

Diş ve Diş Çevre Dokuları Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücreler



Prof. Dr. Nevin Büyükkayüz
İstanbul Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız-Diş-Çene Hastalıkları
ve Cerrahisi AD

ÖZET

Kök hücre biyolojisi; doku rejenerasyonu ve rejeneratif tıp uygulamaları açısından önemli bir alan haline gelmiştir. Kompleks insan dokuları, doku gelişimi ve tamirinden sorumlu kök hücre ve/veya prekürsör hücreleri bulundurmaktadır. Kök hücreler günümüzde dental dokular dahil olmak üzere çok çeşitli doku ve organdan izole edilebilmektedir. Dental dokular doku mühendisliği uygulamaları için uygun mezenkimal kök hücreler açısından oldukça zengin bir kaynak oluşturmaktadır. Bu kök hücreler odontoblastlara, nöral pregenitör hücrelere, osteoblastlara, kondrositlere ve adipositlere dönüşebilme yeteneğine sahiptirler. Mezenkimal kök hücreler; rejeneratif potansiyelleri, immunsupresif özellikleri ve destek doku oluşturma potansiyelleri nedeniyle hücre kökenli tedavi için ilgi çekmektedir. 5 tip dental mezenkimal kök hücre belirlenmiştir. Bunlar; dental pulpa hücreleri, exfoliyeye süt dişlerindeki kök hücreler, apikal papilla kök hücreleri, periodontal ligament kök hücreleri ve dental folikül kök hücreleridir. Bu kök hücreler, hücre kültürü koşullarında izole edilebilir ve çoğaltılabilirler. Dental dokuların, sinir ve kemik dokusunun rejenerasyonu gibi doku mühendisliği uygulamalarında kullanım potansiyeline sahip olduğu bilinmektedir. Diş hekimliğinde kök hücre biyolojisi ve doku mühendisliği; doku rejenerasyonu uygulamaları ve klinik materyallerin geliştirilmesinde önemli bir yenilik sağlamaktadır. Bu derleme ağız bölgesindeki mezenkimal kök hücre kaynakları hakkında genel bir bakış sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler : Kök Hücre , Mezenkimal Kök Hücre, Dental Pulpa Kök Hücresi

GİRİŞ

Kök hücrelerin keşfi ve hücresel ve moleküler biyolojideki gelişmeler çeşitli dokuların rejenerasyonunda yeni stratejilerin geliştirilmesini

beraberinde getirmiştir. Doku mühendisliği; biyoloji, mühendislik ve doku-organ rejenerasyonu ile ilgilenen klinik bilimlerin kombinasyonundan oluşan multidisipliner bir bilim alanıdır. Uygun hücrelerin tanınması, yapı iskeletlerinin ve doku-organ oluşturulurken hücrelerin indüksiyonu için gerekli morfogenez sinyallerin geliştirilmesi gibi temel prensiplere dayanır(1,2). Son yıllarda tıpta vücut yapılarının rejenerasyonu ve tamiri için kök hücre ve doku mühendisliği uygulamaları önem kazanmıştır. Rejeneratif tıp olarak da adlandırılabilen bu konseptin gelecekte klinik uygulamalarda da yerini alacağı düşünülmektedir. Çeşitli hücre tiplerine dönüşebilme yetenekleri kök hücrelerin gelecekte tedavilerde önemli rol oynayacaklarını göstermektedir(3).

Kök hücreler insan vücudunda bütün dokuları ve organları oluşturan ana hücrelerdir. Kök hücreler uzun zaman dilimleri boyunca bölünebilme ve kendilerini yenileyebilme yeteneğine sahip, özelleşmemiş hücreler olup, kök hücreden elde edilen bir yavru hücre özelleşmiş hücrelere kaynaklık edebilir. Henüz farklılaşmamış olan kök hücreler, bir canlının vücudunda çok uzun bir süre bölünmeye devam ederek kendini yenileyebilen ve en az iki farklı hücre tipine farklılaşabilen hücrelerdir. Bu iki özellik, bir hücrenin kök hücre olarak adlandırılabilmesi için mutlaka gereklidir. Progenitör (öncü) hücreler, insanların postnatal dokularında tanımlanmıştır. Bu hücreler, organizmanın hayatı boyunca var olan kök hücrelerden, sınırlı yaşam süresine sahip olmaları ile ayrılırlar ve sadece belirli doku tiplerini oluşturma kapasitesi ile sınırlı farklılaşma potansiyeli gösterirler(4,5).

