



Rafał Brożek<sup>1</sup>

Barbara Dorocka-Bobkowska<sup>1</sup>

Maciej Kurpisz<sup>2</sup>

Ryszard Koczorowski<sup>1</sup>

# Zębowe komórki macierzyste – charakterystyka, zastosowanie kliniczne oraz ich długoczasowe przechowywanie w niskiej temperaturze – przegląd piśmiennictwa

Dental stem cells - characteristics, clinical application and their long-term storage at low temperature - review of the literature

## Słowa kluczowe:

mezenchymalne komórki macierzyste, augmentacja kości, implanty stomatologiczne, krioprezerwacja

## Key words:

mesenchymal stem cells, bone augmentation, dental implants, cryopreservation

## Afiliacja:

<sup>1</sup>Klinika Protetyki Stomatologicznej i Gerostomatologii, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

<sup>2</sup>Instytut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk, Poznań

Osoba odpowiedzialna za kontakt z redakcją:

Rafał Brożek

Klinika Protetyki Stomatologicznej i Gerostomatologii, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego

Collegium Stomatologicum, ul. Bukowska 70, 60-812 Poznań, telefon: 61 854 70 78, email: broz@ump.edu.pl

# BADANIA KLINICZNE W IMPLANTOLOGII

## Wprowadzenie

Komórki tkanek zębowych i okołozębowych mogą stanowić bogate źródło komórek macierzystych. Tania, prosta i szybka metoda ich pozyskiwania jest małoinwazyjna i nie stwarza zagrożenia dla organizmu dawcy. Przeniesienie komórek w obrębie tego samego organizmu nie stanowi potencjalnego ryzyka związanego z odrzuceniem przeszczepu, a ich użycie nie stwarza wątpliwości natury etycznej [1].

Komórka macierzysta [ang. stem cell] to niedojrzała, prymitywna, niewyspecjalizowana komórka posiadająca zdolność do samoodnowy oraz różnicowania w bardziej wyspecjalizowane komórki potomne budujące tkanki i narządy. Postęp jaki dokonał się w medycynie regeneracyjnej w ostatnich latach sprawił, że komórki macierzyste znajdują coraz szersze zastosowanie w tej dynamicznie rozwijającej się dyscyplinie naukowej. Szczególnie w sytuacji gdy zaawansowana utrata tkanki kostnej w obrębie części twarzowej czaszki, spowodowana urazem, procesem nowotworowym, starzeniem lub występowaniem towarzyszących chorób ogólnoustrojowych, niejednokrotnie uniemożliwia zastosowanie klasycznych technik terapeutycznych i tym samym uzyskanie pozytywnych, długookresowych efektów leczenia staje się niemożliwe [2]. Tkanki jamy ustnej stanowią bogate źródło komórek macierzystych i mogą być cennym uzupełnieniem terapii z zakresu inżynierii tkankowej. Wyodrębniono i opisano kilkanaście typów somatycznych komórek macierzystych pochodzących z tkanek układu stomatognatycznego (Ryc.1). Ich budowa morfolo-

giczna oraz zdolności do proliferacji, samoodnowy i różnicowania w wyspecjalizowane komórki potomne mogą różnić się w zależności od miejsca ich pochodzenia [3].

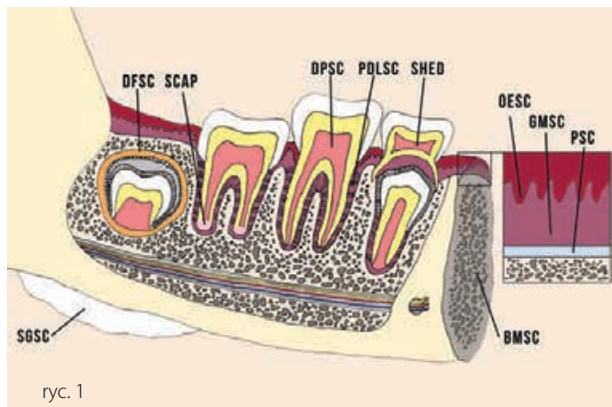
Jako pierwsze opisane zostały komórki macierzyste miazgi zęba (ang. dental pulp stem cells, DPSC, Gronthos i wsp. [4]). Są nimi także komórki macierzyste pochodzące z miazgi zębów mlecznych (ang. stem cells from human exfoliated deciduous teeth, SHED, Miura i wsp. [5]), komórki macierzyste więzadła ożębnowego (ang. periodontal ligament stem cells, PDLSC, Seo i wsp. [6]), komórki macierzyste tkanki łącznej występujące w okresie wzrostu zęba pochodzące z brodawki wierzchołkowej (ang. stem cells from apical papilla, SCAP, Sonoyama i wsp., [7]) oraz woreczka zębowego (ang. Dental follicule stem cells, DFSC, Morscheck i wsp., [8]), komórki macierzyste pochodzące z miazgi zawiązków zębów stałych (ang. human natal dental pulp stem cell, hNDPSC, [9]), komórki macierzyste dziąsła (ang. gingiva-derived mesenchymal stem cell, GMSC [10]) oraz błony śluzowej (ang. oral mucosa stem cells, OMSC, Marynka-Kalmani i wsp., [11]). Komórki macierzyste posiadają zdolność do wielokierunkowego różnicowania w wyspecjalizowane komórki potomne. Wykazują potencjał regeneracyjny w stosunku do tkanek zębowych takich jak zębina, cement korzeniowy, miazga, a także struktur otaczających [kość wyrostka zębobolowego, ożębna]. Z powodzeniem mogą być także stosowane w leczeniu chorób, których występowanie nie jest ograniczone wyłącznie do jamy ustnej [28].

