

# Dental Pulpa Kök Hücrelerinin İzolasyonu, Koloni Oluşturma Yeteneği ve Kök Hücre İçeriğinin Belirlenmesi Üzerine Bir Ön Çalışma

## A Pilot Study on the Isolation of Dental Pulp Stem Cells, Potential of Forming Colonies and Defining the Content of Stem Cells

Dr. Faruk SÜZERGÖZ,<sup>a</sup>  
Dr. Dt. Arzu PINAR ERDEM,<sup>b</sup>  
Dr. Elif SEPET,<sup>b</sup>  
Dr. Muhammet BEKTAŞ,<sup>c</sup>  
Dr. Nevin YALMAN,<sup>d</sup>  
Dr. Ali Osman GÜROL<sup>a</sup>

<sup>a</sup>İmmünoloji AD,  
İstanbul Üniversitesi,  
Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü  
(DETAE),  
<sup>b</sup>Pedodonti AD,  
İstanbul Üniversitesi,  
Diş Hekimliği Fakültesi,  
<sup>c</sup>Biyofizik AD,  
<sup>d</sup>Tıbbi Biyoloji AD,  
Kemik İliği Bankası  
İstanbul Üniversitesi,  
İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul

Geliş Tarihi/Received: 08.05.2008  
Kabul Tarihi/Accepted: 26.08.2008

Yazışma Adresi/Correspondence:  
Dr. Faruk SÜZERGÖZ  
İstanbul Üniversitesi,  
Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü  
(DETAE), İmmünoloji AD, İstanbul,  
TÜRKİYE/TURKEY  
suzergoz@harran.edu.tr

**ÖZET Amaç:** Dental pulpa, son zamanlarda üzerinde önemle durulan ve çeşitli kök hücre araştırmalarında kullanılan bir kök hücre kaynağıdır. Bu çalışmada, dental pulpa kök hücrelerinin steril ortamda izolasyonu gerçekleştirilerek; kök hücre düzeyinin belirlenmesi ve aynı zamanda kültür çalışmalarını için tek hücre süspansiyonu haline getirmek için kullanılan metotların optimize edilmesi amaçlandı. **Gereç ve Yöntemler:** Bu çalışmada, bir adet gömük 20 yaş dişi kullanıldı. Dental pulpa dokusu %10 fetal dana serumu içeren alfa-MEM içerisinde 3 mg/mL Tip-1 kollajen ile sindirim işlemiyle tek hücre süspansiyonu haline getirilerek, 6 kuyulu kültür plağında %5 CO<sub>2</sub> ve nemli ortamda 72 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda plaklar hücre morfolojisi ve koloni gelişimi yönünden inverted mikroskopta, CD34 hücre oranı yönünden de flow sitometride incelendi. **Bulgular:** Kültür sonucu hücre kolonilerinin oluştuğu gözlenmiştir. Kültürden alınan hücrelerde üç değişik hücre popülasyonu gözlenmiş ve bu popülasyonlarda CD34 eksprese eden hücre oranları %10.99, %12.99 ve %2.99 olarak bulunmuştur. **Sonuç:** Yüksek CD34 pozitif hücre oranı ve in vitro kültürde koloni oluşturma yeteneği dikkate alındığında, dental pulpa dokusunun zengin bir kök hücre kaynağı olduğu gözlenmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Denta pulpa; kök hücre; CD34 antijeni

**ABSTRACT Objective:** Dental pulp has been used as a source in various stem cells experiments in the recent years. The aim of this study was to isolate dental pulp stem cells in sterilized conditions, to define the content level of stem cells and to optimize the methods that were used in obtaining single cell suspension for cell culture experiments. **Material and Methods:** In this study, a third molar tooth was used. Dental pulp tissue was digested with collagenase Type I (3 mg/mL) in alpha-MEM containing 10% fetal calf serum to obtain single cell suspension. The cells were incubated in 6-well-plates with culture medium at 5% CO<sub>2</sub> for 72 hours at moist conditions. After 72 hours, the cells were examined by inverted microscopy for cell morphology and development of colonies and the ratio of CD34 positive cells were defined with flow cytometry. **Results:** The development of the cell colonies was observed in culture. Three different cell populations were defined from the culture and the ratios of these populations that expressed CD34 were 10.99%, 12.99% and 2.99%. **Conclusion:** Considering the high rate of CD34 positive cells and the capability of forming colonies in in vitro culture, dental pulp is a good stem cell source.

