

سلول‌های بنیادی پالپ دندان

گردآوری و تألیف:

دکتر مریم جلیلی صدرآباد
دندانپزشک عمومی

زیرنظر:

دکتر زهره آهنگری

دانشیار بخش اندودنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی دانشگاه شهید بهشتی
دکتر ماندانا ناصری

استادیار بخش اندودنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی دانشگاه شهید بهشتی
دکتر فاطمه مشهدی عباس

استادیار بخش پاتولوژی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی دانشگاه شهید بهشتی

تقدیم به

پدر مهربانم :

ستاره درخشان زندگی ام که وجود پر مهرش
تکیه گاه و تالو چشمانش نور امیدم است

و

مادر عزیزم :

یگانهای که جان نهاد تا جان گیرم
سرچشمه عطوفت، الگوی شکیبایی و نریباترین و پر
مفهوم ترین مظهر محبت

و

همسر مهربانم،

که پویایش مرا نیز به پیشروی می خواند ...

و

فرشته كوچك دنیای من، دخترم مرزا.

با تشکر از

دوستان و همراهان گرانقدرم

سرکار خانم دکتر یاسمن منصوری و

سرکار خانم دکتر بهاره دبستانی

فهرست

مقدمه

فصل اول

۷ (Tissue engineering) مهندسی بافت

فصل دوم

۱۷ (Adult/post natal stem cells) سلول‌های بنیادی بالغین/ بعد از تولد

فصل سوم

۲۵ (Dental Stem cells) سلول‌های بنیادی دندان

فصل چهارم

۳۵ (Dental pulp stem cells : DPSCs) سلول‌های بنیادی پالپ دندان

فصل پنجم

۵۳ : (Dentinogenesis) عاج سازی

فصل ششم

۶۱ (Regenerative Endodontics) اندودنتیکس بازسازی

مقدمه

حفظ دندان یکی از مهم‌ترین اهداف در دندانپزشکی امروز محسوب می‌شود. درمان‌هایی مثل درمان کانال ریشه در جهت همین هدف گسترش یافته‌اند. اما در بعضی موارد حفظ دندان‌های بسیار تخریب شده مقدور نیست و ناچاراً این دندان‌ها بایستی خارج شوند، در این موارد درمان‌هایی مثل ایمپلنت و پروتز می‌توانند جایگزین کننده دندان طبیعی باشند. اخیراً با پیدایش علم سلول‌های بنیادی، محققان دندانپزشکی به فکر تولید جوانه دندان و کاشت آن در محل دندان از دست رفته، افتاده‌اند. در این راستا کارهای زیادی انجام شده است ولی هنوز به هدف نهایی دست نیافته‌اند. همان طور که می‌دانیم دندان و انساج نگهدارنده آن از بافت‌های مختلفی ساخته شده‌اند. دندان متشکل از مینا، مجموعه عاج-پالپ و سمان است، که سه جزء مینا، عاج و سمان بافت سخت و پالپ از جنس بافت نرم (بافت همبند) می‌باشد.

مینا سطحی ترین لایه تاج است که سخت ترین بافت بدن می‌باشد. این نسج پس از رویش دندان سلول‌های زنده خود را از دست می‌دهد و تا پایان عمر دندان قدرت بازسازی و ترمیم خود را ندارد.

عاج بخش اصلی و اعظم دندان را تشکیل می‌دهد و زیر مینا و سمان قرار گرفته است. ساختار عاج توبولار است و سلول‌های سازنده عاج که ادونتوبلاست نام دارند در زیر توبول‌ها قرار گرفته‌اند. در صدمات خفیف این سلول‌ها فعال شده و عاج صدمه دیده را ترمیم می‌کنند ولی اگر صدمات وارده به دندان به قدری شدید باشند که باعث از بین رفتن این سلول‌ها شوند، سلول‌های بنیادی یا پیش‌ساز ادونتوبلاست این وظیفه را انجام می‌دهند.

