

## Kako napraviti vlastiti organ

Dr. sc. Lea Vuletić<sup>1</sup>  
 Doc. dr. sc. Dinko Mitrečić<sup>2</sup>  
 Prof. dr. sc. Ivan Alajbeg<sup>3</sup>

[1] Katedra za fiziologiju, Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu

[2] Katedra za histologiju s embriologijom, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

[3] Zavod za oralnu medicinu, Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Naslov ovog članka ujedno je i naziv izbornog predmeta koji kod studenata Medicinskog fakulteta u Splitu nastoji pobuditi znatiželju prema regenerativnoj medicini, dijelu medicine kojem je cilj postići strukturnu i funkcijsku obnovu stanica, tkiva i organa oštećenih bolešću, traumom ili prirođenim anomalijama. Razvojem regenerativne medicine želi se, između ostalog, unaprijediti koncept personaliziranog terapijskog pristupa bolesniku i ponuditi rješenje za problem manjka donorskih organa koji zbog starenja populacije postaje sve veći. U ovom su radu predstavljene osnove regenerativne medicine i dat je kratki pregled istraživanja iz tog područja koja svoje izvorište i potencijalnu kliničku primjenu imaju u području dentalne medicine.

### Zašto je potrebna regenerativna medicina?

Regeneracija je obnova ozlijeđenog ili izgubljenog tkiva istovrsnim tkivom i ponovna uspostava njegove normalne funkcije. Sraštavanje kosti nakon prijeloma primjer je takvog, najpoželjnijeg načina oporavka. No regeneracija tkiva često izostaje odnosno zamjenjuje je stvaranje vezivnog ožiljka zbog nedovoljnog broja ili nedostatka stanica iz kojih bi se oštećene stanice mogle obnoviti i/ili zbog nedovoljno dugog vremena koje za to imaju na raspolaganju. Starenje i kronične bolesti dodatni su čimbenici koji umanjuju mogućnost potpune obnove (1). Kod čovjeka neki oblici regeneracije koje (s trunčicom zavisti) možemo uočiti kod nekih životinjskih vrsta, nisu ni mogući. Primjerice, odrasli daždvenjak može u potpunosti regenerirati izgubljeni ekstremitet dediferencijacijom i respecijalizacijom postojećih stanica (2). Ljuds-

ki organ koji se, još od antičkih vremena, povezuje s relativno velikom sposobnošću regeneracije je jetra. Prema grčkoj mitologiji, Zeus je Prometeja, zbog toga što je ljudima dao vatru, kaznio tako što ga je dao prikovati za stijenu i na nj poslao orla koji mu je ključao jetru. Kako se ona pak svake noći obnavljala, brza regeneracija jetre u ovome se mitu može smatrati dijelom Prometejeve kazne jer mu je produljivala patnju. Regeneracija jetre sisavaca ne odvija se istim mehanizmima kao regeneracija ekstremiteta daždvenjaka. Naziva se kompenzacijskom jer se uklonjeni režanj jetre nadoknađuje kompenzacijskom proliferacijom preostalog jetrenog tkiva pod utjecajem niza parakrinih i endokrinih čimbenika pri kojoj stanice ni u jednoj fazi tog procesa ne gube svoje diferencijacijske značajke (stanični identitet) (2). Ipak, u terminalnim je stadijima jetrenih bolesti regenerativni kapacitet hepatocita ograničen pa presađivanje jetre ostaje jedina terapijska mogućnost. Raspolaganje izvantjelesnim uređajem koji potpomaže jetrenu funkciju može biti od velike pomoći u zbrinjavanju bolesnika s akutnim zatajenjem jetre osiguravajući vrijeme za rješavanje akutne disfunkcije, moguću regeneraciju ili pronalaženje transplantata. Ovi uređaji

svojevrnsni su bioreaktori koji se zasnivaju na perfuziji suspenzije kultiviranih hepatocita ili besmrtnih staničnih linija hepatoma koji izvan tijela čine ono što vlastite stanice više ne mogu (3).