**Key Words:** Dental pulp; stem cells; antigens CD34

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2009;29(1):128-33

**K**ök hücreler; klonojenik özelleşmemiş hücreler olup, uzun süreli kendini yenileme ve çoklu hücre tipine yönelme yeteneğine sahiptir. Bu özellikleriyle dokuların rejenerasyonuna katkıda bulunurlar. Bu hücrelerin yaşam boyunca sınırsızca bölünerek diğer hücrelerin yerini aldıkları düşünülmektedir.<sup>1</sup>

Kök hücreler gelişimsel olarak ikiye ayrılırlar: Embriyonik ve postnatal kök hücreler (organ-özgü, dokuya özgü ya da erişkin kök hücreler olarak da adlandırılabilir). Embriyonik kök hücreler embriyodan köken almakta ve bütün dokuları oluşturma yeteneğindedirler.<sup>2,3</sup> Erişkin dokularda ki kök hücreler ise farklılaşmamış hücreler olup, genellikle içinde buldukları dokuya ait olan hücre tiplerini üretirler. Bu hücreler aynı zamanda kendilerini yenileyebilirler, ait oldukları dokunun devamlılığını ve onarımını sağlarlar. Erişkin kök hücreler aynı zamanda, diğer dokulara ait özelleşmiş hücreleri oluşturma potansiyeline de sahiptir ve bu durum "transdiferansiyasyon" ya da "plastisite" olarak adlandırılır. Postnatal kök hücreler kemik iliği, sinir dokusu, deri, retina ve sıklıkla dental epitel gibi çeşitli dokularda bulunma- tadır.<sup>1,4,5</sup>

Çeşitli dokulardan elde edilen kök hücreler çeşitli hücre tiplerine dönüştürülerek doku onarımında kullanılmaktadır.<sup>6-8</sup> Diş pulpası, son zamanlarda üzerinde önemle durulan ve çeşitli kök hücre araştırmalarında kullanılan bir kök hücre kaynağıdır.<sup>9,10</sup> Kolayca elde edilebilmesi, zorlu ve karmaşık prosedürlere ihtiyaç göstermemesi çok önemli bir avantajdır.

Diş gelişimi birçok aşamadan oluşmakta ve bu aşamalar oldukça karmaşık bir yapı göstermektedir. Son yıllarda üzerinde büyük bir yoğunlukla çalışılan kök hücrelerden diş oluşturma çalışmaları ve rejenerasyon, doku mühendisliğinin bir parçasıdır ve bu konuda ülkemizde atılan adımlar oldukça sınırlıdır.<sup>10,11</sup>

Dental kök hücreleri ile çalışmaların gerçekleştirilebilmesi için öncelikle bu hücrelerin izolasyonu ve tanımlanması gerekmektedir. Bu çalışmada, dental pulpa kök hücrelerinin steril ortamda izolasyonunu gerçekleştirerek, flow sitometri yardımı ile kök hücre içeriğinin belirlenmesi ve aynı zamanda in vitro kültür çalışmalarında kullanabilmek için tek hücre süspansiyonu haline getirecek metotların optimize edilmesi amaçlandı.

Bu çalışmanın amacı, diş pulpa kök hücre içeriğinin saf olarak belirtilmesi için kültür ortamına hiçbir diferansiyasyon faktörü katılmadan, dolay-

sıyla hücrelerde herhangi bir yönlenmeye yol açmaksızın kök hücre düzeyinin CD34 antijeni kullanılarak belirlenmesidir.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

### Çalışma İçin Uygun Olan Dişlerin Çekimi ve Saklanması

Bu bir olgu çalışmasıdır. İstanbul Tıp Fakültesi Yelrel Etik Kurulu-2008/925 no'lu etik kurul onayı ve hastadan "bilgilendirilmiş olur" alınarak çekilen diş çalışma için kullanıldı. Çalışmada, 1 adet gömük 20 yaş diş kullanıldı. Diş çekimi planlanan hastanın sistemik hastalığı olmamasına dikkat edildi. Diş çekiminden önce hastaya %0.2'lik klorheksidinle gargara yaptırıldı ve çekilecek olan bölge klorheksidinle silindi. Diş çekiminden sonra, diş EMT Toothsaver (Almanya, dipeptide N-acetyl-L-alanyl-L-glutamine + azide-NaN.sub.3) içine konuldu ve deney zamanına kadar (2 saat) taşıyıcı solüsyon içinde bekletildi.

