

Matične stanice oralnih tkiva i njihova potencijalna primjena u regeneracijskoj medicini

Vuger, Lovro

Master's thesis / Diplomski rad

2020

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:127:387761>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial 4.0 International](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2021-10-17**



Repository / Repozitorij:

[University of Zagreb School of Dental Medicine Repository](#)





Sveučilište u Zagrebu
Stomatološki fakultet

Lovro Vuger

**MATIČNE STANICE ORALNIH TKIVA I
NJIHOVA POTENCIJALNA PRIMJENA U
REGENERACIJSKOJ MEDICINI**

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2020.

Rad je ostvaren na Stomatološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, na Zavodu za oralnu medicinu

Mentor rada: prof. dr. sc. Ivan Alajbeg, Zavod za oralnu medicinu Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Lektor hrvatskog jezika: Marija Križanac, profesorica hrvatskog jezika i književnosti

Lektor engleskog jezika: Irena Tomić, profesorica njemačkog jezika i književnosti i engleskog jezika i književnosti

Sastav Povjerenstva za obranu diplomskog rada:

(za svakog člana Povjerenstva naknadno se rukom na za to predviđeno mjesto upisuju ime i prezime, akademsko zvanje i ustanova)

1. _____
2. _____
3. _____

Datum obrane rada: _____

(upisuje se naknadno rukom)

Rad sadrži: 34 stranice

3 slike

1 CD

Rad je vlastito autorsko djelo, koje je u potpunosti samostalno napisano uz naznaku izvora drugih autora i dokumenata korištenih u radu. Osim ako nije drukčije navedeno, sve ilustracije (tablice, slike i dr.) u radu su izvorni doprinos autora diplomskog rada. Autor je odgovoran za pribavljanje dopuštenja za korištenje ilustracija koje nisu njegov izvorni doprinos, kao i za sve eventualne posljedice koje mogu nastati zbog nedopuštenog preuzimanja ilustracija odnosno propusta u navođenju njihovog podrijetla.

Zahvala

Zahvaljujem se mentoru prof. dr. sc. Ivanu Alajbegu na pomoći u izradi ovog rada, prenesenom znanju i uvijek iskazanoj podršci u mojim izvannastavnim ambicijama.

Hvala prijateljima na mnogo nezaboravnih uspomena tokom studentskih dana.

Hvala Petri na uvijek pruženoj podršci i ljubavi.

Posebno se zahvaljujem obitelji na neograničenom strpljenju i razumijevanju.

MATIČNE STANICE ORALNIH TKIVA I NJIHOVA POTENCIJALNA PRIMJENA U REGENERACIJSKOJ MEDICINI

Sažetak

Matične stanice vrsta su stanica organizma koje su karakterizirane potencijalom samoobnove i diferencijacije u druge vrste stanica. Prema potencijalu diferencijacije dijele se na totipotentne, pluripotentne, multipotentne i unipotentne. U odraslom organizmu postoje samo u obliku multipotentnih i unipotentnih, a najpoznatiji primjer su hematopoetske i mezenhimalne. Mezenhimalne matične stanice diferenciraju se u mezodermalne derivate, poput kosti, hrskavice, mišića, masnog tkiva ili krvožilnog sustava. U usnoj šupljini nalaze se u pulpi zuba, paradontnom ligamentu, apikalnoj papili, sluznici usne šupljine i zubnom folikulu. Mogu se izolirati iz navedenih tkiva te, stavljajući ih u različite medije, diferencirati u mezodermalne derivate, neuralnu lozu te u manjoj mjeri i endodermalne derivate. Navedeni derivati mogu se dobiti i iz bilo koje druge somatske stanice; one se prije raznim reprogramirajućim faktorima mogu ponovno vratiti u pluripotentne, nalik embrionalnim stanicama. Somatske stanice dobivene diferencijacijom matičnih stanica potom bi se mogle iskoristiti u regeneraciji tkiva kod određenih degenerativnih bolesti, primjerice neuroloških ili kardiovaskularnih. Terapija matičnim stanicama čini se obećavajućom, ali potrebno je još istraživanja kako bismo bili sigurni da navedene stanice neće prouzročiti nepogodne ishode, poput maligne transformacije ili dobivanja tkiva koje ne uspijeva vršiti svoju fiziološku funkciju.

Ključne riječi: Matične stanice, mezenhimalne matične stanice, diferencijacija

ORAL TISSUES STEM CELLS AND THEIR POTENTIAL APPLICATION IN REGENERATIVE MEDICINE

Summary

Stem cells are type of cells within the organism which are characterized by self-renewal potential and the potential to differentiate into other cell types. Regarding differentiation potential, they can be divided into totipotent, pluripotent, multipotent and unipotent. In a fully grown organism they can be found only as multipotent and unipotent, with best-known examples being hematopoietic and mesenchymal stem cells. Mesenchymal stem cells differentiate themselves into mesodermal derivatives, e.g. bones, cartilages, muscles, fat tissue or cardiovascular system. In an oral cavity they are situated in dental pulp, periodontal ligament, apical papilla, oral mucosa and dental follicle. They can be isolated from previously mentioned tissues and by putting them into different media, they can be differentiated into mesodermal derivatives, neural lineage or, to a lesser degree, endodermal derivatives. Listed derivatives can be also obtained from any other type of somatic cell, which can previously be turned into pluripotent like cells similar to embryonic cells, using reprogramming factors. Somatic cells obtained by differentiation of stem cells could potentially be used in tissue regeneration in some degenerative conditions, e.g. neurological disorders or cardiovascular diseases. Stem cell therapy seems as promising one, but it is necessary to perform more research to be sure that listed cells will not cause adverse outcomes, like malignant transformation or turning into tissue that cannot perform its physiological role.

Key words: Stem cells, mesenchymal stem cells, differentiation

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. ŠTO SU MATIČNE STANICE	4
3. MEZENHIMALNE MATIČNE STANICE	7
4. HISTOLOGIJA ORALNE SLUZNICE I LOKALIZACIJA MATIČNIH STANICA	10
5. SPECIFIČNOSTI MATIČNIH STANICA USNE ŠUPLJINE	13
6. ISTRAŽIVANJA I TERAPIJSKI POTENCIJAL	15
6.1. Povijest.....	16
6.2. Embrionalne matične stanice.....	16
6.3. Somatske matične stanice.....	17
6.4. Inducirane pluripotentne matične stanice	18
6.5. Medij ili niša.....	19
6.6. Diferencijacija hOMSC u neuralnu lozu	19
6.7. Diferencijacija hOMSC u mezodermalne derivate.....	211
7. RASPRAVA	22
8. ZAKLJUČAK	26
9. LITERATURA	28
10. ŽIVOTOPIS	33

