

DENTAL DOKULARDAN İZOLE EDİLEN KÖK HÜCRELER Stem Cells Isolated From Dental Tissues

Fatma Kaplan¹, Ali Erdemir²

¹ Bezmialem Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti Anabilim Dalı

² Kırıkkale Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti Anabilim Dalı

Özet

Doku mühendisliği uygulamalarının esas amacı; gelişimsel bozukluklar, hastalıklar ve travma sonucu hasara uğrayan dokuların, yapı ve fizyolojilerinin rejenerasyonu sağlamaktır. Vücudun çeşitli doku ve hücre tiplerine dönüşerek hasarlı bölgeleri iyileştirme potansiyeline sahip olan kök hücreler, bu uygulamaların temelini oluşturmaktadır. Kök hücreler insan vücudunda kemik iliği, göbek kordonu, periost, yağ dokusu, sinovial membran, kas, retina, kornea, böbrek, karaciğer, pankreas, sinir sistemi, beyin, deri epitel, periferik kan ve oral dokular gibi birçok kaynaktan elde edilebilmektedir. Kök hücrelerin oral dokulardan elde edilmesi, uygulamalar açısından kolaylıklar sağlamaktadır. Bu derlemede, dental dokulardan izole edilen kök hücreler, bu hücrelerin genel özellikleri ve yapılan araştırmalarla ilgili bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

Anahtar kelimeler: kök hücre, rejeneratif endodonti, doku mühendisliği

Abstract

The main purpose of tissue engineering applications is; regenerated structure and physiology of developmental disorders, diseases and damaged tissues because of traumatic injuries. The stem cells, which have the potential to heal damaged areas by transforming into various tissue and cell types, are the basis of these applications. Stem cells can be obtained from many sources in the human body such as bone marrow, umbilical cord, periosteum, fat tissue, synovial membrane, muscle, retina, cornea, kidney, liver, pancreas, nervous system, brain, skin epithelium, peripheral blood and oral tissues. Obtaining stem cells from oral tissues provides convenience in terms of applications. In this review, it is aimed to give information about stem cells isolated from dental tissues, general characteristics of these cells and research done.

Key words: stem cell, regenerative endodontics, tissue engineering

Giriş

Çürük, travma ve gelişimsel bozukluklar nedeniyle gelişimi tamamlanmamış dişlerin pulparlarında nekroz gelişebilmektedir. Bu nedenle kısa kökler, zayıf ve kırılmaya yatkın dentin duvarları, geniş kök kanalları, geleneksel kök kanal tedavisi için uygun olmayan geniş apeksli dişler meydana gelmektedir. Ayrıca kök ucu gelişimi tamamlanmayan dişlerde mekanik temizleme ve şekillendirme işlemleri oldukça zordur. İnce ve kırılabilir dentin duvarları kök kanalları doldurulurken veya lateral kondensasyon esnasında kırılabilir. Klasik apeksifikasyon prosedürü; apikal foramen de kalsifiye bariyer oluşturmak için uzun süreli kanal içi kalsiyum hidroksit uygulaması

gerektirir. Ancak kök kanalına uzun dönemli kalsiyum hidroksit uygulamasının zayıf dentin duvarlarına etki ederek kök kırılma insidansında artışa neden olabileceği bildirilmiştir (1). Son yıllarda klasik apeksifikasyon yerine tek seansta apeksifikasyon olarak adlandırılan apikal foramende MTA ile tıkaç oluşturulması ve kök kanalının guta perka ile doldurulması tavsiye edilmektedir. MTA, apikalde mineralize bir bariyer oluşumunu indüklediği halde, zayıf kron-kök oranı, ince kanal duvarları ve kök formasyonunun tamamlanmaması kök kırıklarına yatkınlığı artırabileceği gösterilmiştir (2).

Son zamanlarda nekrotik pulpal immatür dişlerin tedavisinde revaskülarizasyon tedavisinin uygulanması önerilmektedir. Bu tedavide; sert doku birikimi ile kök kanal duvarlarında kalınlaşma sağlanmakta ve kök gelişiminin devam etmesi desteklenmektedir (3). Aslında pulpa dentin kompleksinin rejenerasyonu ile ilgili çalışmaların tarihi çok eskilere uzanmaktadır. 1962'de Ostby, 1966'da

İletişim Adresi

Dr. Fatma KAPLAN
Bezmialem Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi
Endodonti Anabilim Dalı
E-mail: fatmakaplan.91@gmail.com

Rule ve Winter çocuklarda pulpa nekrozu durumlarında kök gelişimi ve apikal tıkanmayla ilgili, 1971'de Nygaard-Ostby ve Hjortdal pulpal rejenerasyonla ilgili çalışmalar yapmışlardır (4-6). Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlara bakıldığında; o yıllarda kullanılan materyal ve enstrümanlar yeterli ve güvenli olmadığından sonuçları farklı çıkmıştır. Bu çelişkili sonuçlar, bu konuda bir süre daha diğer geleneksel tekniklerin kullanımına yönelmiştir. Günümüzde kullanılan materyaller, enstrüman ve metotlar ile doku mühendisliği gibi alanların da katkılarıyla rejeneratif tekniğin kullanımı oldukça gelişmiştir. Rejeneratif endodontik uygulamalarda amaç; pulpa-dentin kompleksinin yenilenmesidir. Rejeneratif endodontide üzerinde çalışılan yöntemler; kök kanalının revaskülarizasyonu, kök hücre tedavisi, pulpa implantı, scaffold (iskelet, çatı) implantı, enjekte edilebilir scaffold uygulamaları, üç boyutlu hücre yazılımı ve gen terapisi şeklinde sıralanabilir (7).

Endodontide rejeneratif prensiplerin uygulamaya aktarılabilmesi için doku mühendisliği uygulamalarına gereksinim vardır. Doku mühendisliği kanser, hastalık veya travma nedeniyle zarar görmüş veya bozulmuş dokuların, yapı ve fizyolojilerinin fonksiyonel restorasyonu ile ilgilenen ve multidisipliner kapsamlı sürekli genişleyen bir uygulama alanıdır. Doku mühendisliğinin 3 önemli ayağı; kök hücreler, doku iskelesi ve büyüme faktörleridir (7).

1. Doku İskelesi (Scaffold)

Pulpa kök hücrelerinin organizasyonunu ve vaskularizasyonunu destekleyen üç boyutlu yapı halinde organize olan, peroz polimer yapısındaki sisteme doku iskelesi (scaffold) adı verilmektedir. Ekstrasellüler matriksin taklidi olan doku iskeleleri, kök hücrelerin proliferasyonu ve farklılaşmasına yardımcı olması için büyüme faktörleri; beslenmeleri ve gelişmeleri için besin; bakteriyel gelişimi önlemek için de antibiyotik içermelidir. Aynı zamanda biyouyumlu olmalı, optimal fiziksel ve mekanik özelliklere, yeterli poroziteye, por genişliğine sahip olmalı ve toksik olmamalıdır. Görevini yerine getirdikten sonra cerrahi olarak kaldırmaya gerek olmadan biyoçözünür (bioresorbable) veya biyobozunur (biodegradable) olmalıdır. İskeleler iki tür polimer grubundan oluşmaktadır. Doğal polimerlere kollajen, fibronektin, kitosan, glikozaminoglikan (GAG) ve kemik sialoproteinleri (BSP) örnek verilebilir. Sentetik

polimerler ise Aljinat hidrojel, MTA (mineral trioksit agregate) ve alendronat sodyum, polilaktikasit (PLA), poliglikolik asit (PGA), polikaprolakton (PCA) gibi polimerlerdir (8).

