

**Mr.sc. Darko Božić  
Ivan Puhar, dr. stom.**

Zavod za parodontologiju  
Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Tissue engineering je suvremena grana primijenjenog biomedicinskog istraživanja usmjerena razvijanju postupaka i biomaterijala za proizvodnju novih tkiva kako bi se zamijenila destruirana tkiva. Tissue engineering se oslanja na postulate nanotehnologije, razvojne i stanične biologije te znanosti o biomaterijalima.

Nedavna otkrića u biologiji čimbenika rasta omogućila su uspješni laboratorijski inženjering hrskavice, kosti i pripadajućih tkiva. Parodont se zato nametnuo kao idealni kandidat za takve postupke. Preliminarne studije pokazale su da se stanice parodontnog ligamenta i koštane stanice uspješno mogu transplantirati u područje parodonta bez neželjenih imunoloških ili upalnih odgovora.

## Regeneracija parodonta

Regeneracija parodonta je izrazito kompleksna i zahtijeva sudjelovanje brojnih staničnih komponenata parodonta te stvaranje novog cementa, alveolarne kosti i funkcionalnog periodontalnog ligamenta. Za uspješnu regeneraciju parodonta potrebno je zadovoljiti barem četiri kriterija koja se odnose na zdrav dentogingivalni kompleks:

1. funkcionalni epitelni pričvrstak uspostavljen na najkronarnijem dijelu tkiva koji nije dulji od 2 mm;
2. nova vlakna vezivnog tkiva (Sharpeyeva vlakna) koja inseriraju u prethodno izloženu površinu korijena, kako bi se obnovio parodontni ligament i kompleks dentogingivnih vlakana;
3. novi acelularni, ekstrinzični cement stvoren na prethodno ogoljenoj površini korijena;
4. visina alveolarne kosti koja seže do unutar 2 mm od caklinsko-cementnog spojišta.

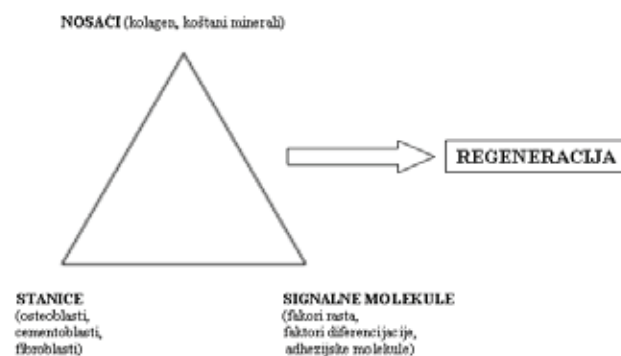
Gingiva ima izvanrednu mogućnost regeneracije u originalnu formu i funkciju što potvrđuje izostanak ožiljkastog tkiva te mogućnost da se rapidno uspostave funkcijsko-anatomske odnose s okolnim strukturama nakon kirurških i nekirurških postupaka. Suprotno tome, kada destrukcija uslijed parodontitisa dosegne alveolarnu kost i dublje parodontne strukture, mogućnost regeneracije je teško predvidjeti.

Regenerativne terapijske metode, koje se danas koriste, ipak ne pokazuju optimalne rezultate iz više razloga:

- nemogućnost kontrole stvaranja spojnog epitela;
- proliferacija epitelnog tkiva u defekt;
- nemogućnost da se odgovarajuće zaštiti rana od uvjeta usne šupljine i spriječi infekcija;
- ograničenje regeneracije na koštano tkivo uz izostavljanje regeneracije cementa i veziva;
- nemogućnost preciznog definiranja čimbenika rasta i diferencijacije;
- postoperativna infekcija regenerativnog materijala i/ili membrane.

S obzirom na to da regeneracija parodonta zahtijeva regrutiranje progenitornih stanica koje se mogu diferencirati u specijalizirane regenerativne stanice, proizvodnja nosača s inkorporiranim stanicama i signalnim molekulama otvara mogućnost da se nadvladaju spomenuta ograničenja konvencionalnih regenerativnih postupaka.

Osnovni zahtjevi za proizvodnju tkiva pomoću tissue engineeringa su (Slika 1.): adekvatni regulatorni signali, prisutnost progenitornih stanica, prikladni ekstracelularni matriks i dizajn nosača te nesmetana angiogeneza. Stanice omogućuju rast i diferencijaciju novog tkiva. Čimbenici rasta (morfogeni) moduliraju staničnu aktivnost i potiču stanice na diferencijaciju i proizvodnju željenog tkiva. Novoformirana vaskularna mreža osigurava homeostazu i nutritivne



**Slika 4.** Koncept tissue engineeringa.

osnove za rast tkiva te, naposljetku, nosači predstavljaju trodimenzionalni matriks unutar kojeg se događaju spomenuti procesi.

