تحقیقی

مجله دندانپزشکی جامعه اسلامی دندانپزشکان/ دوره ۲۴، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۱، ۱۱۱-۱۲۰

سلول‌های بنیادی در مهندسی بافت و بازسازی پریودنشیوم

دکتر اردشیر لفظی[۱]- دکتر رضا عمید[۲] - دکتر مهدی کدخدازاده[۲] - کیمیا روحانی[۳] - سحر حدادپور[۳] - لیلا صفیاری[۳] - سارا ساعدی[۳]

۱- استاد گروه آموزشی پریودنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۲- استادیار گروه آموزشی پریودنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۳- دانشجوی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده

زمینه و هدف: *نهایت درمانهای بازسازی کننده در زمینه دندانپزشکی ساخت بافتهای نرم و سخت از دست رفته است. امروزه این هدف با کاربرد انواع گوناگونی از مواد پیوندی و عوامل رشدی و غشاهای محافظ صورت می‌گیرد. سلول‌های بنیادی یکی از زمینه‌های تحقیقاتی نوین می‌باشد. مقاله مروری دارد بر مستنثات علمی که در زمینه بازسازی بافتهای دندانی و پریودنشیوم با استفاده از سلول‌های بنیادی منتشر شده است، به تعبیری دیگر هدف از این مطالعه بررسی سلول‌های بنیادی در مهندسی بافت و بازسازی پریودنشیوم می‌باشد.*

روش بررسی: *مقالات مرتبط با بازسازی پریودنشیوم و سلول‌های بنیادی از طریق جستجوی سیستماتیک در میان داده‌های منتشر شده به زبان انگلیسی در مرکز اطلاعات پزشکی تا نیمه سال ۲۰۱۱ میلادی جمع آوری گردید. سپس جستجوی دستی مقالات اصیل و پایه‌ای در میان مراجع این مقالات صورت گرفت.*

یافته‌ها: *بیش از پنجاه سال از زمانی که برای اولین بار سلول‌های بنیادی انسانی در کلینیک مورد استفاده قرار گرفتند می‌گذرد، اما هنوز کاربرد این سلول‌ها به شکل متداول در کلینیک‌های پزشکی و دندانپزشکی مطرح نمی‌باشد. یکی از مهمترین دلایل این پیشرفت آهسته پیچیدگیهای خاص بازسازی بافتی و ظرایف مطرح در بحث بیولوژی ملکولی است که این نوع از درمانها را به شکل ماهوی از درمانهای معمول همچون کاربرد پیوندهای بافتی متفاوت ساخته است.*

نتیجه‌گیری: *جمع آوری داده‌های موجود حاکی از آن است جامعه در آغاز دوران جدیدی در درمانهای دندانپزشکی می‌باشد. به نظر می‌رسد که جامعه در دهه آینده شاهد پژوهشهای بسیار جدی و گسترده در زمینه کاربرد سلول‌های بنیادی خواهد بود.*

کلید واژه‌ها: *بازسازی پریودنشیوم – سلول‌های بنیادی – مرور مقالات*

وصول مقاله: ۱۳۹۰/۳/۱۹ اصلاح نهایی: ۱۳۹۰/۵/۲۷ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۸/۱۰

نویسنده مسئول: دکتر رضا عمید، گروه آموزشی پریودنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

e.mail:reza_amid@yahoo.com

مقدمه

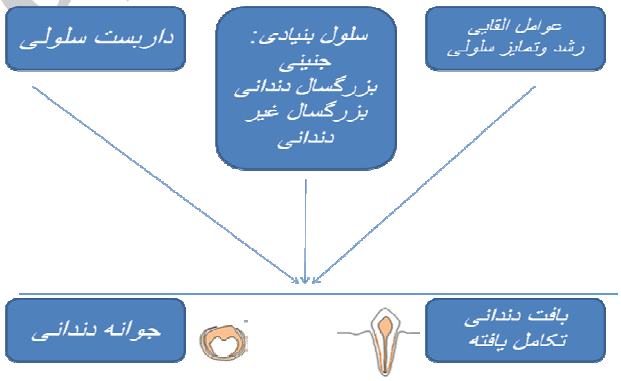
اصطلاح مهندسی بافت را Vicanti و Langer در سال ۱۹۹۳ به مثابه فرآیندی توصیف کردند که در آن بافتها و اندامها با پیوند زدن سلول‌ها با یا بدون یک داربست سلولی بازسازی می‌شوند. تقریباً بیست سال بعد مهندسی بافت با وجود دست‌آوردهای مهم، به حد انتظار پیشرفت نکرده است. (۱)، در همین ارتباط مهندسی بافت با استفاده از یک داربست زیست سازگار، عوامل رشدی مناسب و سلول‌های بنیادی میسر می‌شود.