2. Büyüme Faktörleri

Büyüme faktörleri hücreler üzerinde bulunan reseptörlere bağlanan ve hücre çoğalmasını ve/veya farklılaşmasını indükleyen proteinlerdir. Çoğu büyüme faktörü çok yönlü olup, çok sayıda hücre tiplerinin hücresel bölünmesini stimüle ederken, bir kısmı ise sadece o hücrelere özeldir. Büyüme faktörleri çoğunlukla yaptıkları en önemli fonksiyona ve tarihsel olarak meydana çıkışlarına göre adlandırılırlar. Büyüme faktörleri kök hücre aktivitesini kontrol etmek, proliferasyon oranını artırmak, hücrelerin başka tip dokulara farklılaşmasını indüklemek veya kök hücrelerin mineralize matriks sentezini ve sekresyonunu stimüle etmek gibi fonksiyonları vardır (9). Odontoblast ve ameloblast hücrelerinin farklılaşması ve pulpa-dentin kompleksinin rejenerasyonunda birçok büyüme faktörü rol oynamaktadır. Bunlara, Transforming growth factor- β (TGF- β), Recombinant human bone morphogenetic protein-2, 4, 5 ve 7 (rhBMP- 2, 4, 5, 7), dentin sialoprotein (DSP), dentin sialophosphoprotein (DSPP), bone sialoprotein, dentin matrix protein, recombinant human insülin-like growth factor-1 ve 2 (rhIGF-1,2), amelogenin, fibroblast growth factors (FGF), vascular endothelial growth factor (VEGF) örnek verilebilir (10).

TGF- β , FGF, BMP ve VEGF gibi faktörler dental dokuların rejenerasyonunda görev alırlar (11). TGF- β , odontoblast farklılaşması ve dentin matriksi sekresyonunun uyarılmasında rol oynayan, pulpa hücrelerinin proliferasyonu, migrasyonu ve ekstrasellüler matriks üretimleri üzerinde düzenleyici etki gösterir. Günümüzde sadece TGF- β 1 ve β 3'ün odontoblast farklılaşmasını uyarabildiği gösterilmiştir. FGF, TGF- β 1 ve BMP ile sinerjik çalışarak kök hücrelerin proliferasyonu ve diferansiyasyonlarını indükleyerek, odontoblastik farklılaşmayı sağlar ve pulpa rejenerasyonunda rol oynar (12). VEGF, FGF- 2 ile sinerjik çalışarak kimyasal demineralizasyonu takiben dentinden salınarak yara iyileşmesi ve pulpa rejenerasyonu sırasında revaskülarizasyonu sağlar (11, 12).

3. Kök hücreler:

Kök hücreler, uzun zaman dilimleri boyunca bölünebilme, kendini yenileyebilme ve özelleşmiş hücrelere kaynaklık etme (plastisite-

farklılaşma) niteliklerine sahip özelleşmemiş hücrelerdir (14).

Kök hücreler farklılaşma kapasitelerine (13) ve elde edildikleri döneme (14) göre iki şekilde sınıflandırılmaktadır.

3.1. Farklılaşma kapasitelerine göre:

Kök hücreler farklılaşma kapasitelerine göre dörde ayrılırlar.

A. Totipotent kök hücreler: Sperm ile yumurtanın birleşmesinden sonra oluşan sekiz hücrelik blastomerdeki hücreler sınırsız farklılaşma potansiyeline sahip olan hücrelerdir. Döllenmeyi izleyen ilk dört ile beş gün içerisinde tek hücreden meydana gelen tüm hücreler aynı güce sahiptir ve bu hücreler rahim içerisine yerleştirildiğinde her biri tek başına bir organizma oluşturabilecek güçtedir (15).

B. Pluripotent kök hücreler: 5. günden, yani 2-3 hücre bölünmesinden sonra meydana gelen hücrelerdir. Mezodermal (kemik, kas, kıkırdak, kan vb.), ektodermal (nöron, deri, saç vb.) ve endodermal (hepatositler, pankreatik beta hücreleri, sindirim sistemi hücreleri vb.) kökenli olmak üzere, vücuttaki farklılaşmış tüm hücre tiplerini oluşturabilme potansiyeline sahip embriyonik germ hücreleridir (16). Ancak tek başlarına tüm organizmayı oluşturamazlar (17,18).

C. Multipotent kök hücreler: Anne karnındaki organizmanın daha sonraki gelişim aşamalarında hücreler biraz daha özel görevlere sahip olmakta ve erişkin kök hücrelerine dönüşmektedirler. Erişkin bireylerin dokularında var olan ve tek bir germ yaprağına ait hücrelere farklılaşabilen hücrelerdir (19).

D. Unipotent kök hücreler: Farklılaşmanın en son basamağında sadece tek bir hücre tipini oluşturabilme özelliğine sahip kök hücrelerdir. Kendi kendini yenileyebilme yapısı ile kök hücre özelliğini korurlar (13).

3.2. Elde edildikleri döneme göre (14)

Kök hücreler elde edildikleri döneme göre ikiye ayrılırlar.

A. Embriyonik kök hücreler:

Blastosist adı verilen 5-6 günlük embriyonun iç hücre kitlesinde yer alan hücrelerdir. Pluripotent özellikte olup üç farklı germ tabakasına dönüşebilen bu kök hücreler, embriyo gövdesine ait bütün hücre tabakalarını ve onlardan köken alacak olan doku ve organ sistemlerini oluşturma yetkinliğine sahiptir.

B. Erişkin kök hücreleri: Erken embriyo gelişimini tamamlamış bir organizmada bulunan kök hücreler olarak tanımlanır.

Hasarlanan dokuların yenilenmesinde görev alan bu hücreler, yaşam boyu kök hücre havuzunu yenileyerek kök hücre sayısının azalmadan sürdürülebilmesini garanti altına alır. Yetişkin kök hücreler arasında multipotent olanların yanı sıra unipotent hücrelere de rastlamak olasıdır.

Embriyonik kök hücrelerin farklılaşma yeteneğinin erişkin kök hücrelerinden daha fazla olması, bu hücreleri daha değerli kılmaktadır (19). Ancak embriyonik kök hücrelerin elde edilmesinde süregelen etik ve yasal tartışmalar ve teratom oluşma riski nedeniyle araştırmacılar erişkin kök hücreler üzerine odaklanmıştır(7).