## Streszczenie

Powszechne występowanie i łatwa dostępność mezenchymalnych komórek macierzystych w tkankach zębowych sprawiają, że istnieje realna szansa ich zastosowania w celach terapeutycznych z jednoczesnym rozwiązaniem konfliktów natury etycznej. Tania, prosta i szybka metoda pozyskiwania zębowych komórek macierzystych jest małoinwazyjna i nie stwarza zagrożenia dla organizmu dawcy. Dzięki krioprezerwacji zamrożony materiał genetyczny zachowuje właściwości biologiczne przez długi czas. W artykule dokonano przeglądu aktualnej wiedzy z zakresu komórek macierzystych pochodzenia zębowego z uwzględnieniem ich szczegółowej charakterystyki, wykorzystania w celach klinicznych oraz możliwości długoczasowego przechowywania w ujemnej temperaturze wrzenia ciekłego azotu (-196 °C)

## Abstract

The widespread occurrence and easy availability of mesenchymal stem cells in dental tissues mean that there is a real chance of using them for therapeutic purposes while resolving ethical conflicts. A cheap, simple and quick method of obtaining them is minimally invasive and does not pose a threat to the donor's body. Thanks to cryopreservation, the frozen genetic material retains its biological properties for a long time. In the future, there is a real chance to use it in the treatment of diseases that today, due to the current state of medical knowledge, remain incurable. The article reviews the current knowledge in the field of stem cells of dental origin, taking into account their detailed characteristics, use for clinical purposes and the possibility of long-term storage at the negative boiling point of liquid nitrogen (-196 °C).



1. Regeneracja wyrostka zębodołowego

Wyrostek zębodołowy stanowi główny element podłoża kostnego, na którym opierają się i utrzymują uzupełnienia protetyczne. Z chwilą utraty pojedynczego zęba rozpoczyna się nieodwracalny proces resorpcji wyrostków zębodołowych. Przebudowa kości może trwać całe życie jednak najbardziej nasilona jest w ciągu pierwszych 6 miesięcy od chwili ekstrakcji i w konsekwencji prowadzi do kompletnej utraty struktury kostnej wyrostka zębodołowego. Wraz z postępującym zanikiem wyrostków zębodołowych leczenie implantoprotetyczne staje się coraz trudniejsze. Deficyt wyrostka zębodołowego w wymiarze pionowym i poziomym utrudnia dobór wszczepu śródkostnego właściwego pod względem kształtu i rozmiaru. Pograżenie implantu w zanikłym łożu kostnym i utrzymanie w danej lokalizacji w aspekcie długoterminowym staje się utrudnione. Niewystarczająca ilość kości uniemożliwia także skuteczną rekonstrukcję narządu żucia zakresie adekwatnym do warunków w jamie ustnej i ogólnozdrowotnej kondycji pacjenta. Zabieg, umożliwiający zwiększenie przestrzennych wymiarów zanikłego wyrostka zębodołowego poprzez umieszczeniu w ubytku zastępczego materiału kostnego lub kościostępczego, to augmentacja kości. Stworzenie odpowiednich warunków dla wrastania elementów kościotwórczych (osteokondukcja), zjawisko pobudzania komórek niezróżnicowanych do przekształcania się w komórki kościotwórcze (osteoindukcja) oraz obecność komórek kościotwórczych zdolnych do syntezy nowej kości (właściwości osteogenetyczne) warunkują prawidłowy i wydajny przebieg pro-

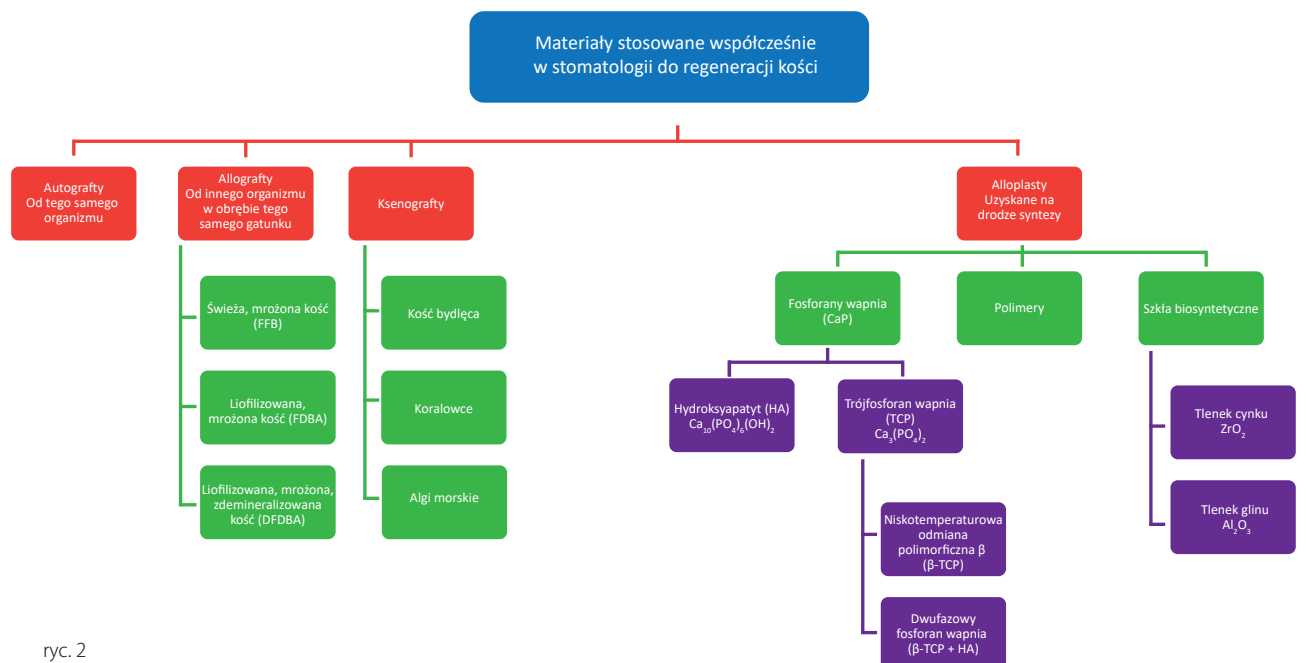
cesu augmentacji [17].

