

KOMÓRKI MACIERZyste POCHODZENIA ZĘBOWEGO. MOŻLIWOŚCI ZASTOSOWANIA WE WSPÓŁCZESNEJ STOMATOLOGII I POTENCJALNE KIERUNKI ROZWOJU – PRZEGLĄD PIŚMIENNICTWA*

DENTAL PULP STEM CELLS. POSSIBILITIES OF APPLICATION
IN CONTEMPORARY DENTISTRY AND FUTURE DIRECTIONS – REVIEW

Ewa KACPRZYŃSKA, Izabela MACIEJEWSKA

Katedra i Zakład Protetyki Stomatologicznej
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Streszczenie: Komórki macierzyste o mezenchymalnym rodowodzie znajdują coraz szersze zastosowanie do sterowanej regeneracji tkanek dlatego wyzwaniem współczesnej stomatologii staje się wykorzystanie komórek macierzystych izolowanych z miazgi ludzkiego zęba do sterowanej regeneracji zębiny. Badania prowadzone *in vitro* i *in vivo* oraz szczegółowa analiza molekularna świadczą o istnieniu takiej możliwości. Obecnie z powodzeniem wykorzystuje się komórki izolowane ze szpiku kostnego do leczenia zespołów autoimmunologicznych oraz chorób nowotworowych. Pomimo iż komórki szpiku kostnego znalazły zastosowanie kliniczne, to obciążający pacjenta sposób ich izolacji skłania do podejmowania prób pozyskania komórek macierzystych z innych, bardziej dostępnych źródeł. Zastosowanie metod badawczych biologii molekularnej wykazało, że źródłem multipotencjalnych komórek macierzystych może być miazga zęba. Właściwie kontrolowana stymulacja środowiska hodowli komórkowej inicjuje różnicowanie komórek macierzystych miazgi zęba w odontoblasty. W warunkach *in vivo* komórki te tworzą zębinę oraz kompleks miazga-zębina. Spodziewamy się, że w przyszłości wykorzystanie komórek macierzystych z miazgi zęba stworzy możliwość odbudowy zmineralizowanych tkanek zęba z zastosowaniem biologicznych materiałów odtwórczych. Na podstawie przeglądu najnowszego piśmiennictwa dokonano charakterystyki komórek macierzystych izolowanych z miazgi ludzkich zębów oraz wskazano możliwości ich wykorzystania dla celów stomatologicznych. Ponadto, porównano komórki miazgi zęba z komórkami pochodzącymi ze szpiku kostnego.

Słowa kluczowe: komórki macierzyste, sterowana regeneracja tkanek, odontoblasty.

Summary: Introduction: multipotential stem cells are already applied for guided tissue regeneration, therefore the challenge of contemporary dentistry is to apply dental pulp stem cells for guided dentin regeneration. The *in vitro* and *in vivo* studies as well as a molecular analysis showed such a possibility. So far, bone marrow stem cells (BMSC) have been successfully utilized for treatment of the autoimmune logical syndromes and cancers. BMSC have been well recognized, however the way of their isolation may

*Praca finansowana z Projektu Badawczego nr 1283/B/P01/2011/40 IM.

be hazardous for a patient. Thus researchers are taking efforts to recruit stem cells from the better accessible sources. Molecular studies discovered the presence of multipotential stem cells in dental pulp (DPSC). When culture under the scrutinized conditions the dental pulp stem cells differentiate into odontoblasts and subsequently *in vivo* produce a dentin and dentin - pulp complex. It is expected that tissue engineering with DPSC will allow for replacement of traditional dental materials to *in vitro* generated dentin. Aim of the study: a review of the newest data concerning specificity of DPSC, as well as their possibilities of application in dentistry has been made. Moreover comparison of DPSC and BMSC has been studied.

Key words: stem cells, guided tissue regeneration, odontoblasts.