Popis skraćenica

ESC – embrionalne matične stanice

MSC – mezenhimalne matične stanice

hOMSC – humane matične stanice oralne sluznice

DPSC – matične stanice zubne pulpe

PDL-Sc – matične stanice parodontnog ligamenta

TSSC – tkivno specifične matične stanice

ASC – adultne matične stanice

iPSC – inducirane pluripotentne matične stanice

Matične stanice čine jednu od mnogih vrsta stanica organizma, a karakterizirane su potencijalom samoobnove i diferencijacije u druge vrste stanica, čime čine ključnu ulogu u razvoju organizma (1). Za sada su još relativno novo područje znanosti koje je približilo medicini potencijalno nove načine liječenja raznih bolesti. Mnoge neurološke bolesti nazivamo neurodegenerativnim, a karakterizirane su ireverzibilnim oštećenjem tkiva središnjeg živčanog sustava, npr. neurona koji luče dopamin u bazalnim ganglijima kod Parkinsonove bolesti i gubitkom neurona uz atrofiju korteksa kod Alzheimerove bolesti (2). Ireverzibilna oštećenja tkiva možemo naći i u mnogim drugim organskim sustavima, primjerice kardiovaskularnom. Srce ima vrlo limitiranu mogućnost regeneracije te nakon infarkta miokarda ne može nadomjestiti odumrle kardiomiocite (3). Budući da su se svi organski sustavi i sve stanice razvile iz matičnih stanica, evidentno je da se matične stanice mogu diferencirati u bilo koju stanicu tijela; tvrdnja je to na kojoj se zasniva tkivno inženjerstvo kao nova grana medicine (4). Matične stanice, kojih ima kako za vrijeme embrionalnog razvoja, tako i u odraslom organizmu, mogle bi se stoga koristiti u diferenciranju specifičnih stanica i generiranju tkiva kojim bi se moglo zamijeniti ono ireverzibilno oštećeno u pacijentu (4). U organizmu su prisutne od samog početka, krenuvši od prve stanice, zigote, preko embriogeneze u kojima se različite vrste matičnih stanica diferenciraju u više specifična tkiva. Mnoga tkiva će zatim zadržati određeni tip matičnih stanica koje vrše funkciju obnove tkiva kroz cijeli život (1). Tako se između ostalog mogu naći i na više mjesta u usnoj šupljini, poput pulpe zuba, parodontnog ligamenta ili sluznici usne šupljine (5). Matične stanice usne šupljine (hOMSC, eng. human oral mucosal stem cells), poput i mnogih tkiva glave i vrata, porijeklom su iz neuralnog grebena, što rezultira njihovim velikim multipotentnim potencijalom diferencijacije u ektodermalne i mezodermalne derivate (6). Doda li se tome dostupnost sluznice usne šupljine kao mjesto iz kojeg se uzimaju stanice, hOMSC čine naizgled idealnu populaciju stanica za napredak istraživanja matičnih stanica i tkivnog inženjerstva (7). Prvi uspjesi u tkivnom inženjerstvu kreću još od 1952., kada je klonirana žaba koristeći jezgru blastociste (8). 1981. godine prvi su put izolirane embrionalne matične stanice iz embrija miša (8), te su zatim uslijedila intenzivna istraživanja navedenih stanica koja su probudila veliki interes za ovo novo područje, a autor Martin J. Evans za otkriće embrionalnih matičnih stanica 2007. godine primio je Nobelovu nagradu. Istraživanja su zatim redala otkrića koja su se nadograđivala, od izolacije humanih embrionalnih matičnih stanica, kada su krenule i etičke podjele oko navedene teme, preko izoliranja raznih adultnih matičnih stanica, do otkrića reverzibilnosti diferencijacije i dobivanja induciranih pluripotentnih matičnih stanica nalik onima iz

embrija, koristeći diferencirane somatske stanice (za navedeno otkriće, 2012. godine John Gurdon i Shinya Yamanaka također su primili Nobelovu nagradu). Prve otkrivene matične stanice ipak nisu embrionalne, nego hematopoetske, još 1960-ih.

Svrha je ovog rada objasniti svojstva matičnih stanica, kroz njihov razvoj objasniti svrhu tih stanica te potencijalne načine iskorištavanja u znanosti i regeneracijskoj medicini.

2. ŠTO SU MATIČNE STANICE

Matične stanice vrsta su stanica organizma koju karakterizira potencijal samoobnove i diferencijacije u druge vrste stanica, čime igraju ključnu ulogu u razvoju organizma (1). Matične stanice mogu se dijeliti prema svojem razvojnom potencijalu. To su ujedno i dvije osnovne karakteristike matičnih stanica: mogućnost da se mogu veliki broj puta dijeliti u stanice nalik sebi i da se iz njih može razviti druga specijalizirana (diferencirana) stanica koja postaje integralni dio zdravog organizma (4). Prema mogućnosti diferencijacije u druge tipove stanica, najveću moć imaju totipotentne matične stanice, poput one u zigote. One imaju mogućnost diferencijacije u bilo koju stanicu organizma (8), kao i suportivne embrionalne stanice, a to su fetalna membrana i posteljica (1). Slijedi stadij blastociste, koji ima periferni sloj stanica (trofoblast) iz kojeg se razvija placenta te unutarnja stanična masa, od koje nastaje fetus (5-6 dana nakon oplodnje). Prema potencijalu pretvorbe, stanice unutarnje stanične mase pluripotentne su. One više nemaju mogućnost diferencijacije u suportivne embrionalne stanice, ali mogu se diferencirati u sva 3 zametna listića, ektoderm, mezoderm i endoderm te u sve stanice koje iz njih proizlaze (9). Nazivaju se embrionalne matične stanice (ESC, eng. embryonic stem cells). Pluripotentne stanice u normalnom su razvoju organizma prisutne samo kratak period u fazi embrija (4), nakon čega se diferenciraju u više usmjerene stanice, takozvane multipotentne matične stanice. Takve se stanice nazivaju još i tkivno specifične ili TSSC (eng. Tissue specific stem cells), odnosno adultne matične stanice (ASCs, eng. adult stem cells). One se mogu diferencirati samo u stanice svoje loze u normalnim fiziološkim uvjetima. Funkcionalne tkivno specifične matične stanice imperativ su za normalnu obnovu tkiva, organskog sustava i organizma općenito (10). Najpoznatiji primjer su hematopoetske matične stanice, iz kojih mogu nastati sve stanice krvne loze, eritrociti, trombociti i leukociti. Najograničeniji potencijal imaju unipotentne stanice, koje se mogu diferencirati samo u jedan tip stanica, npr. eritrociti nastaju iz unipotentne eritroidne progenitorne stanice (11).

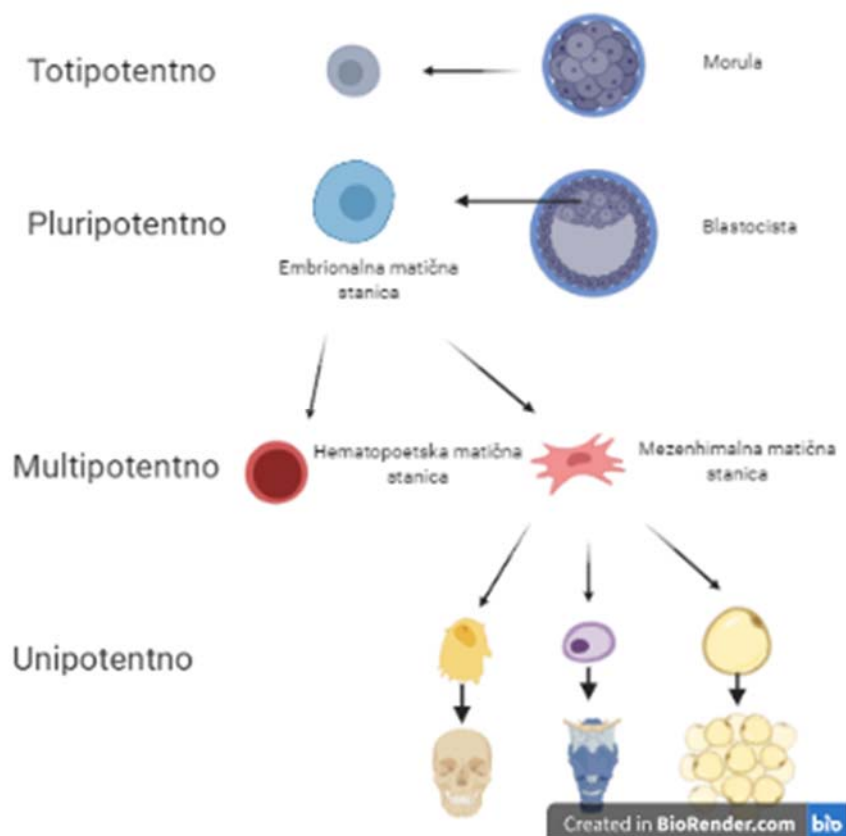
Matične stanice imaju 4 moguće sudbine, koje proizlaze iz njihovih osnovnih svojstva. Mogu mirovati bez dijeljenja, zadržavajući svoje mjesto u takozvanom bazenu matičnih stanica. Druga je mogućnost samoobnova, odnosno dijeljenje u dvije stanice kćeri koje su obje nalik izvornoj stanici. Treća je asimetrična obnova, odnosno dijeljenje u dvije stanice od kojih je jedna kopija izvorne stanice, dok je druga stanica nasljednik, više specijalizirana somatska stanica. Četvrta je dijeljenje u dvije stanice koje više nisu nalik matičnoj, što rezultira proliferacijom tkiva i gubitkom te matične stanice iz bazena (4).