Szeroka dostępność materiałów, bogata różnorodność technik zabiegowych, a także nierzadko agresywne działania marketingowe firm zajmujących się komercyjnie tą tematyką mogą konfundować, dlatego też znajomość biologicznych aspektów procesu regeneracji kości jest ważna, ma ogromne znaczenie praktyczne w planowaniu i prawidłowym przeprowadzeniu zabiegu regeneracyjnego. Regeneracja kości zanikłego wyrostka zębodołowego, szczególnie dużych ubytków w wymiarze pionowym, z zastosowaniem klasycznych metod augmentacyjnych nie jest łatwe. Materiały kościostępcze stosowane w leczeniu implantoprotetycznym nie posiadają właściwości osteogennych. Ich wprowadzenie do organizmu uruchamia nieuniknione zjawiska resorpcji i rozpuszczania kości, poprzez aktywację osteoklastów, jako odpowiedź układu immunologicznego przeciwko materiałom wszczepionym.

Zabiegi w obrębie jamy ustnej mające na celu regenerację kości wyrostka zębodołowego mogą przebiegać z wykorzystaniem przeszczepów autogennych zawierających żywe komórki lub wszczepionych, kościostępczych materiałów allogennych, ksenogennych lub alloplastycznych, które pozbawione są żywych komórek. Mechanizmy osteoindukcji, osteokondukcji oraz właściwości osteogenne regulują potencjał regeneracyjny tych materiałów (Ryc. 2).

Autogenna kość gąbczasta jako jedyna posiada właściwości zarówno osteokondukcyjne, osteoindukcyjne jak i osteogenne. Stanowi do dzisiaj złoty standard w leczeniu odtwórczym. Autografty są najbardziej skuteczne pod względem biologicznym i klinicznym, zawierają żywe komórki kostne, które gwarantują biokompatybilność i nie oddziałują negatywnie na układ immunologiczny organizmu biorcy. W rekonstruowanym obszarze zintegrowaną i unaczynioną kość, przygotowaną do przeprowadzenia dalszych zabiegów z zakresu implantoprotetyki, otrzymuje się w okresie od czterech do dwunastu miesięcy.

Pobranie i wykonanie przeszczepu wiąże się z koniecznością przeprowadzenia dodatkowego zabiegu chirurgicznego, osłabieniem kości w miejscu pobrania oraz zwiększonym ryzykiem wystąpienia powikłań i dolegliwości pozabiegowych. Ilość materiału potrzebnego do przeszczepu jest często ograniczona, a potencjał regeneracyjny autograftów może różnić się w zależności od osoby i miej-



ryc. 2

sca pobrania.

Powyższe wady związane ze stosowaniem przeszczepów kostnych sprawiły, że nieustannie szuka się nowych rozwiązań z zakresu inżynierii tkankowej, także tych z wykorzystaniem komórek macierzystych, które w sposób przewidywalny, długoczasowy pozwalają odbudować brakującą kość wyrostków zębodołowych. Uważa się, że realizacja współczesnych kryteriów powodzenia leczenia implantologicznego [pełna integracja wszczepu z kością, zanik kości brzeżnej wokół implantu poniżej 0,2 mm oraz funkcjonowanie opartego na implantowanym filarze uzupełnienia protetycznego] w perspektywie wieloletniej, będzie możliwa tylko dzięki zastosowaniu komórek macierzystych [18].

### 1.1 Kliniczne wykorzystanie komórek macierzystych

Komórki macierzyste mogą skutecznie poprawiać regeneracyjne możliwości technik augmentacyjnych w dwojaki sposób. Po pierwsze mogą posłużyć do laboratoryjnego przygotowania preparatu sztucznego z wykorzystaniem materiałów kostnych lub wszczepiennych, który mógłby być także potencjalnie dostępny komercyjnie na rynku. Bądź też komórki te mogą być użyte w celu przygotowania preparatu świeżego na miejscu na sali zabiegowej, przeznaczonego do bezpośredniego zastosowania.

#### 1.1.1 Zastosowanie pośrednie

W 2003 roku po raz pierwszy wykorzystano komórki macierzyste wraz z przeszczepem kostnym w celu augmentacji kości w przednim odcinku szczęki [19]. Rok później ta sama grupa naukowców, zaobserwowała formowanie się kości beleczkowej trzy miesiące po przeszczepie w badaniu klinicznym, przeprowadzonym na grupie 27 pacjentów [20]. W 2004 roku Ueda i wsp. wykorzystali mieszaninę komórek macierzystych pobranych ze szpiku kostnego (ang. Bone Marrow Stem Cells, BMSC) oraz PRP, którą wprowadzili do organizmu w trakcie implantacji [21]. Tą samą metodą posłużyli się w leczeniu zapalenia przyzębia [22], w trakcie augmentacji kości oraz wykonując zabieg podniesienia dna zatoki szczękowej [23–25]. Skuteczność komórek macierzystych pobranych ze szpiku kostnego w regeneracji zanikłej kości w obrębie jamy ustnej oraz posiadane doskonale właściwości osteogenne zostały także potwierdzone w badaniach, w których BMSC zastosowano razem z hydroksyapatytem (HA) [26], HA i jedną z polimorficznych odmian trójfosforanu wapnia (ang. tricalcium phosphate, TCP) –  $\beta$ -TCP [27], żelową gąbką [28], HA/TCP i rekombinowanym PDGF [29], mrożoną kością gąbczastą [30]. W regeneracji kości oraz leczeniu implantoprotecznym użytecznymi mogą być także komórki macierzyste pochodzące z tkanki tłuszczowej oraz komórki macierzyste pochodzące z miazgi zęba [31].

