniku Johns Hopkins u Baltimoreu, Maryland, zbog simptoma krvarenja između menstruacija [3]. Iako rezultati njezinog općeg pregleda nisu bili značajni, pregled cerviksa otkrio je uzdignutu, glatku, svjetlucavu i ljubičastu leziju manju od 2,5 cm (Slika 1) [4]. Lezija je bila ograničena na cerviks i činila se drugačijom od ostalih karcinoma cerviksa koje je liječnik do tada pregledao [5]. Kirurg Howard Wilbur Jones okarakterizirao je Henriettin rak kao rijedak adenokarcinom, rak koji počinje u žljezdanim stanicama.

Nakon daljnjih testova, Henrietta je primila prvi od nekoliko tretmana radijem. Radij, iako ubija stanice raka, uništava i sve ostale stanice na koje naiđe te tako uzrokuje mutacije koje se mogu pretvoriti u rak, a pri izlaganju velikim količinama radij može i opeći kožu osobe. Tretman je uključivao male staklene cjevčice od radioaktivnog metala, poznatije pod imenom Brack plakovi, koje su se ušivale na cerviks. Tijekom izvođenja zahvata, kirurg je izvadio dva mala uzorka tkiva: jedan iz Henriettinog tumora i jedan iz zdravog cervikalnog tkiva u blizini. Uzorci iz Henriettinog grlića maternice bili su među mnogima pomoću kojih je liječnik George Gey tražio "besmrtnu" staničnu liniju za korištenje u istraživanju raka. Sama Henrietta nije znala da je uzet ikakav uzorak jer je u to vrijeme bilo uobičajeno proučavati pacijente i njihova tkiva bez njihova znanja ili pristanka. Za razliku od prethodnih uzoraka, Henriettine kancerogene stanice ne samo da su preživjele nego su se i razmnožile iznimnom brzinom [6].



Slika 1: A) Pregled dijela biopsijskog uzorka uzetog iz grlića maternice Henriette Lacks, B) Karcinom *in situ* s upalnom staničnom reakcijom u stromi, C) Infiltrirajući karcinom i D) Infiltrirajući karcinom koji pokazuje izraziti pleomorfizam malignih stanica

<https://meridian.allenpress.com/aplm/article/133/9/1463/460899/Henrietta-Lacks-HeLa-Cells-and-Cell-Culture>

Henrietta se u međuvremenu oporavljala od liječenja radijem. Isprva se činilo da radij djeluje jer su liječnici primijetili da se tumor smanjio. Liječnici su bili dovoljno uvjereni u njezin potpuni oporavak, ali ipak su odlučili Henrietti dati terapiju rendgenskim zrakama kako bi bili posve sigurni da su ubijene sve stanice raka. Dok su njene stanice na staničnoj kulturi napredovale, Henriettino tijelo je propadalo. Terapija rendgenskim zrakama uništavala je njene zdrave stanice po cijelom tijelu i karcinom se proširio na ostale organe [6]. Njeno tijelo je postajalo sivo te ona naposljetku umire.

2.3. HeLa stanice

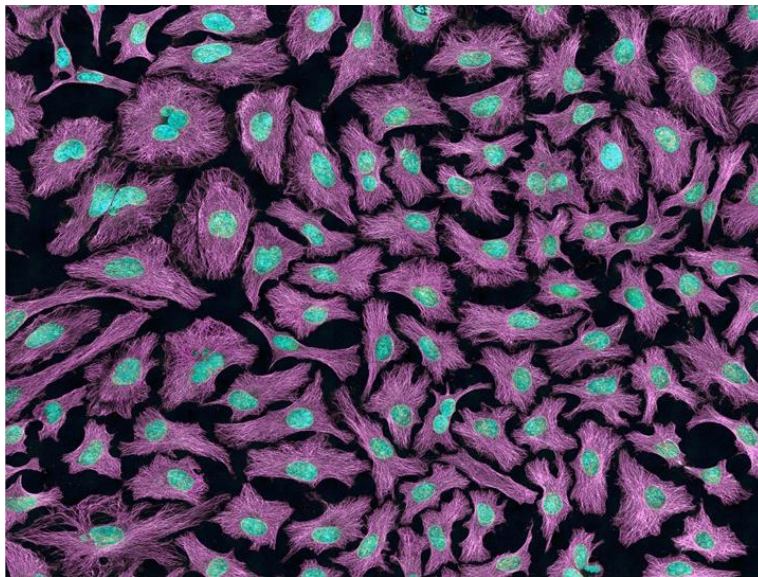
Dok se Henrietta Lacks liječila u bolnici Johns Hopkins, dr. George Otto Gey je pokušavao uzgojiti besmrtnu staničnu liniju tj. izolirati i održavati normalna i maligna ili na drugi način oboljela tkiva izvedena iz sojeva stanica [7]. Dr. Gey bio je voditelj istraživanja kulture tkiva u spomenutoj bolnici, a njegova supruga Margaret bila je glavna tehničarka i nadgledala je operacije unutar laboratorija [8]. On je proveo otprilike 30 godina uzgajajući stanice prije nego što je dobio uzorak raka grlića maternice gđe. Lacks. Prethodni pokušaji uzgoja normalnog cervikalnog epitela ili karcinoma cerviksa u kulturi pokazali su se nedostižnim [5].