Sve stanice slijede put diferencijacije do svojeg konačnog oblika, nakon čega ostaju stabilne i više se ne mijenjaju u normalnim uvjetima. Određena promjena okruženja, npr. nekakav iritans,

može ponovno mijenjati usmjerenje stanice u drugi oblik diferencirane stanice, procesom koji se zove metaplazija (1), ili prijeći u oblik poremećene tkivne arhitekture, što se naziva displazija te predstavlja početak maligne transformacije (12). Maligne stanice općenito dijele jednu sličnost s matičnim stanicama, a to je mogućnost neograničenog dijeljenja u stanice jednake sebi (4). Pozadina te sličnosti ipak nije do kraja razjašnjena. Naime, besmrtnost stanica raka posljedica je aktivnosti telomeraze, reverzne transkriptaze koja produžuje telomere (13). Telomere su ponavljajući slijedovi nukleotida koji se nalaze na rubu kromosoma, održavaju njegovu stabilnost te se svakom mitozom smanjuju. Nakon što se smanje do kritične razine, induciraju staničnu apoptozu. Telomeraza je fiziološki aktivna u embrionalnim stanicama (što objašnjava neograničeno dijeljenje ESC), međutim, kasnije se kroz diferencijaciju utišavaju geni koji ju kodiraju te u stanicama odraslog organizma postaje smanjeno aktivna ili neaktivna, uz izuzetak limfocita (7). Kod stanica raka ponovno postaje aktivna i stanice time izbjegavaju apoptozu, odnosno postaju „besmrtne“. Matične stanice odraslog organizma, međutim, nemaju aktivnu telomerazu poput ESC i stanica raka ili je njena aktivnost jako suptilna te nije posve razjašnjen njihov duži životni vijek u usporedbi s ostalim somatskim stanicama (13). Stanice raka razlikuju se od matičnih stanica i po tome što iz njih ne mogu više nastati visoko specijalizirane stanice koje će vršiti svoju uobičajenu fiziološku funkciju. Drugim riječima, iako rak sam po sebi može generirati stanice nalik stanicama organizma, npr. stanicama koje luče hormone, one se nalaze na ektopičnim mjestima i ne sudjeluju u uobičajenim fiziološkim funkcijama jednako kao zdrave stanice (14).

3. MEZENHIMALNE MATIČNE STANICE

Uz hematopoetske, mezenhimalne matične stanice (MSC, eng. mesenchymal stem cells) čine najveću skupinu multipotentnih matičnih stanica. Otkrivene su najprije u koštanoj srži te su se iz tog izvora do danas najviše i proučavale, međutim, mogu se izolirati i iz masnog tkiva, pupkovine, Whartonove sluzi, amnionske tekućine, skeletnih mišića, periosta, gingive, parodontnog ligamenta, jetre, pluća, menstrualne krvi (15), kao i sinovijalne tekućine, živčanog sustava, tetiva i dr. (16). Kako bi se mogle smatrati mezenhimalnim matičnim stanicama, stanice moraju ispuniti tri glavna kriterija koje je predložio ISCT (The International Society for Cellular Therapy): 1) da su adherentne na plastične površine; 2) više od 95% stanica mora pokazati ekspresiju površinskih molekula CD105, CD73 ili CD90, kao i manje od 2% površinskih molekula CD45, CD34, CD14 i CD19 (CD, eng. *cluster of designation* ili *classification determinant* je protokol identifikacije površinskih molekula) i kompleksa MHC II (eng. major histocompatibility complex, molekule koje se nalaze na antigen-predočnim stanicama poput B-stanica, monocita, makrofaga i dendritičkih stanica); 3) pokazati multipotentni diferencijacijski potencijal (12). Njihovo svrstavanje u multipotentne matične stanice upućuje na diferencijacijski potencijal prvenstveno u mezodermalne derivate, npr. hrskavice, kosti, mišiće, masno tkivo ili krvožilni sustav (17). Slika 1 pokazuje shemu diferencijacije od zigote do mezodermalnih derivata. Međutim, do sada su se uspješno usmjerile i u stanice neuralne loze (7, 18), koje su ektodermalni derivat (17), kao i Langerhansove otočiće gušterače (15), koji su endodermalni derivat (17). MSC igraju vrlo značajnu ulogu u regeneraciji tkiva lučenjem faktora rasta: SDF-1, HGF, IGF-1, EFG, NGF, TGF- α i VEGF. Drugo im je svojstvo migriranje prema mjestu ozlijede, gdje lokalni faktori poput hipoksije i određenih citokina (IL-1 β , TNF- β , IFN- γ) stimuliraju MSC na lučenje navedenih faktora rasta. MSC sudjeluju i u kontroli imunološkog odgovora, u kojem mogu suprimirati aktivnost T limfocita (15). Općenito, ponašanje matičnih stanica, njihovo dijeljenje i proliferacija pod kontrolom su njihova okoliša, takozvane niše, o čemu će biti riječi kasnije. MSC se razlikuju od ESC, osim po potencijalu diferencijacije, i po životnom vijeku. Iako se MSC mogu dijeliti značajan broj puta, taj je broj čini se ipak ograničen i u jednom trenu završava (16). On se razlikuje među MSC, ovisno o tkivu iz kojeg su izolirane, primjerice MSC iz mišićnog i masnog tkiva dijele se manje puta *in vitro* od onih iz koštane srži, sinovijalne tekućine ili oralne mukoze (19). Razlikuju se i prema uspješnosti diferencijacije u razna tkiva, ovisno o mjestu izolacije, odnosno njihovoj fiziološkoj funkciji na tom dijelu tijela. Osteogena diferencijacija bolje se postiže kod MSC iz koštane srži u usporedbi s ostalima, dok se recimo hondrogena odlično postiže stanicama iz sinovijalne tekućine (16).



Slika 1. Shema diferencijacije. Izrađeno u BioRender.com

**4. HISTOLOGIJA ORALNE SLUZNICE I LOKALIZACIJA MATIČNIH
STANICA**

Epitel oralne strane usnica, dna usne šupljine, gingive, obraza i tvrdog nepca nastaje iz embrionalnog ektoderma i neuralnog grebena, dok je epitel jezika i endodermalnog i ektodermalnog podrijetla. Većina vezivnog tkiva nastaje iz neuralnog grebena. Oralna se sluznica sastoji od epitelnog dijela te podležućeg vezivnog tkiva, lamine proprije. Epitelni je dio mnogoslojni pločasti te nalikuje epidermisu kože i sastoji se od temeljnog sloja (stratum basale), nazubljenog sloja (stratum spinosum), zrnatog sloja (stratum granulosum) te rožnatog sloja (stratum corneum), odnosno površnog sloja (stratum superficiale). Razlikuje se od epidermisa po izostanku svijetlog sloja (stratum lucidum). Matične stanice nalaze se unutar temeljnog sloja, gdje se odvija dioba stanica. Prema razlikama u epitelu, oralna se sluznica može podijeliti u mastikatornu (tvrdo nepce i gingiva), oblažuću (meko nepce, obrazna sluznica, unutarnja stranica usnica, ventralna strana jezika i dno usne šupljine) te specijaliziranu (dorzum jezika) (20). Rožnati sloj karakteristika je mastikatorne sluznice i sastoji od slojeva tankih, pločastih stanica bez jezgre (21). Otprilike 25% cijele površine oralne sluznice čini oblažuća, koja se nalazi na mjestima izloženim jačim mehaničkim opterećenjima (22). Površni sloj, odnosno stratum superficiale, nalazimo na oblažućoj sluznici umjesto rožnatog, od kojeg se razlikuje po tome što površinske stanice sadrže jezgru (21). Nalazimo ga na otprilike 60% površine, u kojoj je nužna fleksibilnost navedenog tkiva radi žvakanja, gutanja i govorenja. Specijalizirana sluznica čini ostalih 15% te histološki nalikuje mozaiku keratiniziranog i nekeratiniziranog epitela (22). U njoj nalazimo i jezične papile (nitaste, listaste, gljivaste i papile circumvallate), koje sadrže okusne pupoljke (osim nitastih) (21).