Kök hücreler; embriyonik kök hücreler ve erişkin (somatik) kök hücreleri olmak üzere iki temel kategoriye ayrılırlar(6). Embriyonik kök hücreler sahip oldukları farklılaşma potansiyeli açısından

çok iyi bir kaynak olsa da embriyoya ait dokuların kullanımı ile ilgili etik sorunlar ve neoplastik potansiyel taşımaları (teratoma) nedeniyle kullanımlarına kısıtlamalar getirilmiştir(7).

Erişkin kök hücreleri kemik iliği, periost, kas, yağ, beyin ve deri dokularında bulunmaktadır. Eski bilgilerin aksine kök hücrelerin, buldukları doku hücrelerinin dışında kalan diğer tip hücrelere de farklılaşabileceği belirlenmiştir. Somatik dokulardan elde edilen bu kök hücre kaynaklarında özellikle de mezenkimal kök hücreler (MKH) önem kazanmıştır. Oral ve maksillofasiyal bölgede de alternatif mezenkimal kök hücre kaynakları bulunmaktadır. Erişkin dental pulpası, apikal papilla, dental folikül, eksfoliyé süt dişi ve periodontal ligamentten mezenkimal kök hücreler elde edilebilmektedir (3,4). Kemik dokusunda devamlı bir remodeling gerçekleşmektedir. Dental dokular ise bu yeteneğe sahip olmayan özelleşmiş dokulardır. Ancak dental dokulardan elde edilen kök ve progenitör hücreler differansiasyon kabiliyetine sahiptirler(8).

Dental kök hücrelerin nörotrofik faktör üretme ve sekresyon yetenekleri, nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde ve hasar görmüş motor nöronların tamirinde etkili olabileceği düşünülmektedir. Dental kök hücrelerden nöral markerların ekspresyonu ile nöral rejenerasyon potansiyelinin Parkinson hastalığının tedavisinde kullanımı düşünülebilir. Dental kök hücrelerin non-dental rejenerasyon potansiyeli için yeni araştırmalar gerekmektedir(3).

DENTAL PULPA KÖK HÜCRELERİ

Histolojik olarak dentin pulpanın çevresinde yer almaktadır ve birbirleriyle çok yakından bağlantılıdır. Fonksiyonel olarak dental pulpa hücreleri dentin rejenerasyonuna edebilir ve dentin dokusunun oksijen, beslenme ve innervasyonunu sağlarlar. Dentin dokusu da yumuşak pulpa dokusunu korur ve birlikte dişin şeklinin ve fonksiyonunun devamlılığını sağlarlar. Travma, çürük veya kavite preparasyonu gibi fizyolojik veya patolojik bir reaksiyon gerçekleştiğinde hasar gören doku diğerini de etkiler(3). Dental travma sonrasında pulpa, hasar görmüş alanda tamir için yeni dentin matriksi oluşturur. Bu süreç "reperatif dentinogenesis" olarak adlandırılır(9). Dental pulpa hücrelerinin en önemli özelliklerle-

rinden biri odontoblastik differansiasyon potansiyelleridir. Dentinojenik potansiyellerinin yanında adipojenik, nörojenik, osteojenik, kondrojenik ve miyojenik differansiasyon potansiyellerinin de olduğu in vitro çalışmalarla tespit edilmiştir(8).

Gronthos, insan dental pulpasında bulunan erişkin kök hücreleri 2000 yılında ilk kez tanımlamış ve dental pulpa kök hücrelerinin; mineralize matriks içerisinde odontoblastların uzandığı tubuller ve kan damarlar içeren fibröz dokudan oluşan normal insan dişindeki dentin-pulpa kompleksine benzer bir yapıyı oluşturduğunu bulmuşlardır(10).

