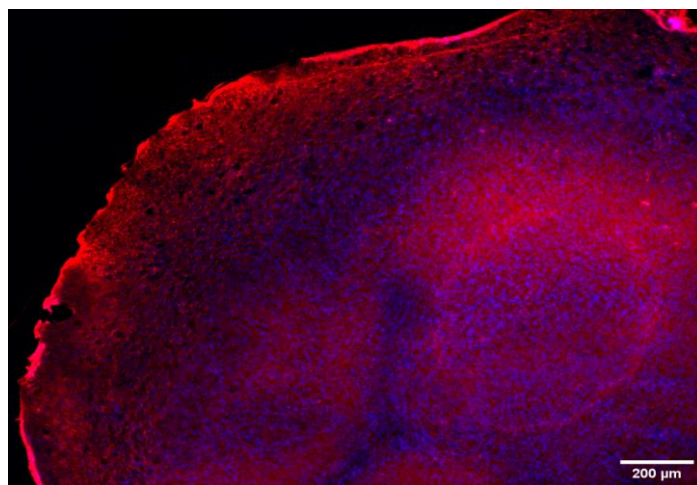


Kiedy Pulp przestaje być Fiction – czyli komórki stromalne miazgi zęba w regeneracji tkanki nerwowej

Mgr Natalia Bryniarska

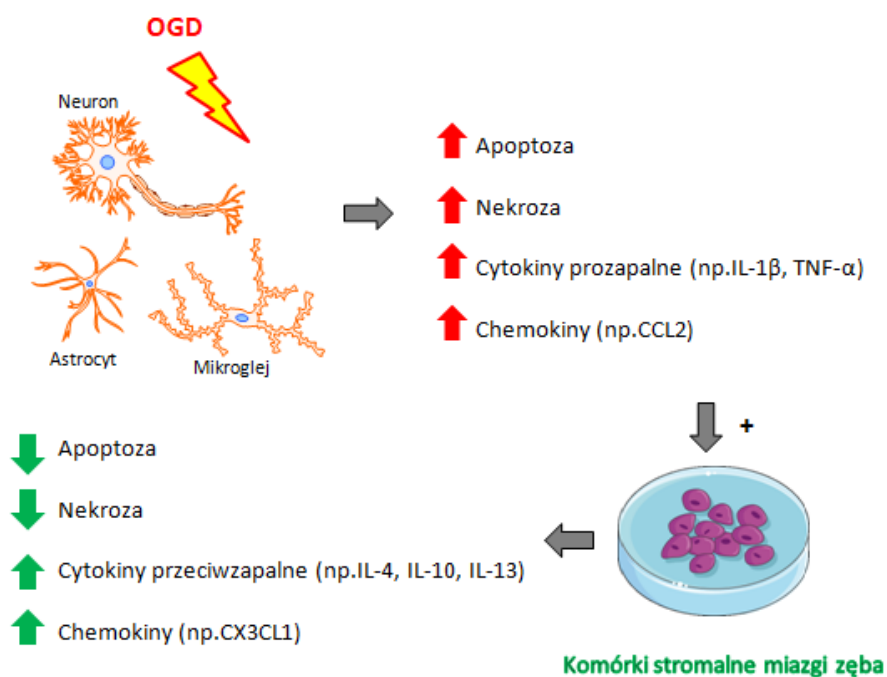
Zakład Neuroendokrynologii Doświadczalnej, Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja PAN

Według WHO, udar mózgu jest drugą pod względem liczebności przyczyną zgonów na świecie, z czego udar niedokrwienny stanowi 80-90%, natomiast udar krwotoczny 10-20% przypadków. Aktualnie jedyną powszechnie stosowaną metodą leczenia udaru niedokrwiennego jest tromboliza z zastosowaniem rekombinowanego aktywatora plazminogenu (rtPA). Pozwala ona na rozpuszczenie skrzepów będących jedną z głównych przyczyn udarów niedokrwiennych. Metoda ta posiada jednak ograniczenia czasowe – aby zadziałać skutecznie lek musi być podany do 4,5 godzin od wystąpienia udaru. Dlatego ciągle poszukiwane są nowe metody terapii, szczególnie takie, które mogą być zastosowane po dłuższym czasie od wystąpienia niedokrwienia. W kontekście regeneracji układu nerwowego prowadzi się obecnie wiele badań nad zastosowaniem mezenchymalnych komórek macierzystych/stromalnych (*ang. mesenchymal stem/stromal cells – MSCs*). Komórki te pełnią ważną rolę w utrzymaniu prawidłowego funkcjonowania niszy komórkowej, w tkankach w których rezydują. Komórki stromalne miazgi zęba (*ang. dental pulp stromal cells - DPSCs*) zlokalizowane są w kanałach zębowych ssaków. Po izolacji i propagacji w hodowlach *in vitro* wykazują duży potencjał do proliferacji (można stosunkowo szybko wyhodować duże ilości tych komórek), a także posiadają zdolność do różnicowania w osteocyty, chondrocyty, adipocyty oraz w komórki o charakterystyce neuronalnej tzw. „neuron-like cells”. Ta ostatnia cecha zainteresowała naukowców w kontekście pochodzenia DPSCs. Podczas rozwoju embrionalnego powstają one z komórek macierzystych grzebienia nerwowego – struktury powstającej z ektodermy – czyli listka zarodkowego, z którego wywodzą się neurony oraz komórki glejowe. Co więcej w 2014 roku w czasopiśmie *Nature* ukazał się artykuł, którego autorzy stosując genetycznie zmodyfikowane myszy z fluorescencyjnie wyznakowanymi prekursorami komórek glejowych, wykazali iż komórki MSCs rezydujące w miazdze zęba powstają z tych samych komórek, co komórki glejowe. Istotną rolą MSCs jest ich parakrynną aktywność, czyli wydzielanie do przestrzeni międzykomórkowej białek i innych cząsteczek oddziałujących na inne typy komórek. Jednym z proponowanych mechanizmów parakrynnych jest oddziaływanie MSCs przez aktywację chemokin i cytokin przeciwzapalnych, które odgrywają kluczową rolę w odpowiedzi immunologicznej układu nerwowego po uszkodzeniu jakim jest udar niedokrwienny mózgu.