تکامل یک بافت و اندام فرآیندی فعال و پویا بوده ساختارهایی که پس از تکامل حاصل می‌شوند توسط روند هموستاتیک یا متعادل‌سازی حفظ می‌شوند. بین فرآیند بازسازی و ترمیم یک اندام و تکامل اولیه آن شباهت وجود دارد. بنابراین باید تا حد امکان از این فرآیندهای تکاملی تقلید و پیروی شود تا نتیجه مورد نظر که ساخت یک اندام کامل است به دست آید. (۲)، توانایی تکثیر و تمایز گسترده سلول‌های‌بنیادی جنینی (Embryonic) و بزرگسال (Adult)

Archive of SID

www.SID.ir

باعث شد از این سلول‌ها در بازسازی بافتها و اندامهای آسیب دیده استفاده شود. (۳)، هر چند در سالهای اخیر به بحث مولکولی و فراساختاری پیرامون سلول‌های بنیادی توجه بیشتری شده است. (۴)، بافتها از انواع سلول‌هایی که در اجزای ماتریکس خارج سلولی تشکیل یک شبکه را می‌دهند ساخته شده‌اند و این نظم ساختاری با عوامل‌ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی به دست می‌آید. (۵)، این روند بسیار پیچیده‌تر از تصورات اولیه بود که وجود داشت. روابط بین سلولی، چرخه‌های تکثیر آنها، فرآیندهای آپوپتوز، سنتز و ترشح اجزای‌ماتریکس خارج سلولی و سیگنال‌های مولکولی، عوامل رشد و تمایز در یک محیط پر سلول در حال تکامل دیده می‌شود. فرآیند بازسازی بافت در کلیت خود تحت تاثیر ماتریکس خارج سلولی قرار می‌گیرد. (۶)، بنابراین یکی از ارکان اساسی مهندسی بافت نیاز به یک داربست برای حمایت و هدایت سلول‌ها در جهت بازسازی است. (شکل ۱)



شکل ۱: اصول مهندسی بافت دندان در یک نگاه

تحقیقهای فراوانی در این زمینه در دسترس است. جستجوی کلمات کلیدی زیر در PubMed تعداد کل مقالات منتشر شده در مورد سلول‌های بنیادی را بدین شرح مشخص می‌سازد: یکصد و هفتاد و هشت هزارو هفتصد مقاله برای Stem cell /۱۶۱۸ مورد برای Stem cell, dentistry /۱۸۵مقاله منتشر شده برای، Stem cell Periodontology/ و ۲۱۲ مستند علمی درباره Stem cell periodontal regeneration.

انواع سلول‌های بنیادی

سلول‌های بنیادی شامل دو گروه جنینی و بزرگسال می‌شوند. سلول‌های بنیادی جنینی (Human embryonic stem cell) سلول‌های pluripotent یا Totipotent هستند یعنی آنکه توانایی تولید تمام رده‌های سلولی را دارند. این سلول‌ها که در مرحله بلاستوسیت تکامل جنین به دست می‌آیند توانایی تمایز به بیش از دویست نوع سلول مختلف را در بدن انسان دارا می‌باشند. (۷)، این سلول‌ها از این نظر منحصر به فرد هستند که می‌توانند برای زمان نامحدود به صورت تمایز نیافته در محیط آزمایشگاه نگهداری شوند و توانایی تمایز به همه سلول‌های تخصص یافته در بدن را حفظ کنند. سلول‌های بنیادی بزرگسال در اغلب بافتهای جنینی و بالغ یافت می‌شوند. این سلول‌ها از بافتهایی که به طور دایم بازسازی می‌شوند مانند خون محیطی و اپیتلیوم گوارشی و همین طور در بافتهایی با توانایی بازسازی پایینتر مثل مغز مشتق شده‌اند. به نظر می‌رسد سلول‌های بنیادی بالغ در نگهداری دراز مدت بافت یا جایگزینی سلول‌هایی که آسیب دیده یا از دست رفته‌اند عمل‌می‌کنند. (۸)، بیشترین سلول‌های بنیادی بزرگسال از مغز استخوان به دست می‌آیند که شامل سلول‌های بنیادی خونی و سلول‌های بنیادی مزانشیمال مغز استخوان است. سلول‌های بنیادی خونی اولین سلول‌هایی بودند که به طور موفقیت آمیز در درمانهای پزشکی، به خصوص سرطان خون و سندرم‌های نقص ایمنی استفاده شدند. اما این سلول‌ها قادر به تولید بافت همبندی نیستند. (۹)، سلول‌های بنیادی مزانشیمال (MSCs) توانایی استفاده درمانی برای گستره‌ای از ناهنجاریهای ماهیچه‌ای استخوانی، بیماریهای قلبی و ناهنجاریهای ایمنی را دارند. این سلول‌ها زیر گروه سلول بنیادی چند کاره Multipotent بوده به علت راحتی‌جداسازی در تحقیقهای مورد توجه هستند. این سلول‌ها در بدن در بافتهای مغز استخوان، چربی، پریوستیوم، غشای سینوویال، عضلات اسکلتی، درمیس، خون، پری سیت‌ها، استخوان ترابکولار، بند ناف، ریه، پالپ دندان و لیگامان پریودنتال حضور دارند. این سلول‌ها علاوه بر نقش مهمی که در رشد طبیعی دارند، به عنوان جزیی از ترمیم بافت بالغ هم عمل

Archive of SID
www.SID.ir

می‌کنند. اکنون تحقیقها ثابت کرده که MSCs در رشد دوباره غضروف، استخوان، چربی، ماهیچه، تاندون، پوست و بافت عصبی نقش دارند. (۱۰)، دو منبع اصلی برای سلول‌های بنیادی مزانشیمال: بافت مغز استخوان و چربی است. هر دو گروه سلول توانایی یکسان برای تمایز به سلول‌ها و بافتهایی با منشاء مزودرمال دارند. مزیت سلول‌های بنیادی مزانشیمال چربی این است که دسترسی به این سلول‌ها راحت‌تر است. این سلول‌ها از نظر شکل و فنوتیپ ایمنی و جداسازی و تراکم کلنی یکسان هستند و تفاوت آنها در قدرت تمایز به استخوان و غضروف است که سلول‌های بنیادی گرفته شده از بافت چربی توانایی کمتری برای تمایز به استخوان و غضروف دارند. (۱۱)، بیشترین مطالعات در مورد سلول‌های بنیادی مزانشیمال مغز استخوان انجام شده است. این سلول‌ها توانایی تشکیل استخوان و غضروف در محیط زنده را نشان داده‌اند. (۱۲)

انواع سلول‌های بنیادی دندانی

تا کنون پنج نوع مختلف سلول‌های بنیادی دندانی جداسازی و تعریف شده است.

