

Primjena matičnih stanica mliječnih zuba u regeneraciji tkiva

Sara Čekalović¹

izv. prof. dr. sc. Dubravka Negovetić-Vranić²

[1] studentica šeste godine

[2] Zavod za dječju i preventivnu stomatologiju, Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Matične stanice su nespecializirane stanice koje izložene strogo kontroliranim eksperimentalnim uvjetima mogu diferencirati u specializirane stanice s točno određenom ulogom (1). Otkrivene su 50-ih godina 20. stoljeća u eksperimentu koji je doveo do uspješne transplantacije koštane srži i samim time napravio veliki zaokret u medicini.

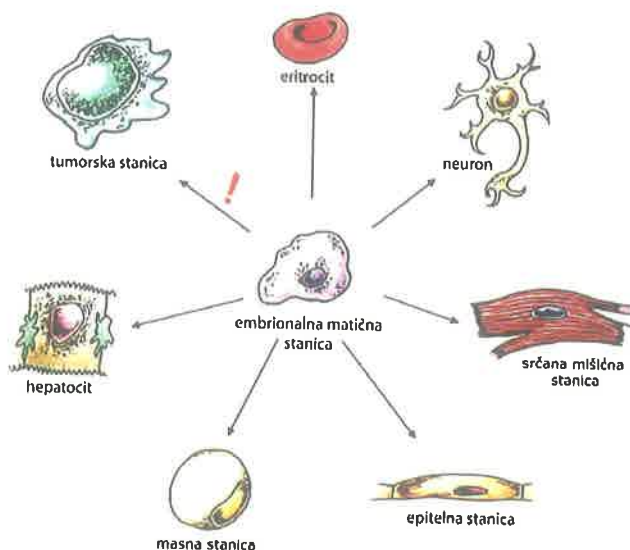
Osobine i vrste matičnih stanica

Karakteristike matičnih stanica su samoobnova (mogućnost da se mitotski neograničeno dijele) i potentnost (mogućnost diferencijacije u specializirane vrste stanica). Njihova glavna funkcija je osigurati razvoj tkiva i njegovu regeneraciju u slučaju bolesti ili oštećenja (2). Razlikujemo dvije vrste matičnih stanica, embrionalne i odrasle (3). Embrionalne matične stanice su pluripotente stanice i mogu se diferencirati u

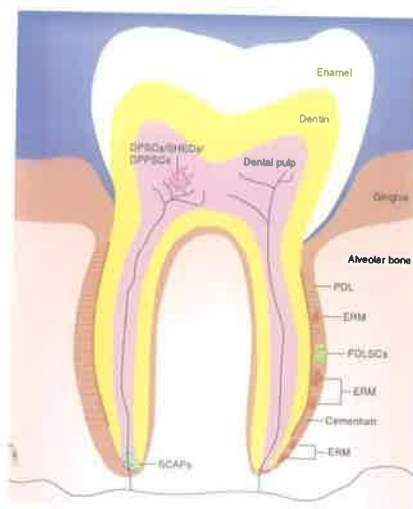
sve vrste stanica, osim u stanice placente (slika 1.). James Thomson sa Sveučilišta Wisconsin-Madison je 1998. godine prvi puta izolirao embrionalne matične stanice iz ljudskog embrija (4). Počela je nova era u medicini zbog otkrića mogućnosti regeneracije tkiva pomoću embrionalnih matičnih stanica. Sukladno tome započele su i velike etičke polemike jer se embrionalne matične stanice izoliraju iz embrija u dobi blastociste i samim time dolazi do uništenja embrija što je naišlo na neodobranje društva (4,5). Napretkom znanosti Shynya Yamanaka sa Sveučilišta u Koyotu je 2007. godine stvorio inducirane pluripotente matične stanice koje su umjetno dobivene iz odraslih matičnih stanica i samim time su etičnije za korištenje u medicini (6,7). Odrasle matične stanice su nespecializirane stanice koje nalazimo u organima kao što su kosti, mišići, mozak, probavni sustav, periferna krv,