Poznanie molekularnych mechanizmów różnicowania komórki skłania do podejmowania kolejnych prób wykorzystania komórek macierzystych pochodzenia mezenchymalnego do sterowanej regeneracji tkanek. Dotychczas najbardziej szczegółowo przebadano komórki macierzyste pochodzące ze szpiku kostnego, poszukując jednocześnie innych, bardziej dostępnych źródeł komórek macierzystych o mezenchymalnym fenotypie. Celem tej pracy jest zebranie informacji pochodzących z najnowszych doniesień piśmiennictwa, a dotyczących charakterystyki wybranych grup komórek macierzystych, ze szczególnym uwzględnieniem komórek mających potencjał do różnicowania w kierunku odontoblastów.

KOMÓRKI MACIERZYSTE SZPIKU KOSTNEGO BMSC

Jako pierwsze wyizolowano mezenchymalne komórki macierzyste pochodzące ze szpiku kostnego – BMSC (*Bone Marrow Stem Cells*) [2, 4, 8, 14, 24]. Specyficzną cechą tych komórek jest ich heterogenność o czym świadczy różnorodność morfologiczna komórek pozyskanych z pojedynczych izolatów oraz ich różny potencjał proliferacyjny [6]. Cechę tę zaobserwowano u wielu gatunków ssaków, między innymi u myszy, szczurów, królików i ludzi [2, 8, 9, 11, 14]. Uważa się, że heterogenność populacji komórek macierzystych izolowanych ze wskazanego źródła świadczy o hierarchii różnicowania komórkowego, co oznacza, że jedynie niewielki odsetek (5–20%) populacji ma cechy komórek macierzystych, do których należą samoodnawianie (ang. *self-renewal*) oraz możliwość różnicowania w kierunku co najmniej 3 linii komórkowych (tzw. charakter multipotencjalny). Multipotencjalne komórki macierzyste szpiku kostnego stymulowane przez środowisko zewnętrzne, różnicują się w kierunku chondrocytów, osteoblastów, komórek tłuszczowych, a nawet komórek nerwowych [2, 8, 9, 11, 13, 14, 20]. Uważa się, że kierunek rozwoju BMSC zależy od wyjściowego stopnia ich zróżnicowania (w momencie izolacji) oraz wpływu środowiska, w którym komórki poddaje się hodowli. Izolacji i namnażaniu mezenchymalnych komórek macierzystych wykorzystywanych w hodowli *in vitro* sprzyja ich zdolność przylegania do podłoża (naczynia) hodowlanego [8], a ich tożsamość określa się wykorzystując metodę cytometrii przepływowej z sortowaniem, po uprzednim oznaczeniu wybranych epitopów prezentowanych na powierzchni komórek [2]. Największą swoistość cech mezenchymalnych komórek macierzystych

określa obecność receptora STRO-1, będącego specyficznym epitopem prezentowanym przez komórki mezenchymy [2, 8]. Dodatkowo do wyodrębnienia bardziej homogennej grupy wykorzystuje się receptory CD44, CD106, CD146 i 3G5. Natomiast eliminacje z populacji komórek hematopoetycznych oraz leukocytów, odbywa się z wykorzystaniem selekcji negatywnej na obecność receptorów CD14, CD34, CD45 [6].

Pozyskanie BMSC ze szpiku kostnego jest zabiegiem obciążającym dla pacjenta, dlatego podejmowane są próby izolacji mezenchymalnych komórek macierzystych z innych, łatwiej dostępnych źródeł. Badania ostatniej dekady wskazują, iż do celów badawczych w zakresie stomatologii, doskonałym i stosunkowo łatwym w pozyskaniu jest materiał pochodzący z miazgi ludzkich zębów, zarówno stałych – DPSC (*Dental Pulp Stem Cells*), jak i mlecznych – SHED (*Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous teeth*) [6]. Komórki macierzyste miazgi zęba stałego oraz komórki macierzyste z miazgi zęba mlecznego wykazują nieco odmienne właściwości niż komórki BMSC [6, 11, 17].