Budući da je regenerativna sposobnost kod čovjeka ograničena, razvojem regenerativne medicine nastoji se doći do uspješnih metoda transplantacije stanica koje bi izravno i/ili posredno omogućile (potaknule) obnovu ciljnog tkiva te proizvesti bilo koji tip tkiva ili čak organ ljudskog tijela koji bi mogao zamijeniti oštećeni. Regenerativna medicina stoga objedinjuje mnoga znanstvena područja uključujući područje embriologije i razvojne biologije, biologije stanica, osobito matičnih stanica, tkivnog inženjeringa te znanosti o materijalima. Jedno od prvih istraživanja u području tkivnog inženjeringa koje je privuklo značajnu pažnju javnosti bilo je istraživanje o mogućnosti stimulacije razvoja hrskavice nasađivanjem hondrocita na sintetski biorazgradivi nosač u obliku ljudske uške radi uporabe u plastičnoj i rekonstruktivnoj kirurgiji (4). Prema Josephu Vacantiju, američkom kirurgu i znanstveniku, laboratorijski miš s „izraslinom“ u obliku ljudske uške na leđima poznat je kao Vacantijev miš (slika 1.). Ovi-



Slika 1. Vacantijev miš. Preuzeto s: <http://www.nesps.org/abstracts/2010/64.cgi>

sno o biološkom regenerativnom materijalu/ tvorbi koja je predmet istraživanja, danas su istraživanja u ovom području u različitim fazama. Dok su neka još u samim začetima, druga su dosegla stadij kliničkih istraživanja ili su stanice/ tkiva (već) odobreni za primjenu na ljudima. Biološki materijali dobiveni korištenjem principa tkivnog inženjeringa dozvoljeni za klinička istraživanja/ uporabu uključuju materijale za rekonstrukciju kože, hrskavice, kosti, krvnih žila, rožnice, mokraćne cijevi i mokraćnog mjehura (5, 6). Vjerojatno najpoznatiji segment regenerativne medicine, transplantacija krvotvornih matičnih stanica radi obnove krvotvornog tkiva koštane srži, standardna je terapijska opcija u liječenju bolesnika s različitim hematološkim bolestima.

#### Tko su nositelji regenerativne medicine?

Dva osnovna elementa na kojima počiva regenerativna medicina su stanice i biomaterijali. U *ex vivo* uvjetima biomaterijali oponašaju biološku i mehaničku ulogu izvanstaničnog matriksa osiguravajući sidrište za stanice i trodimenzionalnu osnovu koja će služiti kao vodič staničnog rasta prema željenoj strukturi. Ukoliko se biomaterijali usađuju u tijelo bez stanica, tada je cilj njihove primjene olakšati ili potaknuti regeneraciju na mjestu implantacije tako da se pomoću njih obično dopremaju i određeni bioaktivni čimbenici (adhezijski peptidi, čimbenici rasta i sl.) radi poticanja staničnog rasta. Tri osnovne vrste materijala koji se koriste kao nosači u tkivnom inženjeringu su prirodni materijali poput kolagena, fibrina i alginata, sintetski polimeri poput poliglukolne kiseline i vezivna matrica tkiva ili organa dobivena uklanjanjem stanica (decelularizacijom) prikladnim metodama. Stanice koje se koriste u regenerativnoj medicini su native stanice tkiva čiju obnovu želimo postići i matične stanice. U *in vitro* uvjetima nije lako postići zadovoljavajuću razinu umnažanja nativnih stanica pa se regenerativna medicina sve više povezuje s istraživanjima matičnih stanica

(5). Matične stanice (engl. *stem cells*) su stanice velike sposobnosti samoobnavljanja i ujedno stanice iz kojih se diferenciraju raznovrsne specijalizirane tjelesne stanice. Osnovna podjela razlikuje embrijske matične stanice i matične stanice odraslih. Embrijske matične stanice (ESC, od *embryonic stem cells*) izdvojene iz unutrašnje skupine stanica blastociste su pluripotentne stanice visoke proliferativne moći sposobne proizvesti bilo koju vrstu tjelesnih stanica. Matične stanice odraslih (ASC, od *adult stem cells*) ili somatske matične stanice su uglavnom multipotentne stanice prisutne u gotovo svim tkivima koje omogućuju obnovu različitih tipova stanica tkiva u kojem se normalno nalaze. Pokazalo se kako ASC izolirane iz jednog tkiva mogu proizvesti i stanice tkiva u kojemu se normalno ne nalaze, a u određenim je slučajevima njihov ključni doprinos obnovi ne-vlastitog tkiva izlučivanje čimbenika koji na mjestu oštećenja mobiliziraju postojeće matične stanice (1, 5, 7, 8). Osim toga, iz pojedinih tkiva odraslih osoba izolirane su i populacije matičnih stanica koje izražavaju mnoge gene normalno povezane s ranim stadijem embrijskog razvoja i koje, u prikladnim uvjetima, također mogu generirati stanice sva tri zametna listića, ektoderma, mezoderma i endoderma (9, 10). Upravo je osobina pluripotentnosti koja dozvoljava usmjeravanje matičnih stanica u bilo koju staničnu liniju osobina na kojoj se u regenerativnoj medicini temelje velika očekivanja od ESC. No budući da je znanstvena (ali i šira) zajednica podijeljena oko etičke prihvatljivosti izoliranja i manipuliranja matičnim stanicama ljudskih embrija, važan pomak u ovome znanstvenom području predstavlja proizvodnja tzv. induciranih pluripotentnih matičnih stanica (iPSC, od *induced pluripotent stem cells*) od ljudskih somatskih stanica (5, 11), otkriće za koje su John B. Gurdon i Shinya Yamanaka 2012. godine dobili Nobelovu nagradu. Prevođenje diferenciranih stanica u nediferencirano stanje prvotno je postignuto genskim reprogra-