a novija istraživanja dokazuju njihovo postojanje i u zubi. One su multipotentne što znači da se mogu diferencirati u mnoge, ali ne i u sve vrste stanica za razliku od embrionalnih. Vrste odraslih matičnih stanica su: 1. mezenhimalne, 2. neuralne, 3. epitelne, 4. kožne i 5. hematopoetske (8). Sam postupak izolacije nije invanzivan ni kontroverzan kao u slučaju embrionalnih matičnih stanica, tako da je njihova uporaba etički prihvatljiva. U današnje vrijeme postoje banke i javni registri koji omogućuju pohranu i laku dostupnost matičnih stanica u slučaju potrebe za njima. Jedan od takvih registara je KBC Rebro u Zagrebu. Najčešće se pohranjuju matične stanice koštane srži čiji davatelj može biti svaka zdrava osoba u dobi od 18 do 55 godina. Također se pohranjuju i hematopoetske matične stanice umbilikalne krvi, koje nakon poroda moraju biti dostavljene u laboratorij u roku od 48 sati

(9). Daljnjim postupkom i obradom one se izdvajaju iz krvi te pohranjuju na temperaturi od -196°C (10). Bitna činjenica je da postojanjem takvih registara matične stanice postaju lako dostupne u slučaju potrebe. Također, hematopoetske matične stanice pupkovine imaju prednost kod transplantacije jer zbog nezrelosti same pupkovine nije potrebna potpuna podudarnost HLA gena, već samo 3/6 (11).



Slika 1. Embrionalne matične stanice imaju sposobnost diferencijacije u sve vrste stanica. Preuzeto: (29)



Slika 2. Različite populacije matičnih stanica u zubi: matične stanice zubne pulpe (DPSCs), mliječnog zuba (SHEDs), parodontnog ligamenta (PDLSCs), apikalne papile (SCAPs) i dentalnog folikula (DFPCs). Preuzeto: (30)(29)

Matične stanice zuba

Novim istraživanjem otkrivene su matične stanice u trajnim i mliječnim zubima, te 3. molarima (12). Zbog svojih površinskih markera, CD146, CD166 i STRO-1 smatra se da su najslabije mezenhimalnim matičnim stanicama. Zub kao izvor matičnih stanica je jako dostupan i sam postupak izolacije prolazi bez velikih komplikacija. Izolirano je 5 populacija matičnih stanica u dentalnim tkivima, a to su: 1. matične stanice zubne pulpe, 2. matične stanice mliječnog zuba, 3. matične stanice parodontnog ligamenta, 4. matične stanice apikalne papile i 5. matične stanice dentalnog folikula (13) (slika 2.). Regeneracijska sposobnost pulpo-dentinskog kompleksa stvaranjem sekundarnog i tercijarnog dentina kao obrane prilikom velike destrukcije dentalnog tkiva uzrokovane karijesom ili mehaničkim oštećenjem, potaknulo je na istraživanje i same pulpe zuba zbog mogućih regeneracijskih karakteristika. Matične stanice smještene su u središtu zubne pulpe, u području bogate vaskularizacije i inervacije. One su multipotentne, te pokazuju mogućnost diferencijacije u različite loze specijaliziranih stanica (14). Laino i suradnici istraživanjem su dokazali da u in vitro uvjetima matične stanice zubne pulpe mogu diferencirati u osteoblaste i stvarati mineralizirani matriks (15). Istraživanjem d'Aquina i suradnika dokazana je regeneracija kosti pomoću matičnih stanica zubne pulpe. Pacijentu su izvađena oba treća molara istovremeno. U jednu alveolu stavljene su matične stanice zubne pulpe na kolagenskom nosaču, dok je u drugu postavljen sam kolagenski nosač. Nakon tri mjeseca RTG pretraga pokazala je potpunu regeneraciju alveole u kojoj su bile matične stanice, čime je dokazana njihova sposobnost regeneracije koštanog tkiva (16). Matične stanice pulpe mliječnog zuba pokazuju veći proliferacijski kapacitet i veći broj mitotičkih dioba od stanica trajnog zuba. Imaju sposobnost diferencijacije u više vrsta stanica. In vivo pokazuju osteoinduktivni kapacitet, dok in vitro mogu diferencirati u adipogene, neurogene, osteogene, odontogene, miogene i hondrogene stanice (17). Fernando da SA Silva i sur.

su dokazali da matične stanice mliječnih zuba služe kao imunološki modulator čime induciraju rast i formiranje kosti prilikom nicanja trajnih zuba (18). Yamanda i sur. su u istraživanju kombinirali matične stanice mliječnih zuba s plazmom bogatom trombocitima i dobili zrelo, prokrvljeno koštano tkivo. Tim eksperimentom dokazan je potencijal matičnih stanica mliječnog zuba u stvaranju vaskulariziranog tkiva (19).