Smatra se da matične stanice čine rezervoar stanica koje doživotno služe obnovi tkiva (22). Mitoze matičnih stanica u bazalnom sloju početak su diferencijacije i životnog ciklusa stanice koji traje 14 - 24 dana. Stanica izlučuje keratin, postepeno gubi organele, postaje sve tanja, pomiče se polako prema površnom sloju te tako prođe kroz cijelu debljinu epitela, dok u konačnici ne otpadne s površine (20, 22).

Lamina propria gusto je vezivno tkivo koje je bazalnom membranom odvojeno od epitela (21). Sadrži male žlijezde slinovnice, gradivna vlakna, krvne žile, fibroblaste te ostale dijelove vezivnog tkiva. Histološki granica između epitela i lamine proprije izgleda nazubljeno, s undulacijama epitela u laminu propriju i protruzije izdanaka lamine proprije u epitel. Navedeni oblik granice služi povećanju površine kontakta navedene dvije strukture, što čini tu granicu čvršćom i čuva ju od odvajanja prilikom mastikacije (22). Unutar lamine proprije nalaze se i matične stanice porijeklom iz neuralnog grebena (19).

Unutar usne šupljine, osim sluznice usne šupljine, matične stanice možemo naći u parodontnom ligamentu, dentalnoj pulpi, apikalnoj papili i zubnom folikulu za vrijeme razvoja zuba (23).

5. SPECIFIČNOSTI MATIČNIH STANICA USNE ŠUPLJINE

Oralna sluznica pogodno je mjesto za uzimanje bioptata i izolaciju stanica. Rane na sluznici nakon ekscizije tkiva brzo cijele (brže od kože) i brzina cijeljenja nije pod utjecajem spola ili dobi pojedinca (19, 22). Jedan razlog je vlažnost usne šupljine jer u vlažnom mediju rane općenito brže cijele (24). Drugi je razlog sama histološka građa koja uključuje visoko potentne stanice podrijetlom iz neuralnog grebena. Te se stanice nazivaju matične stanice oralne sluznice (hOMSC, eng. human oral mucosal stem cells) i mogu se izolirati i iz vrlo malih uzoraka tkiva. (5). U usporedbi s mezenhimalnim matičnim stanicama drugih tkiva, pokazuju visok stupanj samoobnove, što je vjerojatno rezultat njihovog porijekla i faktora rasta kojeg same izlučuju (5). Faktori koje izlučuju su FGF-2, EGF, VEGF i NGF te oni potiču staničnu proliferaciju (19). hOMSC također pokazuju izvrstan potencijal diferencijacije te je više radova dokazalo njihovu moguću pretvorbu u osteoblaste, hondroblaste, adipocite i neuralnu lozu, o čemu će biti više riječi u sljedećem poglavlju (7, 25).

Matične stanice pulpe zuba (DPSC, eng. dental pulp stem cell) ograničenije su od onih u sluznici te se ne može doći do njih, a da se ne žrtvuje zub. Međutim, mogu se izolirati iz ekstrahiranih umnjaka te mliječnih zubi, odnosno u ograničenim su dozama dostupne i bez nepotrebne mutilacije (neopravdane ekstripacije vitalne pulpe). One bi se mogle koristiti za regeneraciju mekih tkiva pulpe, ali i mineraliziranih tkiva, poput dentina, pa čak i kosti (5). Postignuta je i diferencijacija u osteoblaste i adipocite, kao i u stanice neuralne loze (26).

Među stanicama parodontnog ligamenta također su izolirane matične stanice (PDL-SC, eng. periodontal ligament stem cell) kojima se uspjela *in vitro* postići diferencijacija u više loza, poput i navedenih stanica iz oralne sluznice i pulpe. Međutim, istraživanja su prvenstveno usmjerena na regeneraciju oralnih tkiva, posebice cementa zuba i samog parodontnog ligamenta (5).

6. ISTRAŽIVANJA I TERAPIJSKI POTENCIJAL

6.1. Povijest

Od prve izolacije matičnih stanica do danas, mnogo je pažnje usmjereno u njihovo istraživanje, razumijevanje i traženja svih potencijalnih područja za njihovo korištenje u humanoj medicini. Još 1952. Briggs i King dokazali su da se transferom jezgre iz stadija blastule embrija žabe u novo jajašce razviju punoglavci. Novi veliki korak napravio je John Gurdon nakon što je postigao isti rezultat koristeći diferencirane stanice crijeva žabe. Prvi sisavac na kojem se izveo sličan eksperiment, bila je ovca, 1996. u Edinburghu (ovca Dolly), transplantacijom jezgre odrasle somatske stanice, što je bio eksperiment kojim se dokazao potpuni razvojni kapacitet čak i posve diferencirane stanice (1).

6.2. Embrionalne matične stanice

Pluripotentne matične stanice porijeklom iz unutarnje mase humane blastociste izolirane su 2000. godine (2). Taj proces podrazumijeva uništavanje ljudske blastociste, te su zbog etičkih razloga takva istraživanja kontroverzna i ograničena, regulirana zakonima koji se razlikuju među državama. Istraživanja matičnih stanica embrija iz tog se razloga najčešće izvode na miševima, na kojima je i dokazano da se izolirane pluripotentne matične stanice same po sebi mogu neograničeno dijeliti i imaju kapacitet diferencijacije u bilo koju drugu stanicu (2, 9). Uz ova svojstva koja dijele i ljudske i mišje embrionalne matične stanice, postoje i slični površinski antigeni, transkripcijski faktori i enzimske aktivnosti (npr. alkalna fosfataza). Razlikuju se, međutim, u ekstracelularnim signalima koji reguliraju transkripcijske faktore. Ta razlika, iako suptilna, čini malo vjerojatnim da bi se mišje stanice mogle koristiti u terapiji unutar humane medicine, što ih ograničava na modele za istraživanja (4). Istraživanja pluripotentnih matičnih stanica provedena su na stanicama unutarnje stanične mase blastociste, koje se mogu kultivirati i svojim dijeljenjem održati „besmrtnim“, što ipak nije postignuto sa zigotom ili blastomerom (1). Naime, istraživanja pokazuju da postoje inter-blastomerne razlike već u četverostaničnom stadiju embrija (27). Istraživanja s ESC, iako ograničena, u nekim se državama provode te su objavljeni čak i klinički pokusi. Oni se izvode na pokusnim životinjama, iako je riječ o ljudskim stanicama. 2010. predstavljen je prvi klinički pokus liječenja ozljeda leđne moždine progenitorima oligodendrocita dobivenih iz ESC (4). Iz ESC uspješno su dobiveni i kardiomiociti, koji su se potom pokušali implementirati u pokusne životinje, npr. štakore kojima je induciran infarkt miokarda. Drugi dio pokusa pokazao se manje uspješnim te ta

metoda ima još dosta nedostataka, poput ograničenog broja stanica koje prežive nakon transplantacije i nedostatne zrelosti stanica za izvršavanje funkcije. Kardiomiociti dobili su se i iz induciranih pluripotentnih stanica, kao i direktnim reprogramiranjem somatskih stanica korištenjem transkripcijskih faktora (3).

6.3. Somatske matične stanice

Istraživanja kojima se traži potencijalna medicinska primjena matičnih stanica u prvom se redu odvijaju na somatskim, odnosno tkivno specifičnim matičnim stanicama, koje su lakše dostupne i ne povlače za sobom etičke dvojbe. Na njima se proučava njihov potencijal diferencijacije i potencijalna plastičnost, odnosno usmjeravanje TSSC u stanice druge loze (2).