Doniesienia dotyczące stosowania komórek macierzystych w praktyce klinicznej wydają się być optymistyczne. Opisywane w piśmiennictwie światowym wątpliwości dotyczą braku dokładnej charakterystyki przeszczepianych komórek, brak ustalonego, optymalnego protokołu izolacji i ekspansji komórek macierzystych, który pozwalałby na uzyskanie w sposób przewidywalny populacji komórek, przeznaczonych do przeszczepu. Meijer i wsp. opisali dużą zmienność międzysobniczą w tworzeniu kości u pacjentów leczonych z zastosowaniem komórek macierzystych [26]. Przeprowadzone przez Kaigler i wsp. badania w schemacie RCT (ang. randomized controlled trial) wykazały, że terapia z wykorzystaniem komórek macierzystych izolowanych ze szpiku kostnego i wzbogaconych o populację komórek, charakteryzujących się obecnością antygenów powierzchniowych CD90 i CD 15 przyspiesza regene-

rację kości wyrostków zębodołowych w porównaniu z techniką sterowanej regeneracji kości [32].

Istnieje konieczność prowadzenia dalszych randomizowanych badań klinicznych w celu ustalenia czy nowoczesne techniki z zakresu inżynierii tkankowej przynoszą długoczasowe, pożądane dla pacjentów efekty terapeutyczne. Do tej pory nie opracowano także schematów postępowania, dotyczących optymalnego przygotowania przeszczepianych komórek oraz doboru nośnika, zapewniającego swobodną migrację komórek, łatwy dostęp do składników odżywczych i czynników wzrostu oraz odpowiednie odprowadzanie produktów ubocznych.

#### 1.1.2 Zastosowanie bezpośrednie

W 2006 roku Smiler i Soltan po raz pierwszy opisali technikę wykorzystującą pobrane z talerza kości biodrowej, świeże komórki macierzyste oraz bloki kostne stanowiące rusztowanie dla tworzącej się nowej kości. Wykazano, że metoda ta skutecznie regeneruje kość, a w przyszłości, w opinii autorów, może zastąpić złoty i stać się platynowym standardem w leczeniu odtwórczym. Metoda wykorzystana w wyżej wspomnianych badaniach została już wcześniej dobrze udokumentowana w piśmiennictwie. Polega na wytworzeniu w specjalnej wirówce skoncentrowanego preparatu o małej objętości, zawierający kilkukrotnie większą ilość komórek macierzystych niż bazy szpik. Koncentrat zawierający frakcję komórek jednojądrzastych szpiku kostnego (ang. Bone Marrow Aspirate Concentrate, BMAC), podany w docelowym, przeznaczonym do regeneracji, miejscu, wspomaga i przyspiesza gojenie, stymuluje wzrost komórek osteogennych i tkanki kostnej oraz tworzenie naczyń krwionośnych [33].

Wykazano, że koncentrat frakcji jednojądrzastych komórek macierzystych w połączeniu z BBM są źródłem powstawania drobnowłóknistej kości blaszkowatej. Utworzona przez kość gąbczastą i zbitą, składa się z gęstą utkanych, równolegle ułożonych włókien kolagenowych. Jest wysoko zmineralizowana, a tym samym zdolna do przenoszenia dużych obciążeń na przykład poprzez implantowane w jej obrębie filary dentystyczne [34].

Randomizowane, prospektywne badania kliniczne Rickerta i wsp. dotyczące pacjentów, u których przeprowadzono obustronnie zabieg podniesienia dna zatoki szczękowej wykazały, że koncentrat bogatokomórkowy w połączeniu z BBM charakteryzuje się wyższym potencjałem osteogennym w porównaniu z przeszczepem autologicznym kości. Badania histomorfometryczne, pozwalające ilościowo opisać jakość tkanki kostnej, potwierdziły uzyskanie relatywnie więcej kości po stronie w której implantowane zostały komórki macierzyste w porównaniu z zatoką przeciwległą, gdzie wszczepiony został jedynie preparat autograficzny [35]. W randomizowanych, kontrolowanych badaniach histologicznych oraz klinicznych, z udziałem pacjentów, prowadzonych metodą pojedynczej ślepej próby wykazano, że w okresie 3-4 miesięcy po przeprowadzeniu zabiegu podniesienia dna zatoki szczękowej, użycie koncentratu komórek macierzystych nie wpłynęło na zwiększenie ilości odkładanej kości w rejonie augmentowanym. Zastosowanie BMAC w połączeniu z materiałem BBM należy traktować jako alternatywę dla materiałów autogennych [36].

Komórki macierzyste przeszczepione natychmiast po pobraniu aspiratu nie wywołują objawów klinicznych ani zmian histologicznych w komórkach, będących mediatorami odczynu zapalnego [35,37]. W piśmiennictwie podkreślany jest także terapeutyczne, przeciwzapalne działanie komórek macierzystych szpiku kostnego

i podanych miejscowo lub drogą dożylną [38–40]. Preparat świeży, podany do organizmu biorcy, nie jest jednorodny, w swym składzie może zawierać różnego typu komórki: komórki macierzyste, osteogenne komórki prekursorowe, komórki hematopoetyczne szpiku, komórki przyspieszające tworzenie naczyń krwionośnych oraz komórki zrębu.