### Pulpa İzolasyonu Öncesi Dişlerin Sterilizasyonu

Dişin üzerindeki jinjival ve periodontal dokular kazınarak uzaklaştırıldı. Diş, sterilizasyon amacıyla iyotlu antiseptikten geçirildikten sonra alkolden geçirilerek iyot kalıntıları uzaklaştırıldı. Daha sonra penisilin + sefalosporin içeren antibiyotik karışımında 1 dakika bekletildikten sonra steril gazlı beze alınarak pulpa izolasyonu için dişin açılması aşamasına geçildi.

### Pulpanın İzolasyonu

Dental pulpanın çıkarılması için su soğutması altında aeratör ile önceden derin oluk oluşturulan diş, davye ile sıkıştırılarak kırıldıktan sonra pulpa dokusu steril bir pensle kültür medyumuna alındı. Pulpa dokusu bisturi yardımı ile enzimatik sindirim öncesi küçük parçalar haline getirildi.

### Pulpa Hücrelerinin Enzimatik Sindirimle

#### Tek Hücre Süspansiyonu Haline Getirilmesi

Dental pulpa dokusu %10 fetal dana serumu (hyclone) içeren alfa-MEM (Sigma) içerisinde 3 mg/mL Tip-1 kollajen (Sigma) ile sindirim işlemine alındı. Bu işlem için dokular 37 °C'de %5 CO<sub>2</sub> içeren nemli ortamda (Sanyo) 2 saat bekletildi. İn-kübasyon sonunda hafifçe çalkalanarak hücrelerin

doku parçacıklarından uzaklaşıp tek hücre süspansiyonu haline gelmesi sağlandı.

### Pulpa Hücrelerinin Kültürü

Tek hücre süspansiyonu haline getirilen hücreler  $10^6$  hücre/mL olacak şekilde %10 fetal dana serumu içeren alfa-MEM içerisinde 6'lı kültür plağında %5 CO<sub>2</sub> ve nemli ortamda 72 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda plaklar inverted mikroskopta hücre morfolojisi ve koloni gelişimi yönünden incelendi (Resim 1).

### Flow Sitometride Hücrelerin CD34 Pozitifliğinin Belirlenmesi

Kültür sonrası dental pulpa hücrelerinin CD34 pozitifliği yönünden analizi flow sitometride gerçekleştirildi. Hücreler medyumda  $10^5$  hücre/mL olacak şekilde üç tüp içerisinde sulandırıldı. 1. tüp oto floresan kontrolü ve kapılama için, 2. tüp izotipik kontrol için ve 3. tüp de CD34 boyama için ayrıldı. İzotipik kontrol için IgG1 PE ve IgG2a FITC işaret-

li monoklonal antikorları (Becton Dickinson Sitometry System, ABD), CD34 boyama için de FITC işaretli anti-CD34 monoklonal antikor (Becton Dickinson Sitometry System, ABD) kullanıldı. Hücreler karanlıkta oda ısısında 20 dakika inkübe edildikten sonra FacsCalibur (Becton Dickinson Sitometry System, ABD) flow sitometri cihazından (her boyama için 5500 hücre) geçirildi. Flow sitometri cihazından elde edilen veriler cellquest programında analiz edildi. Cihazda gözlenen her popülasyon için CD34 pozitif hücrelerin oranları ayrı ayrı belirlendi (Resim 2).