miranjem pomoću virusnih vektora, no najnovije publikacije predstavljaju nove, ponekad (kako sami autori nadodaju) i neočekivane načine konverzije somatskih stanica u pluripotentni status (12). Kao prednost tehnologije proizvodnje iPSC ističe se mogućnost stvaranja pacijent-specifičnih matičnih stanica koje bi se mogle upotrijebiti u proizvodnji autolognih tkiva za bazična istraživanja i za potrebe regenerativne medicine u okviru personaliziranog pristupa bolesniku (11). Preduvjet za korištenje njihova punog potencijala je razvoj protokola za uspješno usmjeravanje pluripotentnih stanica prema stanicama od interesa. Sudbinu matičnih stanica – samoobnavljanje ili diferencijaciju – određuje složeni set signala koje primaju iz svojega okoliša. Zbog toga se njihovom sudbinom može manipulirati utjecajem na čimbenike koji čine neposredno stanično okruženje (supstrat (biomaterijal) na koji su stanice pričvršćene, njegova prostorna organizacija (dvo- ili trodimenzionalna arhitektura), izravna stanična međudjelovanja, prisutnost i koncentracija raznih bioaktivnih tvari u izvanstaničnom prostoru, izloženost djelovanju mehaničkih ili drugih sila, i dr.). Istraživanja matičnih stanica u velikoj su mjeri usmjerena upravo ka utvrđivanju okolišnih čimbenika koji su ključni za usmjeravanje diferencijacije stanica prema specifičnoj (željenoj) staničnoj vrsti. Najviše istraživanja, a time i najviše relativnog napretka u tom području, provedeno je u inženjeringu mikrokoliša koji će usmjeriti matične stanice prema diferencijaciji u srčane mišićne stanice i živčane stanice. Razumljiv je interes upravo za te vrste stanica budući da je u mnogim zapadnim zemljama ishemijska bolest srca vodeći uzrok smrti, a presađivanje organa trenutno najbolji način liječenja zatajenja srca. Mogućnost proizvodnje različitih vrsta živčanih stanica doprinijela bi proučavanju mehanizama razvoja neurodegenerativnih bolesti poput Parkinsonove i Alzheimerove bolesti kao i istraživanjima mogućnosti obnove bolešću ili traumom

oštećenih neurona. Iako je i proizvodnja stanica i tkiva endodermnog podrijetla iz pluripotentnih stanica također predmet brojnih istraživanja zbog mogućnosti njihove primjene u liječenju šećerne bolesti, bolesti jetre ili pluća, pomaci u ovom području nešto su sporiji i zbog toga što je usmjeravanje diferencijacije prema endodermnim tipovima stanica složeno. Osim brojnih vanjskih čimbenika koji zasebno i kroz interakcije određuju dizajniranje i optimiziranje okolišnog sustava kojim bi se mogla kontrolirati sudbina matičnih stanica, i same linije pluripotentnih ljudskih matičnih stanica pokazuju razlike u sklonosti prema diferencijaciji u određene vrste somatskih stanica što je dodatni faktor koji u radu s ovim stanicama treba uzeti u obzir (3).

Još jedna skupina stanica koje se koriste u istraživanjima iz područja regenerativne medicine su genetski modificirane matične stanice. Primjerice, dio istraživanja o cijeljenju koštanih defekata provodi se sa svrhom usporedbe učinkovitosti primjene genetski modificiranih mezenhimnih matičnih stanica koje izražavaju (proizvode) koštane morfogenetske proteine s pristupom u kojem se ove bjelančevine važne za osteogenezu izravno dodaju autolognom koštanom presatku (13). Na životinjskim modelima neurodegenerativnih bolesti, tumora i epilepsije istražuju se genetski modificirane matične stanice usmjerene prema pretvorbi u živčane i glija stanice, a istodobno osposobljene proizvoditi molekule s potencijalnim ljekovitim učinkom (14). Usavršavanje metoda koje koriste ovakve stanice uključuje i utvrđivanje najboljih načina egzogene kontrole ekspresije transgena radi postizanja optimalnog kliničkog rezultata (13).