## 2. Bankowanie komórek macierzystych pochodzenia zębowego

Rzeczywistość technologii zamrażania umożliwia szerokie wykorzystanie komórek macierzystych w badaniach naukowych oraz terapii. Obecnie 11 organizacji międzynarodowych zajmuje się pozyskiwaniem, przechowywaniem oraz badaniami komórek pochodzenia zębowego. Ich szczegółowa lista została przedstawiona w tabeli 1, siedziba jednej z nich znajduje się w Poznaniu (Cellivia, Polska).

biologicznego wykluczające ryzyko ewentualnej kontaminacji [43]. Komórki macierzyste, izolowane metodą spontanicznego wzrostu [ang. spontaneous outgrowth, explant method] lub metodą dysocjacji enzymatycznej [ang. enzymatic dissociation], umieszcza się w temperaturze  $-196^{\circ}\text{C}$  w której ulegają spowolnieniu lub ustają procesy biochemiczne, a ryzyko uszkodzenia materiału biologicznego jest minimalne [44].

Krioprezervacja zębopochodnych komórek macierzystych może być z powodzeniem prowadzona metodą raptownego, niekontrolowanego zamrażania, zeszklenie (ang. rapid freezing, vitrification) lub metodą powolnego, kontrolowanego zamrażania komórek (ang. slow freezing, controlled rate freezing) [45].

Wytryfikacja polega na szybkim odwodnieniu komórek poprzez ich zanurzenie w wysoko skoncentrowanej mieszaninie substancji kriochronnych. W połączeniu z bezpośrednim zanurzeniem próbek w ciekłym azocie, a zatem z ich raptownym zamrożeniem, możliwa

Rodzaj komórek	Ząb	Kryteria wykluczające	Piśmiennictwo
SHED	Mleczne siekacze lub kły posiadające przynajmniej 1/3 długości korzenia Mleczne pierwsze zęby trzonowe, które muszą być usunięte ze wskazań ortodontycznych Zęby mleczne z zachowaniem zdrowej miazgi (kolor czerwony)	Przetwale mleczne pierwsze zęby trzonowe Zęby mleczne pozbawione żywej miazgi (kolor szary) Ruchome zęby mleczne ze współistniejącymi zmianami okołowierzchołkowymi Usunięte lub wyrżnięte zęby mleczne poza gabinetem dentystycznym	[1–3]
DPSC	Zwichnięte całkowite zęba stałego (wybicie zęba) z zachowaną żywą miazgą (kolor czerwony) Zęby stałe zakwalifikowane do usunięcia ze wskazań ortodontycznych Usunięte zęby stałe w gabinecie dentystycznym	Zęby stałe wykazujące II° lub III° ruchomości Zęby stałe pozbawione żywej miazgi Usunięte zęby stałe poza gabinetem dentystycznym	[4–7]
DFSC	Zawiazki zębów Zęby wybite (zwichnięte całkowicie)	Zęby całkowicie wyrżnięte Zęby wybite (zwichnięte całkowicie) ze współistniejącymi zmianami okołowierzchołkowymi	[8,9]
SCAP	Usunięte zawiazki zębów stałych	Zęby z ukształtowanym wierzchołkiem korzenia Zęby wybite	[10,11]
PDLSC	Komórki pobrane z powierzchni korzenia zęba	Zęby usunięte ze współistniejącymi chorobami tkanek okołowierzchołkowych Zęby usunięte poza gabinetem dentystycznym	[8,12]

Tabela 1

Niewielka ilość doniesień literaturowych, w których omawiane są zagadnienia z tego zakresu powoduje, że istnieje ciągła konieczność opracowywania jednolitych standardów i szczegółów technicznych bankowania zębowych komórek macierzystych [41].

W ramach postępowania kwalifikującego pacjenta do zabiegu pobrania komórek macierzystych należy wykluczyć infekcje bakteryjne, wirusowe lub grzybicze lub choroby, które mogą sprzyjać ich rozwojowi np. niewyrównana cukrzyca, AIDS. W badaniu wstępnym należy uwzględnić również wiek i stopień zróżnicowania tkanki przeznaczonej do pobrania. Komórki układu stomatognatycznego mogą różnić się potencjałem regeneracyjnym w zależności od umiejscowienia oraz stopnia ich rozwoju [42]. Zębowe źródła komórek macierzystych z wyszczególnieniem typów tych komórek oraz kryteriów wykluczających przedstawiono w tabeli 2.

Materiał należy przekazać do laboratorium możliwie jak najszybciej, w czasie liczącym od momentu pobrania materiału do izolacji komórek macierzystych nie przekraczającym 120 godzin. Warunkiem skutecznej krioprezervacji jest zachowanie żywych komórek, zdolnych po rozmrożeniu do wzrostu, różnicowania i proliferacji w ilości nie mniejszej niż 80-90% populacji. Wszystkie etapy postępowania powinny być realizowane z zachowaniem bezpieczeństwa mikro-

staje się przemiana wodnego roztworu w zeszkłony płyn z pominięciem fazy krystalicznej. Istnieją ograniczone ryzyko wytrąceniu kryształów lodu, które mechanicznie uszkodzają komórki, czemu przeciwdziałają preparaty kriochronne. Wytryfikacja wymaga użycia wysokich stężeń preparatów kriochronnych. Wraz ze wzrostem ich stężenia wzrasta ryzyko toksycznego zatrucia komórek [46].

Metoda powolnego schładzania przebiega dwuetapowo. Wstępnie materiał schładza się do określonej temperatury przedmroźniowej poniżej  $-40^{\circ}\text{C}$  w tempie  $1^{\circ}\text{C}$  i  $2^{\circ}\text{C}$   $\text{min}^{-1}$ , następnie komórki umieszcza się w ciekłym azocie, w którym tempo schładzania preparatu przebiega szybciej, w tempie  $10^{\circ}\text{C}$   $\text{min}^{-1}$ , aż do momentu osiągnięcia temperatury  $-196^{\circ}\text{C}$ . W tej metodzie możliwym staje się użycie mniejszych stężeń krioprotektantów [47].