Početakom 1950-ih, Gey i njegova supruga razvili su vlastiti oblik hranjivih medija u kojima su nastojali uzgajati stanice u laboratorijskom okruženju. Hranjivi medij bio je mješavina odnosno koktel medija, budući da se sastojao od pileće plazme, ekstrakta goveđeg embrija i seruma ljudske posteljice [2]. Mary Kubicek, koja je tada bila istraživač u laboratoriju, smjestila je stanice dobivene iz uzorka biopsije Henriette Lacks u kulturu tehnikom roller-tube, nakon čega su stanice snažno rasle, suprotno rezultatima s prethodnim uzorcima. HeLa stanična linija razmnožavala se neviđenom brzinom, ostvarujući Geyev cilj stvaranja prve besmrtno ljudske stanične linije. Kubicek je otkrila da se HeLa stanice izvedene iz Lacksinog uzorka stanica vrata maternice repliciraju dvadeset puta brže od Lacksinih nekancerogenih stanica [9]. Budući da su se Lacksove stanice nastavile replicirati same od sebe, naizgled beskonačno, Gey je obavijestio svoje kolege da je njegov laboratorij vjerojatno uzgojio prvu besmrtnu ljudsku staničnu liniju [10]. Dr. Gey je svojim kolegama ponudio bočice HeLa stanica kako bi te stanice mogli koristiti za svoje istraživačke eksperimente. HeLa stanice tako postaju prva stanična linija ljudskog raka uvijekovječena u kulturi tkiva (Slika 2) [5].

Za razliku od zdrave populacije ljudskih stanica koje se dijele 40 do 50 puta prije nego umru, HeLa stanice se mogu dijeliti neograničeno. Kariotip normalnih ljudskih stanica sadrži 46 kromosoma, dok HeLa stanice imaju od 76 do 80 kromosoma koji su značajno mutirani [11]. Pojava ovog odstupanja od normalnog, tipičnog kariotipa povezana je s humanim papiloma virusom (HPV) HPV18, koji je odgovoran za gotovo sve slučajeve karcinoma vrata maternice. HPV ubacuje svoj DNA u stanicu domaćina. Kao rezultat toga, stanica domaćin počinje sintetizirati protein koji veže i inaktivira protein p53, koji je zbog svoje uloge poznat kao "čuvar genoma" u sprječavanju

mutacija i suzbijanju tumora. Inaktivacija proteina p53 stoga može imati katastrofalne posljedice [12].

Čak i u usporedbi s drugim stanicama raka, HeLa stanice rastu iznimnom brzom. Činjenica da su stanice udvostručile svoj broj unutar 24 sata od uzgoja bila je šokantna za dr. Geya i ostale doktore koji su sudjelovali u istraživanju. Ova anomalija bila je uzrokovana aktivnošću enzima HeLa telomeraze. Tijekom diobe normalne stanice, kratko ponavljajuće sekvence DNA na svakom kraju kromosoma, poznate kao "telomeri", skraćuju se zbog smanjenje aktivnosti enzima telomeraze [13]. To dovodi do starenja i u konačnici do apoptoze i stanične smrti. Normalne stanice dijele se sve dok njihove telomere ne postanu dovoljno skraćene nakon čega nastupa smrt. Kod HeLa stanica, zbog visoke telomerazne aktivnosti, telomeri se produžuju, pokazujući neograničeno replikativni kapacitet [14]. Ova anomalija dopušta HeLa stanicama da se dijele na neodređeno vrijeme, čineći ih besmrtnima.



Slika 2: Višefotonska fluorescentna slika HeLa stanica s citoskeletnim mikrotubulima i DNA

<https://www.tebubio.com/blog/hela-cells-the-first-cell-line/>

2.3.1. Znanstvena i medicinska dostignuća

Mnoga značajna dostignuća u svijetu znanosti nastala su zahvaljujući ovoj kulturi stanica. Istraživači su koristili HeLa stanice za istraživanje razvoja cjepiva, kao što je cjepivo protiv dječje paralize. To je bio veliki i obećavajući znanstveni uspjeh jer je prije upotrebe novog lijeka na ljudima, potrebno istog ispitati na živim ljudskim stanicama.