KOMÓRKI MACIERZYSTYCH Z MIAZGI LUDZKIEGO ZĘBA STAŁEGO (DPSC) ORAZ MLECZNEGO (SHED)

Porównawcze badania Gronthosa [6] dotyczące izolacji komórek miazgi zębów stałych DPSC i BMSC, wskazują, iż obydwie linie komórkowe pozwalają na pozyskanie pojedynczych fibroblastopodobnych komórek zdolnych tworzyć kolonie (CFU-F) w tzw. jednokomórkowej hodowli (ang. *one cell culture*). W mikroskopie świetlnym DPSC przypominają fibroblasty. Komórki mają wydłużony kształt, z umiejscowionym centralnie jądrem komórkowym oraz dobrze rozwiniętym szorstkim retikulum endoplazmatycznym. Aparat Golgiego zlokalizowany jest w okolicy jądra komórki, a obecność w cytoplazmie dużej ilości pęcherzyków sekrecyjnych odzwierciedla zdolność wydzielniczą komórek [5]. DPSC wykazują wszystkie właściwości mezenchymalnych komórek macierzystych [1, 6, 7, 11, 26, 28]. Szczegółowe badania wykazały, że DPSC mają wyższy potencjał wzrostowy i proliferacyjny w porównaniu z BMSC, co jest związane ze zwiększonym wydzielaniem przez DPSC specyficznych mediatorów cyklu komórkowego: zależnej od cyklin kinazy-6 (CDK-6) i insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF). Nie bez znaczenia pozostaje źródło pozyskiwanych komórek. Do celów badawczych ekstrahuje się DPSC z miazgi zatrzymanych trzecich zębów trzonowych, które rozwijają się od około 6 roku życia, a wyrzynają jako ostatnie zęby około 18 roku życia. Tym samym istnieje prawdopodobieństwo, że komórki macierzyste izolowane z miazgi zatrzymanych zębów ósmych znajdują się w bardzo wczesnej fazie zróżnicowania komórkowego [6].

Obecność mezenchymalnych komórek macierzystych w miazdze zęba, została potwierdzona z użyciem epitopów STRO-1 oraz CD146. Dodatkowe szczegółowe badania immunofenotypowe wykazały obecność na powierzchni DPSC epitopów

śródbłonka naczyń (VCAM-1), czynnika wzrostu fibroblastów FGF2, czynników wzrostu guza TGF β 1, FGF β 3, białka morfogenetyczne kości BMP2, BMP4. DPSC wykazują ponadto ekspresję specyficznych markerów tkanki kostnej (fosfataza alkaliczna – ALP, kolagen typu I, osteonektyna, osteopontyna, osteokalcyna), co świadczy o ich promineralizacyjnym potencjale [3, 6, 15, 16]. Badania hybrydyzacji *in situ* oraz immuno-histo-chemiczne pozwoliły na precyzyjne określenie lokalizacji DPSC, których obecność stwierdzono w niszach naczyń krwionośnych miazgi [22].