Komórki macierzyste miazgi zęba mogą być przechowywane w warunkach stresu temperaturowego przez 6 miesięcy bez wpływu na ich budowę morfologiczną oraz zdolność ekspresji markerów powierzchniowych. Po 12 miesiącach hodowania w dalszym ciągu komórki zachowują kształt natomiast wielkość może ulec zmniejszeniu. Żywołność przekracza 80% żywych komórek w zawieszynie po roku przechowywania w warunkach obniżonej temperatury [48].

	Nazwa firmy	Lokalizacja	Typ przechowywanych komórek	Adres www
1.	ATCC	VA, USA	DPSC	<a href="http://www.atcc.org/">http://www.atcc.org/</a>
2.	Biocell center	MA, USA Busto Arsizio (VA), Italy	DPSC	<a href="http://www.biocellcenter.com/">http://www.biocellcenter.com/</a>
3.	Store-a-tooth	Concord, MA	SHED	<a href="http://store-a-tooth.com/">http://store-a-tooth.com/</a>
4.	Royan Institute	Teheran, Iran	DPSC	<a href="http://royaninstitute.org/">http://royaninstitute.org/</a>
5.	Royan stem cel technology	Teheran, Iran	DPSC	<a href="http://rsct.ir/">http://rsct.ir/</a>
6.	Stemsave	New York, NY	DPSC SHED	<a href="http://stemsave.com/">http://stemsave.com/</a>
7.	Cellivia	Poznan, Poland	DPSC SHED	<a href="http://cellivia.com/">http://cellivia.com/</a>
8.	Dentcell	Naucalpan, Mexico	DPSC SHED	<a href="http://dentcell.com/">http://dentcell.com/</a>
9.	Transcell	Hyderabad, India	DPSC SHED	<a href="http://transcell.in/">http://transcell.in/</a>
10.	National Dental Pulp Laboratory	Marlborough, MA, USA	DPSC SHED	<a href="http://ndpl.net/">http://ndpl.net/</a>
11.	MoBaTann: Tooth Bank	University of Bergen, Norway	SHED	<a href="https://www.uib.no/en/rg/biomaterial/64723/mobatann-tooth-biobank">https://www.uib.no/en/rg/biomaterial/64723/mobatann-tooth-biobank</a>

Tabela 2

W odniesieniu do komórek macierzystych w tym pochodzenia zębowego formalny status oraz regulacje dotyczące ich zastosowania w celach laboratoryjnych określają odpowiednie akty prawne opublikowane w Dzienniku Ustaw Rzeczypospolitej Polskiej oraz Dyrektywy Parlamentu Europejskiego. Wszystkie czynności związane z ich długoczasowym wykorzystaniem powinny także podlegać rzeczowej ocenie takich organów jak Komisja Bioetyczna, Krajowa Rada Transplantacyjna, Krajowe Centrum Bankowania Tkanki i Komórek i Główny Inspektor Farmakologiczny. Zabiegi z wykorzystaniem komórek macierzystych często są źródłem sukcesu finansowego firm realizujących dane przedsięwzięcie, ale ze względu na swój eksperymentalny charakter, nie powinny być reklamowane. Ich przedwczesna komercjalizacja często w oparciu o niewystarczające dowody naukowe od lat budzi sprzeciw środowiska akademickiego [49].

### 3. Wnioski

Jama ustna jest bogatym i wydaje się nieograniczonym źródłem komórek macierzystych. Łatwy dostęp do jej anatomicznych struk-

tur sprawia, że możliwym staje się nieinwazyjne pobranie próbek tkankowych do dalszych badań w warunkach ambulatoryjnych i bez generowania dodatkowych kosztów. Często komórki te mogą być pozyskane z materiału będącego „odpadem medycznym”.

Można przypuszczać, że w niedalekiej przyszłości terapie z zastosowaniem komórek macierzystych wchodzić będą w skład standardowych, rutynowych rozwiązań terapeutycznych proponowanych pacjentom przez ogólnie praktykujących lekarzy dentyistów. Nowoczesna i innowacyjna metoda leczenia z zastosowaniem komórek macierzystych stwarza niebywałą szansę osiągnięcia spektakularnych efektów u pacjentów, u których dotychczas stosowane rutynowe postępowanie nie dawało satysfakcjonujących rezultatów.

Istnieje ciągła konieczność poprawy lub opracowania jasnych standardów i protokołów postępowania, w zakresie umożliwiającym bezpieczne i skuteczne pobranie materiału biorczego, transport, izolację, przechowywanie w warunkach obniżonej temperatury oraz wykorzystanie pobranego materiału genetycznego w warunkach klinicznych.