Günümüzde üzerinde en çok çalışılan yetişkin kök hücre tiplerinden biri mezenkimal kök hücrelerdir. Mezenkimal kök hücreler; kemik iliği, yağ dokusu, kemik, periost, sinovyal eklemler, iskelet kası, deri, periferik kan, periodontal ligament ve pulpa dahil olmak üzere farklı kaynaklardan izole edilmiştir (20).

Kök hücrelerin izole edilmesi

Kök hücreler, dört teknik ile tanımlanıp izole edilebilirler;

1. Spesifik antikör markırlarıyla hücreleri işaretleyerek ve bir flow sitometre kullanılarak yapılan Flurescent Antibody Cell Sorting (FACS) yöntemi,

2. İmmunomanyetik bead (boncuk) seleksiyonu,

3. İmmunohistokimyasal işaretleme,

4. Fenotipi, kemotaksisi, çoğalması, farklılaşması ve mineralizasyon aktivitesini içeren fizyolojik ve histolojik kriterler (21).

Çeşitli kök hücre belirteçleri kullanılarak kök hücre tipinin belirlenmesi sıklıkla kullanılan yöntemlerden birisidir. Hücrenin köken aldığı dokuyu gösteren ve bir tür işaretleyici olan hücre yüzey proteinleri, doku mühendisliği uygulamalarında kaynak hücre elde etme aşamasında önemli bir yere sahiptir. Hücreler, yüzeylerinde bulunan glikoprotein yapısındaki çeşitli reseptörler sayesinde organizmanın diğer hücreleriyle karşılıklı etkileşime girmektedir. Her biri antijenik bir yapı olan ve aynı zamanda bulunduğu hücrenin kimliğini de gösteren bu reseptörler sayesinde hücreler birbirini tanımakta, birbirleriyle veya salgıladıkları ürünlerle etkileşim göstermektedir. Hücre yüzeyindeki bu antijenik yapılar günümüzde CD (Clusters of differentiation - Farklılaşma/Başkalaşım kümeleri) olarak tanımlanmaktadır. CD antijenleri; hücrelerin

kökenlerini, gelişimsel aşamalarını ve fonksiyonel alt kümelerini ayırdetmek için kullanılan yüzey işaretleyicileridir. Dünya Sağlık Örgütü ve Uluslararası İmmunoloji Dernekleri Birliği, CD adlandırmasının kullanılmasını bir zorunluluk olarak kabul etmektedir (22). CD adlandırmasında benzer reaksiyon paternine sahip antikorların gruplandırılarak tek bir numara ile belirtilmesi ve istatistiksel yöntem olarak da 'Cluster' analizi yapılması esası söz konusudur. Her CD, hücre yüzeyinde bulunan farklı bir antijenik yapıyı temsil etmektedir. CD1'den CD350'ye kadar numaralanmış bu antikorlar; araştırma, tanı, hastalık takibi ve tedavi alanında yaygın olarak kullanılmaktadır (23).

Dental Dokulardan İzole Edilen Yetişkin Kök Hücreler

Dental dokulardan izole edilen mezenkimal kök hücreler şöyle sıralanabilir (24):

1. Dental pulpa kök hücreleri (dental pulp stem cells, DPSCs)
2. Eksfoliye insan süt dişi kök hücreleri (stem cells from human exfoliated deciduous teeth, SHED)
3. Apikal papilla kök hücreleri (stem cells of the apical papilla, SCAP)
4. Periodontal ligament kök hücreleri (periodontal ligament stem cells, PDLSCs)
5. Dental follikül kök hücreleri (dental follicle stem cells, DFSCs)
6. Diş germi progenitör hücreleri (tooth germ progenitor cells, TGPCs)

1. Dental Pulpa Kök Hücresi (DPSCs)

Diş pulpasının damarları çevresindeki spesifik perivasküler nişte yeralan, yüksek proliferasyon gösterebilen, klonlanabilen ve yüksek plastisite yeteneğine sahip hücrelere "dental pulpa kök hücreleri" adı verilmektedir (25,26).

Dental pulpa kök hücreleri güvenli bir şekilde dondurulabilen, immünespresif özelliklere sahip multipotent hücrelerdir. Bu hücrelerde CD13, CD29, CD44, CD59, CD73, CD90, CD105, CD146 ve STRO-1 gibi yüzey belirteçleri görülmekteyken CD14, CD24, CD34, CD45, CD19 ve HLA-DR gibi belirteçler görülmemektedir (27). Dental pulpa kök hücrelerinin plastisitesi in vitro ve in vivo çalışmalarla doğrulanmıştır. Kondrosit, miyosit, kardiomyosit, sinir hücresi, adiposit, osteoblast ve odontoblast benzeri hücrelere farklılaşabildikleri in vitro olarak gösterilmiştir (28,29). Son yıllarda DPSCs'nin elde edilmesinde 20 yaş ve süpernumerer dişler gibi sağlıklı dişler kullanılırken inflame pulpa dokusundan da izole edilebilirler (30).

Gronthos ve arkadaşları 2000 yılında bir çalışmada dental pulpadaki kök hücrelerden bahsetmiştir. Bu çalışmada 19 ile 29 yaş aralığındaki hastaların 3. molarlarından DPSCs 'nin izolasyonu sağlanmıştır. Bu hücrelerin tipik fibroblast şekli, kemik iliğindeki mezenkimal kök hücrelerine benzer protein marker ifade modeli ve mezenkimal kök hücrelerden daha yüksek çoğalma oranına sahip oldukları gösterilmiştir (25).

Gronthos ve arkadaşları tarafından, insan DPSCs'lerinin postnatal popülasyonu izole edilip tanımlanarak osteojenik hücrelerle karşılaştırıldığında daha yüksek proliferasyon kapasitesi olduğu ve erken odontoblast hücre belirteçlerini eksprese eden odontoblast benzeri hücrelere, dentin sialofosfoproteine farklılaşma yeteneği olduğu saptanmıştır. Ayrıca bu hücrelerden in vivo ortamda dentin ve pulpa dokusunun oluşturulabileceğini, DPSCs'lerin adiposit ve nöron benzeri hücrelere farklılaştığını bulmuşlardır (31).

Shi ve Gronthos'un 2003 yılında yaptıkları çalışmada pulpadaki kök hücrelerin popülasyonunun tüm hücrelerin % 1'i olduğu, açık apeksli dişlerde zengin hücresel ve vasküler aktivite olduğu, böylece DPSCs ve SCAP'ların enfekte olmadan kalabildikleri bulunmuştur (26).

Papaccio ve arkadaşları, 2006 yılında yayınladıkları çalışmalarında, 2 yıl süreyle dondurdukları pulpa kök hücreleri üzerinde uzun süre dondurmanın hücrelerin morfolojik yapısı, fonksiyonel özellikleri ve farklılaşma kapasitelerine etkilerini değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda çözülen hücrelerin morfolojik yapısı, fonksiyonel özellikleri ve farklılaşma kapasitelerinin değişmediğini belirtmişlerdir (32).