EKSFOLİYÉ SÜT DIŞLERİNDEKİ KÖK HÜCRELER

Doku mühendisliği ve klinik uygulamalar için postnatal kök hücrelerin kolay ulaşılabilir bir kaynaktan izole edilmesi gerekmektedir. Son bulgular insan süt kesici dişlerinin pulpasından mezenkimal progenitörlerin izole edildiğini göstermiştir. Bu hücreler nöronlara, adipositlere, osteoblastlara ve odontoblastlara farklılaşabilir. İn vivo olarak eksfoliyé süt dişlerindeki kök hücreler, kemik ve dentin formasyonunu indükleyebilir, fakat dentin-pulpa kompleksini oluşturamaz. Dental pulpa kök hücreleri ile karşılaştırıldığında daha yüksek proliferasyon oranı gösterirler ve bu nedenle dental pulpa kök hücrelerinden ayrı olarak değerlendirilirler(9,11). Osteoindüktif potansiyelleri ile eksfoliyé süt dişlerindeki kök hücrelerin osteoindüktif potansiyelleri ile farelerde geniş boyuttaki kalvaryal defektleri kemik rejenerasyonu ile tamir ettiği gözlemlenmiştir(12). Eksfoliyé süt dişlerindeki kök hücreler "nestin" vb. nöral markerların ekspresyonunu indükler.

APİKAL PAPIİLLA KÖK HÜCRELERİ

Gelişmekte olan daimi dişlerin apeksinde bulunan dental papillanın fiziksel ve histolojik özelliklerine sahip doku, apikal papilla olarak adlandırılmıştır. Bu doku gelişmekte olan kök ucuna zayıf bir şekilde bağlıdır ve kolaylıkla uzaklaştırılabilir. Bu dokudan izole edilen kök hücreler apikal papilla kök hücreleri olarak adlandırılırlar. Apikal papilla ile dental pulpa arasında apikal hücrelerden zengin bir alan bulunmaktadır. Bu alanda hem dental pulpa hem de apikal papillada kök hücreler ve progenitör hücreler bulunmakta ,fakat iki tip kök hücre de

farklı özellikler göstermektedir (3,14). İnsan dişlerinin gelişen kök apeksinden izole edilen apikal papilla kök hücreleri, odontoblast ve adipozitlere farklılaşma gösterir. Bu hücreler, diş rejenerasyonu için periodontal ligament kök hücrelerinden daha yüksek proliferasyon oranı gösterir ve daha etkilidir(9). Dental pulpa kök hücreleri ile karşılaştırıldığında, daha yüksek proliferasyon potansiyeli olması nedeniyle apikal papilla kök hücreleri esaslı doku rejenerasyonu, kök oluşumu için ümit vericidir(13). İnsan 3. Büyük azı dişlerinden elde edilebilmesi nedeniyle bu hücrelere kolay ulaşılabilir(9). Apikal papilla kök hücreleri , kök dentinin formasyonundan sorumlu primer odontoblastların oluşumu için önemli bir kaynaktır. Yavru domuzların model alındığı bir pilot çalışmada, gelişiminin erken dönemlerinde apikal papilla cerrahi olarak uzaklaştırıldığında kök gelişiminin durduğu, ancak pulpa dokusunun bozulmamış olduğu ve dişin apikal papilla bulduran diğer köklerinin normal büyüme ve gelişimini sürdürdüğü tespit edilmiştir(15).

PERİODONTAL LİGAMENT KÖK HÜCRELERİ

Periodontal ligament sementoblast benzeri ve osteoblast benzeri hücrelere dönüşebilme yeteneğine sahip hücre popülasyonlarını barındırmaktadır. Çekilmiş dişlerin kök yüzeylerinden izole edilen periodontal ligament kök hücreleri, in vitro koşullar altında düşük osteojenik farklılaşma potansiyeline sahiptir(6). Uygun kültür şartları altında multipotent olan bu kök hücreler sementoblast benzeri hücrelere, adipozitlere ve fibroblastlara farklılaşabilir(17). Bağışıklık sistemi bozulmuş fareye transplante edilen periodontal ligament kök hücreleri, doku rejenerasyonu ve periodontal tamir yeteneği göstermiştir. Bu hücreler kullanılarak fonksiyonel periodonsiyumun başarılı bir şekilde oluşturulabildiği gösterilmiştir(6). Periodontal ligamentte çok sayıda hücre tipinin varlığı , periodontal dokuların hemostaz ve rejenerasyonundan sorumlu pregenitör hücreleri bulundurduğunu gösterir(8).