Do sad je jedna od najčešćih uporaba matičnih stanica, ujedno i najstarija, transplantacija hematopoetskih matičnih stanica. One se transplantiraju u pacijenta oboljelog od neke krvne nasljedne ili maligne bolesti, nakon što su se zloćudne ili nefunkcionalne stanice uništile visokim dozama kemoterapije ili radijacije (1). Multipotentne hematopoetske matične stanice tada se koriste kao regenerativna terapija za obnovu krvne slike pacijenta, jer se iz njih sintetiziraju ostale stanice krvne loze, limfociti, megakariociti i eritrociti (1, 4). Matične se stanice povremeno koriste i u kultiviranju kožnih graftova za liječenje velikih rana kože, poput opekline trećeg stupnja. Za sada navedeni pristup ipak nije prioritet zbog visoke cijene, konzumacije vremena i nemogućnosti da se na navedeni način dobiju adneksi kože (folikuli dlake, žlijezde znojnice i lojnice) (28). Kenyon i Tseng opisali su transplantate rožnice uzgojene iz matičnih stanica dobivenih biopsijom limbusa oka (29). Kliničke studije sugeriraju i transplantacije matičnih stanica u liječenju neurodegenerativnih bolesti, poput Parkinsonove i Huntingtonove bolesti. U konačnici, veliki rezultati postignuti su i u liječenju nasljednih bolesti, poput X-vezanih imunodeficijencija koje su izliječene u nekoliko pacijenata, međutim dio pacijenata posljedično je razvio leukemiju, što je razlog trenutnog stagniranja navedenih istraživanja (30). Liječene su i krvne nasljedne bolesti, poput β – talasemije i anemije srpastih stanica na način da su se iz matičnih stanica dobili graftovi tkiva, koji su potom genski modificirani i vektorom uneseni u organizam (31).

Istraživanja na životinjama pokazuju obećavajuće rezultate i na drugim organskim sustavima, poput korištenja mezenhimalnih matičnih stanica u liječenju osteoartrisa (32).

Iako se dugo mislilo da je diferencijacija stanica ireverzibilan proces, dokazalo se da stanica može promijeniti svoje usmjerenje, na neki se način reprogramirati (8). Već je rečeno da su somatske matične stanice ograničene i bez genetske manipulacije ne mogu promijeniti svoju diferencijaciju u druge tipove tkiva. Međutim, otkrivene su metode „reprogramiranja“ kojima je postignuto usmjerenje diferencirane stanice u stanice druge loze, npr. fibroblaste u mišićne stanice ili egzokrine stanice gušterače u beta-otočiće gušterače koji proizvode inzulin (1). Također su opisane metode tretiranja matičnih stanica *in vitro* genima koji ih „dediferenciraju“, odnosno vrate u pluripotentno stanje, nalik embrionalnim stanicama (9).

6.4. Inducirane pluripotentne matične stanice

Preusmjerenje somatskih stanica u pluripotentne matične stanice prvi je put napravljeno u Japanu 2006. godine, čime su stvorene takozvane inducirane pluripotente matične stanice (iPSC, eng. induced pluripotent stem cells) (33). Dobivene su iz mišjih fibroblasta. Sljedeće je godine ista skupina autora dobila takve stanice i iz ljudskih fibroblasta (34). Stanice su prema mnogim osobinama posve nalik pravim ESC, npr. morfologiji stanice, metilaciji DNA, ekspresiji antigena stanične stijenke i transkripcijskih faktora vezanih za pluripotentnost. To otkriće otvara mnoge nove mogućnosti istraživanja i terapije takozvanim tkivnim inženjerstvom, ali ovaj put bez etičkih dilema oko porijekla stanica, uz njihovu veću dostupnost (33). Sam proces najčešće se sastoji od korištenja 4 reprogramirajuća faktora, Oct4, Sox2, Klf4 i c-Myc koji se unose u stanice vektorima. Najčešće korišteni vektor je retrovirus (34). Najčešće korištene stanice kod ljudi su fibroblasti ili adipociti, a iPSC su uspješno dobivene i iz amnijskih stanica, periferne krvi, umbilikalne krvi, stanica zubne pulpe i oralne mukoze (33).

Uporaba iPSC posebice bi mogla doprinijeti u proučavanju modela bolesti i njihovih mehanizama, otkrivanju novih lijekova, regenerativnoj medicini te regulaciji gena (35). Tako su Wernig i suradnici (36) diferencirali neurone iz iPSC koje su dobili iz fibroblasta i potom ih koristili kod miševa s Parkinsonovom bolesti.

Kako je to još relativno novo područje, postoje mnoga pitanja na koja se iz dosadašnjeg iskustva ne može odgovoriti. Između ostalog, pitanja koja znanstvenici postavljaju glase: jesu li iPSC zaista ekvivalent ESC (1), mogu li se te stanice zaista diferencirati u bilo koju drugu stanicu poput ESC ili zaostaje određena memorija zbog koje će iPSC naginjati stanicama iz koje je nastala (33). Upozorava se i da bi se na pacijentima smjele primijeniti samo diferencirane

stanice odnosno tkivo dobiveno iz matičnih stanica jer bi se, u protivnom, iz nediferenciranih stanica mogle razvijati zloćudne bolesti ili teratomi (9). Potencijalni problem nije samo u nediferenciranim matičnim stanicama, nego i u korištenim retrovirusima. Iako su korišteni virusi modificirani kako ne bi uzrokovali bolest u čovjeka, upozorava se na moguće mutacije gena, npr. ekspresiju onkogeni koji bi potom mogli poticati rast tumora i izmijeniti osobine stanice (33).

6.5. Medij ili niša

Preostaje još objasniti kako se postigne usmjerenje matičnih stanica u daljnje diferencirane stanice. Vjerojatno glavnu ulogu u tome ima stanično okruženje, okolina ili niša, koju čine signalne molekule, komunikacija među stanicama i interakcija stanica s ekstracelularnim matriksom (37). Smatra se da to okruženje potiče stanice na ekspresiju određenih gena koje će tako determinirati sudbinu stanice. Scadden (38) definira nišu kao specifičnu anatomsku lokaciju koja regulira kako će matične stanice sudjelovati u stvaranju tkiva, održavanju i oporavku. Štiti matične stanice od trošenja, a ujedno štiti i organizam od pretjerane proliferacije. Napravljeni su pokusi u kojima su se matične stanice jedne loze stavljale u drugo okruženje, npr. postignuto je da neuralne matične stanice stvaraju mišićne stanice nakon što ih se implementira u skeletni mišić (37).