Wyróżniającą cechą populacji DPSCs izolowanych z użyciem przeciwciał STRO-1 jest zdolność do regeneracji w warunkach *in vivo* kompleksu miazga-zębina [1, 6, 7, 10, 19, 22, 23, 26, 27, 28], co potwierdzono ekspresją białka – DSP (*dentin sialoprotein*), jedynego specyficznego markera zębiny. Specyficzność DSP polega na fakcie, iż białko to ulega biosyntezie w zębieniu w stężeniach setki razy wyższych aniżeli w jakichkolwiek innych tkankach [18]. Powstawanie *in vivo* DSP-pozytywnego kompleksu miazga-zębina otrzymano w doświadczeniu polegającym na implantacji komórek DPSC zawieszonych na nośniku HA/TCP (hydroksyapapatyt/fosforan trójwapniowy). Implant komórkowy wszczepiono podskórnie myszom poddanym immunosupresji (ang. *immunocompromised mice*). Wybór biodegradowalnego nośnika HA/TCP, został oparty na właściwościach osteokondukcyjnych względem BMSC oraz potencjalnie odontokondukcyjnym wpływie na DPSC. Po okresie ośmiu tygodni komórki macierzyste miazgi zęba zróżnicowały się w odontoblasty i wytworzyły zębinę [7, 26], czego nie obserwowano w grupie kontrolnej komórek BMSC poddanych temu samemu doświadczeniu [7]. W świetle spolaryzowanym struktura wytworzona przez DPSC zawierała wysoce uporządkowaną macierz kolagenową odkładającą się na powierzchni cząsteczek HA/TCP. Włókna kolagenu typu I ułożone były prostopadle do warstwy wydzielających kolagen odontoblastów, a miazgę tworzyły włókna tkanki łącznej, którą przerastały naczynia krwionośne. Ponadto stwierdzono bezpośrednie połączenie odontoblastów z utworzoną zębiną [6, 7]. Ciągła, trwająca trzy miesiące kontynuacja tworzenia zębiny wykazującej ekspresję DSP sugeruje, że wszczepione komórki miazgi zęba uległy zróżnicowaniu w kierunku dojrzałych odontoblastów i podjęły funkcję odkładania zębiny z wytworzeniem kompleksu miazga-zębina [7].

W podobnych badaniach Batouliego, DPSC naniesione na powierzchnię wcześniej wytrawionej ludzkiej zębiny, a następnie wszczepione myszom poddanym immunosupresji, wytworzyły tkankę zębinopodobną. Tkanka ta jednak nie miała struktury zębiny kanalikowej, a jej obraz histopatologiczny przypominał zębinę reparacyjną [1]. Obok markerów tkanki kostnej, takich jak: fosfataza alkaliczna, kolagen typu I, osteonektyna, osteopontyna i osteokalcyna, utworzony kompleks miazga-zębina, wykazywał obecność białka DSP [6, 7, 25]. Na szczególną uwagę zasługuje podkreślenie, iż hodowla izolowanych DPSC bez udziału czynników indukujących mineralizację, wykazała brak syntezy DSP, co potwierdza, że różnicowanie komórek macierzystych jest stymulowane przez czynniki środowiskowe, a jedynie warunki hodowli promujące zachowania promineralizacyjne indukują proces tworzenia zębiny [22]. Wobec tej obserwacji nasuwa się wniosek, że odmienne warunki prowadzenia hodowli komórkowych (dodanie hydrokortyzonu, indometacyny, izobutylometyloksantyny) spowodują różnicowanie DPSC w odmienne linie komórkowe, odpowiednio komórki

tłuszczowe i nerwowe [7]. W istocie różnicowanie w kierunku tkanki tłuszczowej potwierdzono obecnością transkryptów *PPAR γ 2* i *lipazy lipoproteinowej*, natomiast obecność transkryptów *nestyny* i *GFAP* (*glial fibrillary acid protein*) wykazała, że DPSC uległy różnicowaniu w kierunku komórek nerwowych [7].