1953. godine Gey je pokazao da polio virus može zaraziti HeLa stanice. Kasnije je biolog Harald zur Hausen pomoću HeLa stanica identificirao virusno podrijetlo većine slučajeva raka vrata maternice. Nakon što je zur Hausen povezo stanice raka grlića maternice HeLa s humanim papiloma virusom ili HPV-om, drugi su znanstvenici naposljetku razvili niz cjepiva koji omogućuju prevenciju zaraze HPV-om [2].

Nakon uspješne upotrebe HeLa stanica za dobivanje cjepiva protiv polio virusa, postale su linija kulture ljudskih stanica bitne za izolaciju i uzgoj velikog broja drugih virusa, kao i stvaranje antitijela, interferona i antitumorskih kemoterapijskih lijekova. Od tada je popis revolucionarnih tehnologija i postignuća pomoću HeLa stanica konstantno nadopunjavan. Stanice su se obično koristile u virologiji za istraživanje i proučavanje bolesti kao što su karcinomi i AIDS, za procjenu učinaka zračenja i otrovnih tvari, konstruiranje genetske karte, te rješavanje velikog broja drugih znanstvenih problema [2] [15].

Znanstvenici su također koristili HeLa stanice za proučavanje normalnog rada stanica. Godine 1955. pomoću HeLa stanica proučavaju se nutritivne potrebe stanica u mediju kulture tkiva. Nalazi iz tog eksperimenta poslužili su kao najbolja praksa za uzgoj drugih staničnih linija. 1966. godine znanstvenici proučavaju metabolizam RNA u staničnoj jezgri i kako je RNA smještena u cijeloj stanici. Danas je poznato da metabolizam RNA upravlja nizom drugih procesa, kao što je replikacija stanica. U kasnim 1960-ima HeLa stanice i druge stanične kulture pomogle su u nastanku genetskog inženjeringa za kojeg se općenito smatra se da je započeo 1972. godine kada su znanstvenici na Sveučilištu u Stanfordu stvorili rekombinantnu molekulu DNA.

HeLa stanice su 1979. godine pokazale da je glutamin, a ne šećer, glavni izvor energije za stanice raka. Otkriće o izvoru energije za stanice raka pomogao je znanstvenicima koji uzgajaju stanice raka za svoje studije. Godine 2004. znanstvenici su koristili HeLa stanice za izvođenje opsežne

karakterizacije više od dvije tisuće regulacijskih fosforilacijskih događaja u stanici, što su zapravo događaji koji posreduju u staničnim procesima, poput stanične diobe, rasta i starenja stanice.

Istraživanje HeLa stanica također je pridonijelo boljem razumijevanju raznih bolesti od bakterijskih infekcija do raka. Tako se 1984. HeLa stanice koriste kako bi se identificirao i otkrio mehanizam kojim se bakterijski sojevi *Escherichia coli* vežu za HeLa stanice. Neki sojevi *E. coli* mogu uzrokovati bolesti, poput proljeva, infekcija mokraćnog sustava ili bolesti dišnog sustava. Ako znanstvenici razumiju mehanizam kojim se bakterijski sojevi vežu za HeLa stanice, mogu istražiti kako spriječiti bakterijske bolesti.

Znanstvenici su 1993. godine na HeLa stanicama testirali kemoterapijski lijek protiv raka Taxol kako bi potvrdili mehanizam kojim zaustavlja diobu stanica raka. Budući da je lijek bio učinkovit u zaustavljanju beskonačnog rasta HeLa stanica, znanstvenici su zaključili da bi također mogao biti učinkovit u zaustavljanju rasta drugih stanica raka.

Zahvaljujući HeLa stanicama otkrivena je veza između HPV-a i karcinoma vrata maternice, kao i uloga telomerase u sprječavanju degradaciju kromosoma. Za više od pola stoljeća služenja znanosti i čovječanstvu, HeLa kultura stanica postala je neprocjenjiv i sastavni dio svih biomedicinskih istraživanja. Istraživanja s HeLa stanicama korištena su za rasvjetljavanje nekih od temeljnih pitanja o ljudskom zdravlju i bolestima [2].