Laino ve arkadaşları, 19-37 yaşları arasındaki hastaların gömülü 3. büyük azı dişlerinden elde ettikleri DPSCs'leri kullandıkları çalışmalarında, pulpanın yüksek miktarda kök hücre içerdiğini ve bu hücrelerin başta osteoblastlar olmak üzere farklı tipte hücrelere farklılaşabildiklerini saptamışlardır. Bu hücrelerin doku rejenerasyonundaki en önemli sorunlardan biri olan otolog kemik greftlerinin yerine geçebilecek hücre kaynağı olarak değerlendirilebileceğinden bahsetmişlerdir (33).

Zhang ve arkadaşları, 2006 yılındaki çalışmalarında DPSCs'leri 5 farklı kültür ortamında 5 farklı türde hücreye dönüştürmüşlerdir. Morfolojik olarak, immün sitokimyasal boyamalar ve eşzamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile sonuçları değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda sıvı azotta dondurulduktan sonra çözülerek kullanılan pulpa kök hücrelerinin kök hücre kaynağı olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir (28).

Carinci ve arkadaşları, kollajenaz/dispaz enzimatik reaksiyonu sonucunda elde ettikleri DPSCs'leri kullandıkları çalışmalarında, bu hücrelerden farklılaşan osteoblastlar ile normal osteoblastların genetik yapılarını karşılaştırmışlardır. Buna göre pulpa kök hücrelerinin farklılaşması sonucunda meydana gelen osteoblast hücrelerinde bazı genlerin ekspresyonlarında belirgin bir şekilde artış ya da azalma gözlenmiştir. Farklılık gösteren genlerin hücre farklılaşmasının, gelişimsel maturasyon, hücre adezyonu ve hücre iskeleti elemanlarının üretilmesi ile alakalı olduğu saptanmıştır (29).

Karaöz ve arkadaşlarının çalışmalarında yenidoğan kız bebekten 2 vital natal diş çekilerek DPSCs elde edilmiş, farklılaştırılmış ve Bone Marrow Stem Cells (BMSCs) ile karşılaştırılmıştır. DPSCs'lerin daha yüksek proliferasyon kapasitesi olduğu tespit edilmiş ancak, adipojenik, osteojenik, kondrojenik, miyojenik ve nörojenik farklılaşma açısından BMSCs ile aralarında anlamlı bir fark bulunamamıştır (27).

Kiraly ve arkadaşları çalışmalarında DPSCs'leri 3 günlük erkek Wistar ratının serebrospinal sıvısına transplante etmişlerdir. Ratın ön limbik motor korteksine -60°C soğuk uygulayarak kortikal lezyon oluşturup, 4 hafta sonra hücre lokalizasyonu floresan mikroskop ve nöronal hücre belirteçleri ile incelemişlerdir. DPSCs'lerin hasar bölgesine giderek farklılaşım tamirde rol aldıkları gözlenmiştir. Pluripotent ve nöronal farklılaşma kapasiteleri nedeniyle DPSCs'lerin sinir hücrelerinin rejenerasyonu için etkileyici bir donör olabileceğini belirtmişlerdir (34).

Nakashima ve arkadaşları tarafından, 20-55 yaş arasındaki beş hastanın irreversible pulpitis teşhisi konulan tek köklü dişleriyle yapılan klinik çalışmada rubber dam izolasyonu altında geleneksel kök kanal şekillendirmesi yapılmış ve sızdırmaz bir şekilde restore

edilmiştir. Jelatin sünger ve DPSCs transplantasyonundan 1, 2, 4, 12, 24, 28/ ve 32 hafta sonra hastalar kontrol edilmiştir. Radyografide periapikal lezyon, perküsyon, elektrikli pulpa ve soğuk testi gibi kriterler değerlendirilmiş, transplantasyondan 12 ve 24 hafta sonra manyetik rezonans görüntüleme ile pulpa rejenerasyonu, 16 ve 28 hafta sonra bilgisayarlı tomografi ile dentin formasyonu değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda DPSCs'lerin, pulpanın tamamen yenilenmesi için etkili ve güvenilir olduğu bulunmuştur (35).

Pereira ve arkadaşları, normal ve inflame pulpadan elde edilen kök hücreleri proliferasyon ve odonto-osteojenik, adipojenik, kondrojenik farklılaşma açısından karşılaştırmışlardır. İki grup arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır (36).

Winderlich ve arkadaşları, DPSCs 'lerden elde edilen VEGF- α ile in vitro olarak hazırladıkları kan-beyin bariyer modelinde geçirgenliğin artığından bahsetmişlerdir (37).

Syed-Picard ve arkadaşları yaptıkları çalışmada fare kornealarının stromalarına DPSCs enjekte ettiğinde immünolojik reaksiyon gelişmeden ve kornea saydamlığına etkisi olmaksızın ekstraselüler matriks üretildiğini göstermişlerdir (38).

Annibali ve arkadaşları yaptıkları çalışmada fare kafatasındaki kritik defekt bölgelerine DPSCs transplante etmişler ve kemikteki mineral artışını mikro bilgisayarlı tomografi (micro-CT) ile görüntülemişlerdir (39).

2. Eksfoliye insan süt dişi kök hücreleri (SHED)

Süt dişinin yerini daimi dişe bırakma süreci, süt dişinin kökleri fizyolojik rezorpsiyona uğrarken daimi dişin sürmesini içeren dinamik bir olaydır (40). Fizyolojik düşme zamanı gelmiş süt dişlerinin pulpalarından kök hücre elde edilmesi ilk olarak 2003 yılında gerçekleştirilmiştir. Araştırmacılar, çalışma sonucunda kalan pulpa dokusundan kollajenaz/dispaz enzimatik reaksiyonu sonucunda 12-20 arasında koloni oluşturma yeteneğine ve güçlü proliferasyon kapasitesine sahip mezenkimal kök hücrelerin varlığından bahsetmişlerdir. Kemik iliği kök hücreleri ve DPSCs'ler ile karşılaştırıldığında, SHED'lerde daha yüksek proliferasyon kapasitesi ve hücre sayısını iki katına çıkarma hızı saptanmıştır. İn vivo olarak daha iyi osteoindüktif yeteneği, daha düşük miktarda pulpa oluşturma yeteneği vardır. DPSCs gibi immüno-supresif özelliklere sahip

ve dental pulpadan örnek alınarak türetilmiş multipotent hücrelerdir (41). Oct4, CD13, CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, CD146 ve CD166 gibi yüzey belirteçleri görülürken, CD14, CD34, ve CD45 gibi belirteçler görülmemektedir (42). Osteoblast, kondrosit, adiposit, miyosit ve nöral hücreler gibi çeşitli hücrelere farklılaşabilirler (43).