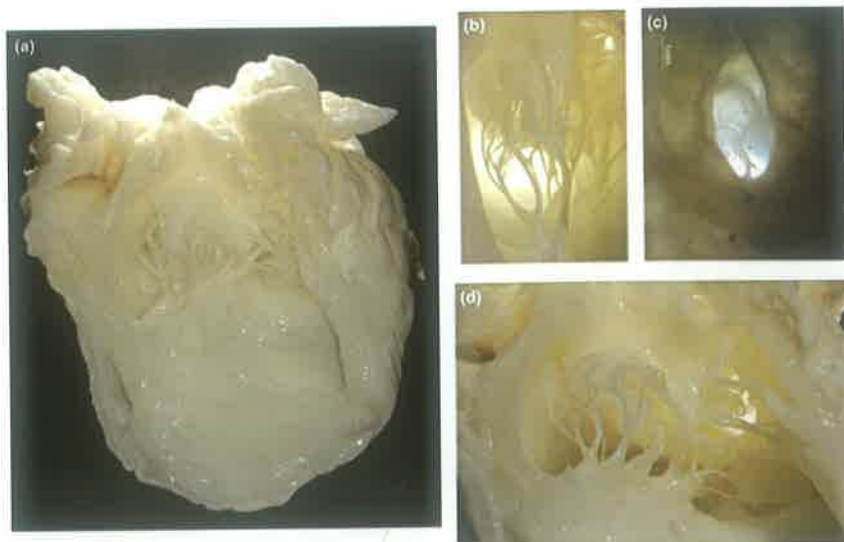
Istraživanja koja se bave transplantacijom matičnih stanica radi poticanja obnove oštećenog tkiva nastoje utvrditi i optimalan put njihove primjene u živi organizam pa uspoređuju, primjerice, intravaskularni i intraparenhimni put njihova unosa s obzirom na postignuti terapijski učinak, ali i čitav niz drugih čimbeni-

ka od praktične važnosti (invazivnost postupka, komplikacije i sl.). Strategija tkivnog inženjeringa (napose konvencionalnog, *in vitro*) uvijek mora uključiti i rješavanje problema vaskularizacije radi adekvatne opskrbe stanica tkiva ili cjelovitog organa kisikom i energentima (6, 7). Taj problem posebno je izražen u proizvodnji organa zbog debljine tkiva koju je potrebno postići, a ustrojstvo krvožilne mreže i fiziološka obilježja krvnog protoka u nekim su organizmima usko vezani i uz ostvarenje njihovih fizioloških funkcija (jetra, bubreg, pluća) (6). Jedan od novijih načina njegova rješavanja koji se pokazuje uspješnim u pretkliničkim istraživanjima je i već spomenuta decelularizacija. Slika 2. prikazuje vezivnu matriku srca svinje i štakora dobivenu uklanjanjem staničnih elemenata s očuvanim strukturnim (geometrijskim) značajkama srca i integritetom krvožilnog stabla. Osim oblika, izvanstanični matriks zadržao je i nativna biokemijska i pasivna mehanička svojstva. Ovakve se matrice decelularizacijom mogu proizvesti iz bilo kojeg tkiva ili organa i poslužiti za istraživanja diferencijacijskog potencijala matičnih stanica korištenih za recelularizaciju i pronalaženje optimalnih mikrookolišnih uvjeta za poticanje njihove proliferacije, diferencijacije prema ciljnim staničnim linijama i sazrijevanja.

Nasađivanje autolognih matičnih stanica na acelularne matrice, neovisno o tome jesu li dobivene decelularizacijom tkiva ili uporabom 3D bioprintera, i usmjerenje diferencijacije matičnih stanica prema specijaliziranim stanicama željenog tkiva pruža mogućnost stvaranja funkcionalnog biološkog materijala iskoristivog za personalizirane *in vitro* i *in vivo* istraživačke postupke (proučavanje patofiziologije bolesti, testiranje lijekova i dr.), a, u konačnici, i za izravniju terapijsku uporabu (kao tkivne „zakrpe“ za mjesta oštećenja ili za zamjenu cijelog organa) (7).