6.6. Diferencijacija hOMSC u neuralnu lozu

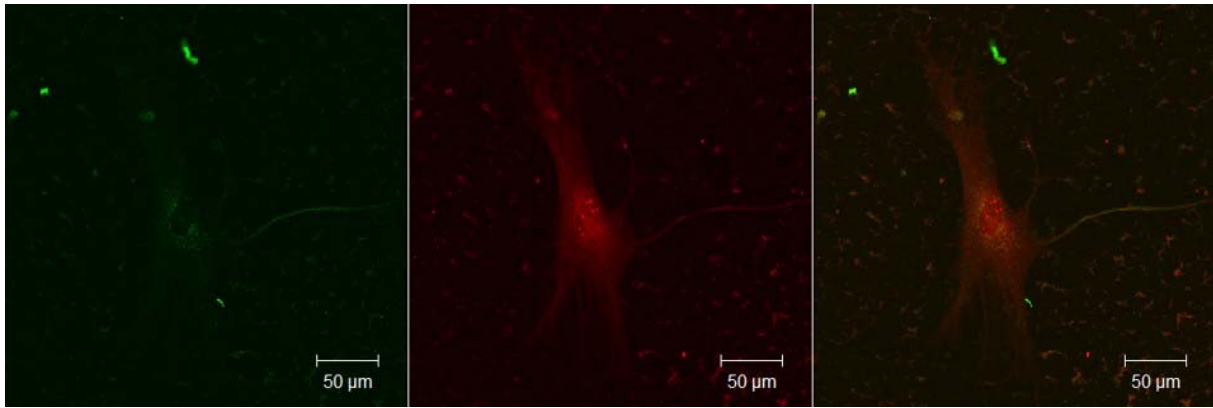
Diferencijacija neurona ili glija stanica iz matičnih stanica tema je koja privlači mnogo interesa jer je riječ o stanicama u tijelu čije je oštećenje često ireverzibilno (18). Iz tog razloga, artifično uzgojene stanice nalik originalnim stanicama, koje bi mogle zamijeniti oštećeno tkivo, čine se vrlo obećavajućom terapijskom opcijom. Matične stanice mogu se izolirati iz tkiva samog pacijenta, čime bi se dobio autogeni presadak bez imunosne reakcije primatelja i bez potrebe za imunosupresivnim lijekovima (36, 39). Mezenhimalne matične stanice ne bi trebale izazvati imunosni odgovor domaćina ni kod alogenijske transplantacije jer ne sadrže ili sadrže vrlo malu koncentraciju MHC II molekula koje sudjeluju u predočavanju antigena imunosnim stanicama organizma (15). hOMSC pokazale su izvrstan potencijal mezodermalne, neuralne te čak i endodermalne diferencijacije, ovisno o mediju koji se koristi (19). Razlog

tomu je njihovo porijeklo iz neuralnog grebena (39). Njihova dostupnost i mogućnost usmjerenja u stanice živčanog tkiva čine ih naizgled idealnim za istraživanja neuralne diferencijacije i gledajući nekoliko koraka unaprijed, potencijalnog liječenja neuroloških bolesti (18). Uz *in vitro* testove, Marynka-Kalmani i suradnici (40) izveli su *in vivo* pokuse na miševima kojima su implantirali hOMSC. Pokusne su životinje razvile teratome koji su sadržavali i mezodermalne i ektodermalne derivate, poput masti, hrskavica, kosti, epitelnog i živčanog tkiva.

Stanice se dobivaju biopsijom sluznice, najčešće gingivalne ili bukalne (slika 2). One se zatim drže u DMEM mediju (Dulbecco's Modified Eagle Medium), vitaminskom i aminokiselinskom pripravku koji potiče rast stanica. Dodaju mu se antiinfektivi (streptomycin, penicilin i nistatin), glutamin i 10% fetalni serum teleta (39). Nakon proliferacije stanica, stanice se kultiviraju u mediju za ektodermalnu diferencijaciju; DMEM suplementiran faktorom rasta živaca (β -NGF), neurotrofnim moždanim faktorom (BDNF), N2-suplementom (nadopuna koja potiče rast neurona) uz ponovno dodatak antibiotika. Nakon 2 tjedna provodi se fiksacija i imunocitokemija. Imunocitokemija podrazumijeva bojenje tkiva antitijelima koja će obojiti određene markere. Marker koji se dokazuje ektodermalno usmjerenje su Map2 (slika 3) i β 3-tubulin (proteini koji se uočavaju tijekom razvoja neurona) (18).



Slika 2. Biopsija oralne sluznice. Preuzeto s dopuštenjem autora: prof. dr. sc Ivan Alajbeg



Slika 3. Imunocistokemija; Map2 (crveno) i nestin (zeleno). Preuzeto s dopuštanjem autora:
prof. dr. sc Ivan Alajbeg

Živčano tkivo stvoreno iz matičnih stanica moglo bi se zatim koristiti u liječenju bolesti živčanog sustava kod kojih postoji ireverzibilno oštećenje tkiva, poput već spomenute Parkinsonove bolesti. U tom području interes je u diferencijaciji neurona koji luče dopamin. Oni bi se potom implantirali kako bi zamijenili odumrle neurone u bazalnom gangliju (36). Ganz i suradnici (39) dobili su iz hOMSC stanice nalik astrocitima koje su transplantirali oko ozlijeđenog n. ischiadicusa štakora. Primijećen je njihov neuroprotektivni učinak i poboljšanje motorne funkcije štakora kroz 7 dana. Istražuje se i njihova uporaba za oporavak ishemičnog moždanog tkiva nakon moždanog udara, čiji bi uspjeh imao neprocjenjivu vrijednost uzimajući u obzir učestalost bolesti i ireverzibilna oštećenja tkiva koja mogu njome nastati.

6.7. Diferencijacija hOMSC u mezodermalne derivate

Matične stanice mogu se derivirati i u mezodermalne derivate slično kako se to izvodi i kada se žele dobiti ektodermalni. Razlikuju se u mediju koji se koristi. Osteoplastična diferencijacija postiže se osteoindukcijskim medijem, npr. α -MEM (Alpha-modified Eagle's medium) suplementiran glutaminom, određenim antiinfektivnim lijekovima (npr. penicilin, streptomycin i amfotericin), vitaminom C, deksametazonom i beta-glicerolfosfatom. Proces traje 21 dan. Hondrogena diferencijacija zahtijeva bazični medij, npr. DMEM, suplementiran inzulinom, transferinom, selenijem, askorbatom te transformirajući faktor rasta β (TGF β). Proces također traje 21 dan. Adipocitna diferencijacija odvija se u bazičnom mediju obogaćenom telećim serumom, inzulinom, deksametazonom, indometacinom i 3-izobutil-1-metilksantinom. Drži se u navedenom mediju tijekom 3 dana, zatim jedan dan samo u mediju uz inzulin, pa opet uz suplementiranje te se ti ciklusi izmjenjuju kroz 28 dana (7).

hOMSC su pokazale mnoge prednosti pred nekim drugim oblicima matičnih stanica. U usporedbi s mezenhimalnim matičnim stanicama iz drugih tkiva, mogu se usmjeriti u više grana, zahvaljujući svojem porijeklu iz neuralnog grebena. Njega čine neuroektodermalne stanice koje se odvajaju od neuralnih grebena prije nego se oni spoje u neuralnu cijev. Nakon odvajanja, stanice poprimaju mezenhimalni ustroj, migriraju po tijelu i u konačnici su odgovorne za razvoj melanocita, folikula dlaka, C-stanica štitne žlijezde, osjetnih, simpatičkih i intramuralnih ganglija, Schwannovih stanica, stanica srži nadbubrežne žlijezde, neurona moždanih ganglija i glija-stanica, kosti i vezivnog tkiva glave i vrata, u konačnici i odontoblasta i zubne pulpe (17). Ova raznolikost derivata neuralnog grebena odgovorna je i za toliki diferencijacijski potencijal hOMSC. Njihovom imunofenotipizacijom otkriva se fenotip nalik onom primitivnim stanicama neuralnog grebena (19), što implicira da bi se korištenjem pravog medija i imitiranja okoline poput one u embrionalnom razvoju trebale moći derivirati sve navedene stanice iz hOMSC. Iz tog razloga neki autori ove stanice nazivaju pluripotentnim, što ipak nije posve ispravno jer se iz njih ne mogu dobiti sve stanice organizma. Ta sličnost s primitivnim stanicama neuralnog grebena mogla bi objasniti i sposobnost dijeljenja hOMSC, koja je superiornija od mnogih drugih MSC (16) te također uspoređujući s drugim izvorima MSC, sposobnost dijeljenja hOMSC vrlo je malo pod utjecajem dobi osobe (19).

