

## Kök Hücre Kaynağı Olarak Süt Dişi Pulpa Dokusu The Pulp of Primary Teeth as a Source of Stem Cell

Ceren Yıldırım<sup>1</sup>, Özlem Martı Akgün<sup>2</sup>, Feridun Başak<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Doktora öğrencisi, Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup> Uzman, Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

<sup>3</sup> Prof., Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

### Özet

Rejeneratif tıp; kemik, kıkırdak, damarlar, organlar gibi dokuların yapısal ve fonksiyonel olarak yerine konması amacı ile organizmanın tamir potansiyelinin aktive edilmesi olarak tanımlanmaktadır. Rejeneratif pulpa tedavilerinin temeli doku mühendisliğine dayanmaktadır. Doku mühendisliği; hastalıklar, travma, kanser veya konjenital nedenlerle hasara uğramış dokuların rejenera edilmesini kapsamaktadır. Rejeneratif pulpa tedavilerinde kullanılan tüm metotlar hem pulpayı hem de dentini rejenera etme amacını taşımaktadır. Bu yüzden rejeneratif pulpa tedavileri, dişin yapısal bütünlüğünün korunmasında alternatif tedavi metotları olarak düşünülmektedir. *In vivo* olarak pulpa hücrelerinin dentin pulpa kompleksi benzeri bir yapı oluşturma kapasitesine sahip olduğu kanıtlanmıştır. Bu makalede süt dişlerinden elde edilen kök hücrelerin rejeneratif tedavilerde kullanımı konusu güncel literatür ışığında derlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Dental pulpa, doku mühendisliği, rejeneratif tıp.

### Abstract

Regenerative medicine defined as activating the repairation potential of organism medicine with the aim of replacing structural and functional features of the bone, cartilage, blood vessels, organs, tissues. The foundation of regenerative pulp therapies are based on tissue engineering. Tissue engineering include regenerating tissues which suffered by disease, trauma, cancer or congenital causes. All methods used in the regenerative pulp therapies are intended to regenerate the pulp and dentin. Therefore, pulp regenerative therapies are considered the alternative treatment methods to protect the structural integrity of the tooth. It was proven that pulp cells have capable of creating dentin-pulp like complex *in vivo*. In this article the issue of stem cells derived from primary teeth that using regenerative therapies reviewed based on the current literature.

**Keywords:** Regenerative Medicine, SHED, Dental pulp, tissue engineering, regenerative medicine.

Kabul tarihi: 10 Aralık 2013

### Giriş

Günümüzde kök hücre biyolojisi tıp biliminin en etkileyici alanlarından biridir. Konu ile ilgili araştırmalar yaklaşık 40 yıl önce başlamıştır. Kök hücreler genel olarak bölünebilme ve çoğalabilme yeteneğine sahip, çeşitli hücre ve dokulara farklılaşabilen hücrelerdir (1).

Kök hücreler embriyonik/fetal ya da adult/postnatal kök hücreler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (2). Embriyonik ve postnatal kök hücreler arasındaki farkın sebebi, bu hücrelerin özelleştiği hücrelere dönüşümünün farklılık göstermesidir. Postnatal kök hücreler; kemik iliği, beyin, deri, saç folikülleri, kas dokusu ve diş pulpası dahil olmak üzere pek çok dokudan izole edilebilmektedir (3). Bu hücrelerin defektli ya da hasara uğramış dokuların tamirinde yüksek terapötik etkiye sahip olduğu düşünülmektedir (4).

Kök hücreler ayrıca plastisite özelliklerine göre totipotent, pluripotent, multipotent olmak üzere üç alt gruba ayrılmaktadır. Bir kök hücrenin plastisitesi onun farklı

dokuları oluşturan hücrelere farklılaşma yeteneği olarak tanımlanmaktadır (5).