2.3.2. Kontaminacija kulture tkiva

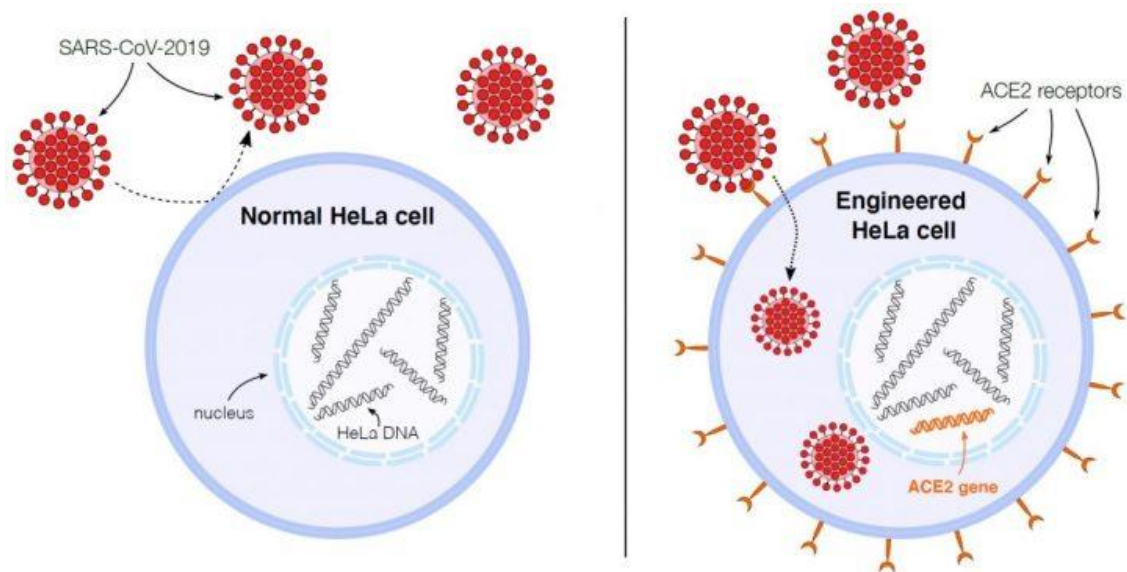
Dr. Gey je dostavio uzorke znanstvenicima u Sjedinjenim Državama i inozemstvu koji su bili zainteresirani za proučavanje prve uspostavljene ljudske stanične linije raka. HeLa stanice su se razmnožavale u kulturama diljem svijeta i kako su godine prolazile, nakupljali su se dokazi da su HeLa stanice kontaminirale druge stanične linije [7]. Međuvrsna unakrsna kontaminacija s HeLa, koju je lakše detektirati od intraspecijske kontaminacije, opisana je ranih 1960-ih [16]. Nekoliko godina kasnije, 1967., intraspecijska kontaminacija staničnih linija postala je lakša za otkrivanje zahvaljujući radu dr. Stanleyja Gartlera [17]. On je opisao očitu kontaminaciju stanica HeLa s 19 drugih ljudskih staničnih linija koristeći tehniku izoenzimske analize elektroforetskih polimorfizama glukoza-6-fosfat dehidrogenaze (G6PD) i fosfoglukomutaze (PGM). Sve stanične linije imale su iste fenotipove G6PD tipa A i PGM tipa 1 [18].

Metode za identifikaciju staničnih linija nisu bile ograničene na fenotipove izoenzima. Kariotipizacija i analiza kromosomskih vrpca dodani su arsenalu dostupnih tehnika. Analiza kromosomskih vrpca uključivala je ograničenu digestiju histonskih proteina tripsinom praćenu Giemsa bojanjem. Kontrolirano izlaganje nukleoproteina tripsinu rezultiralo je njihovim djelomičnim uklanjanjem i otkrilo trake obojene po Giemsi. Tehnika je bila dugotrajna, ali pouzdana. Stoga, u ranim 1970-ima, stanje tehnike za identifikaciju HeLa stanica uključivalo je prisutnost G6PD tipa A, nedostatak kromosoma Y i identifikaciju specifičnog uzorka kromosoma trakastih markera; smatralo se da su ova tri nalaza dovoljna za definiranje stanične linije kao HeLa [19].

U 21. stoljeću znanstvenici su nastavili ispitivati u kojoj su mjeri HeLa stanice kontaminirale druge stanične linije. Unatoč tehnološkom napretku za provjeru autentičnosti staničnih linija, znanstvenici još uvijek koriste pogrešno označene stanične linije u istraživanjima, od kojih su mnoge zapravo HeLa stanice. Znanstvenik Johns Masters je primijetio da su HeLa stanice kontaminirale druge stanične linije raka i stanice neljudskih vrsta. Za razliku od mnogih drugih, stanična linija HeLa zadržala je svoju genetsku autentičnost. Pogrešno označene stanične linije predstavljaju prijetnju integritetu znanstvenih istraživačkih eksperimenata jer ako su HeLa stanice kontaminirale ono što su znanstvenici prijavili kao nove stanične linije, svako istraživanje koje koristi te navodne stanične linije ne bi bilo novo [2].