Izvor i potencijalno područje primjene matičnih stanica u okviru regenerativne medicine su i strukture usne šupljine. Stanice s obilježjima matičnih stanica (samoobnavljanje i multi/pluripotentni diferencijacijski potencijal) izolirane su iz pulpe mliječnih zubi i trajnih zubi s dovršenim ili nedovršenim razvojem korijena, apikalne papile, zubnih zame-taka, parodontnog ligamenta i oralne sluznice. Iako sve ove stanice dijele određena obilježja, među njima postoje i fenotipske razlike koje reflektiraju različite obrasce genske ekspresije, a koje u određenom mikrookolišu mogu postati i naglašenije. Određene razlike postoje i među matičnim stanicama iz istoga izvora, primjerice zubne pulpe. Pretklinič-

**Gross Structure  
Perfusion Decellularized Heart Extracellular Matrix**



Slika 2. Prikaz acelularnog matriksa svinjskog srca (a, b, d) i srca štakora (c). Preuzeto iz (7)

ka istraživanja stoga bi trebala pokazati koje vrste stanica i u kojim uvjetima daju najbolje rezultate u postizanju svrhe za koju se koriste (11).

### Primjena matičnih stanica (izoliranih iz oralnih tkiva) u regenerativnoj dentalnoj medicini

Mezenhimne matične stanice izolirane iz oralnih tkiva su heterogena skupina progenitornih stanica (15) među kojima su utvrđene i stanice koje izražavaju biljege pluripotentnosti karakteristične za embrijske matične stanice (10, 16). Osim toga, fibroblasti oralne sluznice i parodontnog ligamenta uspješno su preobraženi u iPSC (17, 18). Među tkivima usne šupljine iz kojih su uspješno izolirane matične stanice, posebno zanimljiv izvor je oralna sluznica jer se stanice mogu dobiti jednostavnim i sigurnim zahvatom nakon kojega se postiže brzo i potpuno cijeljenje (cijeljenje bez estetskog ili funkcijskog oštećenja) (18). Oralne matične stanice ponajviše se istražuju u okviru regenerativne medicine, kako u samoj dentalnoj medicini tako i u drugim granama medicine poput kardiologije, oftalmologije i neurologije. Ipak, treba napomenuti kako one pokazuju i izražene imunomodulacijske učinke u *in vitro* i *in vivo* uvjetima zbog čega bi mogle naći primjenu i u liječenju autoimunskih i upalnih oboljenja (19).

U dentalnoj medicini su matične stanice potencijalno primjenjive u mnogim stomatološkim disciplinama. Mogućnost diferencijacije u osteoblaste i osteoinduktivni potencijal razlozi su zbog kojih bi se, na prikladnim nosačima, mogle koristiti radi povećanja koštane mase čeljusnog grebena ili u liječenju koštanih defekata. Primjena mezenhimnih matičnih stanica koštane srži izoliranih iz ilijačne kosti radi augmentacije kosti kod podizanja dna maksilarnog sinusa potvrđuje spomenute očekivane pozitivne učinke (20).

Obnova kosti sastavni je dio i regeneracije potpornih tkiva zuba, najpoželjnijeg načina sprječavanja gubitka zuba

kod parodontoloških pacijenata. Parodontološka regenerativna kirurgija koristi nekoliko metoda kojima se taj cilj nastoji postići među kojima je vođena tkivna regeneracija (engl. *guided tissue regeneration*, GTR) trenutno zlatni standard. Ukoliko nema kontraindikacija i nakon odgovarajuće pripreme (liječenja parodontitisa), u okviru GTR-a rabi se biokompatibilna membrana koja, prekrivajući parodontni defekt, služi tome da spriječi urastanje neželjenog veziva i epitela gingive i osigura vrijeme da mjesto cijeljenja nasele progenitorne stanice iz parodontnog ligamenta i kosti kako bi obnovile njegovu izvornu strukturu, cement, parodontni ligament i kost. Poboljšanje te metode i povećanje izgleda za uspjeh nastoji se postići kroz istraživanja u kojima se koriste različite populacije oralnih matičnih stanica na odgovarajućem nosaču i/ili egzogeni faktori rasta (poput koštanih morfogenetskih proteina, trombocitnog faktora rasta i promotora angiogeneze) u nastojanju da se pronađe optimalna kombinacija i utvrdi optimalan protokol kojim će se potaknuti cijeljenje koje će oponašati prirodan razvoj parodontnih struktura. Inženjering parodontnih tkiva pokazao je uspjehe i s korištenjem genetski modificiranih matičnih stanica parodontnog ligamenta osposobljenih da secerniraju spomenute faktore rasta, a dobri rezultati postignuti su i s uporabom matičnih stanica ne-oralnog podrijetla poput mezenhimnih matičnih stanica koštane srži i matičnih stanica masnog tkiva. Unatoč obećavajućim rezultatima, invazivan postupak aspiracije ograničuje uporabu autoloških matičnih stanica koštane srži u svrhu parodontološkog liječenja što za matične stanice masnog tkiva, do kojih je lipoaspiracijom vrlo jednostavno doći, nije slučaj. Pronalaženje uspješnih načina obnove parodontnih tkiva olakšat će ne samo liječenje upalnih bolesti parodonta odnosno njihovih posljedica nego će zasigurno biti korisno i u poboljšanju integracije dentalnih implantata (11, 15). Može se pretpostaviti i da bi nasađivan-