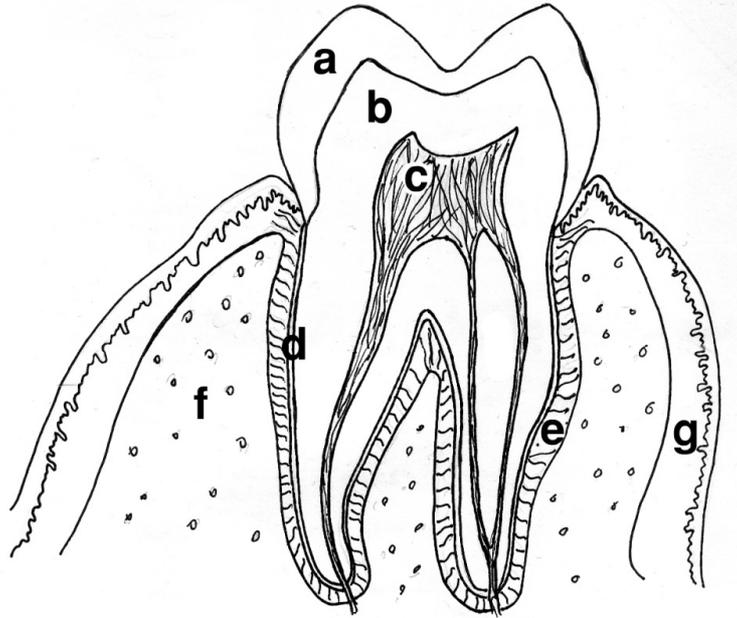
پالپ یا مغز دندان در زیر عاج قرار گرفته است و حاوی عروق و اعصاب، سلول‌ها و اجزاء بافت همبند می‌باشد. این بخش وظیفه خون‌رسانی و تغذیه، دفع مواد زائد، حس، دفاع بر علیه میکروارگانیسم‌ها، القا، سازندگی و ترمیم عاج را بر عهده دارد. ضمناً سلول‌های تمایز نیافته نیز در این بافت به صورت ذخیره شده وجود دارند و یا توسط عروق خونی آورده می‌شوند.

سمان لایه ای از بافت سخت است که روی سطح ریشه دندان قرار گرفته است، این نسج نیز حاوی سلول‌های زنده می‌باشد و تا حدودی قدرت ترمیم خود را بعد از وارد آمدن صدمات دارد.

کل این ساختار یعنی یک دندان توسط بافت نرمی به نام لیگامان پریودنتال که بخش اعظم آن از رشته‌های کلاژنی ساخته شده است، به استخوان فک متصل می‌شود. انساج نگه‌دارنده دندان را پریودنشیوم می‌نامند، که این ساختار شامل سه جزء است: (۱) سمان سطح ریشه (۲) الیاف لیگامان پریودنتال (۳) استخوان آلوئول

لیگامان پریودنتال بافت همبندی متشکل از الیاف کلاژن و رتیکولار، انواع سلول‌های بافت همبند و ماده زمینه ای می‌باشد. این بافت با داشتن سلول‌های تمایز نیافته مزانشیمی قدرت ترمیم و بازسازی ساختار خود و علاوه بر آن ساختار سمان و استخوان را دارا است.

شکل ۱ اجزاء مختلف ساختار دندان و انساج نگه‌دارنده آن را نشان می‌دهد.



شکل ۱ اجزاء مختلف ساختار دندان و انساج نگهدارنده آن: (a) مینا ، (b) عاج، (c) پالپ، (d) سمان، (e) لیگامان پیرودنتال، (f) استخوان، (g) لثه

هر کدام از بافت های دندان از سلول های بنیادی متفاوتی منشا می گیرند. بافت عاج-پالپ از سلول های بنیادی پالپ دندان ، بافت پیرودونشیوم از سلول های بنیادی PDL و فولیکول دندانی ، و بافت مینا از سلول های بنیادی اپیتلیالی دندانی منشا می گیرند. حضور سلول های بنیادی اکتومزانسیمال (سلول های بنیادی پالپ، PDL و فولیکول) در دندان های بالغ به بازسازی بافت های عاج، پالپ و PDL در آزمایشگاه و بدن موجود زنده منجر شده است، اما به علت از بین رفتن سلول های بنیادی اپیتلیالی بعد از رویش دندان و در دسترس نبودن آنها ، بازسازی بافت مینا هنوز موفقیت آمیز نبوده است. البته محققان تلاش کرده اند با استفاده از سایر سلول های بنیادی مثل سلول های بنیادی مغز استخوان این بافت را تولید کنند هر چند که هنوز نتیجه قابل قبولی نگرفته اند .