2.3.3. HeLa stanice i COVID-19

U novije vrijeme HeLa stanice koristile su se kao put otkrićima u istraživanju COVID-19. Revoluciono istraživanje koje je identificiralo infektivnost virusa SARS-CoV-2 kod ljudi učinilo je to pomoću stanica koje su izolirane iz Henrietta Lacks. Znanstvenici su počeli proučavati COVID-19, ali su ubrzo otkrili da virus nije dobro zarazio HeLa stanice. Ova znatiželja navela je istraživače da potraže ključ za ulazak virusa koji je očito nedostajao u stanicama HeLa. Drugi oblici koronavirusa koriste molekulu ACE2 za ulazak u stanice. ACE2 proteini okružuju površinu nekih ljudskih stanica. Nakon projektiranja stanica HeLa za prikaz molekule ACE2, autori su uočili da bi novi koronavirus mogao ući i zaraziti stanice (Slika 3). ACE2 djeluje kao receptor koji omogućuje prepoznavanje i vezanje te na samom kraju i ulazak virusa SARS-CoV-2 u stanicu. Nakon ulaska, virus može koristiti staničnu mašineriju za repliciranje i širenje, uzrokujući novu koronavirusnu bolest – COVID-19. Koristeći HeLa stanice, istraživači su otkrili važan aspekt infektivnosti SARS-CoV-2, a time i širenja virusa te su pružili uvid u molekularnu mehaniku SARS-CoV-2 i komponente potrebne za infekciju. Ovi su podaci dijelovi informacija koji su se spajali kako bi se izgradilo bolje razumijevanje virusa, što je bilo ključno za razvoj budućeg liječenja [20-22].



Slika 3: ACE2 receptori ukrašavaju površinu HeLa stanica kako bi pospješili infekciju. HeLa stanice prirodno ne pokazuju visoke razine ACE2 proteina na svojoj površini, sprječavajući učinkovitu infekciju česticama SARS-CoV-2. Međutim, kada su istraživači konstruirali HeLa stanice koje prikazuju proteine ACE2, virusne čestice ulaze u stanice i započinju svoj ciklus infekcije.

<https://sitn.hms.harvard.edu/flash/2020/vessels-for-collective-progress-the-use-of-hela-cells-in-covid-19-research/>

2.3.4. Zanimljivosti

Nedugo nakon Henriettine smrti započeli su planovi o izradi tvornice stanica HeLa, a razlog je bio pokušaj zaustavljanja dječje paralize. Za rast, HeLa stanicama bila je potrebna samo staklena površina. Dr. Gey je stanice slao po cijelome svijetu i na sve načine, kao na primjer javnim prijevozom i poštom te u svim oblicima. Ubrzo su se počele koristiti u istraživanju svih do tada poznatih bolesti.

HeLa stanice bile su vrlo izdržljive i otporne (moglo ih se odmrzavati i zamrzavati koliko god je puta potrebno). Osim toga, od prednosti također treba istaknuti vrlo nisku cijenu na tržištu. Stanice su bile raspršene posvuda pa su samim time izlagane raznim virusima, kao što su: virus ospica, kuge peradi, herpesa, mumpsa, konjskog encefalitisa, HIV-a,... te se na taj način moglo proučavati kako virusi prodiru u stanicu domaćina i kako se šire [23]. Na njima su također ispitivane posljedice djelovanja hormona, steroida, vitamina, citostatika, stresa. Znanstvenici su ih zarazili salmonelom i tuberkulozom. Poslali su ih na Daleki istok gdje su zaražene hemoragijskom groznicom koja je u to vrijeme ubijala američke vojnike.

Doprinijele su u razvoju tada još nerazvijenih i nepoznatih polja virologije. HeLa stanice su prve stanice koje su znanstvenici klonirali, nakon čega su ih koristili u razvoju oplodnje *in vitro*, a najpoznatiji primjer je ovca Dolly [24]. Zahvaljujući njima dogodio se napredak u tada novom području tj. ljudskoj genetici. HeLa stanice zaslužne su za razvitak FISH tehnike (tehnika za bojenje kromosoma višebojnim fluorescentnim bojama koje svijetle pod ultraljubičastim svjetlom) [25]. Za vrijeme trajanja hladnog rata izlagale su se velikim količinama zračenja u svrhu proučavanja načina djelovanja nuklearnih bombi na razaranje ljudskih stanica.