Postupak pohrane i izolacije matičnih stanica mliječnih zuba

Gronthos i sur. 2000. godine su prvi puta izolirali matične stanice iz pulpe trajnih zuba, dok su Miura i sur. 2003. godine uspješno izolirali matične stanice iz pulpe mliječnih (17). Razvojem medicine u smjeru korištenja matičnih stanica mliječnih zuba u regeneraciji tkiva, očekuje se veći razvoj banaka i registara koji bi omogućili njihovu pohranu i dostupnost u slučaju potrebe. Roditelji koji se odluče na takav oblik pohrane matičnih stanica svog djeteta dobiju sve potrebne informacije i upute, te posebne kutijice za pohranu ispalog mliječnog zuba koji u roku od 48 sati mora biti dostavljen u banku zbog daljnje obrade zuba i pohranjivanja matičnih stanica. Poznate metode izolacije koje se danas koriste u laboratoriju su: 1. enzimatska razgradnja pulpnog tkiva nakon kojeg slijedi filtracija i zadržavanje stanica određenog promjera, 2. kultiviranje, tj. stvaranje kolonija matičnih stanica koje se umnožavaju i koriste za daljnja istraživanja, 3. magnetsko aktivirano sortiranje stanica 4. fluorescencija sortirane stanice, što se pokazala kao najkvalitetnija metoda izolacije, ali jednako tako i najskuplja jer zahtjeva naprednu opremu i visoko educirano osoblje (20).

Upotreba matičnih stanica mliječnih zuba u terapiji bolesti stomatognatog sustava

Matične stanice mliječnih zuba su se pokazale kao buduće sredstvo u regeneraciji tkiva te se mogu primijeniti kod različitih zahvata u dentalnoj medicini. Tkivni inženjering, koji za cilj ima stvoriti tkivo te ga ponovno ugraditi u svrhu rekonstrukcije, ima tri bitne komponente: matične stanice,

kalup (nosač) i signalne molekule. Naime, matične stanice trebaju kalupe koji bi im omogućili rast u tri dimenzije. Tu ulogu imaju nosači koji mogu biti od prirodnih materijala (kolagen, fibrin, alginat) ili sintetskih (poliglukolna kiselina). Nosači od prirodnih materijala pružaju dobru biokompatibilnost, dok sintetski omogućuju dobru kontrolu samih stanica čime im pružaju mogućnost rasta i proliferacije. Nakon određenog razdoblja nosači se razgrađuju. Signalne molekule su TGF (transformirajući faktor rasta) i BMP (koštani morfologeni protein). Oni se vežu za receptore na stanicama te osiguravaju daljnju proliferaciju i diferencijaciju (21). Razvojem i usavršavanjem ovog modela omogućit će se korištenje matičnih stanica kao regenerativno sredstvo u oralnoj kirurgiji. Dokazana je veća regeneracija kosti prilikom augmentacije alveole ili zatvaranje velikih defekata npr. resekcija uzrokovanih karcinomom, korištenjem matičnih stanica u odnosu na biomaterijale (22). Parodontitis je kronična, progresivna bolest prilikom koje dolazi do gubitka potpornih struktura zuba te njegovog rasklimavanja. Korištenjem matičnih stanica moguće je obnavljanje tkiva i stvaranje novog pričvrška (23). Razvitkom novih strategija očekuje se mogućnost korištenja regeneriranog zuba ili stvaranje potpuno novog u zamjenu za izgubljeni. To bi donijelo potpuni preokret u dentalnoj medicini i zamijenilo bi mnoge materijale koje danas koristimo pri liječenju zubnih bolesti, a i pri nadomještanju samog zuba. Regenerativna endodontika omogućila bi nam stvaranje izgubljene zubne pulpe koju danas pri endodontskom liječenju zamjenjujemo umjetnim materijalima, a samom obradom i tretiranjem kanala gubimo i oslabljujemo zubno tkivo. Dokazano je da matične stanice mliječnih zuba zajedno s dermalnim mikrovaskularnim stanicama stvaraju novo vaskularizirano tkivo nalik zubnoj pulpi (24). Casagrande i sur. su 2010. godine otkrili da matične stanice mliječnih zuba diferenciraju u odontoblaste. Ovim spoznajama otkrivaju se brojne mogućnosti liječenja u mnogim granama dentalne medicine te možemo očekivati da će materijale koje da-

nas poznamo i koristimo zamijeniti regenerativna sposobnost matičnih stanica (25).