Nieco odmiennym źródłem mezenchymalnych komórek macierzystych jest miazga ludzkiego zęba mlecznego. Analogicznie jak w przypadku DPSCs, komórki SHED prezentują specyficzne epitopy komórek mezenchymalnych (STRO-1⁺, CD146⁺), jednak mają potencjał proliferacyjny i zdolność tworzenia kolonii znacząco wyższe niż DPSC i BMSC. Ponieważ wysoki potencjał proliferacyjny świadczy o niskim zróżnicowaniu komórkowym, przyjmuje się, że komórki SHED są słabiej zróżnicowane histologicznie aniżeli DPSC oraz BMSC [11, 17, 26, 28]. Hodowla *in vitro* w środowisku osteoindukcyjnym potwierdziła obecność na powierzchni SHED markerów specyficznych dla tkanki kostnej, w tym: RUNX2, ALP, MEPE (*matrix extracellular phosphoglycoprotein*), sialoproteiny kości oraz co najbardziej istotne specyficznego markera zębiny DSP. Komórki SHED przeszczepione na nośniku HA/TCP *in vivo* myszom poddanym immunosupresji okazały się zdolne do tworzenia zębiny (DSP/+), jednak w obrazie histologicznym nie zaobserwowano regeneracji całości kompleksu miazga-zębina, jak w przypadku DPSC [11, 17]. Szczególną cechą komórek macierzystych izolowanych z miazgi zęba mlecznego jest zdolność tworzenia *in vivo* warunków osteoindukcyjnych oraz rekrutacji komórek kościotwórczych gospodarza i tworzenie tkanki kostnej [11, 17, 21, 29]. Podobnie jak DPSC, SHED poddane odpowiedniej stymulacji różnicują się w tłuszczową i nerwową linię komórkową, wykazując ekspresję markerów: *PPAR γ 2* i *lipazy lipoproteinowej* [17] oraz *nestyny*, β III-tubuliny, GAD, NeuN, GFAP, NFM, CNP-azy [11, 12].

Sterowana regeneracja tkanek z wykorzystaniem komórek macierzystych jest dynamicznym procesem, na który składają się dwie składowe: implantowane komórki i środowisko hodowli (biorca) [7]. Dotychczasowe badania właściwości DPSC oraz SHED potwierdziły możliwość wykorzystania komórek macierzystych z miazgi zęba stałego i mlecznego w stomatologicznych oraz ortopedycznych procedurach terapeutycznych, z podkreśleniem wyższego potencjału proodontoblastycznego komórek DPSC.

Reakcją obronną dojrzałego odontoblasta jest ochrona struktur komórkowych miazgi zęba poprzez podejmowanie funkcji wytwarzania zębiny wtórnej i reparacyjnej w odpowiedzi na docierające z otoczenia bodźce fizjologiczne i patologiczne. W konsekwencji prowadzi to do odizolowania miazgi od ogniska chorobowego [6]. Podobną funkcję spełnia most zębinowy, wytwarzany po zastosowaniu preparatów odontotropowych aplikowanych w miejscu obnażenia miazgi. Jednak ubytki zmineralizowanych tkanek zęba nie są regenerowane, stąd badania dotyczące klinicznego zastosowania DPSC i SHED prowadzone są w dwóch kierunkach: opracowania preparatu o działaniu biomimetycznym, zawierającym „koktajl” czynników chemo-taktycznych dla komórek macierzystych miazgi zęba oraz stworzenia biologicznego materiału zawierającego DPSC lub SHED, który mógłby być aplikowany bezpośrednio do opracowanego ubytku w zębie. Możliwość wykorzystania DPSC i SHED w przypadkach leczenia próchnicy głębokiej, przykrycia bezpośredniego miazgi czy

leczenia odwracalnych zapaleń miazgi prowadziłoby do odtworzenia ciągłości zębiny naturalną tkanką, w postaci biologicznego „wypełnienia” z jednoczesnym zachowaniem żywej miazgi.

Opracowanie biopreparatu wymaga pokonania wielu trudności polegających na kontrolowaniu odpowiedzi immunologicznej gospodarza na przeszczep komórek nieautologicznych, pozyskiwania i przechowywania komórek macierzystych, uwarunkowań bioetycznych oraz redukcji kosztów. W chwili obecnej kluczowym czynnikiem dla powodzenia terapii przyżyciowej z wykorzystaniem komórek progenitorowych jest możliwość ścisłej kontroli procesu regeneracji zębiny z wykluczeniem niepożądanego odkładania zębiny, co może doprowadzić do całkowitej obliteracji komory zęba.