## STANICE

Jedan od glavnih uvjeta tissue engineeringa jest isporuka ex vivo ekspanziranih populacija progenitornih stanica ili mobilizacija endogenih progenitornih stanica koje imaju sposobnost proliferacije i diferencijacije u željena tkiva. Problem takvog pristupa do nedavno je bila odsutnost markera za pojedine stanične vrste unutar parodonta; tj. nisu postojali specifični markeri za cementoblaste, osteoblaste i stanice periodontalnog ligamenta. Kada su se stanice iz parodonta transplantirale u parodontne defekte, nije se znalo hoće li te stanice stvoriti cement, kost ili periodontalni ligament. Unatrag 5 godina pojavljuju se istraživanja gdje su pronađeni markeri koji nisu u potpunosti specifični za pojedine stanične vrste, ali je njihovo širenje u takvim stanicama nekoliko stotina puta viša nego u drugima stanicama.

U novije vrijeme su unutar periodontalnog ligamenta otkrivene progenitorne (zametne) stanice koje su u stanju stvoriti novi cement, periodontalni ligament i kost. Također su izdvojene i specifične cementoblastične linije koje in vitro pokazuju različitu ekspresiju gena od osteoblasta; slična istraživanja otkrila su i različito širenje gena kod fibroblasta iz gingive i periodontalnog ligamenta. Ti rezultati pokazuju da ćemo u bliskoj budućnosti moći dobiti stanice koje želimo i ciljano ih aplicirati u parodontne defekte kako bi se ostvarila potpuna regeneracija parodonta.

## SIGNALNE MOLEKULE

Istraživanjima je dokazano da različite bioaktivne molekule mogu utjecati na stanice parodonta te potaknuti cijeljenje parodontnog defekta. Samo neke od njih su: PDGF, IGF-1, bazični faktor rasta fibroblasta (FGF-2), TGF-1, BMP-2, BMP-4, BMP-7, BMP-12 i derivat matriksa cakline (EMD). No, nisu svi čimbenici rasta jednako djelotvorni te je također nepoznato koja je najbolja koncentracija čimbenika rasta potrebna kako bi se ostvarilo potpuno cijeljenje parodonta. Budući da se danas rabe suprafiziološke koncentracije čimbenika rasta, pomoću tissue engineeringa se koncentracije dovoljne za optimalnu regeneraciju pokušavaju smanjiti na red veličine mikrograma ili nanograma.

## NOSAČI

Nosači isporučuju stanice i proteine na mjesto defekta. Najčešće se proizvode iz dviju vrsta materijala, sintetičkih ili prirodnih, koji mogu biti resorbilni ili neresorbilni. Prirodni materijali (npr. kolagen, hijaluron, gelatin, fibrin) imaju specifična biološka svojstva, ali im je nedostatak to što su proizvedeni iz humanog ili životinjskog tkiva zbog

čega su teško dostupni. Nasuprot njima, sintetički se materijali mogu proizvesti u velikim količinama te su inertni i biokompatibilni (npr. polietilen glikol).

## Zaključak

Napretkom molekularne i stanične biologije dodatno su razjašnjeni procesi cijeljenja parodonta, što je pomoglo rasvjetljavanju ograničenja konvencionalnih regenerativnih metoda. Suvremeni tissue engineering danas je usmjeren konstruiranju trodimenzionalnih nosača odgovarajuće poroznosti i površinskih svojstava te proučavanju ponašanja progenitornih stanica i signalnih molekula. U budućnosti je potrebno dodatno istražiti mogućnost primjene matičnih i genetički preinačenih stanica u svrhu parodontne regeneracije.

## Literatura

1. Bartold, PM., McCulloch, CA., Narayanan, AS., Pitaru, S., Tissue engineering: a new paradigm for periodontal regeneration based on molecular and cell biology. *Periodontol* 2000. 2000.; 24: 253.-69.
2. Benatti, BB., Silvério, KG., Casati, MZ., Sallum, EA., Nociti FH Jr. Physiological features of periodontal regeneration and approaches for periodontal tissue engineering utilizing periodontal ligament cells. *J Biosci Bioeng.* 2007.; 103. (1.): 1.-6.
3. Bartold PM, Xiao, Y., Lyngstaadas, SP, Paine, ML., Snead, ML., Principles and applications of cell delivery systems for periodontal regeneration. *Periodontol* 2000. 2006.; 41.: 123.-35.
4. Taba, M. Jr., Jin, Q., Sugai, JV., Giannobile, WV. Current concepts in periodontal bioengineering. *Orthod Craniofac Res.* 2005.; 8 (4): 292.-302.
5. Slavkin, HC, Bartold, PM. Challenges and potential in tissue engineering. *Periodontol* 2000. 2006.; 41: 9.-15.
6. Bartold PM, Shi S, Gronthos S. Stem cells and periodontal regeneration. *Periodontol* 2000. 2006.; 40: 164.-72.
7. Ivanovski, S., Gronthos S, Shi S, Bartold PM. Stem cells in periodontal ligament. *Oral Dis.* 2006; 12 (4): 358.-63.
8. Saito, M., Handa, K., Kiyono, T., Hattori, S., Yokoi, T., Tsukubakimoto, T., Harada, H., Noguchi, T., Toyoda, M., Sato, S., Teranaka, T.. Immortalization of cementoblast progenitor cells with Bmi-1 and TERT. *J Bone Miner Res.* 2005.; 20 (1): 50.-7.