

Matične stanice u regeneraciji pulpo-dentinskog kompleksa

Perušina Arbanas, Martina

Master's thesis / Diplomski rad

2021

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:127:211415>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-07**



Repository / Repozitorij:

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





Sveučilište u Zagrebu
Stomatološki fakultet

Martina Perušina Arbanas

MATIČNE STANICE U REGENERACIJI PULPNO-DENTINSKOG KOMPLEKSA

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2021.

Rad je ostvaren na Zavodu za endodonciju i restaurativnu stomatologiju Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Mentor rada: Anja Baraba, izvanredni profesor, Zavod za endodonciju i restaurativnu stomatologiju Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Lektor hrvatskog jezika: Željka Duganić, mag. educ. philol. croat.

Lektor engleskog jezika: Ana Jakić, mag. educ. philol. angl.

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: 45 stranica

0 tablica

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 svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Anji Baraba na pomoći, savjetima i podršci prilikom izrade ovog rada.

Hvala mojim roditeljima, mužu i obitelji, koji su mi tijekom mog cjelokupnog obrazovanja pružili neizmjernu ljubav, podršku i razumijevanje.

Zahvaljujem i svojim kolegama i prijateljima s kojima je bilo lakše prolaziti zadnjih šest godina i koji su mi uvijek bili potpora i pomoć.

Diplomski rad je izrađen u okviru istraživačkog projekta HRZZ-a pod naslovom "Istraživanje i razvoj novih mikro i nanostrukturnih bioaktivnih materijala u dentalnoj medicini" IP-2018-01-1719.

MATIČNE STANICE U REGENERACIJI PULPNO-DENTINSKOG KOMPLEKSA

Sažetak

U slučaju ireverzibilnog pulpitisa ili nekroze pulpe, klasična terapija korijenskog kanala podrazumijeva endodontsko liječenje zuba. Takva terapija ne omogućava cijeljenje i regeneraciju pulpnog tkiva jer se ono tijekom endodontskog zahvata uklanja kemomehanički i tako obrađeni prostor hermetički se brtvi materijalima za punjenje korijenskih kanala. Regenerativna endodoncija alternativna je opcija koja regenerira pulpno-dentinski kompleks, a uključuje tri osnovne komponente: matične stanice koje se mogu diferencirati u stanice pulpe, bioaktivne molekule – čimbenike rasta za pokretanje i promicanje stanične diferencijacije te nosač koji mehanički podupire stanice i pruža im povoljan okoliš. Izvori matičnih stanica iz zubnih tkiva mogu biti zubna pulpa, parodontni ligament, zubni folikul, gingiva ili alveolarna kost, a najčešće se koriste matične stanice zubne pulpe zbog njihove jednostavnosti dobivanja i izuzetne sposobnosti diferencijacije.

Prema dostupnim istraživanjima, korištenjem matičnih stanica stvaraju se tkiva nalik pulpi i dentinu, pulpa je vaskularizirana i inervirana, stvorene stanice slične su odontoblastima koji stvaraju mineralizirano tkivo. Međutim, regenerirana tkiva nemaju nužno originalnu pulpnu arhitekturu i funkciju. Osim toga potencijalni su problemi: potrebna veličina apikalnog otvora, svojstava čimbenika rasta i nosača, metoda izolacije i uzgoja matičnih stanica, kliničko rukovanje, izvedivost i troškovi liječenja. Buduća *in vivo* istraživanja trebala bi pokazati uspješnost i potencijalne komplikacije transplantacije matičnih stanica.

Ključne riječi: matične stanice; nosači; čimbenici rasta; regeneracija; pulpno-dentinski kompleks

STEM CELLS IN REGENERATION OF DENTINE-PULP COMPLEX

Summary

In the case of irreversible pulpitis or pulp necrosis, classical therapy involves root canal treatment. Such therapy does not enable healing and regeneration of pulp tissue because pulp or pulp remnants are removed chemomechanically during the endodontic treatment where endodontic space is hermetically sealed using root canal filling materials. Regenerative endodontics is an alternative option used for regeneration of dentine-pulp complex and it is based on three basic components: stem cells that can differentiate into pulp cells, bioactive molecules - growth factors, that initiate and promote cell differentiation and a scaffold that mechanically supports cells and provides them with favorable environment. Sources of stem cells from dental tissues are dental pulp, periodontal ligament, dental follicle, gingiva or alveolar bone. Dental pulp stem cells are most commonly used because they are easily accessible and have an exceptional ability to differentiate.

According to available research, by using stem cells, pulp- and dentin-like tissues are obtained, the pulp is vascularized and innervated and the differentiated cells are similar to odontoblasts and produce mineralized tissue. However, regenerated tissues do not necessarily have the original pulp architecture and function. In addition, potential problems are: apical foramen size, growth factor and scaffold properties, stem cells isolation and culture methods, clinical handling, feasibility and treatment costs. Future *in vivo* studies should demonstrate the success and potential complications of stem cell transplantation.

Keywords: stem cells; scaffolds; growth factors; regeneration; pulp-dentin complex

SADRŽAJ:

1. UVOD	1
2. FIZIOLOGIJA PULPNO-DENTINSKOG KOMPLEKSA I HISTOLOGIJA ZUBNE PULPE	5
3. MATIČNE STANICE	8
3.1. Uloga i mehanizam djelovanja	9
3.2. Matične stanice dentalnog podrijetla	10
3.2.1. Matične stanice zubne pulpe	11
3.2.2. Matične stanice iz apikalne papile	12
3.2.3. Matične stanice parodontnog ligamenta	12
3.2.4. Matične stanice iz mliječnih zuba	12
3.2.5. Stanice prekursora zubnog folikula	13
3.3. Matične stanice nedentalnog podrijetla	13
3.3.1. Mezenhimske matične stanice izvedene iz koštane srži	13
3.3.2. Matične stanice dobivene iz masnog tkiva	14
3.3.3. Mezenhimske matične stanice pupkovine	14
4. PRIMJENA MATIČNIH STANICA U OBNOVI PULPNO-DENTINSKOG KOMPLEKSA	15
4.1. Izvor i način izolacije matičnih stanica	16
4.2. Način primjene matičnih stanica	17
4.3. Nosači	18
4.4. Dodatni čimbenici – čimbenici rasta i ostale signalne molekule	21
5. RASPRAVA	23
6. ZAKLJUČAK	27
7. LITERATURA	29
8. ŽIVOTOPIS	44

Popis skraćenica

- ADSC: engl. adipose-derived stem cells, hrv. matične stanice dobivene iz masnog tkiva
- bFGF: engl. basic fibroblast growth factor, hrv. osnovni čimbenici rasta fibroblasta
- BMP: engl. bone morphogenic protein, hrv. koštani morfogenetski proteini
- BM-MSC: engl. bone marrow mesenchymal stem cells, hrv. mezenhimske matične stanice izvedene iz koštane srži
- DPSC: engl. human dental pulp stem cells, hrv. matične stanice ljudske zubne pulpe
- ECM: engl. extracellular matrix, hrv. izvanstanični matriks
- EGF: engl. epidermal growth factor, hrv. epidermalni čimbenik rasta
- ESCs: engl. embryonic stem cells, hrv. embrionalne matične stanice
- FGF-2: engl. fibroblast growth factor 2, hrv. čimbenik rasta fibroblasta 2
- G-CSF: engl. granulocyte colony-stimulating factor, hrv. čimbenik stimulacije rasta granulocita
- IGF-1 i IGF-2: engl. insulin-like growth factors 1 and 2, hrv. inzulinu slični čimbenici rasta 1 i 2
- IPSC: engl. induced pluripotent stem cells, hrv. inducirane pluripotentne matične stanice
- MTA: engl. mineral trioxide aggregate, hrv. mineralni trioksidni agregat
- NGF: engl. nerve growth factor, hrv. čimbenik rasta živaca
- PDGF: engl. platelet-derived growth factor, hrv. čimbenik rasta izveden iz trombocita
- PDLSCs: engl. periodontal ligament stem cells, hrv. matične stanice parodontnog ligamenta
- PGA: engl. polyglycolic acid, hrv. poliglikolna kiselina
- PLA: engl. polylactic acid, hrv. polilaktička kiselina
- PLGA: engl. poly lactic-co-glycolic acid, hrv. polilaktično-ko-glikolna kiselina
- SCAP: engl. stem cells from apical papilla, hrv. matične stanice iz apikalne papile
- SDF-1: engl. stromal cell-derived factor-1, hrv. čimbenik-1 izveden iz stromalnih stanica
- SHED: engl. stem cells from human exfoliated deciduous teeth, hrv. matične stanice mliječnih zuba kod ljudi
- TDM: engl. treated dentin matrix, hrv. tretirani dentinski matriks
- TGF- β : engl. transforming growth factor beta, hrv. transformirajući čimbenik rasta beta
- TNF- α : engl. tumor necrosis factor alpha, hrv. čimbenik tumorske nekroze alfa
- VEGF: engl. vascular endothelial growth factor, hrv. vaskularni endotelni čimbenik rasta

Zubni karijes jedna je od najrasprostranjenijih infektivnih bolesti u svijetu koja dovodi do gubitka tvrdih zubnih tkiva i mogućeg oštećenja pulpnog tkiva. Glavni su uzročnici upale zubne pulpe gram negativne bakterije *Porphyromonas*, *Tannerella*, *Treponema*, *Prevotella* i *Fusobacterium*, a česte su i gram pozitivne bakterije *Actinomyces*, *Filifactor*, *Olsenella*, *Pseudoramibacter*, *Propionibacterium*, *Micromonas*, *Peptostreptococcus*, *Streptococcus* (1,2,3,4). Toksini koje spomenute bakterije proizvode prodiru u pulpu kroz dentinske tubuluse (5). Dolazi do oslobađanja medijatora nespecifične upalne reakcije poput histamina, bradikininina, arahidonske kiseline i neuropeptida, a u pulpi se javljaju klasični znakovi upale (5). Kao posljedica otpuštanja velike količine medijatora upale dolazi do povećanja propusnosti krvnih žila, zastoja cirkulacije i migracije leukocita na mjesto ozljede (5). Povećani kapilarni tlak i povećana propusnost uzrokuju izlazak tekućine iz krvnih žila u okolno tkivo (5). Ako odvođenje tekućine venulama i limfnim žilama nije jednako filtraciji iz kapilara, dolazi do formiranja eksudata (5). Pulpa je okružena tvrdim zubnim tkivom pa mali porast tkivnog tlaka vodi do kompresije, čak i do potpunog kolapsa venula na mjestu oštećenja (6).

Stupanj upale proporcionalan je intenzitetu i stupnju oštećenja tkiva. Manji mehanički iritansi poput manje preparacije ili mikrobnih iritansi poput početnog karijesa ne dovode ni do kakvih promjena u pulpi ili je prisutna početna upala (5). Ako se iritans ukloni, krvne žile postupno se vraćaju u normalno stanje i dolazi do reparacije ili regeneracije (5). Međutim, duboke karijesne lezije ili drugi perzistirajući iritansi dovode do jačih upalnih promjena i, u konačnici, do nekroze (7).

Kao odgovor na različite mikrobiološke, mehaničke, termičke i kemijske podražaje stvara se tercijarni dentin. Tercijarni dentin može se klasificirati u reakcionarni i reparativni tip (8). Reakcionarni dentin stvara se u slučaju manje ozljede (primjerice početni karijes ili blaga trauma zuba) na koju reagiraju postojeći odontoblasti i izlučuju tercijarni dentin (8). Reparativna dentinogeneza odgovor je kod kojeg se, u slučaju oštećenja izvornih odontoblasta, matične stanice pulpe diferenciraju u stanice slične odontoblastima koje luče dentin (9). Matične stanice migriraju na mjesto ozljede i sudjeluju u procesu regeneracije (10,11). Ovo reparativno mineralizirano tkivo nalik dentinu (osteodentin) razlikuje se od reakcionarnog dentina jer sadrži više matriksa i obično je atubularan ili su tubuli nepravilni, a često sadrži stanične inkluzije (12).

U slučaju jačeg upalnog odgovora, moguća je nekroza pulpe koja zahtijeva endodontsko liječenje (7).

Terapija ireverzibilnog pulpitisa ili nekroze podrazumijeva uklanjanje upaljenog ili nekrotičnog pulpnog tkiva, kemomehaničku obradu korijenskih kanala i hermetičko brtvljenje endodontskog prostora. Cilj je potpuno uklanjanje postojećeg tkiva i/ili bakterija iz korijenskog kanala da se spriječi reinfekcija ili da se prevenira infekcija endodontskog prostora. Jedan je od nedostataka endodontskog liječenja taj da sam postupak ne omogućava cijeljenje i regeneraciju upaljenog pulpnog tkiva (13).

Neuspjeh endodontskog liječenja može nastati zbog različitih čimbenika koji se javljaju prije, tijekom i nakon endodontskog liječenja (14). Prije endodontskog liječenja pogrešna dijagnoza ili vertikalna fraktura korijena može uzrokovati kasniji neuspjeh liječenja. Tijekom liječenja korijenskih kanala neuspjeh se događa zbog nepravilno izrađenog pristupnog kaviteta, nepronadenih korijenskih kanala, nepravilnog čišćenja i oblikovanja korijenskih kanala (probijanje stijenki korijena, stvaranje stepenice, stvaranje umjetnog kanala, lom instrumenta, udisanje ili gutanje instrumenta, nedostatno uklonjeni debris), prepunjenja, prekratkog punjenja te perforacija (5,14). Nakon liječenja korijenskih kanala neuspjeh kirurške i nekirurške revizije također uzrokuje neuspjeh endodontskog liječenja (14).