کتاب حاضر مقدماتی در مورد مهندسی بافت و سلول های بنیادی مطرح می کند و سپس بیشتر روی سلول های بنیادی پالپ دندان و بازسازی بافت عاج- پالپ در درمان های بازسازی اندودنتیک متمرکز می شود. این مطالب مثال قطره ای در دریای بی نهایت علم سلول های بنیادی می باشند. امید است که این کتاب جرقه ای در گوشه ذهن محققان ایرانی ایجاد کند تا در آینده ای نزدیک شاهد عملی شدن این تکنیک ها در دندانپزشکی بالینی باشیم.

به امید سربلندی ایران
دکتر مریم جلیلی صدرآباد
زمستان سال ۱۳۸۹

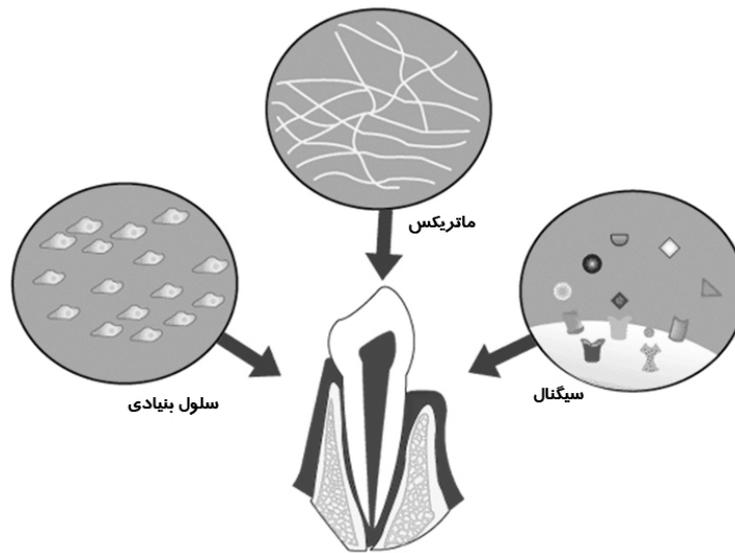
فصل ۱

مهندسی بافت

(Tissue Engineering)

مهندسی بافت (Tissue Engineering)

مهندسی بافت علمی است که در آن طراحی و ساخت بافتهای جدید برای جایگزینی قسمت‌های ازدست رفته بدن (در اثر سرطان، تروما، بیماری و...)، صورت می‌گیرد. در این علم برای جایگزینی بافتها از سه جزء کلیدی استفاده می‌شود: ۱- اسکفولد^۱ یا ماتریکس خارج سلولی، ۲- سیگنال‌هایی برای مورفوژنیز (تمایز) ۳- سلول بنیادی^(۱) (شکل ۱-۱)



شکل ۱-۱ اجزاء کلیدی مهندسی بافت

جدول ۱-۱ توضیحات مختصری راجع به معرفی این اجزاء ارائه می‌دهد.

جدول ۱-۱ اجزاء مهندسی بافتی^(۲)

<p>Adult Stem cells Capable of differentiating into specialized cells Able to respond to morphogens by dividing or specializing</p> <p>Morphogens Biological factors that regulate stem cells to form the desirable cell type 5 major families (BMPs,FGFs,Wnts,Hhs,TNF) BMPs are major morphogen family for tooth regeneration</p> <p>Scaffold Provides a biocompatible 3-dimensional structure for cell Adhesion and migration Biological scaffolds (eg.,collagen,glycosaminoglycan) Artificial scaffolds (eg.,PLA,PGA,PLGA)</p>
--

¹ scaffold

فصل ۱ مهندسی بافت ۹

ابتدا به شرح مختصری در مورد اسکفولد و سیگنال می پردازیم و سپس در مورد سلول های بنیادی به تفصیل بحث خواهیم کرد.