Szybki rozwój inżynierii genetycznej stwarza możliwość precyzyjnej ingerencji w cykl komórkowy, co pozwala mieć nadzieję, że w niedługim czasie rehabilitacja zębów z udziałem komórek progenitorowych znajdzie zastosowanie kliniczne. Aktualnie wstępne badania dotyczące fenotypu komórek macierzystych pochodzenia zębowego oraz możliwości sterowania ich rozwojem w kierunku odontoblastów zostały podjęte w Katedrze i Zakładzie Protetyki Stomatologicznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (Projekt Badawczy nr 1283/B/P01/2011/40 IM).

PIŚMIENNICTWO

- [1] BATOULI S, MIURAM, BRAHIM J, TSUTSUI TW, FISHER LW, GRONTHOS S, GEHRON ROBEY P. Comparison of stem-cell-mediated osteogenesis and dentinogenesis. *J Dent Res* 2003; **82**: 976–981.
- [2] BIANCO P, RIMINUCCI M, GRONTHOS S, GEHRON ROBEY P. Bone marrow stromal cells: nature, biology and potential application. *Stem Cells* 2001; **19**: 180–192.
- [3] D'AGUINO R, GRAZIANO A, SAMPAOLESI M, LAINO G, PIROZZI G, DE ROSAA, PAPACCIO G. Human postnatal dental pulp cells co-differentiate into osteoblasts and endothelial cells: a pivotal synergy leading to adult bone and tissue formation. *Cell Death Differ* 2007; **14**, 6: 1162–1171.
- [4] FRIEDENSTEIN AJ, PIATETZKY-SHAPIRO II, PETRAKOVA KV. Osteogenesis in transplants of bone marrow cells. *J Embryol Exp Morph* 1966; **16**, 3: 381–390.
- [5] GOLDBERG M, SMITH AJ. Cells and extracellular matrices of dentin and pulp: a biological basis for repair and tissue engineering. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004; **15**: 13–27.
- [6] GRONTHOS S, MANKANI M, BRAHIM J, ROBEY PG, SHI S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) *in vivo* and *in vitro*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; **97**, 25: 13625–13630.
- [7] GRONTHOS S, BRAHIM J, LI W, FISHER LW, CHERMAN N, BOYDE A, DENBESTEN P, ROBEY G, SHI S. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *J Dent Res* 2002; **81**: 531–535.
- [8] GRONTHOS S, ZANETTINO ACW, HAY SJ, SHI S, GRAVES SE, KORTESIDIS A, SIMMONS PJ. Molecular and cellular characterisation of highly purified stromal cells derived from human bone marrow. *J Cell Sci* 2003; **116**: 1827–1835.
- [9] HERZOG EL, CHAI L, KRAUSE DS. Plasticity of marrow-derived stem cells. *Blood* 2003; **102**, 10: 3483–3493.
- [10] HUANG GT, SONOYAMAW, LIU Y, LIU H, WANG S, SHI S. The hidden treasure in apical papilla: the potential role in pulp/dentin regeneration and bioroot engineering. *J Endod* 2008; **34**, 6: 645–651.
- [11] HUANG GTJ, GRONTHOS S, SHI S. Mesenchymal stem cells derived from dental tissue vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine. *J Dent Res* 2009; **88**, 9: 792–806.
- [12] KERKIS I, KERKIS A, DOZORTSEV D, STUKART-PARSONS GC, GOMES MASSIRONI SM, PEREIRA LV, CAPLAN AL, CERRUTI HF. Isolation and characterization of a population of immature dental pulp stem cells expressing OCT-4 and other embryonic stem cell markers. *Cells Tissues Organs* 2006; **184**, 3–4: 105–116.