Najčešći je uzrok neuspjeha endodontskog liječenja nepotpuna dezinfekcija korijenskih kanala zbog njihove složene anatomije (15).

Osim toga, kod endodontski liječenih zuba treba uzeti u obzir i sljedeće:

- (a) promjenu boje krune zuba zbog materijala za endodontsko punjenje (16,17),
- (b) strukturni integritet može biti narušen zbog gubitka zubnog tkiva i kasnijih restaurativnih postupaka (18-20),
- (c) zubi bez pulpe gube svoje senzorne funkcije pa karijes može neprimjetno napredovati,
- (d) gubitak zuba češći je zbog sekundarnih karijesa i složenih restaurativnih problema (21-24).

Regenerativna endodoncija alternativna je opcija klasičnoj endodontskoj terapiji korijenskog kanala. Njezin je cilj očuvanje vitaliteta pulpe (25). Upaljena ili nekrotična pulpa zamijenit će se nosačima, čimbenicima koji potiču cijeljenje i matičnim stanicama, čija će kombinacija omogućiti regeneraciju pulpno-dentinskog kompleksa (26).

Matične stanice postavljene u prostor korijenskog kanala diferencirat će se u razne loze – fibroblaste, živčane stanice, endotelne stanice i odontoblaste kako bi stvorili novo vezivno tkivo, živčana vlakna, krvne žile i dentin (27). Matične stanice imaju široku primjenu i mogu se koristiti za regeneraciju parodonta, alveolarne kosti, pulpno-dentinskog kompleksa, kraniofacijalne kosti, sluznice, mišića jezika te za vraćanje funkcije žlijezda slinovnica (28,29). Izvori matičnih stanica su zubna pulpa, parodontni ligament, zubni folikul, gingiva,

alveolarna kost i papila (30). Matične stanice zubne pulpe lako su dostupne, imaju izrazitu sposobnost diferencijacije te se zbog spomenutih razloga često koriste u istraživanjima (31). Istraživanja o matičnim stanicama uglavnom su vezana za odrasle mezenhimske matične stanice jer rad s embrionalnim i induciranim pluripotentnim matičnim stanicama i podrazumijeva određene tehničke poteškoće, etičke probleme i veći rizik od nastanka tumora (32,33).

Svrha je ovog diplomskog rada, pregledom stručne i znanstvene literature, prikazati mogućnosti i postupke regeneracije pulpno-dentinskog kompleksa matičnim stanicama. U radu će se opisati terapija matičnim stanicama, počevši od uzimanja matičnih stanica iz tkiva do procjene rezultata terapije. Također će se opisati prednosti i ograničenja terapije matičnim stanicama u regeneraciji pulpno-dentinskog kompleksa te smjernice za buduća istraživanja.

**2. FIZIOLOGIJA PULPNO-DENTINSKOG KOMPLEKSA I HISTOLOGIJA ZUBNE
PULPE**

Dentin i zubna pulpa čine pulpno-dentinski kompleks. Anatomski se pojam pulpno-dentinskog kompleksa odnosi na zubnu pulpu koja je obavijena dentinom duž njezine periferije (7). Zubna je pulpa rahlo vezivno tkivo građeno od stanica i izvanstaničnih komponenti, opskrbljeno žilama i živcima (34). Pet je osnovnih funkcija zubne pulpe: induktivna uloga, stvaranje dentina, prehranbena, senzorna i obrambena uloga (34).

Induktivna uloga značajna je u embrionalnom razvoju tijekom epitelno-mezenhimalne interakcije. Unutarnji caklinski epitel inducira diferencijaciju odontoblasta, koji stvaraju dentin, a odlaganjem dentina započinje stvaranje cakline. Formativna uloga zubne pulpe očituje se u stvaranju dentina sintezom i sekrecijom organskog matriksa, transportom anorganskih komponenti u novostvoreni matriks i mineralizaciji matriksa. Prehrana dentina odvija se preko krvnih žila vitalne zubne pulpe. Hranjive tvari izmjenjuju se preko kapilara u intersticijsku tekućinu koja putuje u dentin kroz dentinske tubule. Obrambena je uloga zubne pulpe dvojaka: odontoblasti odlažu dentin kao odgovor na podražaj ili ozljedu, a u pulpi dolazi do imunološke reakcije uz pomoć stanica imunološkog sustava. Senzitivna se uloga odnosi na provođenje bolnih živčanih podražaja iz pulpe do viših živčanih središta. Uglavnom je to osjet boli; A δ mijelinizirana živčana vlakna provode brzu, oštru, žestoku bol, a vlakna tipa C sporiju, tupu i difuznu bol (35).

U zubnoj pulpi izražena je slojevitost stanica. Na samoj periferiji pulpe nalazi se sloj odontoblasta, visoko specijaliziranih stanica pulpe. Spomenute stanice sintetiziraju matriks koji mineralizacijom postaje dentin. Odontoblast se sastoji od tijela i staničnog nastavka (Tomesovo vlakno). Tijela se nalaze u pulpi uz pre-dentin, a nastavci u tubulima koje okružuje peritubulusni dentin. Od periferije pulpe prema središtu, uz sloj odontoblasta, nalazi se zona siromašna stanicama ili Weilova zona. U tom se sloju nalazi subodontoblastični sloj živčanog spleta pleksus Raschkow i interodontoblastični splet pleksus Bradlow (36). Slijedi zona bogata stanicama s mnogo fibroblasta i nediferenciranih mezenhimnih stanica iz kojih se razvijaju preodontoblasti, odnosno novi odontoblasti. Prostor koji okružuje zona bogata stanicama središnja je zona označena kao srž pulpe koja sadrži ostale stanice, živce, limfne i krvne žile.

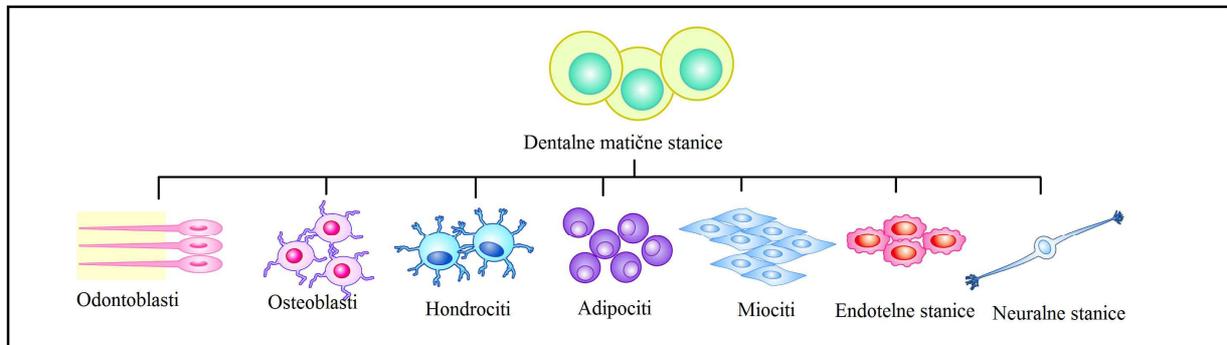
Dentin se stvara tijekom razvoja zuba prije nicanja (primarni dentin), nakon završetka stvaranja korijena i nicanja zuba (sekundarni dentin) i kao odgovor na razne podražaje – tercijarni dentin. Tercijarni dentin može biti reakcionaran (strukturno sličan fiziološkom dentinu) ili reparativni (loše organiziran, uglavnom atubularan, sa stanicama zarobljenim unutar matriksa). Svaka vrsta proizlazi iz dvije različite populacije stanica – prvi iz izvornih odontoblasta, a drugi iz matičnih stanica (8).

Da bi došlo do dijeljenja, proliferacije i diferencijacije matičnih stanica iz kojih će se stvoriti reparativni dentin, potrebne su signalne molekule. To su čimbenici rasta koji posreduju u navedenim procesima, a nalaze se unutar matriksa dentina. U slučaju određene nokse dolazi do razgradnje matriksa i oslobađaju se čimbenici rasta (37). Dolazi do oslobađanja transformirajućeg čimbenika rasta beta (engl. transforming growth factor beta, TGF- β), koštanih morfogenetskih proteina (engl. bone morphogenic protein, BMP), inzulinu sličnih čimbenika rasta (engl. insulin-like growth factors 1 and 2, IGF-1 and -2), čimbenika rasta fibroblasta (engl. fibroblast growth factor 2, FGF-2) i raznih angiogenih čimbenika rasta koji se nalaze unutar dentinskog matriksa (7).

3. MATIČNE STANICE

3.1. Uloga i mehanizam djelovanja

Matične stanice definirane su kao nediferencirane stanice koje su sposobne za samoobnavljanje kroz replikaciju i diferencijaciju u određene stanične loze (Slika 1.) (38).



Slika 1. Diferencijacija dentalnih matičnih stanica u različite stanice

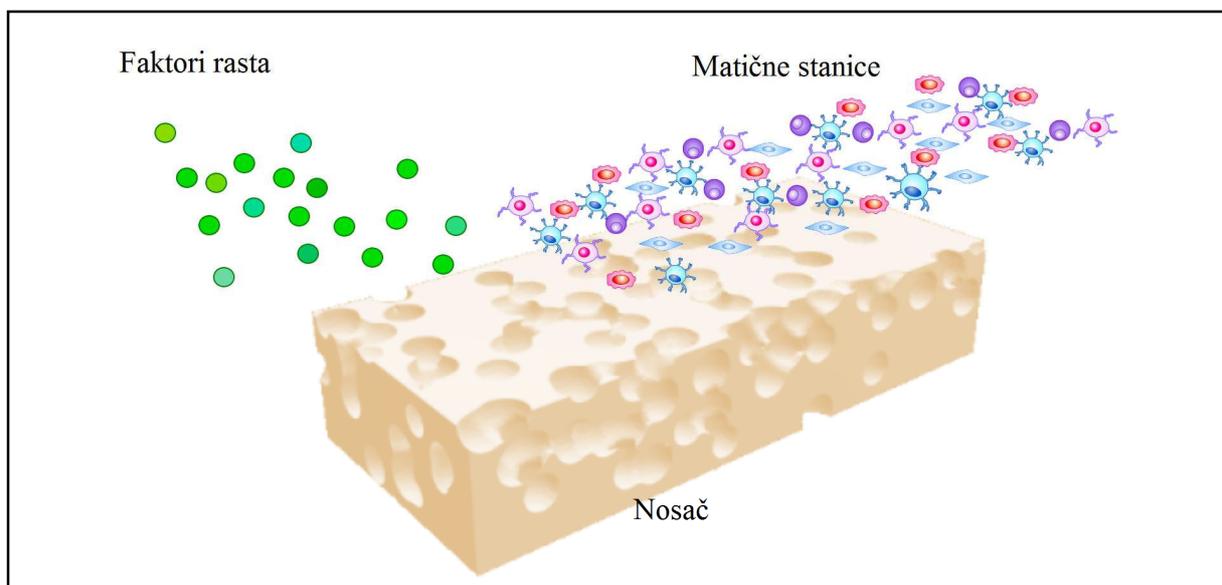
Mogu se podijeliti u embrionalne matične stanice (engl. embryonic stem cells, ESCs) i postnatalne matične stanice (39). Embrionalne matične stanice imaju najbolji potencijal za popravak i regeneraciju tkiva, ali njihova je primjena ograničena zbog visokog rizika od nastanka tumora te etičkih i pravnih pitanja vezanih za njihovo embrionalno podrijetlo (7,40). Inducirane pluripotentne matične stanice slične su embrionalnim matičnim stanicama, a izvedene su iz odraslih somatskih stanica koje su genetski reprogramirane (41). Korištenje induciranih pluripotentnih matičnih stanica povećava rizik od nastanka tumora (42).

Trenutno su istraživanja usmjerena na terapiju tkiva pomoću postnatalnih mezenhimskih matičnih stanica (40). Ove stanice imaju manji potencijal za diferencijaciju, ali se mogu koristiti tijekom cijelog života (43). Izvor postnatalnih matičnih stanica nalazi se u gotovo svim tjelesnim tkivima, u krvi, tjelesnoj masnoći, pupkovini i zubnim tkivima (zubna pulpa, parodontni ligament, zubni folikul, gingiva, alveolarna kost) (7).

Transplantacija postnatalnih mezenhimskih matičnih stanica zajedno s česticama hidroksiapatita i trikalcijevog fosfata dovodi do stvaranja vlaknastog tkiva nalik pulpi koje sadrži krvne žile i stanica nalik odontoblastima koje stvaraju strukturu sličnu matriksu dentina (44). Dakle, matične stanice stvaraju vaskularizirano tkivo nalik pulpi i sloj novostvorenog reparativnog dentina na zidovima korijenskih kanala. *In vivo* istraživanje pokazalo je da su inducirane pluripotentne matične stanice (engl. induced pluripotent stem cells, iPSC) stvorile tkivo nalik pulpi s funkcionalnim odontoblastima sposobnima za proizvodnju tubularnih struktura sličnih dentinu (45). Araújo i sur. (46) dokazali su da uporabom matičnih stanica dobivenih iz mliječnih zuba u kombinaciji s različitim materijalima za prekrivanje pulpe dolazi do stimulacije, proliferacije, migracije i diferencijacije stanica nalik odontoblastima.