je matičnih stanica na površinu korijena izbijenog zuba prije njegove replantacije moglo povećati izgleda za uspjeh ovog postupka, osobito ako je prošlo relativno dugo vrijeme između avulzije i dolaska u stomatološku ordinaciju i ako je zub čuvan u uvjetima koji nisu prikladni za očuvanje vitalnosti stanica parodontnog ligamenta.

Matične stanice izolirane iz parodontnog ligamenta se, uz matične stanice iz razvojnih struktura zuba (apikalne papile ili zubnog folikula trećih kutnjaka) kao i matične stanice ne-oralnog podrijetla, istražuju i u kontekstu mogućnosti umjetnog stvaranja zubnog korijena, ali i čitavog zuba koji će u budućnosti možda, u indiciranim slučajevima, predstavljati alternativu „klasičnim“ dentalnim implantatima (11, 21).

Istraživanja potencijala matičnih stanica u obnovi oštećenog tkiva nisu zaobišla ni područje endodoncije. U endodonciji se već dugo vremena provode izravno i neizravno prekrivanje pulpe kao postupci kojima se, nakon uklanjanja karijesa, nastoji potaknuti regenerativna moć pulpe radi očuvanja njene vitalnosti i stvaranja terciarnog dentina. *In vivo* pokusi pokazali su kako transplantacija pulpnih matičnih stanica u ispražnjeni endodontski prostor može dovesti do obnove tkiva s odlaganjem dentina, a istražuje se i mogućnost njihove primjene u liječenju perforiranih furkacija (21). Dosadašnji rezultati ohrabrujući su za daljnja istraživanja koja će razvijati biološke načine endodontskog liječenja.

Genska terapija, uporaba matičnih stanica i tkivni inženjering novi su pristupi i u ublažavanju oštećenja i/ili u poticanju obnove žljezdanog tkiva slinovnica. Uzroci njihova oštećenja uključuju tumore, autoimunske upalne procese, terapijsko zračenje glave i vrata i druge citotoksične čimbenike. Trenutni oblici najčešće tek simptomatskog liječenja suhoće usta uzrokovane hiposalivacijom često ne daju zadovoljavajuće rezultate pa kvaliteta života ovih bolesnika može biti jako narušena. Sposobnost slinovni-

ca da obnove svoju strukturu i funkciju nakon inducirane atrofije u eksperimentalnih životinja sugerira kako bi slično moglo biti moguće i kod čovjeka uz adekvatnu stimulaciju. Potragu za najboljim načinom poticanja regeneracije tkiva uvelike će olakšati potpunije (u)poznavanje i razumijevanje prirodnih razvojnih procesa slinovnica te utvrđivanje populacija, lokalizacije i raspodjele matičnih stanica u razvijenim žlijezdama kao i utjecaja citokina, faktora rasta i elemenata izvanstaničnog matriksa na staničnu proliferaciju i diferencijaciju. U istraživanjima učinaka transplantacije matičnih stanica radi poticanja regeneracije slinovnica potrebno je, primjerice, voditi računa o tome da se razvojno podrijetlo velikih slinovnica razlikuje (podušna žlijezda razvija se iz ektoderma, a podčeljusna i podjezična derivati su endoderma), da međudjelovanje epitelnih stanica s mezenhimom slinovnica ima nezaobilaznu ulogu u njihovoj diferencijaciji, da je moguće da živčani sustav, koji je glavni nadzorni sustav u lučenju sline, igra bitnu ulogu i u odvijanju regenerativnih procesa te da je moguće da rezultati istraživanja na mišjem modelu ne reflektiraju u potpunosti biologiju i/ili patologiju ljudskih slinovnica. Osim toga, potrebno je voditi računa i o uzrocima oštećenja žljezdanog tkiva (zračenje, autoimunosti procesi i dr.) kako bi se, kad god je to moguće, djelovalo i protiv njihova nepovoljnog utjecaja na prirodnu regenerativnu moć tkiva i na uspjeh terapijskih postupaka (8, 22).