Huang ve arkadaşları 20 yaşında erkek hastanın süpernumerer dişinden elde edilen pulpa dokusu ile pozitif kontrol için 10 yaşındaki erkek hastadan yüksek mobilite nedeniyle çekilen alt sol kanin dişinden elde edilen dokuyu kök hücre ve farklılaşma açısından incelemişlerdir. Süpernumerer dişin koloni oluşturma kapasitesi % 72 iken, süt dişinden elde edilen kök hücrelerin kapasitesi %83 olarak bulunmuştur (44).

Arthur ve arkadaşları DPSCs, SHED ve insan sünnet derisi fibroblastlarını kullandıkları çalışmalarında uygun ortamlarda elde edilen kök hücrelerin aktif nöronlara farklılaşma kapasitelerini değerlendirmişlerdir. Sünnet derisi fibroblastlarının ve nöronal morfoloji sergileyerek sinir hücrelerine ait belirteçleri gen ve protein düzeyinde eksprese eden pulpa kök hücrelerinin in vitro tavuk embriyolarına transplantasyonu sonucunda DPSCs'lerin nöronal morfoloji sergilediği saptanırken sünnet derisi fibroblastları iğsi şekillerini korumuşlardır. Çalışmanın sonucunda araştırmacılar DPSCs ve SHED'lerin nörolojik hastalıklarda kök hücre kaynağı olarak kullanılabilirliğine değinmişlerdir (45).

Huang ve arkadaşları, motosiklet kazası geçiren ve kaza sonucunda 21 ve 22 nolu dişlerinde komplike kron kırığı olan 41 yaşındaki kadın hastadan izole edilen kök hücreler ile 10 yaşındaki erkek hastadan çekilen mobil 73 nolu dişi karşılaştırmışlardır. Koloni oluşturma oranı 21 ve 22 nolu dişlerde % 80 iken, 73 nolu dişte bu oran % 83 olarak izlenmiştir. Her iki dokuda da yüksek proliferasyon yeteneği bulunmuştur ve her ikisi de adipojen, kondrojen ve osteojenik hücrelere farklılaşmışlardır (42).

Casagrande ve arkadaşları çalışmalarında SHED'lerin odontoblastlara farklılaşmasını sağlamak için rhBMP-2 kullanmışlardır. İn vitro olarak diş parçası yapı iskelesi üzerine ekilen ya da immün sistemi baskılanmış farelere subkutöz olarak transplante edilen SHED'lerin odontoblastik farklılaşmanın belirteçlerinden olan DSPP, Cilt / Volume 18 · Sayı / Number 1 · 2017

DMP-1, MEPE eksprese ettiği RT-PCR ile gösterilmiştir. Bunun aksine diş parçası olmayan ya da protein içermeyen hücrelerde bu belirteçlere rastlanmamıştır. Çalışmanın sonucu olarak da BMP-2'nin odontoblastik farklılaşma için şart olduğuna değinilmiştir (47).

Wang ve arkadaşları Parkinson Hastalığının hafifletilmesinde SHED'in terapatik etkinliğini araştırmışlardır. Parkinson olan farelerin striatumlarına SHED'in transplantasyonu, davranış bozukluklarını kısmen iyileştirmiştir. Çalışmalarında SHED'lerin dopaminerjik nöron benzeri hücrelere dönüştüklerinden bahsetmişlerdir (15). Fujii ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir (49).

Sakai ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarında SHED'lerden elde ettikleri kök hücreleri fonksiyonel odontoblast ve endotele dönüştürmüşlerdir (89). Shen ve arkadaşları ise çalışmalarında SHED'lerin in vitro osteojenik kapasitelerini değerlendirdiklerinde, Hücrelerin osteoblastlara farklılaştığını, mineralize nodüller ve kalsiyum depozitler oluştuğunu gözlemlemişlerdir (50).

Morsczeck ve arkadaşları yaptıkları çalışmada dental folikül ve SHED'leri in vitro olarak nöral farklılaştırdıktan sonra karşılaştırmışlardır. Her ikisinin benzer morfoloji göstermemesine rağmen benzer gen ekspresyonu gösterdiği gözlenmiştir. Ancak yalnızca SHED nöral kök hücre belirteci olan Pax6'yı pozitif göstermiştir (51).

Govindasamy ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada DPSCs ve SHED'lerin proliferasyon oranları, gen ekspresyon profili ve hücre hatları açısından karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak SHED'in proliferasyon oranı, koloni oluşturma kapasitesi ve pluripotent belirteçleri DPSCs'lere oranla daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir (52).

Yamada ve arkadaşları yaptıkları çalışmada DPSCs, BMSCs ve SHED'lerin osseointegre dental implantlarda kemik rejenerasyonundaki etkilerini incelediklerinde, DPSCs, BMSCs ve SHED'lerin kemik rejenerasyonunu indüklediğini belirtmişlerdir (53).

Mita ve arkadaşları çeşitli nöral hastalık modellerinde SHED'lerin rejeneratif ve koruyucu özellikleriyle ilgili çalışmışlardır. SHED kaynaklı serumsuz kondisyonlu ortamın (SHED-

CM) Alzheimer hastalığı olan farelerde bilişsel fonksiyonları düzelttiğini bulmuşlardır (54).

Yamagata ve arkadaşları, hipoksik ve iskemik hasar gören fare beynine SHED transplantasyonu yapmışlar ve farelerde dikkat çekici bir şekilde nörolojik ve patofizyolojik iyileşme görülmüştür(55).

3. Apikal papilla kök hücreleri (SCAP)

Apikal papilla, gelişmekte olan daimi diş kökünün apeksinde, pulpadan farklı olarak lokalize edilen gevşek bağ dokusudur. Sadece oral kavitede, diş erüpsiyonundan önce ve diş gelişimi süresince bulunur. SCAP, immatür daimi insan dişlerinin apikal papillalarında keşfedilen mezenkimal kök hücre türüdür (17,56).

Apikal papilla kökenli kök hücrelerde CD13, CD24, CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, CD106 ve CD146 gibi mezenkimal belirteçler görülürken, CD18, CD34, CD45 ve CD150 gibi belirteçler görülmez (57). SCAP, osteo/dentinojenik, nörojenik, adipojenik farklılaşma kapasitesine sahiptir. Ancak miyojenik ve kondrojenik farklılaşma potansiyeli belirlenmemiştir. Apikal papilla kökenli kök hücreleri ve dental pulpa kök hücreleri, osteo/dentinojenik belirteçler ve büyüme faktörleri açısından benzerlik gösterirler; ancak, apikal papilla kökenli kök hücrelerde daha az miktarda belirteç görülür (56). SCAP'ler kullanıldığında DPSCs'lere göre daha yüksek kapasitede dentin rejenerasyonu sağlanmıştır. Bunun sebebi olarak da SCAP'lerin embriyonik benzeri bir dokudan orijin almaları gösterilmiştir (56, 57). Araştırmacılar SCAP'ın, DPSCs ve mezenşimal kök hücrelerinin aksine embriyonik kök hücrede bulunan telomeraz aktivitesi için pozitif olduğunu bulmuşlardır (17,58).