U slučaju da se ne koriste matične stanice, bila bi potrebna transplantacija više vrsta stanica (fibroblasta, odontoblasta) i njihova prostorna organizacija u pravilnom redoslijedu da se oponaša prirodna arhitektura zubne pulpe, odontoblasti na periferiji, a fibroblasti u središnjem dijelu pulpe (7). Takav je pristup složen i težak za provedbu.

Koncept tkivnog inženjeringa temelji se na trima osnovnim komponentama: živim stanicama, nosačima i čimbenicima rasta (Slika 2.) (13).



Slika 2. Tri osnovne komponente tkivnog inženjeringa- nosač, matične stanice i čimbenici rasta

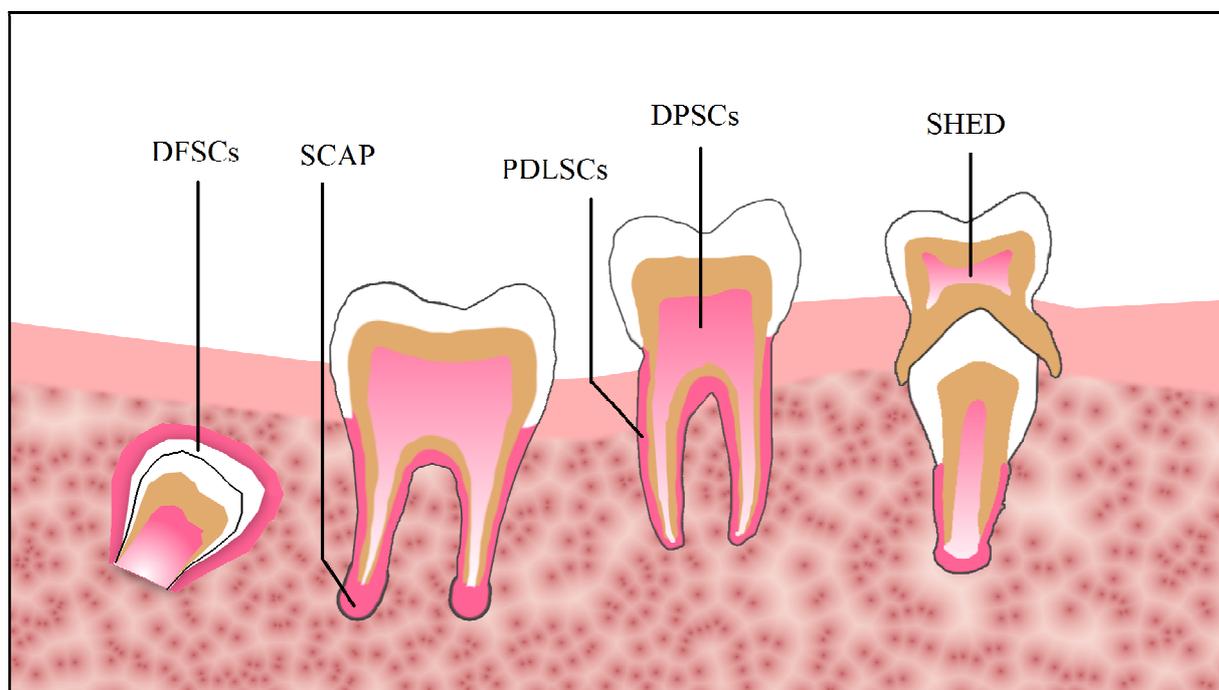
Čimbenici rasta kao što su: osnovni čimbenik rasta fibroblasta (engl. basic fibroblast growth factor, bFGF), čimbenik rasta živaca (engl. nerve growth factor, NGF), čimbenik rasta izveden iz trombocita (engl. platelet-derived growth factor, PDGF), transformirajući čimbenik rasta beta i koštani morfogenetski proteini utječu na proces diferencijacije i staničnu proliferaciju matičnih stanica.

Nosači poput kolagena, hidrogela, decelularizirani biološki nosači i nanofibrozne spužvaste mikrosfere koriste se za vezanje stanica, migraciju, proliferaciju i diferencijaciju. Odgovarajuća kombinacija čimbenika rasta i nosača može pojačati diferencijaciju matičnih stanica i optimizirati dentalnu ekspresiju i morfologiju zubne pulpe (47).

3.2. Matične stanice dentalnog podrijetla

Postoji više vrsta dentalnih mezenhimalnih matičnih stanica: matične stanice iz zubne pulpe (engl. human dental pulp stem cells, DPSCs), matične stanice iz mliječnih zuba (engl. stem cells from human exfoliated deciduous teeth, SHED), matične stanice iz apikalne papile (engl.

stem cells from apical papilla, SCAP), matične stanice parodontnog ligamenata (engl. periodontal ligament stem cells, PDLSCs), i stanice prekursora zubnog folikula (engl. dental follicle stem cells, DFPCs) (Slika 3.) (48-51).



Slika 3. Različite vrste dentalnih matičnih stanica (DFSCs, SCAP, PDLSCs, DPSCs i SHED)

3.2.1. Matične stanice zubne pulpe

Matične stanice zubne pulpe bile su prve izolirane dentalne matične stanice i većina istraživanja koristi upravo njih za regeneraciju pulpno-dentinskog kompleksa. Imaju visoku sposobnost diferencijacije i regeneracije kompleksa sličnog dentinu i pulpi. Brojna istraživanja pružila su dokaze o sposobnosti diferencijacije DPSCs, poput neurogeneze, adipogeneze, osteogeneze, hondrogenoze, angiogeneze i dentinogeneze (52-57). Prilikom presađivanja s hidroksiapatitom ili trikalcijevim fosfatom stvaraju strukturu nalik dentinu sa stanicama sličnih odontoblastima s tkivom nalik pulpi koje sadrži vaskularne strukture (44,58-61). Nakon transplantacije u pulpektomizirane zube matične stanice zubne pulpe regeneriraju pulpu i dentin, što je dokazano električnim testom pulpe, magnetskom rezonancom i CBCT-om (62). Regenerirale su, inervirale i vaskularizirale zubno pulpno tkivo sa završetkom rasta duljine korijena i apikalnim zatvaranjem foramena (63). Matične stanice zubne pulpe najčešće se dobiju iz ortodontski izvađenih zuba, često trećih molara (64).

Upaljeno pulpno tkivo može biti dobar izvor za izolaciju matičnih stanica iako je kapacitet za regeneraciju pulpno-dentinskog kompleksa manji u odnosu na stanice iz netaknute pulpe (65).

Matične stanice iz izložene pulpe sklonije su diferenciranju u osteoblastične stanice umjesto u dentinogene stanice (66).

3.2.2. Matične stanice iz apikalne papile

Matične stanice iz apikalne papile imaju veću aktivnost, migraciju i veći kapacitet umnožavanja od DPSCs jer su dio zuba u razvoju (67). Pokazuju povećani stupanj proliferacije i veći potencijal mineralizacije (40). SCAP su prirodni izvor primarnih odontoblasta koji inducira razvoj korijenskog dentina, a DPSCs su izvor zamjenskih odontoblasta (68). Stvaraju više homogenog tkiva nalik dentinu s većim sličnostima s prirodnim dentinom. Obično su izolirane iz nezrelih trećih kutnjaka (69). Formirani pulpno-dentinski kompleks ima pravilniji i deblji matriks dentina u usporedbi s DPSC-om (67).

Ove su matične stanice uglavnom u stanju mirovanja, a aktiviraju se promjenama u okolišu poput ozljede tkiva ili bolesti (70). U prisutnosti apikalnog parodontitisa u lumenu korijenskog kanala nema vitalnih tkiva. Ali, pulpno tkivo može preživjeti apikalno, čak i u prisutnosti velike periapikalne lezije (71). Matične stanice iz apikalne papile zuba u razvoju imaju sposobnost stvaranja vaskulariziranog tkiva poput pulpe u 5 – 6 mm dugom kanalu (67). Također induciraju formiranje mineraliziranog tkiva (72). Brojna istraživanja dokazuju nastavak razvoja korijena nakon liječenja nezrelih zuba s apikalnim parodontitisom, što znači da su se SCAP stanice, usprkos infekciji, diferencirale u odontoblaste (49,72-74).

3.2.3. Matične stanice parodontnog ligamenta

Matične stanice parodontnog ligamenta koristile su se u istraživanju uz DPSCs i hidroksiapatit (28). Stvoreni su novi korijeni sa sličnim mineralnim komponentama i biomehaničkim svojstvima kao i prirodni zubi, ali su uspješni rezultati postignuti samo u petini uzoraka (28). Dokazana je sposobnost diferencijacije matičnih stanica parodontnog ligamenta u osteoblaste te posljedično stvaranje kosti (50). Međutim, zasada nedostaju dokazi o regeneraciji struktura sličnih pulpi (7).

3.2.4. Matične stanice iz mliječnih zuba

Matične stanice iz mliječnih zuba potječu od izvađenih mliječnih zubi i smatraju se neinvazivnim izvorom matičnih stanica (75). Ove matične stanice imaju pojačanu sposobnost

osteogene regeneracije, diferencijacije i veću stopu proliferacije u usporedbi s DPSC-ima (76). Značajna karakteristika SHED-a njihov je osteoinduktivni potencijal.

Upotreba SHED-a u hidrogelskom nosaču, koji se injektira, rezultira stvaranjem organiziranog tkiva nalik pulpi (77). Istraživanja su pokazala sposobnost diferencijacije u angiogeni endotel uz stvaranje funkcionalnih odontoblasta (78). Matične stanice iz mliječnih zuba u istraživanju *in vivo* stvorile su tkivo slično dentinu i gotovo u potpunosti obnovile defekte zubne pulpe (79).

3.2.5. Stanice prekursora zubnog folikula

Stanice prekursora zubnog folikula slične su matičnim stanicama parodontnog ligamenta, stvaraju vezivna i mineralizirana tkiva, cement, kost i parodontni ligament (51,80,81,82).

Zubni je folikul vezivno tkivo koje okružuje zub u razvoju i kasnije sudjeluje u razvoju parodonta (83). Budući da je riječ o nezrelim stanicama i s obzirom na njihovo razvojno podrijetlo, stanice zubnog folikula uglavnom su istražene u regeneraciji cementa i parodontnog ligamenta (84-87). Dovode do stvaranja sloja sličnog cementu i parodontnog ligamenta, ali i pulpno-dentinskog kompleksa (85). Lako su dostupan dobar izvor matičnih stanica, ali treba uzeti u obzir utjecaj različitih mikrookolina na njihov regenerativni potencijal i potencijalne razlike povezane s vrstama iz kojih se stanice dobivaju ako se presađuju kod ljudi (83). U endodonciji ove matične stanice još nisu dovoljno istražene.

3.3. Matične stanice nedentalnog podrijetla

3.3.1. Mezenhimske matične stanice izvedene iz koštane srži

Mezenhimske matične stanice dobivene iz koštane srži (engl. bone marrow mesenchymal stem cells, BM-MSC) pokazuju niži odontogeni potencijal nego matične stanice zubne pulpe (88). Mogu se diferencirati u stanice poput ameloblasta i odontoblasta, ali to zahtijeva interakciju između epitelnih stanica usne šupljine i obogaćenih BM stanica (89). Za matične stanice iz ekstradentalnih izvora potrebno je posebno okruženje za odontogenu diferencijaciju, a to je složen postupak u usporedbi za upotrebu matičnih stanica zubnog podrijetla (7).

Ako se koriste matične stanice iz koštane srži s nosačem dentinskog matriksa, stanice se diferenciraju u stanice nalik odontoblastima koje prodiru u dentinske tubule (90). Međutim,

dobivanje ovih stanica iz ljudskih izvora invazivni je postupak i njegova je glavna klinička primjena za ortopedske indikacije i istraživanja (91).

3.3.2. Matične stanice dobivene iz masnog tkiva

Matične stanice iz masnog tkiva (engl. adipose-derived stem cells, ADSC) koristili su Hung i sur. (92) te su otkrili veliku stopu proliferacije ovih stanica sa sličnim rezultatima regeneracije zuba kao kod matičnih stanica zubne pulpe.

Ove se stanice mogu koristiti u kombinaciji s matičnim stanicama iz koštane srži umjesto matičnih stanica zubne pulpe (93).

3.3.3. Mezenhimske matične stanice pupkovine

Mezenhimske matične stanice pupkovine dostupne su u velikim količinama bez invazivnih postupaka i pohranjene su u svjetskim bankama matičnih stanica (94). One se diferenciraju u stanice slične odontoplastima i stvaraju tvrdo tkivo. Ove se stanice smatraju sigurnima jer su zaštićene od virusnih infekcija posteljicom (94). U istraživanju Wang i sur. (95) pokazalo se da ove stanice potiču mineralizaciju i sekreciju BMP-2. Ipak, možda nisu opcija u kliničkom okruženju zbog imunološke nekompatibilnosti.