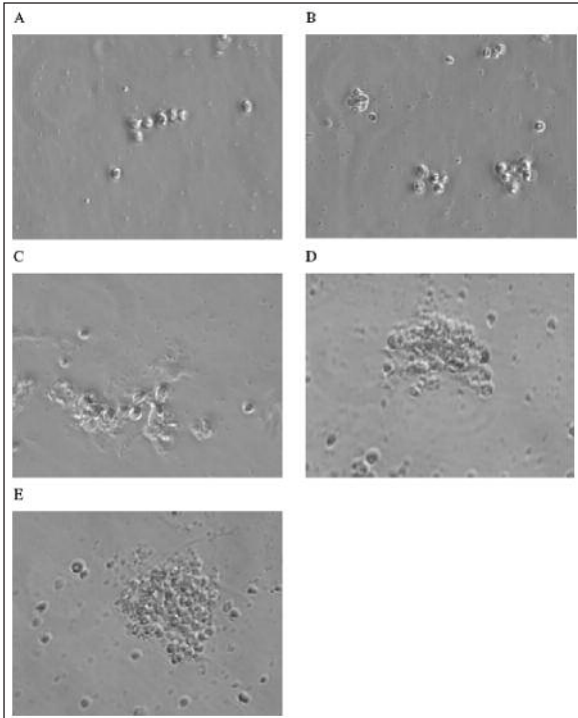
## BULGULAR

### Pulpa Hücrelerinin In Vitro Kültürü

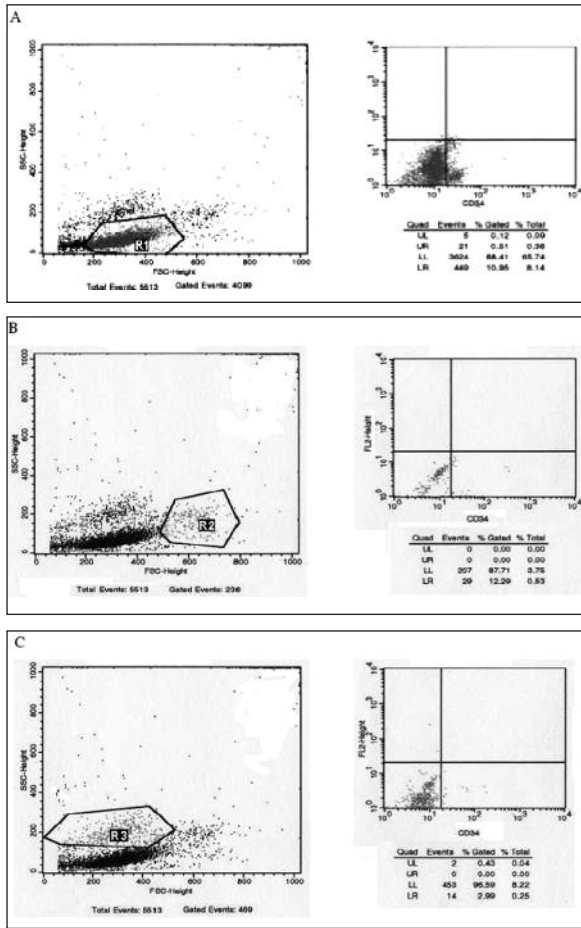
Dental pulpadan izole edilen hücreler tek hücre süspansiyonuna getirildikten sonra 6'lı kültür plağına ekim yapılmıştır. 72 saatlik kültür sonucu dental pulpa hücrelerinin kültür ortamındaki davranışları inverted mikroskopta izlenmiştir (Resim 1). Resim 1A'da erişkin hücre karakteristiği gösteren ve kolonileşme özelliği taşımayan soliter hücreler gözlenmektedir. Resim 1B'de yan yana birikmiş, fakat koloni oluşturmeyen soliter hücreler gözlenmektedir. Resim 1C'de hücre kolonileri ve bu kolonilere komşu duran soliter hücreler görülmekte, fakat koloni oluşturan hücrelerle soliter hücreler arasında bir ilişkinin olup olmadığı anlaşılabilir değildir. Soliter hücrelerin doğal olarak (kendiliğinden) hücre kolonisine komşu pozisyonda bulunma olasılığı mevcuttur. Resim 1D ve 1E'de dental pulpa kök hücreleri tarafından meydana getirilen hücre kolonileri gözlenmektedir.