Araştırmacıların yeni geliştirilen tedaviler için kullandığı embriyonik kök hücreler daha fazla plastisiteye sahip olmaları nedeniyle, daha değerli hücrelerdir. Ancak, embriyonik hücrelerin kaynağındaki tartışmalar, bunun etik ve hukuksal boyutu, bu hücrelerin yeni geliştirilen tedavilerde kullanımlarını azaltmıştır. Bu da araştırmacıların postnatal kök hücrelere yönelmesine neden olmuştur (5). Postnatal kök hücre tedavileri 1968 yılında, ciddi kombine immün yetmezlik tedavisinde allojenik kemik iliği trasplantasyonu ile uygulanmaya başlanmıştır (6). 1970'lerden beri kemik iliği trasplantasyonları, lösemi, lenfoma, çeşitli anemiler ve genetik hastalıkların tedavilerinde başarıyla uygulanmaktadır (7).

Kök hücrelerin, yüksek proliferatif potansiyele sahip olması ve bir ya da daha fazla farklılaşmış kök hücre tipine dönüşmesi memeli hayvanların embriyosunda daha sık gözlenen bir durumdur. Zamanla embriyonik hücrelerin büyüme sinyalleri azalmakta ve diferansiyasyonu durmaktadır (8). Yetişkinlerde kök hücre sayısı

azalmakta ve kök hücrelere neredeyse hiç rastlanmamaktadır. Ancak yaşamlarını sürdürebilen erişkin kök hücreler, belirgin bir sınırlama olmaksızın her dokuya spesifik hücre ve yedek kök hücre üretebilmektedir (9,10).

Süt dentisyondan daimi dentisyona geçiş süreci benzersiz ve dinamik bir süreçtir. Süt dişlerinin köklerinin rezorpsiyonu ile daimi dişlerin erüpsiyonu ve gelişmesi eş zamanlıdır. İnsan eksfoliyeli olmuş süt dişi kök hücrelerin (Stem cells from human exfoliated deciduous teeth SHED) yoğun proliferasyon ve diferansiyasyon yeteneğine sahip postnatal kök hücreler olduğu saptanmıştır. Eksfoliyeli olmuş süt dişleri ile klinik uygulamalarda eşsiz bir kök hücre kaynağı olarak kullanılan göbek kordonunun birbirine benzediği belirlenmiştir (11). Süt dişlerinin yanı sıra daimi dişlerin pulpa dokusunda (dental pulp stem cells–DPSC) ve periodontal ligamentte (periodontal ligament stem cells-PDLSC) kök hücrelerin bulunduğu saptanmıştır (11).

### **Diş Çürüğüne Karşı Pulpanın Yanıtı**

Diş çürüğü oldukça yaygın, kronik bir hastalıktır. Ağız sağlığı ile ilgili gelişmelerde artış olmasına rağmen, ağız ve diş hastalıkları çocuklar için en önemli sağlık problemlerinden birini oluşturmaktadır. Ağız sağlığı ile ilgili bilgilerdeki yetersizlik, koruyucu yaklaşımlardaki eksiklik ağız sağlığının kötüye gitmesine neden olmaktadır. Oral dokudaki enfeksiyonlar, beslenme bozuklukları oral florada dengesizliğe yol açabilmekte ve çocukların hayat kalitesini düşürebilmektedir (1).

Son yıllarda yapılan biyomedikal araştırmalar sağlık ve hastalık durumlarında biyolojik fonksiyon mekanizmasını anlamaya odaklanmıştır. Örneğin, diş hekimleri diş çürüğü mekanizması hakkında oldukça bilgi sahibi olmuştur. Restorasyon teknikleri ile ilgili çalışmalarda artışa bağlı olarak materyallerin aşınmaya karşı dirençlerinin, dayanıklılıklarının ve diş yapısı ile bağlantılarının artması ve estetik özelliklerinde iyileşme olmasına rağmen günümüzde hiç bir materyal fiziksel, estetik ve mekanik özellikleri ile diş dokusunu taklit edememektedir (12). Hafif düzeydeki diş yaralanmalarına yanıt olarak az miktar reparatif dentin oluşumu görülebilmektedir. Ayrıca sementin sınırlı da olsa rejenerasyon kapasitesi söz konusudur. Buna karşılık minenin rejenerasyon kapasitesi hiç yoktur, çünkü diş sürmeden önce, öncü (progenitör) dental epitelyal hücreler bu yeteneklerini kaybetmektedir (8). Diş yaralanmalarındaki artış ile diş dokularının rejeneratif olmayan yapısı bir araya gelince çocuklarda ve yetişkinlerde rejeneratif diş tedavisine olan ihtiyaç daha da artmaktadır (11). Diş dokusu rejenerasyonunun asıl amacı kaybolan doğal diş yapısının yeniden yerine konulmasıdır. Mine, sement ve periodontal ligament gibi diş dokularının biyolojik rejene