۱- اسکفولد (scaffold):

اسکفولد ساختاری است که در آن یک میکرومحیط سه بعدی بیولوژیکی و فیزیکی- شیمیایی برای رشد، تمایز، چسبندگی و مهاجرت سلولها فراهم می گردد. اسکفولد به عنوان حامل ماده ی مورفوژن در پروتئین درمانی^۱ و حامل سلول در سلول درمانی^۲ به کار می رود. اسکفولد باید در انتقال موادغذایی، اکسیژن و مواد زائد کارا باشد. همچنین باید به تدریج دچار اضمحلال شده و از بین برود تا بافت بازسازی شده، به جای آن مستقر گردد و بتدریج ساختار نهایی بافت به طور کامل تشکیل شود. همچنین باید غیر سمی بوده و دارای سازگاری بافتی و مقاومت مکانیکی و فیزیکی کافی باشد.^(۲)

انواع اسکفولد:

- ۱- پلی مر طبیعی: کلاژن و گلیکوزآمینوگلیکان که سازگاری بافتی و بیواکتیویته خوبی دارند، جزء این دسته می باشند.
- ۲- پلی مر سنتتیک: مواد رایج این دسته شامل (PLA) poly lactic acid، (PGA) poly glycolic acid و کاپلی مر (PLGA) poly lactic- co – glycolic acid می باشند. این مواد سرعت از بین رفتن، میکرواستراکچر و مقاومت مکانیکی خوبی دارند.
- ماده دیگر این گروه، هیدروژل سنتتیک است که شامل (PEG) polyethylene glycol با بیس پلی مر و پپتیدهای چسبنده به سطح سلول مثل آرژنین، گلايسین و آسپارتیک اسید می باشد. این مواد چسبندگی سلول و سنتز ماتریکس در درون شبکه سه بعدی را تقویت می کنند.
- ۳- اسکفولد با اجزاء غیر ارگانیک: مثل هیدروکسی آپاتیت و کلسیم فسفات که برای تقویت و القاء استخوان سازی^۳ استفاده می شوند.^(۲)

۲- سیگنال (signal):

سیگنال ها به دو دسته مورفوژن و فاکتور رشد تقسیم می شود.

۱-۲- مورفوژن ها (morphogens):

مورفوژن ها سیگنالهای ترشحی خارج سلولی هستند که در فرآیند مورفوژنیزس و تمایز در طول تداخالات اپی تلیال- مزانشیمال ایفای نقش می کنند. این مواد شامل ۵ گروه اصلی هستند:

¹ protein therapy

² cell therapy

³ bone conductivity

۱۰ سلول‌های بنیادی پالپ دندان

- BMPs: پروتئین‌های شکل دهنده استخوان^۱
- FGFs: فاکتورهای رشد فیروبلاست^۲
- Wnts: پروتئین‌های ارتباطی داخلی - وینگلس^۳
- Hhs: پروتئین‌های هدجهوگ^۴
- TNF: فاکتور نکروز تومور^۵

اگرچه هر پنج خانواده در تکامل دندان در دوران جنینی درگیر هستند، اما بر اساس مطالعات انجام شده به نظر می‌رسد BMPs برای بازسازی ساختمان‌های دندانی در بالغین کافی باشند.^(۲)

: BMPs

پروتئین‌های مورفوژن استخوانی (BMPs) اولین بار از ماتریکس دیمیرالیزه استخوان جدا شدند. اعضای خانواده BMPs به طور متوالی و تکرار شونده در تکامل جنینی دندان درگیر می‌شوند. یازده عضو BMPs عبارتند از BMP2 و BMP4 و BMP6 و BMP7 و BMP8 و BMP1 و GDF1 و GDF5 و GDF6 و GDF7 و GDF11 و GDNF^۶ که تا به حال شناخته شده‌اند.^(۲)

BMP4 ترشح شده از اپیتلیوم سبب القای ادونتوژنیک مزانشیم می‌شود. سیگنال‌های BMP2 و BMP4 و BMP7 که از گره مینایی^۸ ترشح می‌شوند، سلول‌های اپیتلیال و مزانشیم را تحت تاثیر قرار می‌دهند و باعث نگهداری گره مینایی و انجام مراحل بعدی مورفوژن در اپیتلیال می‌شوند. این سیگنال‌ها همچنین الگوی تاج دندان را با اثر گذاری روی آغاز تشکیل گره ثانویه به همراه سیگنال‌های BMP4 مزانشیمی تنظیم می‌کنند. BMP2 و BMP4 و BMP6 و BMP7، GDF11، در طول تمایز ادونتوبلاست‌ها بروز می‌یابند، BMP4 و BMP5 هم در طول تمایز آملوبلاست‌ها بروز می‌یابند. شبکه سیگنال‌های BMPs پیچیده است و حداقل در سه سطح تنظیم می‌شوند. این سه سطح شامل ناحیه خارج سلولی^۹، ناحیه غشای سلولی^{۱۰} و نواحی داخل سلولی^{۱۱} می‌باشد.^(۲)