*Dental pulp stem cells (DPSCs)

*Stem cells from exfoliated deciduous teeth (SHED)

*Periodontal ligament stem cells (PDLSCs)

*Stem cells from apical papilla (SCAP)

*Dental follicle progenitor cells (DFPCs)

سلول‌های بنیادی دندانی از بافتهایی با توانایی تمایز به سلول‌های دندانی جداسازی شده‌اند و خصوصیاتی مشابه سلول‌های مزانشیمی دارند که شامل توانایی بازسازی مجدد خود و توانایی ایجاد رده‌های سلولی مشابه است. البته این توانایی متفاوت از سلول‌های مزانشیمی مغز استخوان است. (جدول ۱)

مثالهایی از کاردبردهای سلول‌های بنیادی برای ترمیم و ساخت بافتهای دندانی

از سلول‌های بنیادی می‌توان برای ترمیم سلول‌های آسیب دیده مثل عاج و پالپ استفاده کرد و حتی اخیراً مهندسی بافت برای مینا نیز آغاز شده است. نتایج به دست آمده در مطالعات حاکی از آن بود که سلول‌های استخراج شده از پالپ دندان مولر سوم در محیط بدن موشها توانایی ایجاد مجموعه‌ای شبه عاج و پالپ را دارند. (۱۳)، سلول‌های گرفته شده از دندانهای شیری انسانها توانایی ایجاد بافتی مشابه پالپ را دارند. (۱۴)، در یکی از این تحقیقها و آزمایشها با پیوند همزمان سلول‌های بنیادی پاپیلای اپکس دندانی و پریودنشیم به داخل حفره دندانی خوکچه‌ها، عاج وپریونشیم ساخته شد نتایج به دست آمده از این تحقیقها می‌تواند این امید را به محققان بدهد که این سلول‌های بنیادی می‌توانند به جای ایمپلنت‌های امروزی ریشه دندان را بازسازی نمایند.

جایگزینی پالپ دندان نیز بررسی شده است و مطالعات گوناگون امکان جایگزینی بافت از دست رفته پالپ را نشان داده است. این درمان برای احیا کردن و بازسازی پالپ عفونی خارج شده مورد توجه قرار گرفته است. از جایگذاری ترکیب سلول‌های پاپ دندانی و پاپیلای اپیکال زیر پوست موش بعد از ۳ - ۴ ماه ماده‌ای شبه پالپ با خونرسانی مناسب مشاهده گردید. (۱۵و ۱۶)

جایگزینی کامل دندان:

از دست رفتن دندان هنگامی که همراه با تحلیل استخوان باشد یک مشکل اساسی است و بازسازی دندان کامل همراه با استخوان به طوری که دندان عملکرد کامل داشته باشد چالش بسیار بزرگی در بخش تحقیقهای دندانپزشکی است.

یکی از تحقیقهای اخیر استفاده از سلول‌های جوانه دندانی جنینی و جوانه‌های دندانی پس از تولد را جستجو کرده است. (۱۷)، محققان در یکی دیگر از مطالعات سلول‌های مزانشیمی دندانی جنینی موش را داخل کپسول کلیه موش کاشتند و جوانه دندانی جدید پس از سه هفته مشاهده گردید البته این جوانه با بدشکلی همراه بود در بخش دیگری از تحقیقها بقایای اپی تلیالی مالاسز استفاده شده و بافتهای شبه مینا ساخته شده است. (۱۸-۱۹)

کاربرد سلول‌های بنیادی در بازسازی پریودنشیوم مهندسی بافت پریودنتال نیازمند سلول‌های پیش‌ساز، عوامل رشدی جهت تمایز آن سلول‌ها، نیز داربست سلولی مناسب

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱: توانایی انواع سلول‌های بنیادی در یک نگاه

نوع سلول بنیادی	قابلیت بازسازی	تجربه ساخت در نمونه‌های حیوانی
سلول بنیادی پالپ دندان	استخوان/دندان/چربی/ غضروف/ماهیچه/عصب	مجموعه مشابه عاج-پالپ سلول مشابه ادنتوبلاست بافت مشابه استخوان
سلول بنیادی پاپیلای اپیکالی	دندان/چربی/غضروف/ ماهیچه/عصب	بافت مشابه عاج-پالپ سلول مشابه ادنتوبلاست
سلول بنیادی لیگامان پریودنتال	استخوان/سمان/چربی/ غضروف/ماهیچه/عصب	بافت شبیه سمان بافت مشابه غشای پریودنتال
سلول‌های پیش‌ساز فولیکول دندانی	سمان/دندان/چربی/ غضروف/ماهیچه	تشکیل ماده زمینه‌ای سمان

است.