### Flow Sitometride Analiz

Flow sitometride FS ve SS diyagramında üç farklı hücre popülasyonu gözlenmiştir. Bu popülasyonlar ayrı ayrı kapılarak her bir popülasyonun CD34 ekspresyon eden hücre oranı belirlenmiştir. Resim 1A'da R1 bölgesindeki küçük boyutlu ve sitoplazması az granüllü olan hücre popülasyonu kapılarak analize alınmıştır. Hücre sayısı bakımından zengin olan bu popülasyonda CD34 pozitifliği %10.95 olarak bulunmuştur. R1 popülasyonunun sağında, sayıca az ve daha büyük boyutlu hücrelerin oluşturduğu hücre popülasyonunda ise CD34



**RESİM 1:** Dental pulpa ayrıldıktan sonra enzimatik sindirimle elde edilen soliter hücrelerin alfa-MEM'de 72 saatlik inkübasyonu sonucu 6 kuyucuklu kültür plağında gözlenen soliter hücreler ve koloniler. A) Kolonize olmamış soliter hücreler. B) Yan yana duran fakat koloni formasyonu oluşturmayan soliter hücre kümeleri. C) Kolonize olan ve soliter hücreler yan yana. D) Kompakt yapı bir koloni. E) Daha büyük ve kompakt yapı bir koloni (Bar, x400).



**RESİM 2:** Diş pulpasından elde edilen hücrelerin kültürde 72 saat inkübasyon sonrası FITC işaretli anti-CD34 monoklonal antikorlarıyla yapılan flow sitometrik analiz sonuçları.

Flow sitometrik analizde üç değişik hücre popülasyonu gözlenmiştir. Her bir popülasyon ve CD34 ekspresyon düzeyi sırasıyla: A) Küçük boyutlu, dar ve granülsüz sitoplazmalı ve sayıca üstün olan hücre popülasyonu ve CD34 pozitif hücre oranı. B) Büyük boyutlu, geniş ve granülsüz sitoplazmalı hücre popülasyonu ve CD34 pozitif hücre oranı. C) Küçük boyutlu, dar ve granüllü sitoplazmalı hücre popülasyonu ve CD34 pozitif hücre oranı.

eksprese eden hücre oranı %12.29 olarak bulunmuştur (Resim 2B). Diyagramda R1 popülasyonunun üst kısmında gözlenen ve küçük boyutlu fakat sitoplazması daha granüllü olan R3 popülasyonunda CD34 eksprese eden hücre oranı %2.99'a düşmektedir (Resim 2C). R3 bölgesinde hücre sayısı da R1 bölgesine göre daha az miktardadır.

## TARTIŞMA

Bu çalışmada, tek dişten elde edilen dental pulpa kök hücrelerinin kültürleri kısa süreli olarak ve diferansiyasyon faktörleri eklenmeden gerçekleştirilmiştir.

Kültürlerde kolonileri meydana getiren hücreler diş pulpası kök hücrelerinin kendini yenileme ürünü olarak meydana gelmektedir. Kültürdeki hücrelerin flow sitometrik analizlerinde FS ve SS histogramında hücrelerin dar bir alan içerisinde gözlenmesi, bu hücrelerin benzer yapısal özelliklere sahip olduklarını göstermektedir (Şekil 2A, B, C). Cheng ve ark., erişkin şempanzelerden elde edilen diş pulpa kök hücrelerinin benzer olarak kültürde hızla kendilerini yenilediklerini ve çoğaldıklarını göstermişlerdir.<sup>12</sup>

Bu çalışmada gerçekleştirilen flow sitometrik ölçümlerde sadece CD34 pozitifliği incelenmiştir. Bunun nedeni yapılan çalışmanın amacının dental pulpa kök hücre içeriğinin saf olarak belirtilmesi olduğundan, kültür ortamına hiçbir diferansiyasyon faktörü katılmamış olması ve dolayısıyla hücrelerde herhangi bir yönlenmeye yol açmaksızın kök hücre düzeyinin belirlenmesidir. Bu sayede kök hücrelerin özelleşmiş hücrelere differansiye olmadan kültür ortamında bekletilerek flow sitometrik incelemeleri gerçekleştirilmiştir. Kültüre çeşitli diferansiyasyon faktörlerinin eklenmesi durumunda hücrelerdeki yönlenmeleri belirlemek için flow sitometri paneli uygun antikorlar seçilerek genişletilmelidir.

Bu çalışmada, dental pulpa hücrelerinin kök hücre içeriği ve bu hücrelerin çoğalma yeteneğini belirlemek amacıyla yapılan flow sitometrik analizde hücrelerin yüksek oranda CD34 eksprese ettiği gözlenmiştir (Şekil 2A, B). CD34 ekspresyonunun hücrelerde farklılaşmanın kaynağı olduğu ve kök hücrelerin farklılaşmaya başladığında hücre yüzeyinde bu molekülün eksprese edildiği bildirilmektedir. Bu nedenle CD34 hücre yüzey antijeninin primitif kök hücrelerde başkalaşım belirteci olduğu düşünülmektedir.<sup>13,14</sup> CD34 dışındaki hücre yüzey antijenlerinin kendini yenileme yeteneğini kaybeden olgun karakterdeki hücreleri yansıtmamasından dolayı, bu çalışmada yalnızca CD34 ekspresyonu ele alınmıştır.