Seo ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, insan periodontal ligament dokusunun periodontal doku rejenerasyonunda kullanılabilecek kök hücreler içerip içermediğini araştırmışlardır. Gömülü 3. molar dişlerden elde ettikleri periodontal ligament dokusunda klonojenik, hızlıca

prolifere olan ve bazı mezenkimal kök hücrelere spesifik antijenleri ifade edebilen hücrelerin olduğunu belirtmişler ve bu hücreleri taşıyıcı matriks olarak hidroksiapatit / trikalsiyum fosfat toz ile karıştırıp immun deprese farelere implante ettiklerinde, Sharpey liflerine benzeyen yoğun kollajen liflerle komşu, ince bir tabaka sement olmak üzere doğal periodontal ligamente benzeyen sement/periodontal ligament benzeri yapılar oluştuğunu rapor etmişlerdir (16).

DENTAL FOLİKÜL KÖK HÜCRELERİ

Dental folikül gelişmekte olan diş germini çevreleyen mezenkimal dokudur. Diş kök gelişimi süresince sement, periodontal ligament ve alveolar kemiği dental folikül progenitör hücreleri tarafından oluşturulur(18). Dental folikülün, gelişim sürecinde olan yirmi yaş dişinin çekiminden sonra kolaylıkla izole edilebilmesi, kolay ulaşılabilir olmasını sağlar.

Dental folikül kaynaklı kök hücreler ilk olarak sığır kaynaklı diş germelerinden Handa ve arkadaşları tarafından izole edilmiştir. Bu hücrelerin farklılaşma yetenekleri, immunsuprese farelerde in vivo olarak incelendiğinde; sığır kaynaklı fibroblastlar veya alveoler osteoblastlarının aksine bu hücrelerin sement benzeri matriks bir yapı oluşturduğu bildirilmiştir(19). Yokoi ve arkadaşları canlı dental folikül hücrelerinin in vivo implantasyon sonrasında yeni periodontal ligament oluşturabilme yeteneğine sahip olduğunu rapor etmişlerdir(18).

Morsczeck ve arkadaşları , insanlarda gömülü 3. molar dişlerden elde ettikleri dental folikül dokusunda progenitör hücreler olduğunu rapor etmişlerdir. Bu fibroblast benzeri, koloni oluşturabilen ve plastik adherent hücrelerin; kök hücre markerları olduğu varsayılan Notch-1 ve Nestin'i ifade ettiği belirtilmiş, taşıyıcı matriks olarak hidroksiapatit/trikalsiyum fosfat toz ile karıştırılıp immun deprese farelere implante edildiklerinden 8 hafta sonraki incelemelerde, rijid veya fibroz bağ dokusunun oluştuğu, osteoblastik antijen ekspresyonunun arttığı, fakat sement veya kemik formasyonunun oluşmadığı görülmüştür (20).

SONUÇ

Son yıllarda üzerinde çok çalışılan kök hücrelerin embriyonik olanları farklılaşma potansiyellerinin daha yüksek olmasının yanında kullanımının getirdiği dezavantajlar nedeniyle araştırmalar

daha az ilgi görmektedir.. Somatik kök hücrelerin embriyonik kök hücrelere oranla daha kolay elde edilebilir oluşu ve etik problemlere sebep olmaması diş hekimliğinde ve diğer alanlarda kullanımında rahatlık sağlamaktadır.