#### Bave li se i hrvatski znanstvenici istraživanjima na polju regenerativne medicine?

Vjerojatno bi u Hrvatskoj bilo teško pronaći osobu koja ne zna tko je Ana Rukavina. Ime te mlade novinarkice koja je 2006. godine izgubila bitku s leukemijom u Hrvatskoj je postalo sinonim za mogućnost liječenja pomoću matičnih stanica koštane srži. Registar potencijalnih darivatelja matičnih stanica danas broji preko 45000 osoba zahvaljujući

akcijama zaklade koja nosi njeno ime. No većini „običnih ljudi“ zasigurno je nepoznato da pri Hrvatskom institutu za istraživanje mozga (HIIM), jednoj od glavnih istraživačkih i nastavnih jedinica Medicinskog fakulteta u Zagrebu, od prije šest godina postoji i Laboratorij za matične stanice. Njegov je voditelj doc. dr.sc. Dinko Mitrečić, a djeluje pri Odsjeku za neurogenetiku, citogenetiku i razvojnu genetiku. Osnovna djelatnost Laboratorija je regenerativna neuroznanost. Konkretnije, njegovi djelatnici u suradnji s kolegama iz inozemnih centara provode istraživanja na životinjskim modelima o potencijalu matičnih stanica da pospješuju oporavak moždanog tkiva nakon ishemijske ozljede i pomognu liječenje trenutno neizlječive bolesti amiotrofične lateralne skleroze (ALS). Ovu rijetku bolest, ali najčešću koja pogađa motoričke neurone i u relativno kratkom razdoblju dovodi do oduzetosti mišića (23) planetarno poznatom učinio je „The ALS Ice Bucket Challenge“. Budući da se i u Hrvatskoj svake godine dijagnosticira između 20 i 30 novih slučajeva (23), vjerojatno najbolji načini ulaganja novca prikupljenog ovom i sličnim javnim akcijama su materijalna pomoć oboljelima i istraživanja ove bolesti. U Americi i u Europskoj uniji provode se i klinička istraživanja primjene matičnih stanica u liječenju ALS-a (23). Nije neopravdano očekivati da bi se i na hrvatskim neurološkim klinikama u budućnosti oboljelima mogla pružiti prilika sudjelovanja u eksperimentalnim postupcima liječenja. Za tešku bolest kakva je ALS, liječenje bolesnika „kod kuće“, u jasno definiranim i kontroliranim uvjetima primjene matičnih stanica nedvojbeno bi bio najbolji i najsigurniji terapijski pristup koji bi ujedno uklonio potrebu za vrlo velikim novčanim sredstvima namijenjenim putovanju i liječenju u stranim institucijama u kojima tretman pacijenta ponekad može biti ispod kako (znanstveno) medicinskog tako i etičkog standarda (23).

Prema ambicijama i financijskoj podršci najveći hrvatski projekt vezan uz

matične stanice je projekt FP7 programa Europske unije GlowBrain (od *Glowing Brain*, „mozak koji svijetli“) koji se odvija u suradnji sa stručnjacima iz sedam njezinih zemalja članica. Projekt razvija *in vivo* metodu praćenja (snimanja) matičnih stanica primijenjenih radi poticanja obnove oštećenog moždanog tkiva kod miša, ali istodobno izgrađuje i infrastrukturu koju će u budućnosti moći koristiti i drugi znanstvenici za razvoj vlastitih znanstvenih područja. Njegov voditelj je prof. dr. sc. Srećko Gajović. Nekolicina naših znanstvenika dio su istraživačkih skupina koje primjenjuju matične stanice u istraživanju regeneracije kosti i srčanog mišića. Krajem 2014. godine u područje istraživanja matičnih stanica uključio se i zagrebački Stomatološki fakultet s projektom kojim će, uz pomoć znanja i iskustva znanstvenika s HIIM-a, biti učinjeni prvi koraci u izolaciji, karakterizaciji i ispitivanju diferencijacijskog potencijala matičnih stanica izoliranih iz biopata oralne sluznice i zubne pulpe kod nas. Voditelj projekta je prof. dr. sc. Ivan Alajbeg. Iskustva, spoznaje i poznanstva stečena provedbom projekta činit će svojevrsnu platformu za daljnji razvoj ovog područja prema njegovom konačnom cilju, uspješnoj primjeni matičnih stanica u liječenju.

fi

#### LITERATURA

1. Taylor DA, Robertson MJ. The basics of cell therapy to treat cardiovascular disease: one cell does not fit all. *Rev Esp Cardiol.* 2009;62(9):1032-44.
2. Gilbert SF. *Developmental Biology.* 6th edition. Sunderland (MA): Sinauer Associates; 2000.
3. Hazeltine LB, Selekmán JA, Palecek SP. Engineering the human pluripotent stem cell microenvironment to direct cell fate. *Biotechnol Adv.* 2013;31(7):1002-19.
4. Cao Y, Vacanti JP, Paige KT, Upton J, Vacanti CA. Transplantation of chondrocytes utilizing a polymer-cell construct to produce tissue-engineered cartilage in the shape of a human ear. *Plast Reconstr Surg.* 1997;100(2):297-304.