**4. PRIMJENA MATIČNIH STANICA U OBNOVI PULPNO-DENTINSKOG
KOMPLEKSA**

4.1. Izvor i način izolacije matičnih stanica

Prilikom odabira izvora matičnih stanica javlja se pitanje može li se koristiti upaljeno pulpno tkivo. Obično će se ono potpuno ukloniti kako bi se stvorio sterilni okoliš, a dostupni su oprečni podaci o djelovanju tako izoliranih stanica (40). S jedne strane dokazalo se da su takve matične stanice disfunkcionalne i da ih je teško imunoregulirati (96). Iako te stanice mogu tvoriti komplekse dentina i pulpe *in vivo*, imaju smanjeni potencijal mineralizacije (65). S druge strane pokazalo se da su stanice iz upaljenog pulpnog tkiva slične onima iz normalnog pulpnog tkiva prema morfološkim svojstvima, potencijalu proliferacije i diferencijacije te da također stvaraju tkiva slična dentinu i pulpi. (65,97). Upala potiče odontoblastičnu diferencijaciju i nastanak matriksa dentina, ali jaka upala izaziva staničnu apoptozu (98). Iako su matične stanice iz upaljene pulpe dostupnije, potrebno je potvrditi njihovu učinkovitost kroz daljnja istraživanja rizika od patogenog prijenosa iz inficiranih tkiva (65).

S obzirom na izvor matične se stanice dijele na: autologne (vlastite), alogene (donorske) i ksenogene (životinjskog podrijetla) (99). Budući da se matične stanice danas najviše koriste na životinjama, u laboratorijskim istraživanjima najviše je ksenografta (stanice su transplantirane s jedne vrste na drugu).

Najčešće se koriste treći kutnjaci, pretkutnjaci i mliječni zubi jer je njihova ekstrakcija uobičajeni ortodontski postupak (83). Izolacija matičnih stanica iz ovih zubi vrlo je jednostavna.

Načini izolacije matičnih stanica jesu:

1. Izolacija kroz sito

Pulpno tkivo stavlja se u otopinu 3 % kolagenaze tipa I tijekom 1 sata na 37 °C. Postupkom filtriranja dobivaju se stanice promjera između 3 i 20 µm za daljnju kulturu i umnožavanje. Na temelju ovog pristupa mogu se izolirati male populacije koje sadrže visok postotak matičnih stanica.

2. Uzgoj kolonije matičnih stanica

Zubna pulpa stavlja se u enzimsku otopinu za pripremu pojedinačnih stanica koje se koriste za stvaranje kolonija koje sadrže 50 ili više stanica koje se zatim umnažaju.

3. Magnetsko aktivirano razvrstavanje stanica

Imuno-magnetska metoda za odvajanje populacija matičnih stanica na temelju njihovih površinskih antigena (CD271, STRO-1, CD34, CD45 i c-Kit). Ova je metoda jednostavna,

jeftina i sposobna za rukovanje velikim brojem stanica, ali je stupanj čistoće matičnih stanica nizak.

4. Sortiranje stanica aktivirano fluorescencijom (100)

Prikladna je i učinkovita metoda koja može izolirati matične stanice na temelju veličine stanica i fluorescencije. Nedostaci su ove tehnike skupa oprema, visokokvalificirano osoblje, smanjena održivost stanica i neprikladnost za obradu velikih količina stanica.

Prije korištenja matičnih stanica za regeneraciju potrebno ih je uzgajati u kulturi da bi se postigla potrebna količina (101,102). Stanice se uzgajaju u fetalnom goveđem serumu, što povećava rizik od infekcije i imunološkog odgovora (64). Istraživači su koristili i humani trombocitni lizat za uzgoj, što znači da je moguća upotreba autolognog medija (64).

Ako se uzgajaju u mediju bez seruma u koji su dodani čimbenici rasta, vidi se proliferacija i ekspresija matičnih stanica (103).

Ako se matične stanice uzgajaju u nosačima, dolazi do povećanja njihova broja te ih se može usmjerenom diferencirati u specifična tkiva. Ako se koristi deksametazon i askorbinska kiselina, doći će do veće osteogene diferencijacije (66). Dodatne količine monokalijevog fosfata mogu pojačati diferencijaciju matičnih stanica u odontoblaste ili osteoblaste (66,104).

4.2. Način primjene matičnih stanica

In vivo transplantacija kod životinja može biti ektopična i ortotopska (ortogradna) transplantacija (13). Ektopična znači daleko od izvornog mjesta ili transplantacija neobičnog položaja. Ortotopska transplantacija podrazumijeva normalni ili uobičajeni položaj. U istraživanjima regeneracije pulpno-dentinskog kompleksa, ektopična implantacija matičnih stanica uključuje transplantaciju stanica izvan zuba – transplantaciju u potkožno tkivo ili bubrežnu kapsulu. Supkutano se implantira dio korijena zuba u dorzum životinja, a matične su stanice na nosaču u korijenskom kanalu (11,57,65,67,102,105-110). Ortotopska implantacija uključuje transplantaciju stanica u prostor korijenskog kanala (13). Najbolje okruženje koje simulira stvarno stanje jest pulpektomirani kanal zuba u alveoli životinja (69).

Istraživanja pokazuju da je sudbina ugrađenih matičnih stanica više povezana s mjestom transplantacije nego s njihovim podrijetlom i veća je vjerojatnost da će stanice diferencirati u odontoblaste ako se transplantiraju u pulpnu komoru, a u druge stanične linije kada se transplantiraju na druga mjesta (111). Utjecaj imaju i primateljeve matične stanice koje se nalaze blizu mjesta transplantacije koje će se diferencirati zajedno s matičnim stanicama pulpe pa tako pulpne stanice mogu izgubiti svoj prevladavajući učinak na tkiva (111).

Ipak, regeneracija pulpe u pulpektomiziranim zubima otežana je zbog ishemije kao posljedice suženog otvora na vrhu korijena i smanjenje cirkulacije krvi (40). Iako ektopični modeli teško oponašaju *in situ* mikrokruženje zuba, kod ortotopskih modela, zbog jedinstvene anatomske građe korijenskih kanala, nakon transplantacije dolazi do prijanjanja na krunski dio kanala, a srednji i apikalni dio ostaju prazni (57).

4.3. Nosači

Nosač ima glavnu ulogu tijekom terapije matičnim stanicama. On pruža trodimenzionalni supstrat, odnosno privremeni matriks za razvoj matičnih stanica i trebao bi oponašati prirodni ekstracelularni matriks (112). Nosač omogućuje preživljavanje stanica, migraciju, stvaranje kapilarne mreže i povećanje ekspresije vaskularnog endotelnog čimbenika rasta (engl. vascular endothelial growth factor, VEGF) da se stvori vaskularizirano tkivo nalik pulpi s područjima osteodentina (57). Dakle, osim na matične stanice, nosač djeluje i na čimbenike rasta i kontrolira njihovo oslobađanje.

Dizajn nosača temeljni je korak za bilo koji postupak tkivnog inženjeringa kako bi se pravilno isporučile stanice i biomolekule, stvorilo okruženje za aktivnost stanica i promovirala međustanična komunikacija (113).

Nosač se izrađuje od različitih vrsta materijala:

- sintetički biorazgradivi polimeri (npr. polilaktička kiselina [engl. polylactic acid, PLA], poliglikolna kiselina [engl. polyglycolic acid, PGA], polilaktično-ko-glikolna kiselina [engl. poly lactic-co-glycolic acid, PLGA])
- prirodni biorazgradivi polimeri iz bioloških izvora (npr. kolagen, želatina, fibrin, albumin, hitin, hijaluronska kiselina, celuloza)
- anorganski materijali (npr. hidroksiapatit i trikalcijev fosfat)
- kompoziti (7).

Prirodni polimeri pružaju bolju biokompatibilnost, bioaktivnost i biorazgradivost, ali postoje poteškoće u pročišćavanju, niska im je stabilnost, često ih je teško obraditi i postoji rizik od imunološke reakcije. Sintetički polimeri pružaju prednosti poput lakoće izrade i izvrsnih mehaničkih svojstava s većom kontrolom fizikalno-kemijskih svojstava poput brzine razgradnje, mikrostruktura i mehanička čvrstoća, dok nedostaci uključuju nedostatak bioaktivnosti i kronični ili akutni upalni odgovor domaćina (114).

Kolagen je najrasprostranjenija komponenta zubne pulpe i dentinskog matriksa (115). Kolagen tipa I u matriksu dentina pruža žarišne točke za kalcifikaciju, biološki je kompatibilan s prirodnim tkivom, ima nisku antigenost i stoga je dobar materijal za nosače (116). Pomaže u proliferaciji matičnih stanica zubne pulpe i njihovoj diferencijaciji u odontoblaste i sintezi tvrdih tkiva (117). Sakai je u istraživanju opisao da su se SHED oblikovale u krvne žile slične kapilarama nakon uzgoja u kolagenom nosaču (78). Brojna istraživanja provedena *in vitro* i *in vivo* pokazala su da kolagen i nosači na bazi gela pomažu u proliferaciji matičnih stanica zubne pulpe i njihovoj diferencijaciji u odontoblaste, kao i sintezi tvrdih zubnih tkiva, što ukazuje na to da je kolagen prikladan nosač u rekonstrukciji pulpno-dentinskog kompleksa (115,118,119).

Međutim, druga istraživanja pokazuju da upotreba kolagena i matičnih stanica pulpe dovodi do kontrakcije dentinskog matriksa koja može ograničiti staničnu proliferaciju i regeneraciju tkiva (120,121). Istraživanje Zhang (115) pokazuje da je novostvoreno tkivo od DPSCs na kolagenom nosaču *in vivo* sličnije vezivnom tkivu nego dentinu.

Osim toga, s obzirom na to da se izolira od alogenih izvora tkiva, upotreba kolagena može potencijalno prenijeti infekcije povezane s vrstama ili izazvati imunološki odgovor (26,7).

Fibrin je značajan kod cijeljenja zbog svoje uloge u koagulaciji (122). Koristi se za revaskularizaciju zubne pulpe kao rezultat odontoblastične diferencijacije (123). Osim regeneracije pulpe, dolazi do zadebljanja stijenki dentina, produljenja korijena, regresije periapikalne lezije i apikalnog zatvaranja (118).

Trombocitima bogat fibrin iz krvi pacijenta prirodni je nosač iz krvi za regeneraciju pulpnog tkiva i njegovom se upotrebom minimizira rizik od nepovoljnog imunološkog odgovora (40). Može osloboditi mnoge čimbenike povezane s angiogenezom, uključujući PDGF, TGF- β , bFGF i VEGF (124,125). Oni djeluju na proliferaciju i ubrzavaju mineralizaciju matičnih stanica.

Hijaluronska kiselina jedan je od najvažnijih glikozaminoglikana u izvanstaničnoj matrici (126). Inducira stvaranje dentina, djeluje na fizikalno-kemijsku strukturu, citokompatibilnost i biorazgradnju (127). Nedostatak je što se tijekom njezine razgradnje modulira upalni proces te se inhibira migracija leukocita i adhezija neutrofila (128).

Polilaktična kiselina potiče diferencijaciju, proliferaciju i angiogenezu te stvara tkivo nalik pulpi i dentinu (129). Poliglikolna kiselina stvara vaskulariziranu mrežu, visoko mineralizirano tkivo dentina, tkivo pulpe, kao i Hertvigovu epitelnu ovojnici (130).

Hidroksiapatit i trikalcijev fosfat koriste se za cijeljenje velikih koštanih defekata te kao nosači u regeneraciji pulpe. Istraživanja su dokazala regeneraciju dentina i pulpe nakon

supkutane implantacije DPSCs te čestica hidroksiapatita i trikalcijev fosfata (44,58,131). Hidroksiapatit se prirodno nalazi u sastavu dentina. Dentinski matriks sadrži brojne proteine sa značajnim utjecajem na proliferaciju, angiogenezu i regeneraciju pa se zato tretirani dentinski matriks (engl. treated dentin matrix, TDM) često koristi kao materijal za nosače (132-134). Transplantacija SCAP s dijelovima dentinskog matriksa dovodi do stvaranja vaskulariziranog kompleksa sličnog dentinu i pulpi (118).

Kolagen tip 1 i sintetički polimeri (PLGA i PLA) pokazali su najpovoljnije rezultate u endodontskoj regeneraciji tkiva (7). Prema istraživanjima, upotreba hidrogela, i to na bazi kolagena, najbolja je opcija u terapiji korijenskih kanala (135,136).

U posljednje vrijeme sintetizirani su nanofibrozni polimerni nosači koji strukturno i funkcijski imitiraju ekstracelularni matriks (40). Oni su bolji od ostalih nosača zbog međusobno povezane porozne mreže i visokog omjera površine i volumena (137). Nanofibrozni polimeri mogu se prilagoditi kako bi se olakšala određena stanična ponašanja i interakcija stanica s matriksom (138).

Zbog nepravilnog oblika korijenskih kanala najbolji su injekcijski nosači s malim česticama (139).

Primjena biološkog printanja u kombinaciji s matičnim danas je predložena alternativa klasičnom endodontskom liječenju (140). Istraživanje je pokazalo da bio-tinta na bazi fibrina dizajnirana za 3D ispis matičnih stanica zubne pulpe stvara 3D komplekse dentina i pulpe (141). Korištenjem bioloških tinti omogućena je sinteza nosača s preciznom, ponovljivom mikroarhitekturom. Novi hibrid izvanstaničnog matriksa (engl. extracellular matrix, ECM) sintetiziran iz alginata i bjelančevine dentinskog matriksa pokazao je visoke mogućnosti bioprintanja i preživljavanja stanica u različitim koncentracijama (140).

Biološki nosač za regeneraciju pulpe treba biti dvofazna struktura s odgovarajućim središnjim područjem za regeneraciju pulpe i perifernim područjem za regeneraciju dentina. Područje pulpe treba izraditi od organskih materijala kao što su želatina, kolagen, elastin, fibrin, a vanjsko područje dentina mora biti od anorganskih materijala kao što su hidroksiapatit i trikalcijev fosfat (66). U nosač se mogu ugraditi male količine sintetičkih materijala (PLGA, PLA, PGA) da se poboljšaju isporuka lijeka i mehanička svojstva (142).