Bu çalışma, dental kök hücre uygulamaları için bir ön çalışmadır. Dental kök hücreler hakkında daha fazla bilgi edinebilmek için örnek sayısının artırılması, farklı dişlerin farklı bölgelerindeki pulpa dokularının incelenmesi gerekmektedir. Dental

kök hücre yüzey antijenlerinin henüz kesinleşmesi nedeni ile çeşitli antijenler araştırılmaktadır. Bu çalışmada, önemli olduğu düşünülen CD34 antijeni incelenmiştir. Diğer yüzey antijenlerinin de inceleneceği çalışmalara ihtiyaç vardır.

Dental kök hücre çalışmalarında, sık çekim endikasyonu olan diş olması nedeni ile 20 yaş dişlerinin en sık kullanıldığı ve en son gelişen diş olması nedeni ile de gelişimin erken döneminde yakalandığında pulpa dokusu açısından zengin olduğu bildirilmektedir.<sup>15,16</sup> Bu nedenle bu çalışmada 20 yaş dişi kullanılmıştır.

İnsanlarda dişin sürmesiyle beraber dental epitel kök hücreleri kaybolmakla birlikte oral ektomenizimdeki farklılaşmamış hücreler tamamen kaybolmaz. Yapılan ilk çalışmalarda dental pulpa-daki prekürsör hücreler, daha sonraları ise insan diş pulpasından kök hücreler izole edilmiş ve bu hücrelere “dental pulpa kök hücreleri” adı verilmiştir.<sup>3,17</sup> Bu çalışmada, dental pulpa kök hücre izolasyonunda Liu ve ark. tarafından tanımlanan yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır.<sup>16</sup> Ayrıca, dişler çekildikten sonra diş pulpa hücrelerinin 24 saat canlı kalmasını sağlayabilen “EMT tooth saver” kullanılarak dental pulpa kök hücrelerinin canlılık oranının yüksek tutulması sağlanmıştır.

Diş pulpasından izole edilen kök hücreler, kendini yenileme yeteneği olan ve adiposit, sinir hücrelerine ve odontoblasta benzer hücrelere dönüşme kapasitesine sahip olan multipotent özellikte hücrelerdir.<sup>3,17-21</sup> Bowen ve ark., 20 yaş dişleri ve küçük azı dişlerinden elde ettikleri dental pulpa kök hücre izolasyonundan sonra bu hücreleri osteojenik, kondrojenik ve adipojenik koşullarda kültüre etmiş ve hücre farklılaşmalarını incelemeye almışlardır.<sup>22</sup> Bu çalışmada, diş pulpasından elde edilen hücrelerin 72 saatlik kültürlerinde soliter hücrelerle birlikte (Şekil 1A, B) hücreden zengin koloniler gözlenmiştir (Şekil 1D, E). Bu kolonileşmenin kök hücreler tarafından gerçekleştirildiği göz önüne alındığında, dental pulpa kök hücrelerinin sayı ve kapasiteleri hakkında olumlu işaretler alınmış olmaktadır.

Araştırmalarda diş pulpasından elde edilen kök hücrelerin, diğer kaynaklardan elde edilen kök hücrelerden daha fazla farklılaşma özelliği olduğu

bildirilmektedir. Bu fark, diş pulpasından elde edilen mezenkimal kök hücrelerin potansiyel klinik kullanımı için bir ümit ışığıdır.<sup>9,11</sup> Son zamanlarda yapılan çalışmalarda da dişte bulunan mezenkimal kaynaklı kök hücrelerin kalp hastalıkları, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, omurilik zedelenmesine bağlı felçler gibi tedavisi zor hastalıkları iyileştirmede potansiyel; aynı zamanda kemik yapının oluşması, diş oluşturma, diş eti, çene hastalıkları ile kıkırdak, yağ ve kas gibi birleştirici organları canlandırma ve oluşturma açısından umut vaat ettiği ortaya çıkmıştır.<sup>23</sup> Önemli bir kök hücre kaynağı olan kemik iliği ile karşılaştırıldığında, diş pulpası hücrelerinin CD34 ekspresyon oranı oldukça yüksek bulunmaktadır.<sup>24,25</sup> Bu oran kemik iliği için %1-2 iken, bu çalışmada, diş pulpa hücrelerinde %10-12 olarak saptanmıştır. Bu yönüyle diş pulpası, diğer çalışmalarda da belirtildiği gibi zengin bir kök hücre kaynağı olarak karşımıza çıkmaktadır.