Da bi se istražilo ponašanje stanica u ekstremnim uvjetima, kao što su let u svemir ili ronjenje pri velikim dubinama, znanstvenici su HeLa stanice stavljali u posebne centrifuge koje su se vrtjele iznimnom brzinom, tolikom da je tlak u njima bio 100 000 puta veći od onoga u normalnim uvjetima. 1960-tih godina NASA je u svemir poslala nekoliko posudica sa uzorkom HeLa stanica u satelitu *Discoverer XVIII* kako bi se istražilo ponašanje stanica pri nultoj gravitaciji [26]. Spajanjem sa životinjskim stanicama (konkretno mišjim stanicama) znanstvenici su stvorili prve ljudsko-životinjske hibridne stanice što su poslije ponovili i s pilećim stanicama. Također su

korištene u farmaceutskim i kozmetičkim tvrtkama u ispitivanju novih proizvoda zbog mogućih staničnih oštećenja [27].

2.3.5. Kontroverza

Stanična linija HeLa potaknula je razne bioetičke rasprave, od kojih su neke još uvijek u tijeku. Godine 1951. segregacija je bila legalna u Baltimoreu, Maryland. Henrietta Lacks nikada nije dala pristanak znanstvenicima da njezine stanice koriste za istraživanje. Međutim, 1950-ih je bilo uobičajeno da liječnici prikupljaju uzorke od svojih pacijenata za istraživanje bez znanja ili pristanka svojih pacijenata, posebno za pacijente koji su bili liječeni na javnim odjelima.

Prema znanstvenici Lauri M. Beskow priča o HeLa stanicama dovela je do rasprava o informiranom pristanku, komercijalizaciji i naknadi, privatnosti i povjerljivosti pacijenata, rasi, siromaštvu, zdravstvenim razlikama, obiteljskim implikacijama genetskih informacija, vlasništvu nad biouzorcima i integritetu u biomedicinskim istraživanjima. Beskow je tvrdila da je priča Henriette Lacks i njezine obitelji utjecala na promjene politike i regulative u Sjedinjenim Državama o informiranom pristanku. Na primjer, iako je Gey dao HeLa stanice svojim kolegama i svima koji su ih zatražili, stanična linija i otkrića koja su posljedica istraživanja na njima, bili su iznimno unosni. Međutim, obitelj Lacks nije dobila nikakvu financijsku naknadu i nastavila je živjeti u siromaštvu. 1990. godine zbog sličnog slučaja umiješao se i sud koji je presudio da nečije odbačene stanice nisu njihovo osobno vlasništvo i da se stanice iz njihovog tijela mogu komercijalizirati.

Godine 2013. istraživači u Heidelbergu u Njemačkoj objavili su detaljnu genomsku analizu DNA i RNA profila HeLa stanične linije, što je pokrenulo raspravu o genetskoj privatnosti, pristanku te pravnim i etičkim normama koje obuhvaćaju genetsko istraživanje. Kada je tim istraživača, predvođen genetičarom Larsom Steinmetzom, prvi put objavio svoj članak, "Genomski i transkriptomski krajolik stanične linije HeLa", kao ranu online verziju u časopisu G3: Genes, Genomics, Genetics, također su objavili informacije o sekvenciranju gena u online baze podataka. To je genetsku informaciju učinilo lako dostupnom znanstvenicima i javnosti. Kao odgovor, obitelj Lacks, koja je genetski potomak Henriette Lacks i stoga dijeli DNA s onom unutar stanične linije HeLa, prosvjedovala je zbog objave jer je učinjena bez pristanka obitelji. Tvrdili su da bi objavljivanje tih genetskih podataka moglo otkriti važne, osobne zdravstvene informacije koje bi mogle omogućiti tvrtkama za osiguranje života ili invalidnosti da nepravedno diskriminiraju obitelj. Nakon što su znanstvenici dokazali da je moguće izvesti genetske informacije o Henrietti

Lacks i njezinoj obitelji iz HeLa DNA sekvence, istraživački tim je povukao svoju objavu. Nakon sastanka s članovima obitelji Lacks, National Institutes of Health (NIH) je zaključio da će informacije o HeLa genomu biti dostupne znanstvenicima uz kontrolirani pristup. To je značilo da bi znanstvenici morali zatražiti pristup informacijama o genomu od radne skupine pri NIH-u, koju bi delegirala dva člana obitelji Lacks. Ta je odluka omogućila znanstvenicima da nastave koristiti genomske podatke za daljnje promicanje istraživanja koja uključuju staničnu liniju HeLa. Priča o liniji stanica HeLa također je izazvala kontroverze u vezi rase i klase, prava pacijenata i informiranog pristanka u zdravstvu [29].