Upotreba matičnih stanica mliječnih zuba u terapiji sistemskih bolesti

Napretkom istraživanja regenerativne sposobnosti matičnih stanica dokazana je učinkovitost u liječenju različitih sistemskih bolesti. Iako same metode nisu do kraja razrađene i ne primjenjuju se u širokoj praksi, obećavaju mnogo te se očekuje da će ući u širu praksu u bližoj budućnosti. Česte bolesti današnjice su kardiovaskularne bolesti koje pogađaju različite dobne skupine, a uzrok može biti stres i ubrzani način života. Dolazi do smrti kardiomiocita te stvaranja ožiljkastog tkiva koji smanjuje kontrakcijsku sposobnost. U istraživanji-

ma su korištene matične stanice koštane srži te je dokazana regeneracija i oporavak mišićnog tkiva (26). Istražuje se i liječenje matičnim stanicama bolesti kao što je diabetes mellitus koji nastaje zbog smanjenog izlučivanja inzulina, također se kao mogućnost njihove primjene navodi pri oporavku vida nakon ozljede oka, obnavljanju krvnih žila, ponovnom rastu i oporavku kostiju, zglobova i hrskavica nakon ozljede (27). Nadu pružaju i u obnovi moždanih stanica koje bivaju oštećene u bolestima kao što su Parkinson i Alzheimer (28).

Zaključak

Otkrićem matičnih stanica započelo je novo razdoblje i budućnost medicine u smjeru regeneracije i oporavka oštećenog i

izgubljenog tkiva. Jedna od novijih istraživanja dokazala su postojanje matičnih stanica u mliječnim zubima koji su lako dostupan i siguran izvor. Očekujemo da će u bližoj budućnosti pohrana ispalih mliječnih zuba, zbog izolacije matičnih stanica, postati široko primijenjena praksa te usluga dostupna u skoro svakoj stomatološkoj ordinaciji. Veliki regenerativni potencijal matičnih stanica mliječnih zubi donosi napredak i neke nove tehnike i mogućnosti u liječenju zubnog karijesa, parodontitisa, oralne sluznice, zubne pulpe, kraniofacijalnih defekata, a jednako tako i velikih sistemskih bolesti koje su učestale u današnjoj populaciji. 