Berdt ve arkadaşları, çalışmalarında 16-18 yaş aralığındaki 6 sağlıklı bireyden çekilen yirmi yaş dişlerini kullanarak SCAP elde etmişlerdir. Spinal kord hasarı bulunan farelerde, hasarlı bölgelere hemiseksiyon uygulanıp SCAP ve fibrin hidrojel implantasyonu yapılmıştır. Apikal papilla kökenli kök hücrelerin, spinal kord yaralanmaları gibi nöral doku hasarlarının tedavisinde ümit vadeci olduğundan bahsedilmiştir (59).

4. Periodontal ligament kök hücreleri (PDLSCs)

Periodontal ligament, dişle alveolar kemik arasında bulunan ve dişi çeneye bağlı tutan liflerden meydana gelen bir yapıdır. Periodontal ligament, çekilmiş dişin kökünden

izole edilebilen, kendini rejenere eden, sement ve alveolar kemik gibi diğer dokulara dönüşebilen kök hücrelerine sahiptir (60).

İlk kez, Seo ve arkadaşları periodontal ligament kök hücrelerini çekilmiş dişlerin kök yüzeylerinden izole etmişlerdir. Periodontal ligament kök hücreleri BMSC'ler ile kıyaslandığında daha proliferatif, daha uzun yaşam süresine sahip, plastiğe yapışabilen, koloni oluşturabilen, ancak in vitro şartlarda daha düşük osteojenik farklılaşması olan hücreler olduğu bahsedilmiştir.

PDLSC'lerin kullanımının klinik potansiyeli, hücrelerin dondurularak saklanmış periodontal ligamentten izole edildikten sonra bile kök hücre karakteristiklerini korumaları, mezenşimal kök hücre yüzey belirteçlerini göstermeleri, multipotansiyel farklılaşma kapasiteleri sayesinde hazır mezenşimal kök hücre kaynağı olarak kullanılabilirliği açısından önem kazanmıştır (61).

Sonoyama ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada PDL kök hücrelerinin immün baskılı farelere verildiğinde doku rejenerasyonu ve periodontal tamir kapasitesi gösterdiğini bulmuşlardır, fonksiyonel periodonsiyum PDL kök hücrelerinden başarıyla elde edilmiştir (56).

Kadar ve arkadaşları DPSCs ve PDLSC'lerden elde ettikleri kök hücreleri mineralize doku oluşturma ve nöronal farklılaşma yönünden karşılaştırmışlardır. Hem DPSCs hem de PDLSC'den, yüksek proliferasyon kapasitesi olan ve mezenşimal kök hücre belirteçlerinden STRO-1 ekspresyonu izlenen hücre popülasyonu izole edilmiş ve her iki grup hücreler de osteojenik ve nörojenik hücrelere farklılaştırılmıştır.

Çalışma sonucu olarak bu hücrelerin sadece pulpa ve kemik rejenerasyonunda değil, aynı zamanda da nörorejeneratif tedavilerde de kullanılabileceğinden bahsedilmiştir (62).

5. Dental follikül kök hücreleri (DFSCs)

Dental folikül, gelişen diş germinin mine organı ve dental papillasının etrafını çevreleyen ektomezenşimal dokudur. Bu doku periodontal ligament, sement ve alveol kemiğini oluşturan öncü hücreleri içermektedir. Dental folikül öncü hücreleri uygun ortamlarda yağ hücrelerine, kemik hücrelerine, sement hücrelerine ve sinir hücrelerine dönüşebilmektedir (17,63)

Dental folikül kök hücreleri ilk olarak Morsczeck ve arkadaşları tarafından gömülü 3.

büyük azı dişlerinin foliküllerinden izole edilmiştir. Hücrelerde farklılaşmamış hücreye özgü yüzey antijenlerinden olan Notch-1 ve Nestin ekspresyonu izlenmiştir. Notch-1 belirteci, dental ve nöral kök hücreyi tanımlar (64). Hücre morfolojisi fibroblast benzeri şekilde olup osteojenik yönde farklılaşması izlenmiştir (63).

Sonoyama ve arkadaşları yaptıkları çalışmada dental folikül ve dental papilla kök hücrelerinin, DPSCs'den daha yüksek proliferasyon ve farklılaşma kapasitesine sahip olduğunu belirtmişlerdir (17).

6. Diş germi progenitör hücreleri (TGPCs)

Diş gelişiminin çan safhasında iğ şekilli morfolojileri ve yüksek proliferasyon hızı ile tanımlanan multipotent kök hücrelere 'diş germi progenitör hücre' denir (65). TGPC'ler adipojenik, kondrojenik, osteojenik/odontojenik ve nörojenik farklılaşma potensiyeline sahiptir (66). Diş germi progenitör hücrelerde STRO-1, CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, CD106 ve CD166 gibi belirteçler mevcuttur. Fibroblast ve epitel benzeri hücrelere farklılaşarak hepatosit oluşumunu indükler. Hücre kültürlerinde albümin, alfafetoprotein (AFP) ve sitokeratin19 (CK19) gibi karaciğere özgü belirteçler görülmektedir (65).

Yalvaç ve arkadaşları, 11-17 yaş aralığındaki hastalardan ortodontik tedavi öncesinde tam kalınlık flep ve kemik dokusu kaldırılarak çekilen 3. Molar dişlerinden flow sitometri yöntemiyle TGPCs izole etmişler ve TGPCs'yi nörojenik ve osteojenik olarak farklılaştırmışlardır (67).

Taşlı ve arkadaşları, 13-15 yaş aralığındaki hastalardan çekilen sağlıklı 3.Molar dişlerden TGPCs izole etmişlerdir. Bu hücrelerden osteojenik, kondrojenik ve adipojenik farklılaşma sağlanmış olup nörojenik ve miyojenik farklılaşma için bütün belirteçler izole edilememiştir. Süregelen çalışmalarda nörojenik ve miyojenik farklılaşma daha iyi sonuçlar verdiğinde yanık sonucu oluşan büyük deri defektlerinde, myokard enfarktüsü veya nöropatolojik durumlarda hücre tedavilerinden faydalanılabileceği öngörülmektedir (68).

Sonuç

Dental dokulardan elde edilen kök hücreler; dentin, pulpa, periodonsiyum, büyük kemik defektlerinin rejenerasyonunda, kök

formasyonunun tamamlanmasında, karaciğer hastalıklarının tedavisinde, epitel doku rejenerasyonunda, kornea rekonstrüksiyonunda, spinal kord yaralanmaları gibi nöral hastalıkların tedavilerinde, muskuler distrofilerin ve serebral arter tıkanmalarının düzeltilmesi gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Doku mühendisliğinin daha da gelişmesiyle rejeneratif tedavi seçenekleri birçok hastalık için umut vadeci görünmektedir.