- [13] KOLF CM, CHO E, TUAN RS. Biology of adult mesenchymal stem cells: regulation of niche, self-renewal and differentiation. *Arthritis Res Ther* 2007; **9**, 1: 204–214.
- [14] KREBSBACH PH, KUZNETSOV SA, BIANCO P, GEHRON ROBEY P. Bone marrow stromal cells: characterization and clinical application. *Crit Rev Oral Biol Med* 1999; **10**: 165–181.
- [15] KUO MYP, LAN WH, LIN SK. Collagen gene expression in human dental pulp cell cultures. *Arch Oral Biol* 1992; **37**, 11: 945–952.
- [16] MANGANO C, DE ROSAA, DESIDERIO V, D'AQUINO R, PIATTELLIA, DE FRANCESCO F, TIRINO V, MANGANO F, PAPPACIO G. The osteoblastic differentiation of dental pulp stem cells and bone formation on different titanium surface textures. *Biomaterials* 2010; **31**: 3543–3551.
- [17] MIURAM, GRONTHOS S, ZHAO M, LU B, FISHER LW, ROBEY PG, SHI S: SHED. Stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; **100**, 10: 5807–5812.
- [18] QIN C, BRUNN JC, CADENA E, RIDALL A, TSUJIGIWA H, NAGATSUKA H, NAGAI N, BUTLER WT. The expression of dentin sialophosphoprotein gene in bone. *J Dent Res* 2002; **81**, 6: 392–394.
- [19] RIMONDINI L, MELE S. Stem cell technologies for tissue regeneration in dentistry. *Minerva Stomatol* 2009; **58**, 10: 483–500.
- [20] ROSENBAUM AJ, GRANDE DA, DINES JS. The use of mesenchymal stem cells in tissue engineering. *Organogenesis* 2008; **4**, 1: 23–27.
- [21] SEO BM, SONOYAMA W, YAMAZA T, COPPE C, KIKUIRI T, AKIYAMA K, LEE JS, SHI S. SHED repair critical-size calvarial defects in mice. *Oral Dis* 2008; **14**, 5: 428–434.
- [22] SHI S, GRONTHOS S. Perivascular niche of postnatal mesenchymal stem cells in human bone marrow and dental pulp. *J Bone Miner Res* 2003; **18**, 4: 696–704.
- [23] SLOAN AJ, WADDINGTON RJ. Dental pulp stem cells: what, where, how? *Int J Paediatr Dent* 2009; **19**, 1: 61–70.
- [24] UNDALE AH, WESTENDORF JJ, YASZEMSKI MJ, KHOSLA S. Mesenchymal stem cells for bone repair and metabolic bone diseases. *Mayo Clin Proc* 2009; **84**, 10: 893–902.
- [25] YAMAKOSHI Y. Dentin Sialophosphoprotein (DSPP) an dentin. *J Oral Biosci* 2008; **50**, 1: 33–44.
- [26] YEN AHH, SHARPE PT. Stem cells and tooth tissue engineering. *Cell Tissue Res* 2008; **331**: 359–372.
- [27] YOUNG CS, TERADA S, VACANTI JP, HONDA M, BARTLETT JD, YELICK PC. Tissue engineering of complex tooth structures on biodegradable polymer scaffolds. *J Dent Res* 2002; **81**, 10: 695–700.
- [28] ZHANG YD, CHEN Z, SONG YQ, LIU C, CHEN YP. Making a tooth: growth factors, transcription factors, and stem cells. *Cell Res* 2005; **15**, 5: 301–316.
- [29] ZHENG Y, LIU Y, ZHANG CM, ZHANG HY, LI WH, SHI S, LE AD, WANG SL. Stem cells from deciduous tooth repair mandibular defect in swine. *J Dent Res* 2009; **88**, 3: 249–254.

Redaktor prowadzący – Maciej Zabel

Otrzymano 15.04.2011 r.

Przyjęto: 16.06. 2011 r.

dr hab. n. med. Izabela Maciejewska

Katedra i Zakład Protetyki Stomatologicznej

Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

ul. E. Orzeszkowej 18, 80-208 Gdańsk

e-mail: izabelam@gumed.edu.pl