LITERATURA

1. Bradamante Ž, Kostović- Knežević LJ, Osnove histologije. Zagreb: Školska Knjiga, 2008.
2. Hirschi KK, Li S, Ray K. Induced pluripotent Stem cell for regenerative medicine. *Annu Rev Biomed Eng.* 2014; 16: 277-94.
3. Takahashi K, Tarabe K, Ohunk M, Narita M, Ischisaka T, Tomoda K et al. Induction of pluripotent stem cell from Adult human fibroblast by Defined Factors. *Cell.* 2007; 31 (5): 861-72.
4. Thomson JA, Itskovitezh- Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. Emryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science.* 1998; 282: 145-7.
5. Noisa P, Parnpai R. Technical challenges in the derivation of human pluripotent cells. *Stem Cells Int.* 2011; 2011: 907-61.
6. Takahashi K, Yanabda S. Induction of pluripotent stem cell from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell.* 2006; 26, 44 : 663-76.
7. Zhon H, Nu S, Yoo JY. Generation of induced pluripotent stem cells using recombinat proteins. *Cell.* 2009; 5 (5): 381-4.
8. Peran M, Marchal JA, Rodrigez- Serrano F, Alvarez P, Aranega A. Transdifferentiation: why and how? *Cell Biol Int.* 2014; 35 (4): 373-9.
9. www.kbc-zagreb.hr/?s=matične+stanice
10. McKenna DH, Clay ME: Hematopoetic stem cell processing and storage. In: Murphy MF, Pamphilon DH, editors. *Practical transfusion medicine.* 2nd ed, Blackwell Publishing; 2005. P. 368-5.
11. Ruhil S, Kumar V, Rathee P. Umbilical cord stem cells; an onverview. *Curr Pharm Biotechnol.* 2009; 10 (3) : 327-34.
12. Kerkis I, Kerkis A, Dozortsev D, Stucart- Parsons GC, Gomes Massioni SM, Pereira LV, et al. Isolation and characterization of a population of immature dental pulp stem cells expressing OCT-4 and other embryonic stem cell markers.
13. Yo YY, Lee HJ, Kook SY, Choung HN, Park JY, Cgung JH, et al. Isolation and characterization of postnatal stem cells from human dental tissues. *Tissue Eng.* 2007; 13: 767-73.
14. Chen K, Conti PS. Target- specific delivery of peptide-based probes for PET imaging. *Adv Drug Del. Rev.* 2010; 62 (11) : 100-5-22.
15. Laino G, d Aquino R, Graziano A, Lanza V, Curnici F, Naro F et al. A new population of human adult dental pulp stem cells: a useful source of living antologous fibrous bone tissue (LAB). *J bone Miner Res.* 2005; 20: 1394- 402.
16. Krebsbach PH, Robey PG. Dental and skeletal stem cells: potential cellular therapeutics for craniofacial regeneration. *J Dent Educ.* 2002; 66: 766-73.
17. Miura M, Gronthos S, Zhao M, LU B, Fisher LW, Robey PG, Shi S. SHED: Stem cell from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003. 100: 5807-12.
18. Bansal R, Jain A. Current overview on dental stem cells applications in regenerative dentistry. *J Nat Sci Biol Med.* 2015; 6 (1) : 29-34.
19. Yamaza T, Kentero A, Chen C, Liu Y, Shi Y, Gronthos S, et al. Immunomodulatory properties of stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Stem Cell Res Ther* 2010; 1: 5.
20. Chase LG, Lakshmiopathy U, Solchaga LA, Ruo MS, Vemuri MC. A novel srum-free medium for the expansion of human mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther* 2010; 1: 8.
21. Nor JE. Tooth regeneration in operative dentistry. *Oper Dent.* 2006; 31: 633-42.
22. Laino G, Graziano A, Pirozzi G, Lanza V, Valiante S, De Rosa A, et al. An approachable human adult stem cell source for hard tissue engineering. *J cell Physical.* 2006; 206: 693-701.
23. Herbert F, Wolf, Edith M. Rateitschak- Phiss, Klaus H. Rateitschak K. U: Plančak Darije. *Parodontologija, Naklada Slap,* 2009. Zagreb.
24. Demarco FF, Casagrande L, Zhang Z, Dong Z, Tarquinio SB, Reitlin BD, et al. Effects of morphogen and scaffold porogen on the differentiation of dental pulp stem cells. *J Endod.* 2010; 36: 1805-11.
25. Casagrande L, Demarco FF, Zhang Z, Aranjó FB, Shi S, Nor JF. Dentin-derived BMP-2 and odontoblast differentiation. *J Dent Res.* 2010; 89: 603-8.
26. Christof Stamm, Yeong- Hoon, Choi, Boris Nasser, Roland Hetzer. A heart full of stem cells: the spectrum of myocardial progenitor cells in postnatal heart. *Ther Adv Cardiovasc Dis.* 2009; 3; 3: 251-229.
27. Andrea Sejinto, Parde Kadek Aditya Parayudi. The prospect of induced pluripotent stem cells for diabetes mellitus treatment. *Ther Adv Endocrinol Metab.* 2011; 2: 5: 197-210.
28. Schmidt Mlt, Bickers F, Nikolic I, Meister J, Babuke T, Dikic I, et al. Epidermal growth factor- like domain 7 (EGEL7) modulates notch signalling and affect neural stem cell renewal. *Nat Cell Biol.* 2009; 11 (7): 873-80.
29. www.medicinar.mef.hr/assets/arhiva/matične-stanice2.pdf
30. Caton J, Bostanci N, Remboutsika F, De Bari C, Mitsiadis TA. Future dentistry; cell therapy meets tooth and periodontal repair and regeneration. *J Cell Mol Med.* 2011; 15 (5): 1054-65.