۱- پیش سازهای سلولی برای بازسازی پریودنشیوم

بافت پریودنشیوم از جمعیتی از سلول‌های نورال کرست به نام فولیکول دندانی منشا گرفته است. فولیکول دندانی یک غلاف همبندی متراکم در اطراف دندان در حال تشکیل ایجاد می‌کند. در طی تمایز و تشکیل ریشه، فولیکول دندانی استخوان آلوئول، سمان ریشه و PDL را شکل می‌دهد. منبع دوم پیش سازهای بافت PDL در اطراف عروق خونی این ناحیه قرار می‌گیرند که در بازسازی آن بعد از تشکیل ریشه نقش دارند. (۲۰)

علاوه بر فولیکول دندانی و سلول‌های پیش‌ساز PDL، استفاده از انواع دیگری از پیش‌سازها مثل سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان و پیش‌سازهای سمنتوبلاست جهت بازسازی PDL موفقیت آمیز گزارش شده است. مناسب بودن این پیش‌سازها به دلیل توانایی انعطاف پذیری آنهاست یعنی سلول‌های بنیادی بالغ می‌توانند با استفاده از عوامل القایی مناسب به بافتهای هدف متعددی تغییر شکل پیدا کنند. (۲۱)، با وجود اینکه توانایی پیش‌سازها و سلول‌های بنیادی بالغ در ایجاد دودمانهای متنوع پریودنتال به خوبی ثابت شده است ولی مشخص نیست که چه چیز این بازسازیها را به سمت ایجاد یک پریودنشیوم حقیقی با سطح بیولوژیکی و عملکردی مناسب هدایت می‌کند.

۱-۱ پیش‌سازهای فولیکول دندانی (DFPCs: Dental Follicle Progenitor Cells)

فولیکول دندانی حاوی جمعیت واحدی از سلول‌های نورال کرست مهاجر است که پریودنشیوم را تشکیل می‌دهد. با وجود اینکه از نظر بافت شناسی ساختمان یک شکلی دارد ولی حاوی تعدادی از جمعیتهای هتروژن سلولی (از دودمانهای استئوژنیک تا سلول‌های مزانشیمی تمایز نیافته) است. (۲۲)، فولیکول دندانی برای بازسازی و ساخت بافت پریودنتال حاوی پیش‌سازهای ایده آلی است، DFPCs پیوندزده شده بافت فیبریلاری را شکل می‌دهند که آن بافت می‌تواند PDL را دوباره روی هم سوار کند. اگرچه DFPCs الیاف مشابه PDL را تشکیل می‌دهند ولی هنوز مشخص نیست که این الیاف قابلیت معدنی شدن و تشکیل بافتهایی مشابه سمان یا استخوان آلوئولار را داشته باشند. البته پاره‌ای آزمایشها نشانگر تشکیل بافتهایی مشابه استخوان بوده‌اند. (۲۳)

DFPCs کاشته شده در هیدروژل، پس از قرارگیری در شرایط کشت مطلوب تشکیل رسوبهای معدنی می‌دهد ولی فعالیت استخوان‌سازی آن نسبت به سلول‌های فرانشیمال به دست آمده از مغز استخوان یا PDLPGs کمتر است.

۱-۲ سلول‌های پیش ساز PDL (Periodontal Ligament PDLPGs :Progenitor Cells)

در مقایسه با DFPCs، فعالیت استخوان‌سازی و سمان سازی این سلول‌ها به خصوص پس از القا توسط عوامل رشد و پروتئینهای خارجی بیشتر است. امکان دارد که حداقل تعدادی از جمعیتهای پیش ساز PDL از سلول‌های

Archive of SID
www.SID.ir

مهاجر واقع در استخوان آلوئول منشا گرفته باشند که شاید دلیلی بر جوابدهی بهتر آنها به شرایط معدنی‌سازی است. (۲۲)

در مطالعه‌ای روی سگها بازسازی استخوان آلوئول در درگیریهای فورکا توسط PDLPGs صورت پذیرفت که نشان‌دهنده مناسب‌بودن این سلول‌ها برای بازسازی بافتهای معدنی است. (۲۴)

۳-۱ سلول‌های پیش‌ساز سمان

مشخص نیست که منشا سلول‌های سازنده سمان دارای سلول و فاقد سلول متفاوت است یا خیر اما به هر حال از نظر بیان ژن و روشهای رسوب سمان متفاوتند.

سمنتوبلاست‌ها در سمان دارای سلول پس از تشکیل ماتریکس سمان در آن باقیمانده و به سمنتوسیت تبدیل می‌شوند. در حالی که سمنتوبلاست‌های سمان فاقد سلول روی سطح لایه سمان ساخته شده قرار می‌گیرند. احتمالاً ترکیبات بیوشیمیایی این دو سمان متفاوت است و برای تشکیل نیاز به سلول‌ها و عوامل خاص خود دارند. (۲۲)

بعضی از سلول‌های مشتق از سمان پس از پیوند در موش توانایی تشکیل بافت معدنی را نشان دادند. (۲۵)، سلول‌های مشتق از سمان و سمنتوبلاست‌ها برای بررسی اثر عوامل معدنی شدن اختصاصی سمان در طول سمنتوژنز نمونه‌های بسیار خوبی هستند. البته تحریک کردن انتخابی برای معدنی شدن سمنتوم روند بسیار پیچیده‌ای است.

۲- عوامل القایی لازم برای بازسازی پریودنشیوم

عوامل موجود در محیط ماتریکس خارج سلولی اطراف سلول‌های پیش‌ساز، یک کنترل مرکزی روی دودمان آنها، رفتار سلولی و سرنوشت نهایی آنها دارند. عامل رشد مشتق از پلاکت(PDGFs:Platelet Derived Growth Factor) یکی از اولین عوامل رشدی است که در ترمیم آسیبهای پریودنتال به شکل طبیعی تولید می‌شود. PDGFs به مقدار زیادی در استخوان آلوئول ودر طی روند بازسازی سمان دیده می‌شود که نشانگر قدرت بالای آن در بازسازی پریودنشیوم از دست رفته است. (۲۰)، عامل رشد فیبروبلاستی (FGFs: Fibroblast Growth Factors) یک واسطه شیمیایی مهم در مهاجرت سلولی و تکثیر است.