Nosač bi trebao oponašati izvorni okoliš područja pulpe za pokretanje diferencijacije matičnih stanica (7,102,143). Treba biti porozan jer na taj način omogućuje matičnim stanicama da se vežu, migriraju i razmnožavaju i trebao bi poticati matične stanice da sintetiziraju homogenu matricu (144). Osim toga, nosač bi trebao biti biokompatibilan, njegova biorazgradnja trebala bi biti sinkronizirana s remodelacijom novog tkiva, treba imati mogućnost injekcije u

korijenski kanal, treba osigurati enkapsulaciju ili površinsku adheziju za stanice koje će regenerirati različita zubna tkiva, trebao bi služiti kao pomoć u prostornoj organizaciji stanica i imati sposobnost izmjene specifičnih mehaničkih, fizičkih i bioloških svojstava (26,114,145,146).

Nosači su ključni za strukturnu potporu i transport čimbenika rasta i stanica te pružaju signale važne za biološke procese reparacije i regeneracije.

4.4. Dodatni čimbenici – čimbenici rasta i ostale signalne molekule

Diferencijacija dentalnih matičnih stanica u cilju regeneracije dentina i pulpe ovisi o mnogo različitih čimbenika. Ti su čimbenici bioaktivne signalne molekule unutar lokalnog okoliša koji djeluju na ekspresiju gena matičnih stanica (147). Oni poboljšavaju učinkovitost terapije u regeneraciji pulpno-dentinskog kompleksa, a neki su od njih: čimbenici rasta, lijekovi, bioaktivni materijali, glikozaminoglikani i druge male molekule (69).

Čimbenici rasta molekule su peptida koje se oslobađaju iz stanica i prezentiraju receptorima na površini stanice (140). Vezivanje čimbenika rasta na određene receptore aktivira migraciju stanica, preživljavanje, adheziju, proliferaciju, rast i diferencijacija u željeni tip stanice (148). Prekursori odontoblasta regulirani su čimbenicima rasta poput PDGF, IGF 1 i 2, TGF- β , bFGF te epidermalnog čimbenika rasta (engl. epidermal growth factor, EGF) i čimbenika tumorske nekroze alfa (engl. tumor necrosis factor alpha, TNF- α)(47). TDM i njegovi topljivi proteini često se koriste kao dodatni čimbenik. Osim njih koriste se i: BMP, VEGF, čimbenik stimulacije rasta granulocita (engl. granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF), čimbenik-1 izveden iz stromalnih stanica (engl. stromal cell-derived factor-1, SDF-1).

Odontoblasti izlučuju čimbenike rasta i odlažu ih u dentinski matriks gdje ostaju fosilizirani u bioaktivnom obliku. U matriksu se nalaze brojne bioaktivne molekule sposobne utjecati na stanična događanja ako dođe do ozljede poput karijesnog procesa (37).

Odontoblasti sintetiziraju polimernu kolagensku matricu (tip 1) koja je predložak za stvaranje hidroksiapatita, kao i nekolagene proteine koji pomažu u mineralizaciji dentina (7). Dentinski sialoprotein (engl. dentin sialoprotein, DSP) i dentinski fosfoprotein (engl. dentin phosphoprotein, DPP) najzastupljeniji su nekolageni proteini u matriksu dentina (149). Uloga je DSP-a u pokretanju procesa mineralizacije dentina, a DPP-a u sazrijevanju mineraliziranog dentina, što je dokazano u istraživanju na životinjama (150).

BFGF regulira odontogenezu i oslobađa se iz fibroblasta zubne pulpe nakon ozljede. Stvara se pulpno tkivo s krvnim žilama i dolazi do mineralizacije na zidovima dentina (110).

TGF- β potiče diferencijaciju stanica sličnih odontoblastima i stimulira zubnu pulpu na mineralizaciju (148).

Transplantirane matične stanice zubne pulpe s čimbenikom stimulacije rasta granulocita uz kolagen kao nosač u pulpektomizirane zube stvaraju tkivo nalik pulpnom s velikim krvnim žilama i sekundarnim stvaranjem dentina. No, u ovom je istraživanju MRI pregled pokazao da bi regenerirani dentin mogao biti nedovoljno mineraliziran (151).

BMP-2 potiče diferencijaciju matičnih stanica u odontoblaste (152). Iohara i sur. pokazali su stvaranje reparativnog dentina i regeneracije pulpe nakon autologne transplantacije DPSCs kojima je dodan BMP-2 u amputiranoj pulpi pasjih zubi (53). BMP-4 također posreduje u diferencijaciji embrionalnih matičnih stanica u zubni epitel (153).

VEGF jest čimbenik sa snažnim učincima na signale vezane za angiogenezu. Nakon liječenja s VEGF-om u pulpi se vidi povećana gustoća kapilara i neovaskularizacija nakon 7 dana (154). VEGF potiče angiogenezu, ali ima kratak poluživot, pa se zato koristi vezanjem na heparin kako bi bio dulje bioraspoloživ (155).

Dakle, uloga čimbenika rasta poput TGF- β , BMP i FGF u diferencijaciji je odontoblasta i stimulaciji matriksa dentina na lučenje i regeneraciju pulpe (156).

Čimbenici rasta mogu se koristiti i bez matičnih stanica da bi se stvorilo tkivo slično dentinu i pulpi u korijenskim kanalima (136). Ovaj pristup naziva se «cell homing», tj. navođenje stanica i zasnovan je na kemotaksiji. Bioaktivni signali mogu biti pričvršćeni u biomaterijale. Oslobađanjem signala *in vivo*, susjedne ili sistemske stanice uz vrhove korijena endodontski tretiranih zubi mogu migrirati u korijenski kanal (113). Čimbenici rasta imaju kritičnu ulogu u migraciji i diferencijaciji matičnih stanica (136). Kondicioniranje dentina korijenskog kanala etilendiamintetraoctenom kiselinom (engl. ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) potiče oslobađanje endogenih čimbenika rasta iz matriksa dentina koji induciraju kemotaksiju i stvaranje tkiva nalik na pulpu (157). Na ovaj se način može lakše inducirati i ubrzati regeneracija zubne pulpe u usporedbi s transplantacijom matičnih stanica (113).

Tijekom posljednjih desetljeća postoji sve veći interes za područje regenerativne dentalne medicine, posebno regeneracije zubne pulpe. Iako se za regeneraciju zubne pulpe mogu koristiti različite vrste matičnih stanica, u većini istraživanja korištene su matične stanice zubne pulpe (26,57,61,64,66,110,142,155,158,159). Svaka vrsta odraslih matičnih stanica može obnoviti pulpno-dentinski kompleks pa je najvažnije da su matične stanice lako dostupne za upotrebu i jeftine. Treći kutnjaci ili izvađeni zubi iz ortodontskih razloga najčešći su izvori matičnih stanica.

U upali, pod utjecajem kemotaksijskih gradijenata, matične stanice migriraju na mjesto ozljede i sudjeluju u procesu regeneracije (10,11). Međutim, presađene matične stanice mogu migrirati negdje drugdje ili ulaze u apoptozu. Takvi događaji mogu ovisiti o vrsti matičnih stanica, sklonosti apoptozi i strukturi nosača, što će utjecati na održivost okoliša i migraciju matičnih stanica (69).

Nosač također utječe na regeneraciju tkiva. Mora biti porozan i spužvast da može nositi dovoljno matičnih stanica i čimbenika rasta te mora omogućiti strujanje izvanstaničnog matriksa i stvaranje novih krvnih žila te osigurati kontrolirano otpuštanje čimbenika rasta (69). U istraživanjima se koriste različite vrste nosača: svileni fibrinski nosači, obrađeni dentinski matriks, nosači na bazi kolagena, nanofibrozni polimerni nosači koji imitiraju ekstracelularni matriks te hibridi izvanstaničnog matriksa (110,115,117-119,137,138,140,143). Prirodni i sintetički polimeri imaju različite prednosti i nedostatke, a istraživanja su pokazala da dovode do vezanja matičnih stanica, proliferacije i angiogeneze (77,78,160,161). Nosači na bazi hidrogela pokazuju dobre rezultate u regeneraciji tkiva i jednostavno se primjenjuju ako se koriste u obliku injekcija (77).

Da bi došlo do regeneracije pulpno-dentinskog kompleksa, potrebno je inducirati angiogenezu i potaknuti mineralizaciju tkiva (40). Za poticanje angiogeneze koriste se čimbenici rasta poput VEGF-a, ali u nepovoljnim, hipoksičnim uvjetima i same matične stanice luče čimbenike koji potiču vaskularizaciju (144). Dokazano je da DPSCs luče VEGF, bFGF i PDGF (162-165). Nekoliko *in vitro* istraživanja ukazalo je da bi DPSCs mogle imati sposobnost diferencijacije u stanice endotela, što bi moglo ukazivati na potencijal ugrađivanja ovih stanica u novonastale krvne žile (61,166,167).

Da bi se procijenila regeneracija pulpno-dentinskog kompleksa, koriste se različite metode poput: histologije i histomorfometrije, imunohistokemije i radiologije (CT, mikro-CT i obična radiografija) (69).

U preglednom radu iz 2020. navedena su brojna *in vivo* i *in vitro* istraživanja koja su pokazala uspješne rezultate i uglavnom su provedena na životinjama, a vrlo je malo istraživanja provedeno na ljudima (140).

Dokazano je da se terapijom matičnim stanicama stvaraju tkiva slična pulpi i dentinu s jasnim odontoblastičnim slojevima koji oblažu mineralizirani dentinski matriks (27). Matične stanice dobivene iz upaljene pulpe također imaju sposobnost regeneracije tkiva (65). Huang (67) je u umjetni model ljudskog korijenskog kanala otvorio jedan kraj kanala da bi propustio krvnu opskrbu, a drugi je kraj zapečatio MTA-om (engl. mineral trioxide aggregate, hrv. mineralni trioksidni agregat). U implantiranom fragmentu ljudskog korijena s kulturom matičnih stanica stvorena su tkiva nalik pulpi s dobro diferenciranim vaskularnim strukturama, dok su stanice nalik odontoblastima stvorile tvrdo tkivo nalik dentinu (13). Iohara et al. pokazali su uspješnu regeneraciju pulpno-dentinskog kompleksa u psećih zuba s prethodno uklonjenom pulpom (135).

S druge strane, dokazana je ograničena regeneracija pulpnog tkiva cijelom dužinom korijenskog kanala, ali i da regenerirana tkiva nemaju originalnu pulpnu arhitekturu i funkciju, već popravljenu arhitekturu i funkciju uz stvaranje fibroznih tkiva, cementa ili kosti (113).

Osim toga, važnom se pokazala i veličina apikalnog otvora, dok je u nekim istraživanjima dokazano da ona nema značajnu ulogu (57,168-172). Na primjer, u zubima s otvorenim vrhom regeneracija pulpe duljine je do 5 mm (57). U zubima sa zatvorenim vrhom obnavlja se samo dio pulpe – 3 do 4 mm, pa su zato potrebne višestruke transplantacije u intervalima kako bi se omogućila vaskularizacija presađenih tkiva (57). Neka istraživanja pokazuju regeneraciju zubnih tkiva, čak i kada je veličina apikalnog foramena bila 0,7 mm (170-172).

Sofisticirani nosači koji isporučuju čimbenike rasta važan su dio istraživanja u regeneraciji pulpnog tkiva. Još uvijek ostaje mnogo elemenata na koje treba obratiti pozornost u terapiji matičnim stanicama kao što su kliničko rukovanje i izvedivost, testovi te metode kojima će se utvrditi vitalnost regenerirane pulpe i mogućnost ponovnog liječenja (7). I dalje je nepoznato koji je idealan sastav čimbenika rasta i nosača za regeneraciju pulpe. Potrebno je dodatno istražiti tehnologiju nosača prije nego što ova alternativna terapija bude sigurna i učinkovita u kliničkoj praksi (113).

Budući da upotreba nosača povećava rizik od upale i infekcije, pokušala se razviti i tehnologija za transplantaciju matičnih stanica zubne pulpe bez nosača. U *in vitro* istraživanju korišteni su agregati DPSC-a s termoreaktivnim hidrogelom, a u *in vivo* istraživanju strukture

DPSC-a (158). Stvoreno je tkivo nalik pulpi s bogatim krvnim žilama unutar ljudskog korijenskog kanala šest tjedana nakon implantacije, i to bez nosača ili čimbenika rasta (158). Negativne su strane korištenja matičnih stanica veliki troškovi, otežana stanična izolacija, rukovanje, skladištenje i otprema, *ex vivo* manipulacija i mogućnost imunološkog odbacivanja (za alogene stanice) (173). Ipak, regeneracija tkiva posredovana matičnim stanicama ima dobre rezultate i sposobnost *de novo* regeneracije pulpe i novog dentina (67).

Složenost zubnih struktura i višestranične interakcije predstavljaju veliki izazov u korištenju matičnih stanica u regeneraciji pulpno-dentinskog kompleksa. Za uspjeh navedenog postupka potrebno je definirati univerzalno prihvaćene markere za izolaciju i karakterizaciju matičnih stanica te razviti medije bez životinjskih proizvoda (140).