5. Atala A. Engineering organs. *Curr Opin Biotechnol.* 2009;20:575-92.
6. Vacanti J. Tissue engineering and regenerative medicine: from first principles to state of the art. *J Pediatr Surg.* 2010;45(2):291-4.
7. Taylor DA. From stem cells and cadaveric matrix to engineered organs. *Curr Opin Biotechnol.* 2009;20(5):598-605.
8. Coppes RP, Stokman MA. Stem cells and the repair of radiation-induced salivary gland damage. *Oral Dis.* 2011;17(2):143-53.
9. Obokata H, Kojima K, Westerman K, Yamato M, Okano T, Tsuneda S, Vacanti CA. The potential of stem cells in adult tissues representative of the three germ layers. *Tissue Eng Part A.* 2011;17(5-6):607-15.
10. Marynka-Kalmani K, Treves S, Yafee M, Rachima H, Gafni Y, Cohen MA, Pitaru S. The lamina propria of adult human oral mucosa harbors a novel stem cell population. *Stem Cells.* 2010;28(5):984-95.
11. Estrela C, Alencar AH, Kitten GT, Vencio EF, Gava E. Mesenchymal stem cells in the dental tissues: perspectives for tissue regeneration. *Braz Dent J.* 2011;22(2):91-8.
12. Obokata H, Sasai Y, Niwa H, Kadota M, Andrabi M, Takata N, et al. Bidirectional developmental potential in reprogrammed cells with acquired pluripotency. *Nature.* 2014;505(7485):676-80.
13. Sheyn D, Mizrahi O, Benjamin S, Gazit Z, Pelled G, Gazit D. Genetically modified cells in regenerative medicine and tissue engineering. *Adv Drug Deliv Rev.* 2010;62(7-8):683-98.
14. Mitrecic D, Nicaise C, Klimaschewski L, Gajovic S, Bohl D, Pochet R. Genetically modified stem cells for the treatment of neurological diseases. *Front Biosci (Elite Ed).* 2012;4:1170-81.
15. Han J, Menicanin D, Gronthos S, Bartold PM. Stem cells, tissue engineering and periodontal regeneration. *Aust Dent J.* 2014; Suppl 1:117-30.
16. Matsumura S, Higa K, Igarashi T, Takaichi S, Tonogi M, Shinozaki N, et al. Characterization of mesenchymal progenitor cell populations from non-epithelial oral mucosa. *Oral Dis.* 2014 Sep 2. [Epub ahead of print]
17. Wada N, Wang B, Lin NH, Laslett AL, Gronthos S, Bartold PM. Induced pluripotent stem cell lines derived from human gingival fibroblasts and periodontal ligament fibroblasts. *J Periodontol Res.* 2011;46(4):438-47.
18. Miyoshi K, Tsuji D, Kudoh K, Satomura K, Muto T, Itoh K, Noma T. Generation of human induced pluripotent stem cells from oral mucosa. *J Biosci Bioeng.* 2010;110(3):345-50.
19. Ding G, Niu J, Wei F. Current understanding of orofacial tissue derived mesenchymal stem cells: an immunological perspective. *Histol Histopathol.* 2014 Oct 15. [Epub ahead of print]
20. Shayesteh YS, Khojasteh A, Soleimani M, Alikhasi M, Khoshzaban A, Ahmadbeigi N.
21. Sinus augmentation using human mesenchymal stem cells loaded into a beta-tricalcium phosphate/hydroxyapatite scaffold. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;106(2):203-9.
22. Ulmer FL, Winkel A, Kohorst P, Stiesch M. Stem cells – prospects in dentistry. *Schweiz Monatsschr Zahnmed.* 2010;120(10):860-83.
23. Lombaert IM, Knox SM, Hoffman MP. Salivary gland progenitor cell biology provides a rationale for therapeutic salivary gland regeneration. *Oral Dis.* 2011;17(5):445-9.
24. Mitrečić D, Billić E, Gajović S. How Croatian patients suffering from amyotrophic lateral sclerosis have been turned into medical tourists – a comment on a medical and social phenomenon. *Croat Med J.* 2014;55(5):443-5.