همچنین BMP2 انسانی ساختگی تمایز سلول‌های پالپ بالغ را به ادونتوبلاست در یک محیط کشت تک لایه تحریک می‌کند.^(۲)

همچنین BMP2 انسانی ساختگی و BMP4 و TGFβ1 و GDF11 تمایز ادونتوبلاست‌ها را در محیط کشت سلول

¹ bone morphogenetic proteins

² fibroblast growth factors

³ Wingless -& int - related proteins

⁴ Hedgehog proteins

⁵ tumor necrotic factor

⁶ Growth differentiating factor 1

⁷ glial cell line derived neuro trophic factor

⁸ enamel knot

⁹ extra cellular site

¹⁰ cell membrane site

¹¹ intra cellular domains

های پاپیلای دندانی تحریک می کنند.^(۲)

بافت پالپ شامل سلول های بنیادی / پیش سازی است که توانایی تمایز به ادونتوبلاست را در پاسخ به خانواده BMPs دارند. دو استراتژی برای بازسازی دنتین وجود دارد: اول درمان های *in vivo* که پروتئین BMP یا ژن آن به طور مستقیم در پالپ اکسپوز یا آمپوته به کار می رود. شیوه دوم درمان های *ex vivo* است که شامل جداسازی سلول های بنیادی / پیش ساز از بافت پالپ و تمایز آنها به ادونتوبلاست بواسطه BMPs یا ژن آن و در نهایت انتقال اتوژن این سلول ها برای بازسازی عاج می باشد.^(۲)

هنوز معلوم نیست که چه چیز باعث انتقال ناگهانی یک سلول پیش ساز/ بنیادی از وضعیت غیر فعال به فعال می شود تا به دنبال صدمه به بافت پالپ، تکثیر شده، مهاجرت کند، متمایز گردیده و ماتریکس ترشح کند. برای روشن شدن این موضوع، مکانیسم های کنترل مولکولی در آزادسازی مرفوژن ها باید شناخته شوند.^(۲)

۲-۲- فاکتورهای رشد (growth factors):

فاکتورهای رشد پروتئین هایی هستند که به گیرنده روی سلول متصل می شوند و تکثیر یا تمایز سلولی را القا می کنند. بسیاری از فاکتورهای رشد کاملاً چندکاره هستند؛ یعنی محرک تقسیم سلولی در چندین نوع سلول می باشند، در حالی که تعدادی دیگر از آنها به طور اختصاصی بروی سلولهای خاصی عمل می کنند.^(۱) در حال حاضر تعداد زیادی فاکتور رشد با عملکردهای اختصاصی معرفی شده اند که می توانند به عنوان قسمتی از درمانهای سلولهای بنیادی و مهندسی بافت به کار روند.^(۱)

تعدادی از فاکتورهای رشد می توانند برای کنترل فعالیت سلولهای بنیادی مثل افزایش میزان تکثیر، القاء تمایز سلولی به سلول یک بافت دیگر و تحریک سلول بنیادی برای سنتز و ترشح ماتریکس مینرالیزه، به کار روند.^(۱) فاکتورهای رشد به خصوص آنهایی که جزء خانواده TGFβ (فاکتور رشد تمور) هستند در پیام های سلولی منجر به تمایز ادونتوبلاستی و تحریک ترشح ماتریکس عاجی فعال می گردند. این فاکتورهای رشدی توسط ادونتوبلاستها ترشح می شوند و درون ماتریکس عاج رسوب می کنند و فرم فعال آنها توسط سایر اجزاء ماتریکس عاجی محافظت می شود. از این رو اضافه کردن اجزاء خالص پروتئینی عاج باعث افزایش ترشح ماتریکس عاج ثالثیه می شود.^(۱) خانواده مهم دیگری از فاکتورهای رشدی دخیل در تکامل دندان و بازسازی آن، شامل BMPs می باشد که این مواد خاصیت مرفوژنز نیز دارند. BMPs انسانی ساختگی تمایز سلولهای بنیادی بالغین پالپ را به سلول های شبه ادونتوبلاست در محیط کشت تحریک می کند. BMP 2، ساختگی، BMP4 و BMP7 ساخت عاج ترمیمی در *in vivo* را ترغیب می کنند.^(۲)