Mezenkimal kök hücreler, rejeneratif potansiyelleri, immunsupresif özellikleri ve destek doku oluşturma potansiyelleri nedeniyle hücre sel tedavi için kullanılmaktadır. Böylece diş ve çevre doku kaynaklı kök hücrelerin kullanımıyla yeni diş oluşturulması, diş dokularının tamiri, kemik dokusu ve periodontal ligament formasyonu sağlanarak geleneksel tedavi yöntemlerine alternatifler getirilebilir.

Diş ve çevre dokuları ulaşılabilirliğinin kolay olması açısından önemli kök hücre kaynaklarıdır. Bu bölgeden elde edilen kök hücrelerin dişsel tedavilerden başka alanlarda da kullanımı düşünülebilir. Nörodejeneratif hastalıkların, kalıcı sinir hasarlarının, iskemik kalp rahatsızlıklarının tedavisinde, yeni organ ve dokuların oluşturulmasında olduğu gibi daha pek çok alanda kullanılabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Bianco P, Robey PG, Simmons PJ. Mesenchymal stem cells: revisiting history, concepts, and assays. *Cell Stem Cell* 2008;2:313-319.
- Arien-Zakay H, Lazarovici P, Nagler A. Tissue regeneration potential in human umbilical cord blood. *Best Pract Res Clin Haematol* 2010;23:291-303.
- Estrela C, Alencar AHG, Kitten GT, Vencio EF et al. Mesenchymal stem cells in the dental tissues: perspectives for tissue regeneration. *Braz Dent J* 2011;22(2):91-98.
- Aydın AK, Berbercan P. Biyomühendislik esasları ile diş oluşturulmasına yönelik yaklaşımlar. *SÜ Dişhek Fak Derg*,2010;19:99-114.
- Duailibi SE, Duailibi MT, Vacanti JP, Yelick PC. Prospects for tooth regeneration. *Periodontology* 2000 2006; 41:177-187.
- Morsczeck C, Schmalz G, Reichert TE et al. Somatic stem cells for regenerative dentistry. *Clin Oral Invest* 2008;12:113-118.
- Stewart R, Stojkovic M, Lako M. Mechanisms of selfrenewal in human embryonic stem cells. *Eur J Cancer*. 2006;42:1257-72.
- Huang GTJ, Gronthos S, Shi S. Mesenchymal stem cells derived from dental tissue vs. Those from other sources: their biology and role in regenerative medicine. *J Dent Res* 2009;88(9):792-806.
- Bluteau G, Luder HU, Bari C. Mitsiadis TA. Stem cells for tooth engineering. *European Cells and Materials*. 2008;16:1-9.
- Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000;97(25): 13625-13630.
- 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: 5807-5812.
- Seo BM, Sonoyama W, Yamaza T, Coppe C, Kikui T, Akiyama K, et al.. SHED repair critical-size calvarial defects in mice. *Oral Dis* 2008;14:428-434.
- Sonoyama W, Liu Y, Fang D, Yamaza T, Seo B-M, Zhang C, Liu H, Gronthos S, Wang C-Y, Shi S, Wang S. Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. *PLoS ONE* 2006; 1: e79.
- Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T, Tuan RS, Wang S, Shi S, et al. Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. *J Endod* 2008;34:166-171.
- Huang GT, Sonoyama W, Liu Y, Liu H, Wang S, Shi S . The hidden treasure in apical papilla: the potential role in pulp/dentin regeneration and bioroot engineering. *J Endod* 2008; 34:645-651.
- Seo BM, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahimi. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet*.2004; 364:149-55.
- Yen AH-H, Sharpe PT. Stem cells and tooth tissue engineering. *Cell Tissue Res* 2008; 331: 359-72.
- Yokoi T, Saito M, Kiyono T, Iseki S, Kosaka K, Nishida E, et al. Establishment of immortalized dental follicle cells for generating periodontal ligament in vivo. *Cell Tissue Res*, 2007 327(2): 301-311.
- 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;43:406-408.
- Morsczeck C, Gotz W, Schierholz J, Zeilhofer F, et al. Isolation of precursor cells (PCs) from human dental follicle of wisdom teeth. *Matrix Biol*. 2005;24:155-65.