Prednost hOMSC pred ostalim matičnim stanicama usne šupljine prvenstveno je u njihovoj dostupnosti. U usporedbi sa stanicama pulpe ili parodontnog ligamenta, nisu ograničene brojem zuba i može se doći do njih bez ireverzibilne štete za organizam. Rane nastale biopsijom brzo cijele te ne ostavljaju ožiljak, što se također opisuje kao svojstvo fetalnih stanica neuralnog grebena, kojima hOMSC nalikuju (19). Iako je riječ o jednostavnom postupku, uzimanje biopsije ipak je invazivan proces koji zahtijeva iskusnog terapeuta, kao i pristanak pacijenta. Treba imati na umu i moguće nuspojave samog postupka, bilo da su vezane uz sam postupak (nehotično oštećenje anatomskih struktura), davanje anestezije ili bilo kakve otegotne okolnosti vezane uz zdravstveno stanje pacijenta (sklonost krvarenju, alergije, ograničeno otvaranje usta). S druge strane, izolacija bilo kakvih somatskih matičnih stanica najčešće zahtijeva određene invazivne postupke, a biopsija sluznice ili kože ipak su manje invazivni od npr. često proučavanih matičnih stanica koštane srži, koje se dobivaju aspiracijom koštane srži. Taj proces zahtijeva opću anesteziju i boravak u bolnici (7), uz također moguće posljedice, npr. kronična bol na mjestu uzimanja (najčešće greben crijevne kosti zdjelice) koja se prijavi u 39% slučajeva (16). MSC iz koštane srži najviše su se proučavale jer su prve izolirane, međutim, zbog lakše dostupnosti, uz hOMSC, danas prednost imaju i MSC iz masnog tkiva (15).

Matične stanice pulpe zuba također pokazuju veliki diferencijacijski potencijal te su i iz njih dobiveni neuroni (41), iako nije usuglašeno radi li se o zrelim funkcionalnim neuronima (18). Korištene su i za liječenje ozljede kralježničke moždine miševa, čime je postignut oporavak lokomotorne funkcije (26). Iako naizgled ograničenije od stanica mukoze, dostupne su i bez ireverzibilne štete u vidu mliječnih zuba i zuba sa zdravom pulpom koji su predodređeni za ekstrakciju iz nekog drugog razloga (impaktirani i poluimpaktirani zubi), te se njihova pulpa neupitno može iskoristiti u znanstvene svrhe ili, u budućnosti, i u terapijske. Iz mliječnih zuba može se izolirati dovoljno tkiva koje sadrži matične stanice i nakon njihove fiziološke eksfolijacije. Matične stanice mliječnih zuba, doduše, razlikuju se od onih u trajnim, što ne čudi s obzirom na različitu ulogu pulpe mliječnih i trajnih zuba. One imaju višu stopu proliferacije, međutim, manju diferencijacijsku robusnost od onih u trajnim zubima (42). Zanimljivi su i naponi lokalne uporabe matičnih stanica u regeneraciji pulpe zuba. Njima se pokušava naći alternativa klasičnom endodontskom zahvatu i postići ozdravljenje zubne pulpe u upalnim stanjima koja se danas nazivaju ireverzibilnim. Transplantacija pulpe zuba koja bi se formirala *in vitro* iz matičnih stanica, ne čini se realnom zamjenom za standardni endodontski zahvat jer bi zahtijevala znatno više vremena, financijskih sredstava i opremljeni laboratorij. Istraživanja se iz tog razloga usmjeravaju na drugačije metode. Jedna je, primjerice, poticanje krvarenja unutar same pulpe kroz apikalni otvor. Time bi matične stanice iz apikalnog dijela parodonta te iz krvotoka naselile pulpni prostor te otpuštanjem citokina i faktora rasta poticale diferencijaciju stanica u nove zdrave stanice pulpe. Ograničenje tog pristupa bila bi kvantitativna vrijednost dobivenih stanica unutar pulpe koja možda ne bi bila dostatna (43). Druga je metoda korištenje egzosoma deriviranih iz stanica pulpe. Egzosomi su mikrovezikule koje stanice izlučuju radi interstanične komunikacije. Budući da sadrže genetski materijal u obliku miRNA, mogu utjecati na ponašanje stanica i postići učinak sličan matičnim stanicama (40, 43).

Matične stanice parodontnog ligamenta, slično stanicama pulpe, naizgled nisu toliko dostupne poput stanica sluznice ili gingive. Mogu se prikupiti pri struganju i poliranju korijenova (44). Tu se nailazi na jednu prepreku, a to je klinički gubitak pričvrstka ili gingivalna recesija koja nastaje ukoliko se kiretom manipulira u plitkim parodontnim džepovima, onima plićim od 3 mm (45). Postavlja se pitanje je li uzimanje matičnih stanica opravdan postupak s obzirom na ireverzibilnu promjenu koja može pritom nastati. Ona svakako nije velika, ali hOMSC se mogu prikupiti i iz drugih izvora na kojima neće ostaviti posljedice. Bez posljedica stanice se mogu prikupiti kod pacijenata s dubljim parodontnim džepovima, dakle, kod pacijenata s parodontitisom. Međutim, stanice neće biti jednake prikupe li se iz upaljenog tkiva u kojem

imaju drugačiji imunomodulacijski učinak. Diferencijacijski potencijal jednak im je ostalim matičnim stanicama usne šupljine s kojima dijele i porijeklo iz neuralnog grebena, pa su tako *in vitro* diferencirani osteoblasti, cementoblasti, adipociti, hondrociti kao i Schwannove stanice (44). Također su provedena istraživanja na animalnim modelima u kojima se proučavala lokalna upotreba PDL-SC na način da se autologne PDL-SC stavljaju u koštane defekte oko zuba zajedno s hidroksiapatitom i trikalcijevim fosfatom, što je rezultiralo stvaranjem nove kosti, cementa i parodontnog ligamenta (46).

Matične stanice neupitno mnogo obećavaju u području regeneracijske medicine. Matične stanice usne šupljine zahvaljujući svojem porijeklu igraju višestruku ulogu na svojoj fiziološkoj lokaciji, gdje mogu sudjelovati u regeneraciji više tipova tkiva. Među njima ističu se stanice izolirane iz sluznice zbog veće dostupnosti od onih iz pulpe ili parodontnog ligamenta. Diferencijacijski potencijal svih oralnih matičnih stanica može se iskoristiti u liječenju degenerativnih bolesti. Istraživanja na životinjskim modelima za sada pokazuju obećavajuće rezultate, uz uspješno diferencirane stanice ektodermalne i mezodermalne linije kao i nekolicinu uspješnih pokusa na životinjskim modelima kojima je došlo do poboljšanja u proučavanoj bolesti. S druge strane, potrebno je još mnogo istraživanja kojima bi se osigurala funkcionalna trajnost presadaka uzgojenih iz matičnih stanica, ali također i sigurnost takve terapije, jer za sada ostaju otvorena pitanja mogućih malignih transformacija ili drugih neželjenih posljedica kao rezultat genske modifikacije stanica.

1. Daley GQ. Stem cells and the evolving notion of cellular identity. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2015; 370(1680):20140376.
2. Kuehnle I, Goodell MA. The therapeutic potential of stem cells from adults. *BMJ.* 2002; 325(7360):372-6.
3. du Pré BC, Doevendans PA, van Laake LW. Stem cells for cardiac repair: an introduction. *J Geriatr Cardiol: JGC.* 2013; 10(2):186-97.
4. Biehl JK, Russell B. Introduction to stem cell therapy. *J Cardiovasc Nurs.* 2009; 24(2):98-103.
5. DiPietro LA. Oral Stem Cells: The Fountain of Youth for Epithelialization and Wound Therapy?. *Adv Wound Care,* 2014; 3(7): 465–67.
6. Achilleos A, Trainor PA. Neural crest stem cells: discovery, properties and potential for therapy. *Cell Res.* 2012; 22(2):288-304.
7. Davies LC, Locke M, Webb RD, Roberts JT, Langley M, Thomas DW et al. A multipotent neural crest-derived progenitor cell population is resident within the oral mucosa lamina propria. *Stem Cells Dev.* 2010; 19(6):819-30.
8. Ohnuki M, Takahashi K. Present and future challenges of induced pluripotent stem cells. *Philos Trans R Soc Lond B: Biol Sci.* 2015; 370(1680):20140367.
9. Chagastelles PC, Nardi NB. Biology of stem cells: an overview. *Kidney Int Suppl.* 2011; 1(3):63-7.
10. Pizzute T, Lynch K, Pei M. Impact of tissue-specific stem cells on lineage-specific differentiation: a focus on the musculoskeletal system. *Stem Cell Rev.* 2015; 11(1):119-32.
11. Singh VK, Saini A, Kalsan M, Kumar N, Chandra R. Describing the stem cell potency: the various methods of functional assessment and in silico diagnostics. *Front Cell Dev Biol.* 2016; 4:134.
12. Steinbeck RG. Dysplasia in view of the cell cycle. *Eur J Histochem.* 2004; 48(3):203-11.
13. Hiyama E, Hiyama K. Telomere and telomerase in stem cells. *Br J Cancer.* 2007; 96(7):1020-4.
14. Hansen M, Hammer M, Hummer L. Diagnostic and therapeutic implications of ectopic hormone production in small cell carcinoma of the lung. *Thorax.* 1980; 35(2):101-6.
15. Ayala-Cuellar AP, Kang JH, Jeung EB, Choi KC. Roles of mesenchymal stem cells in tissue regeneration and immunomodulation. *Biomol Ther.* 2019; 27(1): 25-33.