rasyonunu kişiye ait postnatal dokulardan elde etmek mümkündür (11).

Hafif düzeydeki çürük lezyonlarında odontoblastik aktivite stimüle olarak reaksiyoner dentini üretebilmektedir. Ciddi düzeydeki çürük lezyonları ya da derin kavite preparasyonları, komşu odontoblastların ölmesine neden olmaktadır. Bu durumda farklılaşmamış hücreler hasarlı bölgeye çekilmekte, odontoblast benzeri hücrelere dönüşmekte ve reparatif dentin oluşumu gözlenmektedir. İn vitro çalışmalarda pulpadaki öncü hücrelerin veya postnatal hücrelerin odontoblast hücrelerine diferansiyasyonuna sahip olduğu saptanmıştır (13).

Odontoblast hücreleri post-mitototik hücrelerdir ve primer dentinin salgılanmasından sorumludur. Reparatif dentin oluşumu ise kompleks bir biyolojik süreçtir. Öncü hücrelerin hasar bölgesinde proliferasyonu, migrasyonu, aktivasyonu ve odontoblast benzeri hücrelere diferansiyasyonu sonucu sert, koruyucu reparatif dentin oluşumu gerçekleşebilmektedir (14). Diş pulpasının vaskülarizasyonu çok yüksektir. Kavite preparasyonu, kan damarları da dahil olmak üzere pulpa dokusunda hasara neden olmaktadır. İyileşme sürecinde, yaralanmış endotel hücrelerinden kemotaktik faktörler ve moleküler sinyaller serbestleşmekte, böylece öncü ve enflamatuar hücrelerin bölgeye ulaşması sağlanmaktadır (15).

Primer odontoblastların canlı kalma olasılığı azaldığında yara bölgesine kök hücrelerin migrasyonu, yeni jenerasyon odontoblast hücrelerine diferansiyasyon olabilmeleri için çok önemlidir (16). Rejenerasyonun, kök hücrelerin direkt etkisi ile mi gerçekleştiği, yoksa diferansiyasyondan moleküler sinyallerin mi sorumlu olduğu açıklığa kavuşmamıştır (17). Enflamasyonun varlığı, kök hücrelerin bölgeye toplanmasını ve diferansiyasyonu tehlikeye sokmaktadır (18). Lokal anjiogenezis, yara bölgesinde fizyolojik bir iyileşme sürecidir ve bu süreçte diş pulpasının beslenmesi oldukça önemlidir. Lokal anjiogenezis, perivasküler kök hücrelerin bir araya toplanmasına olanak sağlamaktadır (19).

Diş pulpası türevi hücreler, nöral kök hücreleri içerdiği bilinen dokuların tedavisi sırasında kullanılabilir. Diş pulpası türevi hücrelerin ilk olarak tavşan dişlerinin pulpalarında nöral diferansiyasyonu indüklemekte başarılı olduğu bildirilmiştir. Nöronal kök hücrelerin, kemik iliğindeki nöronlardan ya da oligodendrositlerden elde edildiği bildirilmiştir. Araştırmacılar nöral kök hücrelerin, merkezi sinir sistemi dışındaki diğer dokularda da bulunduğunu belirtmektedir. Bu durum kök hücrelerin daha fazla kaynaktan elde edilebileceğinin önemli bir göstergesidir (20).