3. Zaključak

HeLa stanice su značajan i neprocjenjiv doprinos medicinskim istraživanjima. Odigrale su ključnu ulogu u brojnim znanstvenim otkrićima i napretku u razumijevanju bolesti te razvoju novih tretmana. Njihova jedinstvena svojstva i mogućnosti učinile su ih široko korištenim i dostupnim alatom za istraživače diljem svijeta. Pridonijele su u proučavanju virusa, razvijanju antivirusne terapije, razotkrivanju genetske osnove bolesti, razumijevanju bolesti poput raka, AIDS-a, Alzheimerove i Parkinsonove bolesti. Upotreba HeLa stanica također je odigrala značajnu ulogu u otkrivanju i razvoju lijekova, testiranju širokog spektra lijekova na učinkovitost i toksičnost, razumijevanju stanične biologije i dr. Njihove jedinstvene karakteristike omogućile su istraživačima da istraže temeljne biološke procese i razotkriju složenost ljudske fiziologije. Besmrtna priroda HeLa stanica osigurala je znanstvenicima stabilan i pouzdan izvor ljudskih stanica za eksperimentiranje, eliminirajući potrebu za stalnim dobivanjem novih uzoraka od pacijenata. To je znatno ubrzalo tempo znanstvenih otkrića i pomoglo u spašavanju velikog broja života.

Dok gledamo u budućnost, HeLa stanice će vjerojatno ostati kamen temeljac znanstvenih istraživanja. Ostavština Henriette Lacks i njezinih izvanrednih stanica služi kao podsjetnik na važnost prava pacijenata i etičke odgovornosti koja dolazi s medicinskim napretkom. Nastavljajući napredovati u medicinskoj etici i osiguravajući da pacijenti imaju kontrolu nad vlastitim tkivima, možemo osigurati da doprinosi HeLa stanica i dalje budu od koristi čovječanstvu, istovremeno poštujući uspomenu na Henriettu Lacks.

4. Literatura

1. The Editors of Encyclopedia Britannica (2015). Tissue culture | biology. In: *Encyclopædia Britannica*.
<https://www.britannica.com/science/tissue-culture>
2. Nott, R. (2020). *HeLa cell line | the Embryo Project Encyclopedia*. The Embryo Project encyclopedia.
<https://embryo.asu.edu/pages/hela-cell-line>
3. Sodeke, S.O. and Powell, L.R. (2019). Paying Tribute to Henrietta Lacks at Tuskegee University and at The Virginia Henrietta Lacks Commission, Richmond, Virginia. *Journal of Health Care for the Poor and Underserved*, 30(4S), pp.1–11.
<https://doi.org/10.1353/hpu.2019.0109>
4. Jones, H.W. (1997). Record of the first physician to see Henrietta Lacks at the Johns Hopkins Hospital: History of the beginning of the HeLa cell line. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 176(6), pp.s227–s228.
[https://doi.org/10.1016/s0002-9378\(97\)70379-x](https://doi.org/10.1016/s0002-9378(97)70379-x)
5. Lucey, B.P., Nelson-Rees, W.A. and Hutchins, G.M. (2009). Henrietta Lacks, HeLa Cells, and Cell Culture Contamination. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 133(9), pp.1463–1467.
<https://doi.org/10.5858/133.9.1463>
6. Etheredge, L. (n.d.). *cervical cancer | Description, Symptoms, Treatment, & Prevention*. Encyclopedia Britannica.
<https://www.britannica.com/science/cervical-cancer>
7. Gey, G.O. (1954). Some aspects of the constitution and behavior of normal and malignant cells maintained in continuous culture. *Harvey Lectures*, 50, pp.154–229.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13306037/>
8. Bang, F.B. (1977). History of Tissue Culture at Johns Hopkins. *Bulletin of the History of*

Medicine, 51(4), pp.516–537.