16. Via AG, Frizziero A, Oliva F. Biological properties of mesenchymal stem cells from different sources. *Muscles Ligaments Tendons J.* 2012; 2(3):154-162.
17. Sadler TW, Langmanova Medicinska embriologija. 10. izdanje. Zagreb: Školska knjiga; 2008; 69-89.
18. Alajbeg I, Alić I, Andabak-Rogulj A, Brailo V, Mitrečić D. Human-and mouse-derived neurons can be simultaneously obtained by co-cultures of human oral mucosal stem cells and mouse neural stem cells. *Oral Dis.* 2018 (1-2):5-10.
19. Marynka-Kalmani K, Treves S, Yafee M, Rachima H, Gafni Y, Cohen MA et al. The lamina propria of adult human oral mucosa harbors a novel stem cell population. *Stem cells.* 2010; 28(5):984-95.
20. Jones KB, Klein OD. Oral epithelial stem cells in tissue maintenance and disease: the first steps in a long journey. *Int J Oral Sci.* 2013; 5(3):121-9.
21. Junqueira LC, Carneiro J. Osnove histologije: udžbenik i atlas. Prema x. američkom izdanju. Zagreb: Školska knjiga; 2005: 74-76, 83, 292-293
22. Papagerakis S, Pannone G, Zheng L, About I, Taqi N, Nguyen NP et al. Oral epithelial stem cells—implications in normal development and cancer metastasis. *Exp Cell Res.* 2014; 15;325(2):111-29.
23. Huang GJ, Gronthos S, Shi S. Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine. *J Dent Res.* 2009; 88(9):792-806.
24. Junker JP, Kamel RA, Caterson EJ, Eriksson E. Clinical impact upon wound healing and inflammation in moist, wet, and dry environments. *Adv Wound care.* 2013; 2(7):348-56.
25. Li N, Li X, Chen K, Dong H, Kagami H. Characterization of spontaneous spheroids from oral mucosa-derived cells and their direct comparison with spheroids from skin-derived cells. *Stem Cell Res Ther.* 2019; 10(1):184.
26. Lee JH, Um S, Song IS, Kim HY, Seo BM. Neurogenic differentiation of human dental stem cells in vitro. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg.* 2014; 40(4):173-80.
27. Wen L, Tang F. Single-cell sequencing in stem cell biology. *Genome Biol.* 2016; 17(1):71.
28. Chen M, Przyborowski M, Berthiaume F. Stem cells for skin tissue engineering and wound healing. *Crit Rev Biomed Eng.* 2009; 37(4-5): 399-421.

29. Keivyon KR, Tseng SC. Limbal autograft transplantation for ocular surface disorders. *Ophthalmology*. 1989; 96(5):709-23.
30. Watt FM, Driskell RR. The therapeutic potential of stem cells. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2010; 365(1537):155-63.
31. Guilhot F. Cellules humaines à usage thérapeutique: état de la question. *Bull Acad Natl Méd*. 2020.
32. Mancuso P, Raman S, Glynn A, Barry F, Murphy JM. Mesenchymal stem cell therapy for osteoarthritis: the critical role of the cell secretome. *Front Bioeng Biotechnol*. 2019; 7:9.
33. Ye L, Swingen C, Zhang J. Induced pluripotent stem cells and their potential for basic and clinical sciences. *Curr Cardiol Rev*. 2013; 9(1):63-72.
34. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006; 126(4):663-76.
35. Papapetrou EP. Induced pluripotent stem cells, past and future. *Science*. 2016; 353(6303):991-2.
36. Wernig M, Zhao JP, Pruszak J, Hedlund E, Fu D, Soldner F et al. Neurons derived from reprogrammed fibroblasts functionally integrate into the fetal brain and improve symptoms of rats with Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008; 105(15):5856-61.
37. Bajada S, Mazakova I, Richardson JB, Ashammakhi N. Updates on stem cells and their applications in regenerative medicine. *Tissue Eng Regen Med*. 2008; 2(4):169-83.
38. Scadden DT. The stem-cell niche as an entity of action. *Nature*. 2006; 441(7097):1075-9.
39. Ganz J, Arie I, Ben-Zur T, Dadon-Nachum M, Pour S, Araidy S et al. Astrocyte-like cells derived from human oral mucosa stem cells provide neuroprotection in vitro and in vivo. *Stem Cells Transl Med*. 2014; 3(3):375-86.
40. Huang CC, Narayanan R, Alapati S, Ravindran S. Exosomes as biomimetic tools for stem cell differentiation: applications in dental pulp tissue regeneration. *Biomaterials*. 2016;111:103-15.
41. Arthur A, Rychkov G, Shi S, Koblar SA, Gronthos S. Adult human dental pulp stem cells differentiate toward functionally active neurons under appropriate environmental cues. *Stem cells*. 2008; 26(7):1787-95.

42. Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG et al. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Nat Acad Sci U S A*. 2003; 100(10):5807-12.
43. Ivica A, Ghayor C, Zehnder M, Valdec S, Weber FE. Pulp-Derived Exosomes in a Fibrin-Based Regenerative Root Filling Material. *J Clin Med*. 2020; 9(2):491.
44. Trubiani O, Pizzicannella J, Caputi S, Marchisio M, Mazzon E, Paganelli R et al. Periodontal ligament stem cells: current knowledge and future perspectives. *Stem Cells Dev*. 2019; 28(15):995-1003.
45. Lindhe J, Socransky SS, Nyman S, Haffajee A, Westfelt E. "Critical probing depths" in periodontal therapy. *J Clin Periodontol*. 1982; 9(4):323-36.
46. Bassir SH, Wisitrasameewong W, Raanan J, Ghaffarigarakani S, Chung J, Freire M et al. Potential for stem cell-based periodontal therapy. *J Cell Physiol*. 2016; 231(1):50-61.

Lovro Vuger rođen je 14. 7. 1994. u Zagrebu, gdje je pohađao OŠ Luka, zatim Srednju školu Sesvete – program opće gimnazije. Godine 2013. upisuje Stomatološki fakultet u Zagrebu. Tijekom studija obavljao je funkciju demonstratora na predmetima Histologija s embriologijom i Pretklinička fiksna protetika. Bio je uključen u rad udruge Studentske sekcije te je dvije godine vodio Sekciju za oralnu medicinu. Tri godine za redom, od 2017. do 2019., bio je aktivni sudionik Simpozija studenata dentalne medicine održavajući predavanja, a posljednje dvije godine bio je i u organizaciji simpozija. Za vrijeme studija objavio je 2 članka u studentskom časopisu Sonda. Bio je član studentskog pjevačkog zbora Z(u)bor s kojim je 2018. godine dobio Rektorovu nagradu za društveno koristan rad u akademskoj i široj zajednici. U sklopu programa EVP (European visiting program) bio je u posjetu sveučilištu u Rigi 2019. godine, a 2020. u Reimsu. Uz studij bavi se učenjem jezika te govori engleski, francuski, njemački i talijanski jezik aktivno, a ruski pasivno.