## Piśmiennictwo

- [1] DULAK J, SZADE K, SZADE A, NOWAK W, JÓZKOWICZ A. Adult stem cells: hopes and hypes of regenerative medicine. *Acta Biochim Pol* 2015; 62: 329–337.
- [2] UEDA M, YAMADA Y, KAGAMI H, HIBI H. Injectable bone applied for ridge augmentation and dental implant placement: human progress study. *Implant Dent* 2008; 17: 82–90.
- [3] BROŽEK R, KURPISZ M, KOCZOROWSKI R. The oral cavity - potential source of stem cells. *Postepy Hig Med Dosw [Online]* 2017; 71: 881–894.
- [4] 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 U S A* 2000; 97: 13625–13630.
- [5] 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: 5807–5812.
- [6] SEO B-M, MIURA M, GRONTHOS S, BARTOLD PM, BATOULI S, BRAHIM J ET AL. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet* 2004; 364: 149–155.
- [7] 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.
- [8] MORSCZECK C, GÖTZ W, SCHIERHOLZ J, ZEILHOFER F, KÜHN U, MÖHL C ET AL. Isolation of precursor cells [PCs] from human dental follicle of wisdom teeth. *Matrix Biol* 2005; 24: 155–165.
- [9] KARAÖZ E, DOĞAN BN, AKSOY A, GACAR G, AKYÜZ S, AYHAN S ET AL. Isolation and in vitro characterisation of dental pulp stem cells from natal teeth. *Histochem Cell Biol* 2010; 133: 95–112.
- [10] ZHANG Q, SHI S, LIU Y, UYANNE J, SHI Y, SHI S ET AL. Mesenchymal stem cells derived from human gingiva are capable of immunomodulatory functions and ameliorate inflammation-related tissue destruction in experimental colitis. *J Immunol* 2009; 183: 7787–7798.
- [11] MARYNKA-KALMANI K, TREVES S, YAFEE M, RACHIMA H, GAFNI Y, COHEN MA ET AL. The lamina propria of adult human oral mucosa harbors a novel stem cell population. *Stem Cells* 2010; 28: 984–995.
- [12] D'AQUINO R, DE ROSA A, LANZA V, TIRINO V, LAINO L, GRAZIANO A ET AL. Human mandible bone defect repair by the grafting of dental pulp stem/progenitor cells and collagen sponge biocomplexes. *Eur Cell Mater* 2009; 18: 75–83.
- [13] GANDIA C, ARMIÑAN A, GARCÍA-VERDUGO JM, LLEDÓ E, RUIZ A, MIÑANA MD ET AL. Human dental pulp stem cells improve left ventricular function, induce angiogenesis, and reduce infarct size in rats with acute myocardial infarction. *Stem Cells* 2008; 26: 638–645.
- [14] OHAZAMAA, MODINO S A C, MILETICH I, SHARPE PT. Stem-cell-based tissue engineering of murine teeth. *J Dent Res* 2004; 83: 518–522.
- [15] 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: 836–842.
- [16] YANG K-L, CHEN M-F, LIAO C-H, PANG C-Y, LIN P-Y. A simple and efficient method for generating Nurr1-positive neuronal stem cells from human wisdom teeth [tNSC] and the potential of tNSC for stroke therapy. *Cytotherapy* 2009; 11: 606–617.
- [17] HING KA. Bone repair in the twenty-first century: biology, chemistry or engineering? *Philosophical Transactions of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* 2004; 362: 2821–2850.
- [18] AGHALOO TL, TUAN RS, SCHMITZ JP, ABOUD M, AMET E, CARDAROPOLI G. The academy of osseointegration silver anniversary summit: impact of biological and technological advances on implant dentistry [stem cell therapy group report]. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 2011; 26 [Suppl.]: 64–69.
- [19] SCHMELZEISEN R, SCHIMMING R, SITTINGER M. Making bone: implant insertion into tissue-engineered bone for maxillary sinus floor augmentation—a preliminary report. *J Craniomaxillofac Surg* 2003; 31: 34–39.
- [20] SCHIMMING R, SCHMELZEISEN R. Tissue-engineered bone for maxillary sinus augmentation. *J Oral Maxillofac Surg* 2004; 62: 724–729.
- [21] YAMADA Y, UEDA M, HIBI H, NAGASAKA T. Translational research for injectable tissue-engineered bone regeneration using mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma: from basic research to clinical case study. *Cell Transplant* 2004; 13: 343–355.
- [22] YAMADA Y, UEDA M, HIBI H, BABA S. A novel approach to periodontal tissue regeneration with mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma using tissue engineering technology: A clinical case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2006; 26: 363–369.
- [23] HIBI H, YAMADA Y, UEDA M, ENDO Y. Alveolar cleft osteoplasty using tissue-engineered osteogenic material. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2006; 35: 551–555.
- [24] YAMADA Y, NAKAMURA S, ITO K, KOHGO T, HIBI H, NAGASAKA T ET AL. Injectable tissue-engineered bone using autogenous bone marrow-derived stromal cells for maxillary sinus augmentation: clinical application report from a 2-6-year follow-up. *Tissue Eng Part A* 2008; 14: 1699–1707.
- [25] YAMADA Y, NAKAMURA S, UEDA M, ITO K. Osteotome technique with injectable tissue-engineered bone and simultaneous implant placement by cell therapy. *Clin Oral Implants Res* 2013; 24: 468–474.
- [26] MEIJER GJ, DE BRUIJN JD, KOOLE R, VAN BLITTERSWIJK CA. Cell based bone tissue engineering in jaw defects. *Biomaterials* 2008; 29: 3053–3061.
- [27] SHAYESTEH YS, KHOJASTEH A, SOLEIMANI M, ALIKHASI M, KOSHZABAN A, AHMADBEIGI N. Sinus augmentation using human mesenchymal stem cells loaded into a beta-tricalcium phosphate/hydroxyapatite scaffold. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008; 106: 203–209.
- [28] KAIGLER D, PAGNI G, PARK C-H, TARLE SA, BARTEL RL, GIANNOBILE WV. Angiogenic and osteogenic potential of bone repair cells for craniofacial regeneration. *Tissue Eng Part A* 2010; 16: 2809–2820.
- [29] BEHNIA H, KHOJASTEH A, SOLEIMANI M, TEHRANCHI A, ATASHI A. Repair of alveolar cleft defect with mesenchymal stem cells and platelet derived growth factors: a preliminary report. *J Craniomaxillofac Surg* 2012; 40: 2–7.
- [30] LEE J, SUNG H-M, JANG J-D, PARK Y-W, MIN S-K, KIM E-C. Successful reconstruction of 15-cm segmental defects by bone marrow stem cells and resected autogenous bone graft in central hemangioma. *J Oral Maxillofac Surg* 2010; 68: 188–194.
- [31] D'AQUINO R, DE ROSA A, LANZA V, TIRINO V, LAINO L, GRAZIANO A ET AL. Human mandible bone defect repair by the grafting of dental pulp stem/progenitor cells and collagen sponge biocomplexes. *Eur Cell Mater* 2009; 18: 75–83.
- [32] KAIGLER D, PAGNI G, PARK CH, BRAUN TM, HOLMAN LA, YI E ET AL. Stem cell therapy for craniofacial bone regeneration: a randomized, controlled feasibility trial. *Cell Transplant* 2013; 22: 767–777.
- [33] CAPLAN AL. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res* 1991; 9: 641–650.
- [34] SAUERBIER S, STRICKER A, KUSCHNIERZ J, BÜHLER F, OSHIMA T, XAVIER SP ET AL. In vivo comparison of hard tissue regeneration with human mesenchymal stem cells processed with either the FICOLL method or the BMAC method. *Tissue Eng Part C Methods* 2010; 16: 215–223.
- [35] RICKERT D, SAUERBIER S, NAGURSKY H, MENNE D, VISSINK A, RAGHOEBAR GM. Maxillary sinus floor elevation with bovine bone mineral combined with either autogenous bone or autogenous stem cells: a prospective randomized clinical trial. *Clin Oral Implants Res* 2011; 22: 251–258.