Također je potrebno usporediti ponašanje dentalnih matičnih stanica *in vitro* i *in vivo* te istražiti sve elemente vezane za pacijenta i potencijalno štetno djelovanje dodataka u kulturama stanica (83). Učinci i nuspojave transplantacije matičnih stanica prije mogućnosti kliničke primjene trebali bi biti jasno istraženi (140).

6. ZAKLJUČAK

U regenerativnoj terapiji matične se stanice koriste za održavanje vitalnosti pulpnog tkiva. Najčešće se koriste matične stanice zubne pulpe iz ortodontski izvađenih zuba. Uz matične stanice, za uspješnu regeneraciju pulpno-dentinskog kompleksa koriste se nosači koji služe kao matriks za razvoj matičnih stanica i signalne molekule koje djeluju na ekspresiju gena matičnih stanica.

Brojna istraživanja pokazuju da se korištenjem matičnih stanica stvaraju tkiva nalik pulpi i dentinu. Pulpa je vaskularizirana i inervirana, stvorene stanice slične su odontoblastima koji stvaraju mineralizirano tkivo i na taj način dolazi do uspješne regeneracije pulpno-dentinskog kompleksa.

Međutim, još uvijek postoje brojna neodgovorena pitanja poput potrebne veličine apikalnog otvora, svojstava čimbenika rasta i nosača, metoda izolacije i uzgoja matičnih stanica, kliničkog rukovanja, izvedivosti i troškova liječenja. Standardizirani protokol liječenja matičnim stanicama omogućio bi predvidljiv klinički rezultat i alternativu klasičnom endodonskom liječenju u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Terapija matičnim stanicama ima veliki potencijal i daje obećavajuće rezultate, ali potrebno je provesti više *in vivo* istraživanja da bi se procijenili učinci i potencijalne komplikacije transplantacije matičnih stanica.

7. LITERATURA

1. Sakamoto M, Rôças IN, Siqueira JF Jr, Benno Y. Molecular analysis of bacteria in asymptomatic and symptomatic endodontic infections. *Oral Microbiol Immunol.* 2006;21(2):112-22.
2. Siqueira JF Jr, Rôças IN. Uncultivated phylotypes and newly named species associated with primary and persistent endodontic infections. *J Clin Microbiol.* 2005;43(7):3314-9.
3. Sundqvist G. Associations between microbial species in dental root canal infections. *Oral Microbiol Immunol.* 1992;7(5):257-62.
4. Munson MA, Pitt-Ford T, Chong B, Weightman A, Wade WG. Molecular and cultural analysis of the microflora associated with endodontic infections. *J Dent Res.* 2002;81(11):761-6.
5. Walton Richard E, Torabinejad M. *Endodontics: principles and practice.* 4th ed. St. Louis: Saunders/Elsevier; 2009.
6. Nitzan DW, Michaeli Y, Weinreb M, Azaz B. The effect of aging on tooth morphology: a study on impacted teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1986;61(1):54-60.
7. Ajay Sharma L, Sharma A, Dias GJ. Advances in regeneration of dental pulp--a literature review. *J Investig Clin Dent.* 2015;6(2):85-98.
8. Smith AJ. Reactionary dentinogenesis. *Int J Dev Biol.* 1995;39(1):273-80.
9. Lin LM, Rosenberg PA. Repair and regeneration in endodontics. *Int Endod J.* 2011;44(10):889-906.
10. Ruangsawasdi N, Zehnder M, Patcas R, Ghayor C, Siegenthaler B, Gjoksi B, Weber FE. Effects of stem cell factor on cell homing during functional pulp regeneration in human immature teeth. *Tissue Eng Part A.* 2017;23(3-4):115-123.
11. Zhang LX, Shen LL, Ge SH, Wang LM, Yu XJ, Xu QC, Yang PS, Yang CZ. Systemic BMSC homing in the regeneration of pulp-like tissue and the enhancing effect of stromal cell-derived factor-1 on BMSC homing. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015;8(9):10261-71.
12. Tziafas D. The future role of a molecular approach to pulp-dentinal regeneration. *Caries Res.* 2004;38(3):314-20.
13. Kim S, Shin SJ, Song Y, Kim E. In Vivo Experiments with Dental Pulp Stem Cells for Pulp-Dentin Complex Regeneration. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:409347.
14. Chaurasiya S, Yadav G, Tripathi AM, Dhinsa K. Endodontic failures and its management: a review. *Int J Oral Health Med Res.* 2016;2(5):144-8.
15. Ng YL, Mann V, Gulabivala K. A prospective study of the factors affecting outcomes of non-surgical root canal treatment: part 2: tooth survival. *Int Endod J* 2011;44(7):610–25.

16. Van der Burgt TP, Plasschaert AJM. Tooth discoloration induced by dental materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1985;60(6):666–9.
17. Van der Burgt TP, Mullaney TP, Plasschaert AJM. Tooth discoloration induced by endodontic sealers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1986;61(1):84–9.
18. Sedgley CM, Messer HH. Are endodontically treated teeth more brittle. *J Endod.* 1992;18(7):332–5.
19. Huang TJ, Schilder H, Nathanson D. Effects of moisture content and endodontic treatment on some mechanical properties of human dentin. *J Endod.* 1992;18(5):209–15.
20. Reeh ES, Messer HH, Douglas WH. Reduction in tooth stiffness as a result of endodontic and restorative procedures. *J Endod.* 1989;15(11):512–6.
21. Piwowarczyk A, Lauer HC, Sorensen JA. Microleakage of various cementing agents for full cast crowns. *Dent Mater.* 2005;21(5):445–53.
22. Caplan DJ, Cai J, Yin G, White BA. Root canal filled versus non-root canal filled teeth: a retrospective comparison of survival times. *J Public Health Dent.* 2005;65(2):90–6.
23. Pappen AF, Bravo M, Gonzalez-Lopez S, Gonzalez-Rodriguez MP. An in vitro study of coronal leakage after intraradicular preparation of castdowel space. *J Prosthet Dent.* 2005;94(3):214–8.
24. Demirel F, Saygili G, Sahmali S. Microleakage of endodontically treated teeth restored with prefabricated posts and tooth-colored restorative materials. *Int J Periodont Restor Dent.* 2005;25(1):73–9.
25. Schmalz G, Smith AJ. Pulp development, repair, and regeneration: challenges of the transition from traditional dentistry to biologically based therapies. *J Endod.* 2014;40(4 Suppl):S2-5.
26. Galler KM, D'Souza RN, Hartgerink JD, Schmalz G. Scaffolds for dental pulp tissue engineering. *Adv Dent Res.* 2011;23(3):333–9.
27. Shi S, Bartold PM, Miura M, Seo BM, Robey PG, Gronthos S. The efficacy of mesenchymal stem cells to regenerate and repair dental structures. *Orthod Craniofac Res.* 2005;8(3):191-9.
28. Gao ZH, Hu L, Liu GL, Wei FL, Liu Y, Liu ZH, Fan ZP, Zhang CM, Wang JS, Wang SL. Bio-Root and implant-based restoration as a tooth replacement alternative. *J Dent Res.* 2016;95(6):642–9.
29. Rimondini L, Mele S. Stem cell technologies for tissue regeneration in dentistry. *Minerva Stomatol.* 2009;58(10):483-500.

30. Egusa H, Sonoyama W, Nishimura M, Atsuta I, Akiyama K. Stem cells in dentistry-part I: stem cell sources. *J Prosthodont Res.* 2012;56(3):151-65.
31. Nuti N, Corallo C, Chan BM, Ferrari M, Gerami-Naini B. Multipotent Differentiation of Human Dental Pulp Stem Cells:a Literature Review. *Stem Cell Rev Rep.* 2016;12(5):511-23.
32. Murray PE, Garcia-Godoy F, Hargreaves KM. Regenerative endodontics: a review of current status and a call for action. *J Endod.* 2007;33(4):377-90.
33. Devolder K. Complicity in stem cell research: the case of induced pluripotent stem cells. *Hum Reprod.* 2010;25(9):2175-80.
34. Kranjčić J, Pandurić V. Histologija zubne pulpe. Sonda: list studenata Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. 2008; 9(16):35-8.
35. Ingle JI, Leif KB. *Endodontics.* 5th ed. Hamilton: Decker; 2002.
36. Njemirovskij Z i suradnici. *Klinička endodoncija.* Zagreb: Globus; 1987.
37. Smith A, Lumley P, Tomson P, Cooper P. Dental regeneration and materials– a partnership. *Clin Oral Investig.* 2008;12(2): 103–8.
38. Fortier L. A. *Stem Cells: Classifications, Controversies, and Clinical Applications.* *Vet Surg.* 2005;34(5):415-23.
39. Rao MS. Stem sense: a proposal for the classification of stem cells. *Stem Cells Dev.* 2004;13(5):452-5.
40. Gong T, Heng BC, Lo EC, Zhang C. Current Advance and Future Prospects of Tissue Engineering Approach to Dentin/Pulp Regenerative Therapy. *Stem Cells Int.* 2016;2016:9204574.
41. 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.
42. Knoepfler PS. Deconstructing stem cell tumorigenicity: a roadmap to safe regenerative medicine. *Stem Cells.* 2009;27(5):1050-6.
43. Casagrande L, Cordeiro MM, Nör SA, Nör JE. Dental pulp stem cells in regenerative dentistry. *Odontology.* 2011;99(1):1-7.
44. Gronthos S, Mankani M, Brahim J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97(25):13625-30.
45. Xie H, Dubey N, Shim W, Ramachandra CJA, Min KS, Cao T, Rosa V. Functional Odontoblastic-Like Cells Derived from Human iPSCs. *J Dent Res.* 2018;97(1):77-83.
46. Araújo LB, Cosme-Silva L, Fernandes AP, Oliveira TM, Cavalcanti BDN, Gomes Filho JE, Sakai VT. Effects of mineral trioxide aggregate, Biodentine™ and calcium

- hydroxide on viability, proliferation, migration and differentiation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *J Appl Oral Sci.* 2018;26:e20160629.
47. Tsutsui TW. Dental Pulp Stem Cells: Advances to Applications. *Stem Cells Cloning.* 2020;13(13):33-42.
 48. Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG, Shi S. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100(10):5807–12.
 49. Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T, Tuan RS, Wang S, Shi S, Huang GT. Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. *J Endod.* 2008;34(2):166-71.
 50. Seo BM, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahim J, Young M, Robey PG, Wang CY, Shi S. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet.* 2004;364(9429):149-55.
 51. Morsezeck C, Götz W, Schierholz J, Zeilhofer F, Kühn U, Möhl C, Sippel C, Hoffmann KH. Isolation of precursor cells (PCs) from human dental follicle of wisdom teeth. *Matrix Biol.* 2005;24(2):155-65.
 52. Aksel H, Ozturk S, Serper A, Ulubayram K. VEGF/BMP-2 loaded three-dimensional model for enhanced angiogenic and odontogenic potential of dental pulp stem cells. *Int Endod J.* 2018;51(4):420–30.
 53. Iohara K, Nakashima M, Ito M, Ishikawa M, Nakasima A, Akamine A. Dentin regeneration by dental pulp stem cell therapy with recombinant human bone morphogenetic protein 2. *J DentRes.* 2004;83(8):590–5.
 54. Zhang J, Lian M, Cao P, Bao G, Xu G, Sun Y, Wang L, Chen J, Wang Y, Feng G, Cui Z. Effects of nerve growth factor and basic fibroblast growth factor promote human dental pulp stem cells to neural differentiation. *Neurochem Res.* 2017;42(4):1015–25.
 55. Luo L, Albashari AA, Wang X, Jin L, Zhang Y, Zheng L, Xia J, Xu H, Zhao Y, Xiao J, He Y, Ye Q. Effects of Transplanted Heparin-Poloxamer Hydrogel Combining Dental Pulp Stem Cells and bFGF on Spinal Cord Injury Repair. *Stem Cells Int.* 2018;27(2018):2398521.
 56. Qian J, Jiayuan W, Wenkai J, Peina W, Ansheng Z, Shukai S, Shafei Z, Jun L, Longxing N. Basic fibroblastic growth factor affects the osteogenic differentiation of dental pulp stem cells in a treatment-dependent manner. *Int Endod J.* 2015;48(7):690–700.
 57. Dissanayaka WL, Hargreaves KM, Jin L, Samaranayake LP, Zhang C. The interplay of dental pulp stem cells and endothelial cells in an injectable peptide hydrogel on angiogenesis and pulp regeneration in vivo. *Tissue Eng Part A.* 2015;21(3-4):550-63.