Ryc. 1 Skrawek hipokampa obserwowany za pomocą mikroskopu fluorescencyjnego. **Anti-β-Tubulin-Cy3** – mikrotubule, **Hoechst** – DNA.

Nasza grupa badawcza z Zakładu Neuroendokrynologii Doświadczalnej Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja PAN zajmuje się wyjaśnieniem podłoża neuroimmunologicznego chorób neurodegeneracyjnych, w tym udaru niedokrwiennego mózgu. Jako główny model badawczy służą nam hodowle organotypowe hipokampa. Są to hodowle skrawków hipokampa, a więc fragmentów tkanek, co pozwala na zachowanie kompletnej struktury wzajemnych oddziaływań między komórkami układu nerwowego. Skrawki takie hodzi się w insertach, które posiadają w swojej budowie membranę, przez którą dyfundować mogą różne bioaktywne cząsteczki, w tym białka. Skrawki są następnie poddawane deprywacji tlenu i glukozy (*ang. Oxygen-glucose deprivation – OGD*). Jest to eksperyment imitujący warunki udaru niedokrwiennego *ex vivo* – a więc brak dostępu do tlenu i kluczowej dla prawidłowego działania mózgu glukozy. W trakcie jego trwania skrawki hipokampa umieszczane zostają w komorze hipoksyjnej (bez dostępu do tlenu) oraz w pożywce hodowlanej pozbawionej glukozy. Następnie inserty ze skrawkami przenosi się do naczyń hodowlanych z komórkami DPSCs i po 24 godzinach zostaje zbadane w jaki sposób cząsteczki wydzielane przez komórki miążgi zęba wpływają na skrawki hipokampa po udarze.



Ryc.2 W warunkach deprywacji tlenu i glukozy (w modelu udaru niedokrwiennego) dochodzi do śmierci komórek występujących w mózgu (neurony, mikroglej, astrocyty). Obok niedotlenienia oraz braku dostępu do glukozy dodatkowym czynnikiem prowadzącym do postępującej degeneracji tkanki nerwowej jest wydzielanie czynników prozapalnych przez komórki układu odpornościowego. Komórki stromalne miążgi zęba hamują apoptozę i nekrozę tkanki nerwowej, a także modulują aktywność układu immunologicznego w obrębie tkanki objętej udarem.

Prowadzone przeze mnie badania wykazały, iż współhodowla skrawków poddanych deprywacji tlenu i glukozy z komórkami stromalnymi miążgi zęba znacząco zmniejszyła śmiertelność komórek w obrębie tych skrawków. Obecnie prowadzę badania mające na celu poznanie dokładnego mechanizmu odpowiedzialnego za neuroprotektoryjne działanie komórek DPSCs po udarze. Wiele wskazuje na to, iż wydzielane przez DPSCs chemokiny i cytokiny mogą wpływać na odpowiedź układu odpornościowego, prowadząc do zahamowania reakcji zapalnej. Określenie roli konkretnych chemokin i cytokin odpowiedzialnych za efekty neuroprotektoryjne po udarze niedokrwiennym mózgu pozwoli na wykorzystanie alternatywnej, bardziej dostępnej dla pacjentów terapii niż terapia komórkowa.

Bibliografia:

- Bryniarska N.; *Zastosowanie komórek macierzystych miazgi zęba w regeneracji tkanki nerwowej*. Postępy w Badaniach Biomedycznych– wybrane zagadnienia. 2018 Sep 27; 150-163
- Kaukua N i in.; *Glial origin of mesenchymal stem cells in a tooth model system*. Nature. 2014 Sep 25;513(7519):551-4.
- Gronthos S i in.; *Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000 Dec 5;97(25):13625-30.
- Kyurkchiev D i in.; *Secretion of immunoregulatory cytokines by mesenchymal stem cells*. World J Stem Cells. 2014 Nov 26;6(5):552-70.