Kaynaklar

1. Andreasen JO, Munksgaard EC, Bakland LK. Comparison of fracture resistance in root canals of immature sheep teeth after filling with calcium hydroxide or MTA. *Dental Traumatology* 2006; 22: 154-6.
2. Bakland LK, Andreasen JO. Will mineral trioxide aggregate replace calcium hydroxide in treating pulpal and periodontal healing complications subsequent to dental trauma? A review. *Dental Traumatology* 2012; 28: 25-32.
3. Petrino JA, Boda KK, Shambarger S, Bowles WR, McClanahan SB. Challenges in regenerative endodontics: a case series. *J Endod* 2010; 36: 536-541.
4. Ostby BN. The role of the blood clot in endodontic therapy. An experimental histologic study. *Acta Odontol Scand* 1961; 19: 324-353.
5. Rule DC, Winter GB. Root growth and apical repair subsequent to pulpal necrosis in children. *Br Dent J* 1966; 120: 586-590.
6. Nygaard-Ostby B, Hjortdal O. Tissue formation in the root canal following pulp removal. *Scand J Dent Res* 1971; 79: 333-349.
7. Murray PE, Garcia-Godoy F, Hargreaves KM. Regenerative endodontics: a review of current status and a call for action. *J Endod* 2007; 33: 377-390.
8. Sachlos E, Czernuszka JT. Making tissue engineering scaffolds work. Review: the application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds. *Eur Cell Mater* 2003; 5: 29-39; discussion 39-40.
9. Bazley LA, Gullick WJ. The epidermal growth factor receptor family. *Endocr Relat Cancer* 2005; 12(Suppl 1): S17-27.
10. Malhotra N, Mala K. Regenerative endodontics as a tissue engineering approach: past, current and future. *Aust Endod J* 2012; 38(3): 137-48.
11. Zhang W, Yelick PC. Vital pulp therapy-current progress of dental pulp regeneration and revascularization. *Int J Dent* 2010; 28: 1-9.
12. Nosrat A, Kim JR, Verma P, Chand PS. Tissue engineering considerations in dental pulp regeneration. *Iran Endod J* 2014; 9(1): 30-9.
13. Alison MR, Poulosom R, Forbes S, Wright NA. An introduction to stem cells. *J Pathol* 2002; 197: 419-423.
14. Fortier LA. Stem cells: classifications, controversies, and clinical applications. *Vet Surg* 2005; 34: 415-423.
15. Şahin F, Saydam G, Omay Sb. Stem cell plasticity and stem cell treatment in clinical practice. *Turk J Hematol Oncol* 2005; 15: 48-56.
16. Özel BH, Ozan E, Dabak DÖ. Embriyonik Kök Hücreler. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2008; 28: 333-341.
17. Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T, Tuan RS, Wang S, Shi S, et al. Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. *J Endod* 2008; 34: 166-171.
18. Rodriguez-Lozano Fj, Insausti Cl, Iniesta F, Blanquer M, Ramirez Md, Meseguer L, Meseguer-Henarejos Ab, Marín N, Martínez S, Moraleda Jm. Mesenchymal dental stem cells in regenerative dentistry. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2012; 17: 1062-1067.