[36] SAUERBIER S, RICKERT D, GUTWALD R, NAGURSKY H, OSHIMA T, XAVIER SP ET AL. Bone marrow concentrate and bovine bone mineral for sinus floor augmentation: a controlled, randomized, single-blinded clinical and histological trial--per-protocol analysis. *Tissue Eng Part A* 2011; 17: 2187–2197.

[37] Histologic evaluation of a stem cell-based sinus-augmentation procedure. *J Periodontol* 2009; 80: 679–686.

[38] CHEN J, LI Y, WANG L, ZHANG Z, LU D, LU M ET AL. Therapeutic benefit of intravenous administration of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats. *Stroke* 2001; 32: 1005–1011.

[39] MAHMOOD A, LU D, CHOPP M. Marrow stromal cell transplantation after traumatic brain injury promotes cellular proliferation within the brain. *Neurosurgery* 2004; 55: 1185–1193.

[40] ZHOU Y, WANG S, YU Z, HOYT RF, SACHDEV V, VINCENT P ET AL. Direct injection of autologous mesenchymal stromal cells improves myocardial function. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 390: 902–907.

[41] KHASEB S, OROOJI M, POUR MG, SAFAVI SM, EGHBAL MJ, RAD MR. Dental stem cell banking: Techniques and protocols. *Cell Biology*; 15.

[42] PAPACCIO G, GRAZIANO A, D'AQUINO R, GRAZIANO MF, PIROZZI G, MENDITTI D ET AL. Long-term cryopreservation of dental pulp stem cells [SBP-DPSCs] and their differentiated osteoblasts: a cell source for tissue repair. *J Cell Physiol* 2006; 208: 319–325.

[43] STACEY GN, MERTEN O-W. Host cells and cell banking. *Methods Mol Biol* 2011; 737: 45–88.

[44] PILBAUEROVÁ N, SUCHÁNEK J. Cryopreservation of Dental Stem Cells. *Acta Med [Hradec Kralove, Czech Repub]* 2018; 61: 1–7.

[45] CHEN YK, HUANG AHC, CHAN AWS, LIN LM. Human dental pulp stem cells derived from cryopreserved dental pulp tissues of vital extracted teeth with disease demonstrate hepatic-like differentiation. *J Tissue Eng Regen Med* 2016; 10: 475–485.

[46] CONDE MCM, CHISINI LA, GRAZIOLI G, FRANCIA A, CARVALHO RV DE, ALCÁZAR JCB ET AL. Does Cryopreservation Affect the Biological Properties of Stem Cells from Dental Tissues? A Systematic Review. *Braz Dent J* 2016; 27: 633–640.

[47] PARK B-W, JANG S-J, BYUN J-H, KANG Y-H, CHOI M-J, PARK W-U ET AL. Cryopreservation of human dental follicle tissue for use as a resource of autologous mesenchymal stem cells: Cryopreservation of human dental follicle tissues. *J Tissue Eng Regen Med* 2017; 11: 489–500.

[48] RAIK S, KUMAR A, RATTAN V, SETH S, KAUR A, BHATTA CHARYYA S. Assessment of Post-thaw Quality of Dental Mesenchymal Stromal Cells After Long-Term Cryopreservation by Uncontrolled Freezing. *Appl Biochem Biotechnol* 2020; 191: 728–743.

[49] ICH Q5D Derivation and characterisation of cell substrates used for production of biotechnological/biological products. <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q5d-derivation-characterisation-cell-substrates-used-production-biotechnologicalbiological1>

reklama

ZAPRASZAMY NA KOLEJNĄ EDYCJĘ KONFERENCJI NAUKOWEJ:

# 3Z STUDY CLUB WARSZAWA

PRECYZYJNE POZYCJONOWANIE IMPLANTÓW Z UŻYCIEM  
NARZĘDZI CYFROWYCH (CBCT, NAWIGACJA, SZABLON)

2  
MARCA  
2024

?

SPOTKANIE POPROWADZI GOŚĆ SPECJALNY  
**TRAFIAMY W PUNKT!**



INFORMACJE I REJESTRACJA:  
**AKADEMIA.3Z.PL**