کاربرد فاکتور رشد شبه انسولین-۱ انسانی ساختگی^۱ با کلاژن، ساخت پل کامل عاجی و ساخت عاج توبولار را القا می کند.^(۲)

اضافه کردن این فاکتورهای رشدی قبل از انجام درمان های پوشش دهنده پالپ^۲ یا اضافه کردن آنها به مواد ترمیمی یا اندودنتیک می تواند سبب تحریک بازسازی عاج و پالپ شود.

جدول ۲-۱ به منابع، فعالیت ها و کاربرد های فاکتور های رشدی رایج اشاره می کند.

¹ recombinant human inculin like growth factor-1

² Pulp capping

جدول ۱-۲ منابع، فعالیتها و کاربردهای فاکتورهای رشدی رایج^(۱)

Abbreviation	Factor	Primary Source	Activity	Usefulness
BMP	Bone morphogenetic proteins	Bone matrix	BMP induces differentiation of osteoblasts and mineralization of bone	BMP is used to make stem cells synthesize and secrete mineral matrix
CSF	Colony stimulating factor	A wide range of cells	CSFs are cytokines that stimulate the proliferation of specific pluripotent bone stem cells	CSF can be used to increase stem cell numbers
EGF	Epidermal growth factor	Submaxillary glands	EGF promotes proliferation of mesenchymal, glial and epithelial cells	EGF can be used to increase stem cell numbers
FGF	Fibroblast growth factor	A wide range of cells	FGF promotes proliferation of many cells	FGF can be used to increase stem cell numbers
IGF	Insulin-like growth factor-I or II	I - liver II-variety of cells	IGF promotes proliferation of many cell types	IGF can be used to increase stem cell numbers
IL	Interleukins IL-1 to IL-13	Leukocytes	IL are cytokines which stimulate the humoral and cellular immune responses	Promotes inflammatory cell activity
PDGF	Platelet-derived growth factor	Platelets, endothelial cells, placenta	PDGF promotes proliferation of connective tissue, glial and smooth muscle cells	PDGF can be used to increase stem cell numbers
TGF- α	Transforming growth factor-alpha	Macrophages, brain cells, and keratinocytes	TGF- α may be important for normal wound healing	Induces epithelial and tissue structure development
TGF- β	Transforming growth factor-beta	Dentin matrix, activated TH ₁ cells (T-helper) and natural killer (NK) cells	TGF- β is anti-inflammatory, promotes wound healing, inhibits macrophage and lymphocyte proliferation	TGF- β 1 is present in dentin matrix and has been used to promote mineralization of pulp tissue
NGF	Nerve growth factor	A protein secreted by a neuron's target tissue	NGF is critical for the survival and maintenance of sympathetic and sensory neurons.	Promotes neuron outgrowth and neural cell survival

۳- سلول بنیادی (Stem cell) :

۳-۱ - تعریف : همه بافتها از سلولهای بنیادی منشاء می گیرند. یک سلول بنیادی سلولی است که توانایی تقسیم مداوم و تولید سلولهای پیش ساز برای تمایز به انواع سلولها یا بافتهای مختلف را داراست.^(۱)

یک سلول باید قدرت همانندسازی^۱ و تمایز به حداقل دو تیپ سلول جداگانه^۲ را داشته باشد تا سلول بنیادی نامیده شود. این دو ویژگی برای سلول بنیادی الزامی است (شکل ۱-۲).

خاصیت همانندسازی یعنی اینکه سلول بنیادی بتواند بعد از تقسیم تبدیل به سلول دختری تمایز نیافته ای مانند خود شود، تا از این طریق نسل خود را بدون تغییر در ویژگی های اولیه^۳ حفظ کند. برای مثال یک سلول بنیادی مزانشیمی قادر به تمایز به یک سلول بنیادی مزانشیماال جدید و یک استئوبلاست یا کندروبللاست می باشد.^(۳)

¹ self renewable

² multi lineage differentiation

³ original characteristics