19. Gardner RL. Stem Cells: potency, plasticity and public perception. *J Anat* 2002; 200: 277-282.
20. Mizuno H, Tobita M, Uysal AC. Concise review: Adipose-derived stem cells as a novel tool for future regenerative medicine. *Stem Cells* 2012; 30: 804-810.
21. Ruch JV. Patterned distribution of differentiating dental cells: facts and hypotheses. *J Biol Buccale* 1990; 18: 91-8.
22. Zola H, Swart B. Human leucocyte differentiation antigens. *Trends Immunol* 2003; 24(7): 353-354.
23. Zola H, Swart B, Banham A, Barry S, Beare A, Bensussan A, Boumsell L, D Buckley C, Bühring HJ, Clark G, Engel P, Fox D, Jin BQ, Macardle PJ, Malavasi F, Mason D, Stockinger H, Yang X. CD molecules 2006-human cell differentiation molecules. *J Immunol Methods* 2007; 319(1-2): 1-5.
24. Egusa H, Sonoyama W, Nishimura M, Atsuta I, Akiyama K. Stem cells in dentistry- Part I: Stem cell sources. *J Prosthodont Res* 2012; 56: 151-165.
25. Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97(25): 13625-13630.
26. Shi S, Gronthos S. Perivascular niche of postnatal mesenchymal stem cells in human bone marrow and dental pulp. *J Bone Miner Res* 2003; 18: 696-704.
27. Karaöz E, Doğan BN, Aksoy A et al. Isolation and in vitro characterisation of dental pulp stem cells from natal teeth. *Histochemistry and Cell Biology* 2010; 133: 95-112.
28. Zhang W, Walboomers XF, Shi S, Fan M, Jansen JA. Multilineage differentiation potential of stem cells derived from human dental pulp after cryopreservation. *Tissue Engineering* 2006; 12, 2813-23.
29. Carinci F, et al. Comparison between genetic portraits of osteoblasts derived from primary cultures and osteoblasts obtained from human pulp stem cells. *Journal of Craniofacial Surgery* 2008; 19: 616-25.
30. Malekfar A, Valli KS, Kanafi MM, Bhonde RR. Isolation and characterization of human dental pulp stem cells from cryopreserved pulp tissues obtained from teeth with irreversible pulpitis. *Journal of Endodontics* 2016; 42: 76-81.
31. Gronthos S, Brahimi J, Li W, Fisher LW, Cherman N, Boyde A, et al. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *J Dent Res* 2002; 81: 531-535.
32. Papaccio G, Graziano A, d'Aquino R, Graziano MF, Pirozzi G, Menditti D, et al. Long-term cryopreservation of dental pulp stem cells (SBPDPSCs) and their differentiated osteoblasts: a cell source for tissue repair. *J Cell Physiol* 2006; 208: 319-325.
33. Laino G et al. In Vitro Bone Production Using Stem Cells Derived From Human Dental Pulp. *Journal of Craniofacial Surgery* 2006; 17(3): 511-515.
34. Kiraly M, Kadar K, Horvath DB, Nardai P, Racz GZ, Lacza Z, et al. Integration of neuronally pre-differentiated human dental pulp stem cells into rat brain in vivo. *Neurochem Int* 2011; 59: 371-381.
35. Nakashima M, Iohara K, Murakami M, Nakamura H, Sato Y, Aiji Y, Matsushita Y, Pulp regeneration by transplantation of dental pulp stem cells in pulpitis: a pilot clinical study. *Stem Cell Research & Therapy* 2017; 8: 61.
36. Pereira L.O, Rubini M,R, Silva J.R, Oliveira D,M, Silva I,C,R, Poças-Fonseca M,J, Azevedo R,B. Comparison of stem cell properties of cells isolated from normal and inflamed dental pulps. *International Endodontic Journal* 2012; 45: 1080-1090.
37. Winderlich JN, Kremer KL and Koblar SA. Adult human dental pulp stem cells promote blood brain barrier permeability through vascular endothelial growth factor expression. *J Cereb Blood Flow Metab* 2016; 36(6): 1087-1097.
38. Syed-Picard FN, Du Y, Lathrop KL, et al. Dental pulp stem cells: a new cellular resource for corneal stromal regeneration. *Stem Cells Transl Med* 2015; 4(3): 276-285.
39. Annibali S, Bellavia D, Ottolenghi L, et al. Micro-CT and PET analysis of bone regeneration induced by biodegradable scaffolds as carriers for dental pulp stem cells in a rat model of calvarial "critical size" defect: preliminary data. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2014; 102(4): 815-825
40. Rimondini L, Mele S. Stem cell technologies for tissue regeneration in dentistry. *Minerva Stomatol* 2010; 58: 483-500.
41. Miura M, Gronthos S, Zhao M et al. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2003; 100: 5807-12.
42. Huang AH, Chen YK, Chan AW, Shieh TY, Lin LM. Isolation and characterization of human dental pulp stem/stromal cells from nonextracted crown-fractured teeth requiring root canal therapy. *J Endod* 2009; 35: 673-681.
43. Wang J, Wang X, Sun Z et al. Stem cells from human exfoliated deciduous teeth can differentiate into dopaminergic neuron-like cells. *Stem Cells and Development* 2010; 4: 1375-83.
44. Huang AH, Chen YK, Lin LM, Shieh TY, Chan AW. Isolation and characterization of dental pulp stem cells from a supernumerary tooth. *J Oral Pathol Med* 2008; 37: 571-574.
45. Arthur A, Rychkov G, Shi S, Koblar SA, Gronthos S. Adult human dental pulp stem cells differentiate toward functionally active neurons under appropriate environmental cues. *Stem Cells* 2008; 26: 1787-1795.
46. Nakamura S, Yamada Y, Katagiri W, Sugito T, Ito K, Ueda M. Stem cell proliferation pathways comparison between human exfoliated deciduous teeth and dental pulp stem cells by gene expression profile from promising dental pulp. *J Endod* 2009; 35: 1536-1542.
47. Casagrande L, Demarco FF, Zhang Z, Araujo FB, Shi S, Nor JE. Dentin-derived BMP-2 and odontoblast differentiation. *J Dent Res* 2010; 89: 603-608.
48. Fujii H, Matsubara K, Sakai K. Dopaminergic differentiation of stem cells from human deciduous teeth and their therapeutic benefits for Parkinsonian rats. *Brain Research* 2015; 1613: 59-72.
49. Sakai VT, Zhang Z, Dong Z, Neiva KG, Machado MA, Shi S, et al. SHED differentiate into functional odontoblasts and endothelium. *J Dent Res* 2010; 89: 791-796.
50. Shen YY, Chen K, Xu N. Osteogenic capacity of human deciduous dental pulp stem cells in vitro. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2010; 30: 96-99.
51. Morszeck C, Vollner F, Saugspier M, Brandl C, Reichert TE, Driemel O, et al. Comparison of human dental follicle cells (DFCs) and stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED) after neural differentiation in vitro. *Clin Oral Investig* 2010; 14: 433-440.
52. Govindasamy V, Abdullah AN, Ronald VS, Musa S, Ab Aziz ZA, Zain RB, et al. Inherent differential propensity of dental pulp stem cells derived from human deciduous and permanent teeth. *J Endod* 2010; 36: 1504-1515.
53. Yamada Y, Ito K, Nakamura S, Ueda M, Nagasaka T. Promising cell-based therapy for bone regeneration using stem cells from deciduous teeth, dental pulp, and bone marrow. *Cell Transplant* 2011; 20: 1003-1013.
54. Mita TY, Furukawa-Hibi H. Conditioned medium from the stem cells of human dental pulp improves cognitive function in a mouse model of Alzheimer's disease. *Behavioural Brain Research* 2015; 293: 189-197.
55. Yamagata M, Yamamoto A, Kako E, et al. Human dental pulp-derived stem cells protect against hypoxic-ischemic brain injury in neonatal mice. *Stroke* 2013; 44(2): 551-554.
56. Sonoyama W, Liu Y, Fang D, Yamaza T, Seo BM, Zhang C, et al. Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. *PLoS One* 2006; 1: 79.
57. Ding G, Wang W, Liu Y et al. Effect of cryopreservation on biological and immunological properties of stem cells from apical papilla. *Journal of Cellular Physiology* 2010; 223: 415-22.
58. Yang X, Walboomers XF, van den Beucken JJ, Bian Z, Fan M, Jansen JA. Hard tissue formation of STRO-1-selected rat dental pulp stem cells in vivo. *Tissue Eng Part A* 2009; 15: 367-375.

59. Berdt P et al. Dental Apical Papilla as Therapy for Spinal Cord Injury. *Journal of Dental Research* 2015; Vol. 94(11): 1575–158.
60. Bartold PM, McCulloch CA, Narayanan AS, Pitaru S. Tissue engineering: A new paradigm for periodontal regeneration based on molecular and cell biology. *Periodontol* 2000; 24: 253-69.
61. Seo BM, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahimi J, et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet* 2004; 364: 149-155.
62. Kadar K, Kiraly M, Porcsalmy B, Molnar B, Racz GZ, Blazsek J, et al. Differentiation potential of stem cells from human dental origin - promise for tissue engineering. *J Physiol Pharmacol* 2009; 60 Suppl 7: 167-175.
63. Morsczeck C, Gotz W, Schierholz J, Zeilhofer F, Kuhn U, Mohl C, Sippel C, Hoffmann KH. Isolation of precursor cells (PCs) from human dental follicle of wisdom teeth. *Matrix Biology* 2005; 24: 155.
64. Harada H, Kettunen P, Jung HS, Mustonen T, Wang YA, Thesleff I. Localization of putative stem cells in dental epithelium and their association with Notch and FGF signalling. *J. Cell Biol* 1999; 147: 105– 120.
65. Ikeda E, Yagi K, Kojima M, Yagyuu T, Ohshima A, Sobajima S, et al. Multipotent cells from the human third molar: Feasibility of cell-based therapy for liver disease. *Differentiation* 2008; 76: 495-505.
66. Doğan A, Yalvaç ME, Şahin F, Kabanov AV, Palotás A, Rizvanov AA. Differentiation of human stem cells is promoted by amphiphilic pluronic block copolymers. *Int J Nanomedicine* 2012; 7: 4849-60.
67. Yalvaç ME, Ramazanoglu M, Rizvanov AA, Sahin F, Bayrak OF, Salli U, et al. Isolation and characterization of stem cells derived from human third molar tooth germs of young adults: implications in neovascularization, osteo, adipo- and neurogenesis. *Pharmacogenomics J* 2010; 10: 105-113.
68. Taşlı PN, Doğan A, Demirci S, Şahin F. Myogenic and neurogenic differentiation of human tooth germ stem cells (hTGSCs) are regulated by pluronic block copolymers. *Cytotechnology* 2016; 68: 319–329.