## Doku Mühendisliğinde SHED'in Kullanımı

Amalgam, kompozit rezin ve cam iyonomer siman gibi geleneksel restoratif materyallerin ömürleri sınırlıdır ve bir süre sonra yenilenmeleri gerekmektedir. Restore edilen dişlerde pulpa enflamasyonu ve nekroz gelişme riski yüksek olduğundan, bu dişlerde endodontik tedavi uygulanabilmekte, hatta dişlerin çekimi bile gerekebilmektedir. Bu nedenle kayıp diş dokusunun rejenerasyonuna izin veren tedavilerin uygulanması oldukça önemlidir (21).

Günümüzde doku mühendisliği; biyoloji, mühendislik uygulamaları ve klinik bilimlerin bir araya geldiği multidisipliner bir bilim dalıdır. Konjenital anomalili veya hasara uğramış dişlerin tamirinde yeni metotların kullanıldığı, umut verici bir uygulamadır (22). Pulpa doku mühendisliğinin ana amacı enflame ya da nekrotik pulpanın dentin oluşturma yeteneğine sahip yeni, sağlıklı ve fonksiyonel doku ile yer değiştirmesini sağlamaktır. Bu teknikte, in vitro ortamda diferansiye olmamış hücreler rezorbe olabilen bir iskele üzerine ekilmektedir. Böylece hücrelerin proliferasyonu, migrasyonu ve diferansiyasyonu indüklenmekte ve özelleşmiş hücrelere dönüşmesi sağlanmaktadır. Elde edilen bu yapı in vivo olarak implante edilmekte; şekillenme ve olgunlaşma sürecinin fonksiyonel bir doku içerisinde olması sağlanmaktadır (23). Pulpa doku mühendisliğinde geleneksel endodontik tedaviye alternatif olarak nekrotik bir dişte dentin rejenerasyonu sağlanmaktadır (24). Bu yüzden kaybolmuş dokuların rejenerasyonunda kök hücreleri indüklemek için morfogenetik sinyallerin anlaşılması, iskelenin gelişmesi ve uygun hücrelerin tanımlanması gerekmektedir (25).

Hücre kültürü şartlarında kök hücrelerin spesifik fenotiplere diferansiyasyonu indüklenebilmektedir. Belirli fenotipler ile zenginleştirilmiş hücre kültürü üretmek, mevcut olan diferansiyasyon yolunu kontrol etmek ya da sınırlandırmak mümkündür. Spesifik sitokinler, büyüme faktörleri, amino asitler, diğer proteinler, aktif iyonlar ile hücrelerin stimülasyonu sağlanabilmektedir (26).

In vivo olarak pulpa hücrelerinin dentin pulpa kompleksi benzeri bir yapı oluşturma kapasitesine sahip olduğu kanıtlanmıştır. Gronthos ve ark. (27) ile Miura ve ark. (28) immün sistemi baskılanmış farelerde trikalsiyum fosfat ve hidroksiapatit karıştırılmış SHED ve DPSC transplante etmişlerdir. 6 haftada pulpa benzeri bir dokunun dentin benzeri, tübüler bir yapıya sahip doku ile çevrelendiğini gözlemişlerdir. Ayrıca primer dentindeki gibi kollajen fibrillerin dentinde odontoblast tabakasına dik olarak yönlendiği saptamışlardır. İmplantlarda insan dentini yapısı ile uyumlu, globuler görünümüne mineralizasyon gözlenmiştir. DPSC insan dentin yüzeyi

ne ekildiğinde veya immün sistemi baskılanmış farelere implante edildiğinde dentin yüzeyinde reparatif dentin benzeri bir yapının düzensiz bir şekilde oluştuğu belirlenmiştir (29). SHED'in proliferasyon ve multipotansiyel farklılaşma özelliğinin olduğu; zarar görmüş diş yapısının tamirinde, kemik iyileşmesinin uyarılmasında, sinir ve dejeneratif hastalıkların tedavisinde ideal bir kaynak olabileceği bildirilmiştir (30).