دو مکانیسم برای تاثیر مثبت FGFs در بازسازی پریودنشیوم بیان شده است:

۱- رگ سازی و آغاز ترمیم زخم و ۲- تاثیر آن در رشد سلول‌های PDL نابالغ. عامل رشدی بافت همبندی (CTGF: Connective Tissue Growth Factor) در تکامل جوانه دندانی و بازسازی بافت پریودنشیوم، بازسازی بافت مزانشیمی و ترمیم زخم نقش مهمی دارد. CTGF جزئی از یک خانواده ژنی بزرگ است که تکثیر فیبروبلاست‌ها، مهاجرت و چسبندگی و تشکیل ماتریکس خارج سلولی را آغاز می‌کنند. عامل رشدی مبدل بافتی بتا :TGFβ (Transforming Growth Factor Beta) هشت هفته پس از قراردهی در نمونه‌های غیر انسانی تشکیل الیافی مشابه PDL را در درگیری فورکای Cl II القا کرده است. (۲۲)، انواع خاصی از BMP: Bone Morphogenic Protein باعث القای تشکیل بافت سخت جدید می‌شود. انواعی از BMPs توانایی القای تشکیل استخوان آلوئول جدید و سمان را دارند (۲۶)، اگرچه یکی از عوارض جانبی درمانهای BMP-2 انکیلوز است. (۲۲)

۳- داربست برای بازسازی پریودنشیوم

PDL توسط دو بافت سخت معدنی احاطه شده است (سمان ریشه و استخوان آلوئولار) این ساختار باعث ثبات شبکه PDL می‌شود و از کلاژن و هیدروکسی آپاتیت تشکیل شده است. برای شبیه سازی این بافتها انواع متنوعی از داربست ساخته‌شده است، (۲۲) که شایعترین آنها داربستهای ساخته شده از کلاژن داربستهای ماتریکس خارج سلولی طبیعی، کلسیم فسفات، پلیمرهای مصنوعی قابل جذب و پپتیدها می‌باشد.

با توجه به فراوانی تعداد مقالات، نمونه‌هایی از کاربرد سلول‌های بنیادی در بازسازی پریودنشیوم در سه محیط آزمایشگاهی، حیوانی و بر روی نمونه‌های انسانی به شکل جداگانه‌ای آورده می‌شود:

Archive of SID
www.SID.ir

الف) کاربرد سلول‌های بنیادی در بازسازی پریودنشیوم در شرایط آزمایشگاهی

۱- سلول‌های بنیادی و پیش ساز PDL بعد از قرار دادن در محیط کشت مناسب و استفاده از عوامل القایی، سلول‌های استخوان‌ساز، چربی ساز میوفیبروبلاستیک (مشتقات مزودرمی)، سلول‌هایی مشابه سلول‌های نورال کرست، (۲۷) کندروسیت، (۲۸) سمنتوسیت، سلول‌های سازنده کلاژن و PDL ایجاد کرده‌اند. (۲۹)، این فرضیه مطرح است که از سلول‌های بنیادی موجود در PDL می‌توان برای تمایز سلول‌های سازنده PDL در درمان بیماریهای پریودنشیوم استفاده کرد. (۲۷)، زیرا پس از پیوند به موشها ساختارهایی مشابه استخوان و سمان ایجاد کرده‌اند (۳۰) و با اثردهی پروتئین‌های غیر کلاژنی دنتین روی سلول‌های بنیادی PDL انسان تمایزات مربوط به تشکیل سمان مشاهده شده است. (۳۱)، سلول‌های بنیادی PDL سگ در محیط کشت مطلوب سمنتوبلاست و استئوبلاست تولید کرده‌اند. (۳۲)

۲- سلول‌های بنیادی فولیکول دندانی انسان، تحت اثر BMP و EMD در شرایط آزمایشگاهی سمنتوبلاست، سلول‌های PDL و استئوبلاست و پس از کاربرد انسولین ودگزامتازون سلول‌هایی مشابه استئوبلاست و سمنتوبلاست ساخته‌اند. (۳۳-۳۴)، سلول‌های پیش‌ساز فولیکول دندانی کاشته شده در هیدروژل، پس از قرارگیری در شرایط کشت مطلوب، تشکیل رسوبهای معدنی می‌دهد ولی فعالیت استخوان‌سازی آن نسبت به سلول‌های بنیادی مغز استخوان و سلول‌های پیش ساز PDL کمتر است. (۲۲)

ب) نتایج عملی از کاربرد سلول‌های بنیادی در بازسازی پریودنشیوم حیوانات

۱- **سلول‌های بنیادی مزانشیمی**: در پژوهشی استخوان آلوئولار از بالای ریشه اولین مولر موشها به منظور ایجاد نقص پریودنتال برداشته شد. داربست ژل به همراه سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) تهیه شده از مغز استخوان در محل ضایعه قرار داده شد، تعدادی موش به عنوان شاهد بدون هیچ داربست رها شدند و تعدادی فقط ژل دریافت کردند. ساخته شدن استخوان جدید، سمان و PDL در همه موشها رخ داد ولی در گروه دریافت کننده سلول‌های بنیادی استخوان بیشتر و الیاف پریودنتال با قابلیت عملکردی بهتری ساخته شد. (۳۵)