58. Gronthos S, Brahim J, Li W, Fisher LW, Cherman N, Boyde A, DenBesten P, Robey PG, Shi S. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *J Dent Res.* 2002;81(8):531-5.
59. Patil R, Kumar BM, Lee WJ, Jeon RH, Jang SJ, Lee YM, Park BW, Byun JH, Ahn CS, Kim JW, Rho GJ. Multilineage potential and proteomic profiling of human dental stem cells derived from a single donor. *Exp Cell Res.* 2014;320(1):92-107.
60. 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.
61. d'Aquino R, Graziano A, Sampaolesi M, Laino G, Pirozzi G, De Rosa A, Papaccio G. Human postnatal dental pulp cells co-differentiate into osteoblasts and endotheliocytes: a pivotal synergy leading to adult bone tissue formation. *Cell Death Differ.* 2007;14(6):1162-71.
62. Nakashima M, Iohara K, Murakami M, Nakamura H, Sato Y, Ariji Y, Matsushita K. Pulp regeneration by transplantation of dental pulp stem cells in pulpitis: a pilot clinical study. *Stem Cell Res Ther.* 2017;8(1):61.
63. Xuan K, Li B, Guo H, Sun W, Kou X, He X, Zhang Y, Sun J, Liu A, Liao L, Liu S, Liu W, Hu C, Shi S, Jin Y. Deciduous autologous tooth stem cells regenerate dental pulp after implantation into injured teeth. *Sci Transl Med.* 2018;10(455):eaaf3227.
64. Chen B, Sun HH, Wang HG, Kong H, Chen FM, Yu Q. The effects of human platelet lysate on dental pulp stem cells derived from impacted human third molars. *Biomaterials.* 2021;33(20):5023–35.
65. Alongi DJ, Yamaza T, Song Y, Fouad AF, Romberg EE, Shi S, Tuan RS, Huang GT. Stem/progenitor cells from inflamed human dental pulp retain tissue regeneration potential. *Regen Med.* 2010;5(4):617-31.
66. Wang L, Yan M, Wang Y, Lei G, Yu Y, Zhao C, Tang Z, Zhang G, Tang C, Yu J, Liao H. Proliferation and osteo/odontoblastic differentiation of stem cells from dental apical papilla in mineralization-inducing medium containing additional KH₂PO₄. *Cell Prolif.* 2013;46(2):214-22.
67. Huang GT, Yamaza T, Shea LD, Djouad F, Kuhn NZ, Tuan RS, Shi S. Stem/progenitor cell-mediated de novo regeneration of dental pulp with newly deposited continuous layer of dentin in an in vivo model. *Tissue Eng Part A.* 2010;16(2):605-15.
68. Bakopoulou A, Leyhausen G, Volk J, Tsiftoglou A, Garefis P, Koidis P, Geurtsen W. Comparative analysis of in vitro osteo/odontogenic differentiation potential of human

- dental pulp stem cells (DPSCs) and stem cells from the apical papilla (SCAP). *Arch Oral Biol.* 2011;56(7):709-21.
69. Bakhtiar H, Mazidi S A, Mohammadi Asl S, Ellini MR, Moshiri A, Nekoofar MH, Dummer PMH. The role of stem cell therapy in regeneration of dentine-pulp complex: a systematic review. *Prog Biomater.* 2018;7(4):249-68.
 70. Mitsiadis TA, Barrandon O, Rochat A, Barrandon Y, De Bari C. Stem cell niches in mammals. *Exp Cell Res.* 2007;313(16):3377-85.
 71. Cotti E, Mereu M, Lusso D. Regenerative treatment of an immature, traumatized tooth with apical periodontitis: report of a case. *J Endod.* 2008;34(5):611-6.
 72. Huang GT. A paradigm shift in endodontic management of immature teeth: conservation of stem cells for regeneration. *J Dent.* 2008;36(6):379-86.
 73. Diogenes A, Henry MA, Teixeira FB, Hargreaves KM. An update on clinical regenerative endodontics. *Endodontic Topics.* 2013;28:2-23.
 74. Jung IY, Lee SJ, Hargreaves KM. Biologically based treatment of immature permanent teeth with pulpal necrosis: a case series. *J Endod.* 2008;34(7):876-87.
 75. Jeon M, Song JS, Choi BJ, Choi HJ, Shin DM, Jung HS, Kim SO. In vitro and in vivo characteristics of stem cells from human exfoliated deciduous teeth obtained by enzymatic disaggregation and outgrowth. *Arch Oral Biol.* 2014;59(10):1013-23.
 76. Nakamura S, Yamada Y, Katagiri W, Sugito T, Ito K, Ueda M. Stem cell proliferation pathways comparison between human exfoliated deciduous teeth and dental pulp stem cells by gene expression profile from promising dental pulp. *J Endod.* 2009;35(11):1536-42.
 77. Galler KM, Cavender A, Yuwono V, Dong H, Shi S, Schmalz G, Hartgerink JD, D'Souza RN. Self-assembling peptide amphiphile nanofibers as a scaffold for dental stem cells. *Tissue Eng Part A.* 2008;14(12):2051-8.
 78. Sakai VT, Zhang Z, Dong Z, Neiva KG, Machado MA, Shi S, Santos CF, Nör JE. SHED differentiate into functional odontoblasts and endothelium. *J Dent Res.* 2010;89(8):791-6.
 79. Zheng Y, Wang XY, Wang YM, Liu XY, Zhang CM, Hou BX, Wang SL. Dentin regeneration using deciduous pulp stem/progenitor cells. *J Dent Res.* 2012;91(7):676-82.
 80. Handa K, Saito M, Tsunoda A, Yamauchi M, Hattori S, Sato S, Toyoda M, Teranaka T, Narayanan AS. Progenitor cells from dental follicle are able to form cementum matrix in vivo. *Connect Tissue Res.* 2002;43(2-3):406-8.
 81. Luan X, Ito Y, Dangaria S, Diekwisch TG. Dental follicle progenitor cell heterogeneity in the developing mouse periodontium. *Stem Cells Dev.* 2006;15(4):595-608.

82. Honda MJ, Imaizumi M, Suzuki H, Ohshima S, Tsuchiya S, Satomura K. Stem cells isolated from human dental follicles have osteogenic potential. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011;111(6):700–8.
83. Hilkens P, Meschi N, Lambrechts P, Bronckaers A, Lambrechts I. Dental Stem Cells in Pulp Regeneration: Near Future or Long Road Ahead? *Stem Cells Dev.* 2015;24(14):1610-22.
84. Guo L, Li J, Qiao X, Yu M, Tang W, Wang H, Guo W, Tian W. Comparison of odontogenic differentiation of human dental follicle cells and human dental papilla cells. *PLoS One.* 2013 Apr 19;8(4):e62332.
85. Guo W, Chen L, Gong K, Ding B, Duan Y, Jin Y. Heterogeneous dental follicle cells and the regeneration of complex periodontal tissues. *Tissue Eng Part A.* 2012;18(5-6):459-70.
86. Handa K, Saito M, Tsunoda A, Yamauchi M, Hattori S, Sato S, Toyoda M, Teranaka T, Narayanan AS. Progenitor cells from dental follicle are able to form cementum matrix in vivo. *Connect Tissue Res.* 2002;43(2-3):406-8.
87. Handa K, Saito M, Yamauchi M, Kiyono T, Sato S, Teranaka T, Sampath Narayanan A. Cementum matrix formation in vivo by cultured dental follicle cells. *Bone.* 2002;31(5):606-11.
88. Yu J, Wang Y, Deng Z, Tang L, Li Y, Shi J, Jin Y. Odontogenic capability: bone marrow stromal stem cells versus dental pulp stem cells. *Biol Cell.* 2007;99(8):465-74.
89. Hu B, Unda F, Bopp-Kuchler S, Jimenez L, Wang XJ, Haikel Y, Wang SL, Lesot H. Bone marrow cells can give rise to ameloblast-like cells. *J Dent Res.* 2006;85(5):416-21.
90. Lei G, Yu Y, Jiang Y, Wang S, Yan M, Smith AJ, Smith G, Cooper PR, Tang C, Zhang G, Yu J. Differentiation of BMMSCs into odontoblast-like cells induced by natural dentine matrix. *Arch Oral Biol.* 2013;58(7):862-70.
91. Chen Z, Cao S, Wang H, Li Y, Kishen A, Deng X, Yang X, Wang Y, Cong C, Wang H, Zhang X. Biomimetic remineralization of demineralized dentine using scaffold of CMC/ACP nanocomplexes in an in vitro tooth model of deep caries. *PLoS One.* 2015;10(1):e0116553.
92. Hung CN, Mar K, Chang HC, Chiang YL, Hu HY, Lai CC, Chu RM, Ma CM. A comparison between adipose tissue and dental pulp as sources of MSCs for tooth regeneration. *Biomaterials.* 2011;32(29):6995-7005.
93. Murakami M, Hayashi Y, Iohara K, Osako Y, Hirose Y, Nakashima M. Trophic effects and regenerative potential of mobilized mesenchymal stem cells from bone marrow and

- adipose tissue as alternative cell sources for pulp/dentin regeneration. *Cell Transpl.* 2015;24(9):1753–1765.
94. Chen Y, Yu Y, Chen L, Ye L, Cui J, Sun Q, Li K, Li Z, Liu L. Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells: A New Therapeutic Option for Tooth Regeneration. *Stem Cells Int.* 2015;2015:549432.
95. Wang J, Ye Y, Tian H, Yang S, Jin X, Tong W, Zhang Y. In vitro osteogenesis of human adipose-derived stem cells by coculture with human umbilical vein endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2011;412(1):143-9.
96. Yazid FB, Gnanasegaran N, Kunasekaran W, Govindasamy V, Musa S. Comparison of immunodulatory properties of dental pulp stem cells derived from healthy and inflamed teeth. *Clin Oral Investig.* 2014;18(9):2103-12.
97. Pereira LO, Rubini MR, Silva JR, Oliveira DM, Silva ICR, Poças-Fonseca MJ, Azevedo RB. Comparison of stem cell properties of cells isolated from normal and inflamed dental pulps. *Int Endod J.* 2012;45(12):1080–90.
98. Goldberg M, Farges JC, Lacerda-Pinheiro S, Six N, Jegat N, Decup F, Septier D, Carrouel F, Durand S, Chaussain-Miller C, Denbesten P, Veis A, Poliard A. Inflammatory and immunological aspects of dental pulp repair. *Pharmacol Res.* 2008;58(2):137-47.
99. Chen FM, Jin Y. Periodontal tissue engineering and regeneration: current approaches and expanding opportunities. *Tissue Eng Part B Rev.* 2010;16(2):219-55.
100. Bansal R, Jain A. Current overview on dental stem cells applications in regenerative dentistry. *J Nat Sci Biol Med.* 2015;6(1):29-34.
101. Asatrian G, Pham D, Hardy WR, James AW, Peault B. Stem cell technology for bone regeneration: current status and potential applications. *Stem Cells Cloning.* 2015;8:39–48.
102. Dissanayaka WL, Zhu L, Hargreaves KM, Jin L, Zhang C. Scaffold-free prevascularized microtissue spheroids for pulp regeneration. *J Dent Res.* 2014;93(12):1296–1303.
103. Hirata TM, Ishkitiev N, Yaegaki K, Calenic B, Ishikawa H, Nakahara T, Mitev V, Tanaka T, Haapasalo M. Expression of multiple stem cell markers in dental pulp cells cultured in serum-free media. *J Endod.* 2010;36(7):1139-44.
104. Wang J, Ma H, Jin X, Hu J, Liu X, Ni L, Ma PX. The effect of scaffold architecture on odontogenic differentiation of human dental pulp stem cells. *Biomaterials.* 2011;32(31):7822–30.

105. Horibe H, Murakami M, Iohara K, Hayashi Y, Takeuchi N, Takei Y, Kurita K, Nakashima M. Isolation of a stable subpopulation of mobilized dental pulp stem cells (MDPSCs) with high proliferation, migration, and regeneration potential is independent of age. *PLoS One*. 2014;9(5):e98553.
106. Ishizaka R, Hayashi Y, Iohara K, Sugiyama M, Murakami M, Yamamoto T, Fukuta O, Nakashima M. Stimulation of angiogenesis, neurogenesis and regeneration by side population cells from dental pulp. *Biomaterials*. 2013;34(8):1888-97.
107. Lei M, Li K, Li B, Gao LN, Chen FM, Jin Y. Mesenchymal stem cell characteristics of dental pulp and periodontal ligament stem cells after in vivo transplantation. *Biomaterials*. 2014;35(24):6332-43.
108. Takeuchi N, Hayashi Y, Murakami M, Alvarez FJ, Horibe H, Iohara K, Nakata K, Nakamura H, Nakashima M. Similar in vitro effects and pulp regeneration in ectopic tooth transplantation by basic fibroblast growth factor and granulocyte-colony stimulating factor. *Oral Dis*. 2015;21(1):113-22.
109. Tran Hle B, Doan VN. Human dental pulp stem cells cultured onto dentin derived scaffold can regenerate dentin-like tissue in vivo. *Cell Tissue Bank*. 2015;16(4):559-68.
110. Yang JW, Zhang YF, Sun ZY, Song GT, Chen Z. Dental pulp tissue engineering with bFGF-incorporated silk fibroin scaffolds. *J Biomater Appl*. 2015;30(2):221-9.
111. Chmielewsky F, Jeanneau C, Dejou J, About I. Sources of dentin-pulp regeneration signals and their modulation by the local microenvironment. *J Endod*. 2014;40(4 Suppl):S19-25.
112. Ma PX. Biomimetic materials for tissue engineering. *Adv Drug Deliv Rev*. 2008;60(2):184-98.
113. Jazayeri HE, Lee SM, Kuhn L, Fahimipour F, Tahriri M, Tayebi L. Polymeric scaffolds for dental pulp tissue engineering: A review. *Dent Mater*. 2020;36(2):e47-e58.
114. Yuan Z, Nie H, Wang S, Lee CH, Li A, Fu SY, Zhou H, Chen L, Mao JJ. Biomaterial selection for tooth regeneration. *Tissue Eng Part B Rev*. 2011;17(5):373-88.
115. Zhang W, Walboomers XF, van Kuppevelt TH, Daamen WF, Bian Z, Jansen JA. The performance of human dental pulp stem cells on different three-dimensional scaffold materials. *Biomaterials*. 2006;27(33):5658-68.
116. Linde A. Dentin matrix proteins: composition and possible functions in calcification. *Anat Rec*. 1989;224(2):154-66.
117. Kim NR, Lee DH, Chung PH, Yang HC. Distinct differentiation properties of human dental pulp cells on collagen, gelatin, and chitosan scaffolds. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;108(5):e94-100.