Corderio ve ark.(13) immün sistemi baskılanmış farelere insan dişi parçaları ile hazırlanan rezorbe olabilen iskelelere SHED ekmişler ve oluşan dokuların morfolojik özelliklerini değerlendirmişlerdir. Sonuçta elde edilen dokunun hücresel özelliklerinin diş pulpasının fizyolojisi ile benzer olduğunu bildirmişlerdir. Transmisyon elektron mikroskobu ile yapılan analizde in vivo ortamda SHED'nin odontoblast benzeri hücrelere diferansiye olduğu gözlenmiştir. Ayrıca B-galaktosidaz boyanması ile SHED'nin endotel benzeri hücrelere dönüştüğü saptanmıştır (13).

Sakai ve ark. (31) benzer bir deneysel modelde SHED'nin fonksiyel odontoblastlara ve endotel hücrelerine diferansiye olduğunu bildirmişlerdir. Fonksiyonel odontoblastların yeni dentin ürettiklerini saptamışlardır (31). Fonksiyonel odontoblastların konfokal mikroskobu ile tespit edilebilen ve tetrasiklin boyası ile belirlenen yeni dentin ürettiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca bu hücreler Lacz ile etiketlenmiş SHED'nin B-galaktosidaz boyası ile belirlendiği için bu hücrelerin ayrıca vasküler endotelial hücrelere diferansiye olduğu bildirilmiştir (31).

## Sonuç

Son yıllarda pulpa biyolojisi ile ilgili bilgilerimizde artış söz konusudur. Ancak, diş rejenerasyon sürecinde, hangi spesifik moleküler sinyal yolunun ağır bastığı ve hangi hücre topluluğunun rol oynadığı kesinleşmemiştir. Doğal rejenerasyon sürecinde böyle bir toplanma meydana gelmesine rağmen, bu süreç kontrol edilemeyen ve rastlantısal bir süreçtir. Pulpa kök hücrelerin dental rejenerasyonda anahtar bir role sahip olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle yaralanma bölgesinde bulunmaları gerekmektedir. Kök hücrelerin hasarlı pulpaya topikal olarak uygulandığı tedavilerde kullanılan hücreler otolog olan veya olmayan süt dişlerinden elde edilebilmektedir.

Doku mühendisliği uygulamalarının dental hastalıkların tedavisinde çok büyük faydalar sağlayacağı düşünülmektedir. Bu konuda elde edilen bilgilerin artması için dental kök hücrelerin davranışı, doğası ve potansiyeli ile ilgili daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