سلول‌های بنیادی مغز استخوان کرست ایلیاک جهت درمان درگیری فورکای Cl III سگها هم استفاده شده است که در نهایت سمان، PDL و استخوان جدید ساخته شد. (۳۶)، نشان داده شده است که سلول‌های بنیادی مغز استخوان و سایر سلول‌های بنیادی مزانشیمی پس از پیوند در سگهای دارای نقص ایمنی توانایی تولید سمان، الیاف PDL و استخوان آلوئول را داشته‌اند. (۳۷)

۲- **سلول‌های بنیادی PDL**: از سلول‌های بنیادی PDL در درمان پریودنتیت خوکها استفاده شده است و بازسازی پریودنشیوم در آنها با موفقیت صورت پذیرفته است. (۳۸) مهندسی بافتی کمپلکس سمان –PDL به کمک روش جدید کشت سه بعدی با استفاده از سلول‌های بنیادی PDL انسانی و پیوند در موشها انجام شده است که سمان و PDL ساخته شده‌اند. (۳۹)، در مطالعه‌ای روی سگها بازسازی استخوان آلوئول در درگیریهای فورکا توسط سلول‌های پیش ساز PDL صورت پذیرفته است. (۲۴)، از سلول‌های بنیادی PDL برای درمان نقص پریودنتال ایجاد شده توسط جراحی در موشهای دارای نقص ایمنی استفاده شده است. ۶۱٪ از این سلول‌ها توانایی ایجاد ساختارهای مشابه PDL و سمان را نشان دادند که نشانگر آن است که این سلول‌ها در مراحل مختلفی از نظر تمایز قرار دارند که باعث شده است که همه سلول‌های بنیادی مورد استفاده به سلول‌های سازنده PDL تمایز نیابند. (۴۰)، سلول‌های پیش ساز PDL موش، جهت ساخت PDL اطراف ایمپلنت تیتانیومی استفاده شدند. پریودنشیوم در محل دندان از دست رفته و در اطراف ایمپلنت ساخته شد. (۴۱)، سلول‌های پیش ساز PDL انسانی پس از قرارگیری در محیط کشت مناسب، به دندان مولر اول موش پیوند زده شدند که نهایتاً الیاف PDL و بافتی مشابه سمان فاقد سلول تولید کرده‌اند. (۳۷)، پیوند اتولوگ سلول‌های بنیادی دندانی جهت درمان بیماری پریودنتیت پیشرفته در سگهای شکاری صورت گرفته است. در این

Archive of SID
www.SID.ir

آزمایش از سه گروه سلول‌های بنیادی دندانی (سلول‌های بنیادی پالپ دندان، سلول‌های پیش ساز فولیکول دندانی و سلـول‌های بنیـادی PDL) استفـاده شد که از بین آنها سلـول‌های بنیـادی PDL در بازسازی الیـاف پریـودنتال، استخوان آلوئول و سمان اثربخشی بهتری داشتند. (۴۲)

۳- سلول‌های بنیادی فولیکول دندانی: پیوند سلولهای بنیادی فولیکول دندانی با هدف تولید PDL در موشها صورت پذیرفتـه است و نهایتاً سلولهای پیش ساز PDL یافته شدند. ۲۳ میزان تشکیل سمان و استخوان در سلـولهای بنیادی فولیکـول دندانی که به موشها پیوند زده شدند کم بوده است. اگر چه این سلولها نسبت به سایر سلولهای بنیادی دندانی قابلیت انعطاف پذیری و تمایز بهتری دارند. (۴۲)

۴- سلول‌های بنیادی انسانی تحرک شده به همراه ژل EMD که به موشها پیوند زده شدند نسبت به گروه شاهد باعث تشکیل سمان، تشکیل استخوان آلوئول جدید و تشکیل الیاف PDL بیشتری شده است. (۴۳)

ج) کاربرد سلول‌های بنیادی در بازسازی پریودنشیوم انسان

در یک مطالعه، برای بازسازی نقص پریودنتال داخل استخوانی در سه بیمار، از جایگزینی سلول‌های پیش ساز PDL خود بیمار استفاده شده است. بیماران، دو مرد ۲۵ و یک مرد ۴۲ ساله بوده‌اند. عمق پاکت پریودنتال در آنها از ۴/۸ تا ده میلی‌متر ثبت گردید. پس از پیوند سلول‌های پیش ساز PDL به مدت ۳۲ – ۷۲ ماه تحت نظر گرفته شدند و مواردی مثل عمق پروب، میزان تحلیل لثـه و بازگشت چسبندگی در این مدت بررسی شد که در نهایت استفاده از سلول‌های پیش ساز PDL نتایج درمانی جالبی را نشان داده است. در دوره‌ای که بیماران تحت نظر بودند هیچ گونه عوارض جانبی مشاهده نشده است. در کنار این آزمایش، سلول‌های بنیادی PDL را پس از قرار دادن در محیط کشت مناسب، به موشها پیوند کرده‌اند و به این نتیجه رسیدند که سلول‌های پیش ساز PDL و سلول‌های بنیادی PDL از نظر توانایی تکثیر، میزان بیان مولکول‌های سطحی مزانشیمی، توانایی تمایزهای چندگانه مشابهند. (۴۴)

نتیجه‌گیری

درگیری دندانی در بخش بزرگی از افراد جامعه مشاهده می‌شود به همین علت ترمیم و جایگزینی آن مورد توجه بسیاری از محققـان واقع شده است و از میان تلاشهای صورت گرفته، درمانهای سلولی جدید می‌توانند نوید بخش آن باشند که در آینده‌ای نه چندان دور امکان این ترمیم و جایگزینی فراهم شود. البته این راه با محدودیتها و چالشهای بسیاری رو به روست که تحقق آن را در پرده‌ای از ابهام قرارا می‌دهد. وجود سلول‌های بنیادی با قابلیت تقسیم بالا در دندان و راحتی استخراج این سلول‌ها از دندانهای خارج شده یا از دست رفته عامل دیگری برای گستردگی این تحقیقها در دندانپزشکی است.