118. Zhang L, Morsi Y, Wang Y, Li Y, Ramakrishna S. Review scaffold design and stem cells for tooth regeneration. *Jpn Dent Sci Rev.* 2013;49(1):14–26.
119. Sumita Y, Honda MJ, Ohara T, Tsuchiya S, Sagara H, Kagami H, Ueda M. Performance of collagen sponge as a 3-D scaffold for tooth-tissue engineering. *Biomaterials.* 2006;27(17):3238–48.
120. Huang GT, Sonoyama W, Chen J, Park SH. In vitro characterization of human dental pulp cells: various isolation methods and culturing environments. *Cell Tissue Res.* 2006;324(2):225–36.
121. Chan CP, Lan WH, Chang MC, Chen YJ, Lan WC, Chang HH, Jeng JH. Effects of TGF- β s on the growth, collagen synthesis and collagen lattice contraction of human dental pulp fibroblasts in vitro. *Arch Oral Biol.* 2005;50(5):469–79.
122. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;101(3):e51–5.
123. Shivashankar VY, Johns DA, Vidyanath S, Kumar MR. Platelet rich fibrin in the revitalization of tooth with necrotic pulp and open apex. *J Conserv Dent.* 2012;15(4):395–8
124. Li X, Hou J, Wu B, Chen T, Luo A. Effects of platelet-rich plasma and cell coculture on angiogenesis in human dental pulp stem cells and endothelial progenitor cells. *J Endod.* 2014;40(11):1810–4.
125. Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004;62(4):489–96.
126. Fraser JRE, Laurent TC, Laurent UBG. Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. *J Intern Med.* 1997;242(1):27–33.
127. Inuyama Y, Kitamura C, Nishihara T, Morotomi T, Nagayoshi M, Tabata Y, Matsuo K, Chen KK, Terashita M. Effects of hyaluronic acid sponge as a scaffold on odontoblastic cell line and amputated dental pulp. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2010;92(1):120–8.
128. Forrester JV, Wilkinson PC. Inhibition of leukocyte locomotion by hyaluronic acid. *J Cell Sci.* 1981;48: 315–31.
129. Wang J, Liu X, Jin X, Ma H, Hu J, Ni L, Ma PX. The odontogenic differentiation of human dental pulp stem cells on nanofibrous poly(l-lactic acid) scaffolds in vitro and in vivo. *Acta Biomater.* 2010;6(10):3856–63.

130. Banchs F, Trope M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol? *J Endod.* 2004;30(4):196–200.
131. Batouli S, Miura M, Brahim J, Tsutsui TW, Fisher LW, Gronthos S, Robey PG, Shi S. Comparison of stem-cell-mediated osteogenesis and dentinogenesis. *J Dent Res.* 2003;82(12):976-81.
132. Chun SY, Lee HJ, Choi YA, Kim KM, Baek SH, Park HS, Kim JY, Ahn JM, Cho JY, Cho DW, Shin HI, Park EK. Analysis of the soluble human tooth proteome and its ability to induce dentin/tooth regeneration. *Tissue Eng Part A.* 2011;17(1-2):181-91.
133. Graham L, Cooper PR, Cassidy N, Nor JE, Sloan AJ, Smith AJ. The effect of calcium hydroxide on solubilisation of bio-active dentine matrix components. *Biomaterials.* 2006;27(14):2865-73.
134. Zhang R, Cooper PR, Smith G, Nör JE, Smith AJ. Angiogenic activity of dentin matrix components. *J Endod.* 2011;37(1):26-30.
135. Iohara K, Zheng L, Ito M, Ishizaka R, Nakamura H, Into T, Matsushita K, Nakashima M. Regeneration of dental pulp after pulpotomy by transplantation of CD31(-)/CD146(-) side population cells from a canine tooth. *Regen Med.* 2009;4(3):377-85.
136. Kim JY, Xin X, Moiola EK, Chung J, Lee CH, Chen M, Fu SY, Koch PD, Mao JJ. Regeneration of dental-pulp-like tissue by chemotaxis-induced cell homing. *Tissue Eng Part A.* 2010;16(10):3023-31.
137. Nakashima M, Akamine A. The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics. *J Endod.* 2005;31(10):711-8.
138. Gupte MJ, Ma PX. Nanofibrous scaffolds for dental and craniofacial applications. *J Dent Res.* 2012;91(3):227-34.
139. Nagaveni NB, Kumari KN, Poornima P, Reddy V. Management of an endo-perio lesion in an immature tooth using autologous platelet-rich fibrin: a case report. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2015;33(1):69-73.
140. Ahmed GM, Abouauf EA, AbuBakr N, Dörfer CE, El-Sayed KF. Tissue Engineering Approaches for Enamel, Dentin, and Pulp Regeneration: An Update. *Stem Cells Int.* 2020;2020:5734539.
141. Han J, Kim DS, Jang H, Kim HR, Kang HW. Bioprinting of three-dimensional dentin-pulp complex with local differentiation of human dental pulp stem cells. *J Tissue Eng.* 2019;10:2041731419845849.

142. Zheng L, Yang F, Shen H, Hu X, Mochizuki C, Sato M, Wang S, Zhang Y. The effect of composition of calcium phosphate composite scaffolds on the formation of tooth tissue from human dental pulp stem cells. *Biomaterials*. 2011;32(29):7053-9.
143. Chen G, Chen J, Yang B, Li L, Luo X, Zhang X, Feng L, Jiang Z, Yu M, Guo W, Tian W. Combination of aligned PLGA/Gelatin electrospun sheets, native dental pulp extracellular matrix and treated dentin matrix as substrates for tooth root regeneration. *Biomaterials*. 2015;52:56-70.
144. Kuang R, Zhang Z, Jin X, Hu J, Shi S, Ni L, Ma PX. Nanofibrous spongy microspheres for the delivery of hypoxia-primed human dental pulp stem cells to regenerate vascularized dental pulp. *Acta Biomater*. 2016;33:225-34.
145. Galler KM, D'Souza RN, Hartgerink JD. Biomaterials and their potential applications for dental tissue engineering. *J Mater Chem*. 2010;20:8730-46.
146. Sun H-H, Jin T, Yu Q, Chen F-M. Biological approaches toward dental pulp regeneration by tissue engineering. *J Tissue Eng Regen Med* 2011;5(4):e1–16.
147. Thesleff I, Sharpe P. Signalling networks regulating dental development. *Mech Dev*. 1997;67(2):111–23.
148. Oshima M, Tsuji T. Functional tooth regenerative therapy: tooth tissue regeneration and whole-tooth replacement. *Odontology*. 2014;102(2):123-36.
149. Yamakoshi Y, Hu JC, Fukae M, Iwata T, Kim JW, Zhang H, Simmer JP. Porcine dentin sialoprotein is a proteoglycan with glycosaminoglycan chains containing chondroitin 6-sulfate. *J Biol Chem*. 2005;280(2):1552-60.
150. Suzuki S, Sreenath T, Haruyama N, Honeycutt C, Terse A, Cho A, Kohler T, Müller R, Goldberg M, Kulkarni AB. Dentin sialoprotein and dentin phosphoprotein have distinct roles in dentin mineralization. *Matrix Biol*. 2009;28(4):221-9.
151. Iohara K, Fujita M, Aiji Y, Yoshikawa M, Watanabe H, Takashima A, Nakashima M. Assessment of Pulp Regeneration Induced by Stem Cell Therapy by Magnetic Resonance Imaging. *J Endod*. 2016;42(3):397-401.
152. Casagrande L, Demarco FF, Zhang Z, Araujo FB, Shi S, Nör JE. Dentin-derived BMP-2 and odontoblast differentiation. *J Dent Res*. 2010;89(6):603-8.
153. Li Q, Zhang S, Sui Y, Fu X, Li Y, Wei S. Sequential stimulation with different concentrations of BMP4 promotes the differentiation of human embryonic stem cells into dental epithelium with potential for tooth formation. *Stem Cell Res Ther*. 2019;10(1):276.

154. Mullane EM, Dong Z, Sedgley CM, Hu JC, Botero TM, Holland GR, Nör JE. Effects of VEGF and FGF2 on the revascularization of severed human dental pulps. *J Dent Res.* 2008;87(12):1144-8.
155. Li X, Ma C, Xie X, Sun H, Liu X. Pulp regeneration in a full-length human tooth root using a hierarchical nanofibrous microsphere system. *Acta Biomater.* 2016;35:57-67.
156. Simon SR, Berdal A, Cooper PR, Lumley PJ, Tomson PL, Smith AJ. Dentin-pulp complex regeneration: from lab to clinic. *Adv Dent Res.* 2011;23(3):340-5.
157. Galler KM, Widbiller M. Perspectives for cell-homing approaches to engineer dental pulp. *J Endod.* 2017;43(9S):S40-5.
158. Itoh Y, Sasaki JI, Hashimoto M, Katata C, Hayashi M, Imazato S. Pulp Regeneration by 3-dimensional Dental Pulp Stem Cell Constructs. *J Dent Res.* 2018;97(10):1137-43.
159. Wang X, Sha XJ, Li GH, Yang FS, Ji K, Wen LY, Liu SY, Chen L, Ding Y, Xuan K. Comparative characterization of stem cells from human exfoliated deciduous teeth and dental pulp stem cells. *Arch Oral Biol.* 2012;57(9):1231-40.
160. Woo KM, Chen VJ, Jung H-M, Kim T-I, Shin H-I, Baek J-H, Ryoo HM, Ma PX. Comparative evaluation of nanofibrous scaffolding for bone regeneration in critical-size calvarial defects. *Tissue Eng A* 2009;15(8):2155-62.
161. Woo KM, Chen VJ, Ma PX. Nano-fibrous scaffolding architecture selectively enhances protein adsorption contributing to cell attachment. *J Biomed Mater Res A.* 2003;67(2):531-7.
162. Aranha AM, Zhang Z, Neiva KG, Costa CA, Hebling J, Nör JE. Hypoxia enhances the angiogenic potential of human dental pulp cells. *J Endod.* 2010;36(10):1633-7.
163. Nakashima M, Iohara K, Sugiyama M. Human dental pulp stem cells with highly angiogenic and neurogenic potential for possible use in pulp regeneration. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2009;20(5-6):435-40.
164. Tran-Hung L, Mathieu S, About I. Role of human pulp fibroblasts in angiogenesis. *J Dent Res.* 2006;85(9):819-23.
165. Tran-Hung L, Laurent P, Camps J, About I. Quantification of angiogenic growth factors released by human dental cells after injury. *Arch Oral Biol.* 2008;53(1):9-13.
166. Karbanová J, Soukup T, Suchánek J, Pytlík R, Corbeil D, Mokřý J. Characterization of dental pulp stem cells from impacted third molars cultured in low serum-containing medium. *Cells Tissues Organs.* 2011;193(6):344-65.
167. Marchionni C, Bonsi L, Alviano F, Lanzoni G, Di Tullio A, Costa R, Montanari M, Tazzari PL, Ricci F, Pasquinelli G, Orrico C, Grossi A, Prati C, Bagnara GP. Angiogenic

- potential of human dental pulp stromal (stem) cells. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2009;22(3):699-706.
168. Andreasen JO, Borum MK, Jacobsen HL, Andreasen FM. Replantation of 400 avulsed permanent incisors. 2. Factors related to pulpal healing. *Endod Dent Traumatol.* 1995;11(2):59-68.
169. Kling M, Cvek M, Mejare I. Rate and predictability of pulp revascularization in therapeutically reimplanted permanent incisors. *Endod Dent Traumatol.* 1986;2(3):83-9.
170. Iohara K, Zheng L, Wake H, Ito M, Nabekura J, Wakita H, Nakamura H, Into T, Matsushita K, Nakashima M. A novel stem cell source for vasculogenesis in ischemia: subfraction of side population cells from dental pulp. *Stem Cells.* 2008;26(9):2408-18.
171. Iohara K, Murakami M, Takeuchi N, Osako Y, Ito M, Ishizaka R, Utunomiya S, Nakamura H, Matsushita K, Nakashima M. A novel combinatorial therapy with pulp stem cells and granulocyte colony-stimulating factor for total pulp regeneration. *Stem Cells Transl Med.* 2013;2(7):521-33.
172. Rosa V, Zhang Z, Grande RH, Nor JE. Dental pulp tissue engineering in full-length human root canals. *J Dent Res.* 2013;92(11):970-5.
173. Mao JJ, Stosich MS, Moioli EK, Lee CH, Fu SY, Bastian B, Eisig SB, Zemnick C, Ascherman J, Wu J, Rohde C, Ahn J. Facial reconstruction by biosurgery: cell transplantation versus cell homing. *Tissue Eng Part B Rev.* 2010;16(2):257-62.

Martina Perušina Arbanas rođena je 11. studenog 1988. godine u Dubrovniku gdje završava osnovnu i srednju Turističku i ugostiteljsku školu Dubrovnik. Nakon završene srednje škole upisuje Fakultet za menadžment u turizmu i ugostiteljstvu u Opatiji, a diplomski studij završava 2013. godine na Ekonomskom fakultetu – Zagreb gdje stječe zvanje magistre ekonomije.

Studij dentalne medicine na Stomatološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu upisuje 2015. godine. Govori engleski, talijanski i francuski jezik.