## Kaynaklar

1. Chai Y, Slavkin HC. Prospects for tooth regeneration in the 21st century: a perspective. *Microsc Res Tech* 2003;60:46-79.
2. Fortier LA. Stem cells: classifications, controversies, and clinical applications. *Vet Surg* 2005;34:415-23.
3. Ballini A, De Frenza G, Cantore S, Papa F, Grano M, Mastrangelo F, et al. In vitro stem cell cultures from human dental pulp and periodontal ligament: new prospects in dentistry. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2007;20:9-16.
4. Friedlander LT, Cullinam MP, Love RM. Dental stem cells and their potential role in apexogenesis and apexification. *Int Endod J* 2009;42:955-62.
5. Martin-Rendon E, Watt SM. Exploitation of stem cell plasticity. *Transfus Med* 2003;13:325-49.
6. Kenny AB, Hitzig WH. Bone marrow transplantation for severe combined immunodeficiency disease. Reported from 1968 to 1977. *Eur J Pediatr* 1979;131:155-77.
7. Barrett J, McCarthy D. Bone marrow transplantation for genetic disorders. *Blood Rev* 1990;4: 116-31.
8. Chute JP, Muramoto GG, Whitesides J, Colvin M, Safi R, Chao NJ, et al. Inhibition of aldehyde dehydrogenase and retinoid signaling induces the expansion of human hematopoietic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:11707-12.
9. Huang GT. Pulp and dentin tissue engineering and regeneration: current progress. *Regen Med* 2009;4:697-707.
10. Gronthos S, Brahim J, Li W, Fisher LW, Cherman N, Boyde A. Stem cells properties of human dental pulp cells. *J Dent Res* 2002;81:531-5.
11. Coppe C, Zhang Y, Den Besten PK. Characterization of primary dental pulp cells in vitro. *Pediatr Dent* 2009;319:467-71.
12. Casagrande L, Mattuela LG, Araújo F, Eduardo J. Stem cells in dental practice: perspectives in conservative pulp therapies. *J Clin Pediatr Dent* 2006;31:25-7.
13. Cordeiro MM, Dong Z, Kaneko T, Zhang Z, Miyazawa M, Shi S, et al. Dental pulp tissue engineering with stem cells from exfoliated deciduous teeth. *J Endod* 2008;34:962-9.
14. Edwards PC, Mason JM. Gene-enhanced tissue engineering for dental hard tissue regeneration: dentin-pulp and periodontal regeneration. *Head Face Med* 2006;2:16.
15. Friedlander LT, Cullinam MP, Love RM. Dental stem cells and their potential role in apexogenesis and apexification. *Int Endod J* 2009;42:955-62.
16. Hargreaves KM, Giesler T, Henry M, Wang Y. Regeneration potential of the young permanent tooth: what does the future hold? *J Endod* 2008;34:51-6.
17. Hu B, Nadiri A, Kuchler-Bopp S, Perrin-Schimitt F, Peters H, Lesot H. Tissue engineering of tooth crown, root and periodontium. *Tissue Eng* 2006;12:2069-75.
18. Huang FM, Tsai CH, Chen YJ, Liu CM, Chou MY, Chang Y-C. Upregulation of tissue-type plasminogen activator in inflamed human dental pulps. *Int Endod J* 2005;38:328-33.
19. Huang GT, Shagrananov K, Chan S. Formation of odontoblastlike cells from cultured human dental pulp cells on dentin *in vitro*. *J Endod* 2006;32:1066-73.
20. Miura M, Chen XD, Allen MR, Bi Y, Gronthos S, Seo BM, et al. Crucial role of caspase-3 in osteogenic differentiation of bone marrow stromal stem cells. *J Clin Invest* 2004;114:1704-13.
21. Dualibi MT, Dualibi SE, Young CS, Bartlett JD, Vanacti JP, Yelick PC. Bioengineered teeth from cultured rat tooth bud cells. *J Dent Res* 2004;83:523-8.
22. Morszeck C, Schmalz G, Reichert TE, Völlner F, Galler K, Driemer O. Somatic stem cells for regenerative dentistry. *Clin Oral Investig* 2008;12:113-8.
23. Tziafas D. The future role of molecular approach to pulp-dentinal regeneration. *Caries Res* 2004;38:314-20.
24. Harumi Miyagi SP, Kerkis I, Costa Maranduba CM, Gomes CM, Martins MD, Marques MM. Expression of extracellular matrix proteins in human dental pulp stem cells depends on the donor tooth conditions. *J Endod* 2010;36:826-31.
25. Morszeck C, Frerich B, Driemel O. Dental stem cell patents. *Recent Pat DNA Gene Seq* 2009;3:39-43.
26. Pierdomenico L, Bonsi L, Calvitti M, Rondelli D, Arpinati M, Chirumbolo G, et al. Multipotent mesenchymal stem cells with immunosuppressive activity can be easily isolated from dental pulp. *Transplantation* 2005;80:836-42.
27. Gronthos S, Mankani M, Brahim J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:13625-30.
28. Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG, et al. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:5807-12.
29. Batouli S, Miura M, Brahim J, Tsutsui TW, Fisher LW, Gronthos S, et al. Comparison of stem-cell-mediated osteogenesis and dentinogenesis. *J Dent Res* 2003;82:976-81.
30. Özcan E, Altuğ Özcan SS. Periodontal Rejenerasyonda Kök Hücrenin Yeri. *Atatürk Üniv Dis Hek Fak Derg* 2010;20(2):123-30.
31. Sakai VT, Zhang Z, Dong Z, Neiva KG, Maam M, Shi S, et al. SHED differentiate into functional odontoblasts and endothelium *J Dent Res* 2010;89:791-6.

## İletişim:

Ceren Yıldırım

Gülhane Askeri Tıp Akademisi,

Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Tel: +90.312.3046045

mail: cerenk.yildirim@gmail.com