آنچه از تحقیقها به دست آمده نشانگر آن است که مهندسی بافتی با تجربه‌های کلینیکی فاصله زیادی دارد. زمان تمایز سلول‌های انسانی بسیار طولانی است. فراهم کردن شرایط کشت کنترل شده برای چندین ماه، کار بسیار سختی است. هرگونه تغییر مولکولی در محیط، باعث تمایز و ایجاد انواع دیگری از سلول‌ها می‌شود که ممکن است این سلول‌ها مناسب اهداف بازسازی بافتی مورد نظر ما نباشند. اینکه آیا استفاده از سلول‌های بنیادی باعث بازسازی بافتها به طور کامل خواهد شد یا خیر، هنوز به روشنی مشخص نشده است. احتمال توموری شدن این سلول‌ها در اثر تغییرات ژنتیکی و جهشها وجود دارد. در موارد پیوند، احتمال رد پیوند توسط میزبان وجود دارد. به علاوه سلول‌های بنیادی جنینی توانایی تشکیل تراتوم را هم دارند.

REFERENCES

1. Langer R, Vicanti JP .Tissue engineering. Science 1993 May 14;260(5110):920-6.

www.SID.ir

2. Gyorevski N, Nelson CM. Bidirectional extracellular matrix signaling during tissue morphogenesis. Cytokine & Growth Factor Reviews 2009 Oct-Dec;20(5-6):459-65.
3. Mimeault M, Hauke R, Batra SK. Stem cells: A revolution in therapeutics-recent advances in stem cell biology and their therapeutic applications in regenerative medicine and cancer therapies. Clin Pharma & Therap. 2007 Sep; 82 (3): 252-64.
4. Allison MR, Islam S. Attributes of adult stem cells. J Pathol. 2009 Jan; 217(2):144-60.
5. Kiourac DC, Ito C, Csaszar E, Roch A, Yu M, Sykes EA, et al. Dynamic interaction networks in a hierarchically organized tissue. Mol Syst Biol. 2010 Oct;6(5):417-33.
6. Daley WP, Peters SB, Larsen M. Extracellular matrix dynamics in development and regenerative medicine. J Cell Sci. 2008 Feb 1;121(Pt 3):255-64.
7. Umehara H, Kimura T, Ohtsuka S, Nakamura T, Kitajima K, Ikawa M, et al. Efficient derivation of embryonic stem cells by inhibition of glycogen synthase kinase-3. Stem Cells 2007 Nov;25(11):2705-11.
8. Leblond CP. Classification of cell populations on the basis of their proliferative behavior. Natl Cancer Inst Monogr. 1964 Feb;14(1):119–50.
9. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, et al. Minimal criteria for defining multipotentmesenchymal stromal cells. The Interna Soc for cell therap pos state. Cytother. 2006 Apr;8(4):315-7.
10. Izadpanah R, Trygg C, Patel B. Biologic Properties of msenchymal stem cells derived from bone marrow and adipose tissue. J Cell Biochem. 2006 Dec 1;99(5):1285-97.
11. Kern S, Eichler H, Stoeve J. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose Tissue. Stem Cells 2006 May;24(5):1294-301.
12. Pountos I, Jones E, Tzioupis C, McGonagle D, Giannoudis PV. Growing bone and cartilage. The role of mesenchymal stem cells. J Bone Joint Surg Br. 2006 Apr;88(4):421-6.
13. Gronthos S, Brahim J, Li W, Fisher LW, Cherman N, Boyde A. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. J Dent Res. 2002 Aug;81(8):531-5.
14. Cordeiro MM. Dental pulp tissue engineering with stem cells from exfoliated deciduous teeth. J Eng. 2008 Dec; 34(6): 962-9.
15. Huamg ET. Stem progenitor cell mediated de novo regeneration of dental pulp with newly deposited contiuous layer of dentine in an in vivo model .Tissue Eng. part A 2010 Feb;16(2):605-15.
16. Rimondini L, Mele S. Stem cell technology for tissue regeneration in dentistry. Minerva Stomatol. 2009 Oct; 58 (10):483-500.
17. Honda MJ, Fong H, Iwatsuki S, Sumita Y, Sarikaya M. Tooth forming potential in embryonic and postnatal tooth bud cells. Med Mol Morphol. 2008 Dec;41(4):183-92.
18. Yamamoto H, Kim EJ, Cho SW, Jung HS. Analysis of tooth formation by reaggregated dental mesenchyme from mouse embryo. J Electron Microsc. (Tokyo). 2003 Dec;52(6):559-66.
19. Shinumura T. Quiensent epithelial cells rest of malassez differentiate into ameloblast like cells. J Cell Physio. 2008 Dec;217(3):728-38.
20. Melcher AH. On the repair potential of periodontal tissues. J Periodontol. 1976 May;47(5):256-60.