<https://www.jstor.org/stable/44450465>

9. Culliton, B. J. “HeLa Cells: Contaminating Cultures around the World.” *Science*, vol. 184, no. 4141, 7 June 1974, pp. 1058–1059,
<https://doi.org/10.1126/science.184.4141.1058>
10. Gey, G. O. (1952). Tissue Culture Studies of the proliferative capacity of cervical carcinoma and normal epithelium. *Cancer Research*, 12, pp.264–265.
<https://cir.nii.ac.jp/crid/1571135650497459584>
11. Heng, H.H. (2013). HeLa genome versus donor’s genome. *Nature*, 501(7466), pp.167–167.
<https://doi.org/10.1038/501167d>
12. Kochetkov, D.V., Ilyinskaya, G.V., Komarov, P.G., Strom, E., Agapova, L.S., Ivanov, A.V., Budanov, A.V., Frolova, E.I. and Chumakov, P.M. (2007). Transcriptional inhibition of the human papilloma virus reactivates tumor suppressor p53 in cervical carcinoma cells. *Molecular Biology*, 41(3), pp.459–466.
<https://doi.org/10.1134/s0026893307030120>
13. Wu, L. and Qu, X. (2015). Cancer biomarker detection: recent achievements and challenges. *Chemical Society Reviews*, 44(10), pp.2963–2997.
<https://doi.org/10.1039/c4cs00370e>
14. Sfeir, A. and de Lange, T. (2012). Removal of Shelterin Reveals the Telomere End-Protection Problem. *Science*, 336(6081), pp.593–597.
<https://doi.org/10.1126/science.1218498>
15. Scherer, W.F., Syverton, J.T. and Gey, G.O. (1953). Studies on the propagation in vitro of poliomyelitis viruses. IV. Viral multiplication in a stable strain of human malignant epithelial cells (strain HeLa) derived from an epidermoid carcinoma of the cervix. *The Journal of Experimental Medicine*, 97(5), pp.695–710.
<https://doi.org/10.1084/jem.97.5.695>

16. Brand, K.G. and Syverton, J.T. (1962). Results of Species-Specific Hemagglutination Tests on 'Transformed,' Nontransformed, and Primary Cell Cultures². *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*.
<https://doi.org/10.1093/jnci/28.1.147>
17. Gartler, S.M. (1967). Genetic markers as tracers in cell culture. *National Cancer Institute Monograph*, 26, pp.167–195.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4864103/>
18. Gartler, S.M. (1968). Apparent HeLa Cell Contamination of Human Heteroploid Cell Lines. *Nature*, 217(5130), pp.750–751.
<https://doi.org/10.1038/217750a0>
19. Nelson-Rees, W. and Flandermeyer, R. (1976). HeLa cultures defined. *Science*, 191(4222), pp.96–98.
<https://doi.org/10.1126/science.1246601>
20. Jackson, N. (2020). *Vessels for Collective Progress: the use of HeLa cells in COVID-19 research*. Science in the News.
<https://sitn.hms.harvard.edu/flash/2020/vessels-for-collective-progress-the-use-of-hela-cells-in-covid-19-research/>
21. Zhou, P., Yang, X.-L., Wang, X.-G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., Si, H.-R., Zhu, Y., Li, B., Huang, C.-L., Chen, H.-D., Chen, J., Luo, Y., Guo, H., Jiang, R.-D., Liu, M.-Q., Chen, Y., Shen, X.-R., Wang, X. and Zheng, X.-S. (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 579(7798), pp.270–273.
<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>
22. Ou, X., Liu, Y., Lei, X., Li, P., Mi, D., Ren, L., Guo, L., Guo, R., Chen, T., Hu, J., Xiang, Z., Mu, Z., Chen, X., Chen, J., Hu, K., Jin, Q., Wang, J. and Qian, Z. (2020). Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV. *Nature Communications*, 11(1).
<https://doi.org/10.1038/s41467-020-15562-9>

23. Nedim (2015). *Henrietta Lacks: Žena koja je značajno doprinijela razvoju nauke (a da to nije ni znala)*. Pixelizam.
<http://pixelizam.com/henrietta-lacks-zena-koja-je-znacajno-doprinjela-razvoju-nauke-a-da-to-nije-ni-znala/>
24. Cheng, I. (n.d.). *Presentation — Henrietta Lacks (HeLa Cells) | Celia Chang*.
you.stonybrook.edu.
<https://you.stonybrook.edu/iechang/presentation-henrietta-lacks-hela-cells/>
25. Wang, D.O., Matsuno, H., Ikeda, S., Nakamura, A., Yanagisawa, H., Hayashi, Y. and Okamoto, A. (2011). A quick and simple FISH protocol with hybridization-sensitive fluorescent linear oligodeoxynucleotide probes. *RNA*, 18(1), pp.166–175.
<https://doi.org/10.1261/rna.028431.111>
26. Zhukov-Verezhnikov, N.N. and NASA (1964). *Results of microbiological and cytological investigations on vostok type spacecraft (itogi mikrobiologicheskikh i tsitologicheskikh issledovaniy na kosmicheskikh korablyakh tipa “vostok”)*. Internet Archive.
https://archive.org/details/nasa_techdoc_19650002618/page/n3/mode/2up
27. Hsiang, Y.H., Hertzberg, R., Hecht, S. and Liu, L.F. (1985). Camptothecin induces protein-linked DNA breaks via mammalian DNA topoisomerase I. *The Journal of Biological Chemistry*, 260(27), pp.14873–14878.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2997227/>