Archive of SID
www.SID.ir

21. Ballas CB, Zielske SP, Gerson SL. Adult bone marrow stem cells for cell and gene therapies: implications for greater use. J Cell Biochem. Suppl 2002;38:20-8.
22. Luan X, Dangaria S, Ito Y, Walker C, Jin T, Schmidt M. Neural crest lineage segregation: A blueprint periodontal regeneration. J Dent Res. 2009 Sep;88(9):781-91.
23. 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 Feb;327(2):301-11.
24. Dogan A, Ozdemir A, Kubar A, Oygur T. Healing of artificial fenestration defects by seeding of fibroblast-like cells derived from regenerated periodontal ligament in a dog: a preliminary study. Tissue Eng. 2003 Dec;9 (6):1189-96.
25. Grzesik WJ, Narayanan AS. Cementum and periodontal wound healing and regeneration. Crit Rev Oral Biol Med. 2002 Dec;13(6):474-84.
26. Wikesjo UM, Xiropaidis AV, Thomson RC, Cook AD, Selvig KA, Hardwick WR. Periodontal repair in dogs: rhBMP-2 significantly enhances bone formation under provisions for guided tissue regeneration. J Clin Periodontol. 2003 Aug;30(8):705-14.
27. Gay IC, Chen S, MacDougall M. Isolation and characterization of multipotent human periodontal ligament stem cells. Orthod Craniofac Res. 2007 Aug;10(3):149-60.
28. Kémoun P, Gronthos S, Snead ML, Rue J, Courtois B, Vaysse F, Salles JP, Brunel G. The role of cell surface markers and enamel matrix derivatives on human periodontal ligament mesenchymal progenitor responses in vitro. Biomaterials 2011 Oct;32(30):7375-88.
29. Seo B M, Miura M, Gronthos S, Bartold P M, Batouli S, Brahim J, Young M, Robey P G, Wang C Y, Shi S. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. Lancet 2004 Jul 10-16; 364 (9429):149-55.
30. Fujii S, Maeda H, Wada N, Tomokiyo A, Saito M, Akamine A. Investigating a clonal human periodontal ligament progenitor/stem cell line in vitro and in vivo. J Cell Physiol. 2008 Jun;215(3):743-9.
31. Ma Z, Li S, Song Y, Tang L, Ma D, Liu B, Jin Y. The biological effect of dentin non collagenous proteins (DNCPs) on the human periodontal ligament stem cells (HPDLSCs) in vitro and in vivo. Tissue Eng Part A. 2008 Dec;14(12):2059-68.
32. Chang XM, Liu HW, Jin Y, Liu Y, He HX. Isolation and identification of dog periodontal ligament stem cells. Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi. 2009 Feb;27(1):79-83.
33. Kemoun P, Laurencin-Dalicieux S, Rue J, Farges JC, Gennero I, Conte-Auriol F, et al. Human dental follicle cells acquire cementoblast features under stimulation by BMP-2/-7 and enamel matrix derivatives (EMD) in vitro. Cell Tissue Res. 2007 Aug;329(2):283-94.
34. Morsczeck C. Gene expression of runx2, Osterix, c-fos, DLX-3, DLX-5, and MSX-2 in dental follicle cells during osteogenic differentiation in vitro. Calcif Tissue Int. 2006 Feb;78(2): 98–102.
35. Yang Y, Rossi F, Putnins E. Periodontal regeneration using engineered bone marrow mesenchymal stromal cells. Biomaterials. 2010 Nov;31(33):8574-82.
36. Kawaguchi H, Hirachi A , Hasegawa N , Iwata T. Enhancement of periodontal tissue regeneration by transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells. J periodontal. 2004 Sep;75(9):1281-7.

Archive of SID
www.SID.ir

37. Hasegawa N, Kawaguchi H, Hirachi A, Takeda K, Mizuno N, Nishimura M, et al. Behavior of transplanted bone marrow-derived mesenchymal stem cells in periodontal defects. J Periodontol. 2006 Jun;77(6):1003-7.
38. Liu Y, Zheng Y, Ding G, Fang D, Zhang C, Bartold P M, et al. Periodontal ligament stem cell-mediated treatment for periodontitis in miniature swine. Stem Cells 2008 Apr;26(4):1065-73.
39. Yang Z, Jin F, Zhang X, Ma D, Han C, Huo N, et al. Tissue engineering of cementum/ periodontal-ligament complex using a novel three-dimensional pellet cultivation system for human periodontal ligament stem cells. Tissue Eng Part C Methods. 2009 Dec;15(4):571-81.
40. Buser D, Gallucci GO, Lin Y, Bosshardt D, Belser UC, Yelick PC. Bioengineered periodontal tissue formed on titanium dental implants. J Dent Res. 2011 Feb;90(2):251-6.
41. Park JY, Jeon SH, Choung PH. Efficacy of periodontal stem cell transplantation in the treatment of advanced periodontitis. Cell Transplantation. 2011;20(2):271-85.
42. Lin NH, Gronthos S, Bartold PM. Stem cells and periodontal regeneration. Aust Dent J. 2008;53:108-21.
43. Duan X, Tu Q, Zhang J, Ye J, Sommer C, Mostoslavsky G. Application of induced Pluripotent Stem (iPS) Cells in Periodontal Tissue Regeneration. J Cell Physiol. 2011 Jan;226(1):150-7.
44. Feng F, Akiyama K, Liu Y, Yamaza T, Wang T-M, Chen j-H, et al. Utility of PDL progenitors for in vivo tissue regeneration: a report of 3 cases. J Oral Dis. 2010 Jan;16(1):20-8.

Archive of SID

www.SID.ir