## SONUÇ

Süt ve sürekli diş germ eksikliğiyle doğan çocukların oranının yüksekliği ve dental sağlık kaybı nedeni ile oluşan diş kayıpları ciddi bir sağlık sorunu oluşturmaktadır. Hastalanmış ya da zarar görmüş dişin rejenerasyonunun sağlanması en önemli tedavi seçeneklerinden birini oluşturacaktır. Postnatal kök hücrelerin esas görevleri buldukları dokuyu tamir etmek ve dokunun devamlılığını sağlamaktır.<sup>5,11</sup> Dental kök hücreler, diş çürüğü oluşumu sonrası büyüme faktörlerinin salınımı ile aktifleşerek tamir dokusu oluşumunda, dentin-pulpa kompleksinin rejenerasyonunda görev yapmaktadır.<sup>1</sup> Dentin/pulpa dokusu ve sement/periodontal dokusunun, insan dental pulpa kök hücreleri ve periodontal ligaman kök hücreleriyle rejenerere olabileceği bildirilmektedir.<sup>1,26</sup> İnsanın kendi dokusundan diş dokusuna benzer bir yapı oluşturulmaya çalışılmaktadır. Uzun dönemde hedeflenen ise canlı diş dokusunun oluşturulmasıdır.<sup>9,26,27</sup> Bu çalışma, dental pulpa kök hücrelerinin izolasyonu ve tanımlanmasını kapsamına karşın, uzun dönemde dental pulpa kök hücreleri ile hasarlı dişlerin rejenerasyonuna yönelik kök hücre uygulamaları için ilk adımı oluşturabilecek tek olguda yapılmış bir ön çalışmadır.

## KAYNAKLAR

- Casagrande L, Mattuella LG, de Araujo FB, Eduardo J. Stem cells in dental practice: perspectives in conservative pulp therapies. *J Clin Pediatr Dent* 2006 Fall;31(1):25-7.
- Maria OM, Khosravi R, Mezey E, Tran SD. Cells from bone marrow that evolve into oral tissues and their clinical applications. *Oral Dis* 2007;13(1):11-6.
- Özel BH, Ozan E, Dabak DÖ. [Embryonic stem cells]. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2008; 28(3):333-341.
- Avcu F. [The Biology of stem cell]. *Türkiye Klinikleri J Surg Med Sci* 2006;2(43):1-4.
- Morsczeck C, Schmalz G, Reichert TE, Völlner F, Galler K, Driemel O. Somatic stem cells for regenerative dentistry. *Clin Oral Investig* 2008;12(2):113-8.
- Bickenbach JR, Stern MM. Plasticity of epidermal stem cells: survival in various environments. *Stem Cell Rev* 2005;1(1):71-7.
- Czyz J, Wiese C, Rolletschek A, Blyszczuk P, Cross M, Wobus AM. Potential of embryonic and adult stem cells in vitro. *Biol Chem* 2003;384(10-11):1391-409.
- Liang L, Bickenbach JR. Somatic epidermal stem cells can produce multiple cell lineages during development. *Stem Cells* 2002;20(1): 21-31.
- Sartaj R, Sharpe P. Biological tooth replacement. *J Anat* 2006;209(4):503-9.
- Sloan AJ, Smith AJ. Stem cells and the dental pulp: potential roles in dentine regeneration and repair. *Oral Dis* 2007;13(2):151-7.
- Robey PG. Post-natal stem cells for dental and craniofacial repair. *Oral Biosci Med* 2005; 2(2/3):83-90.
- Cheng PH, Snyder B, Fillos D, Ibegbu CC, Huang AH, Chan AW. Postnatal stem/progenitor cells derived from the dental pulp of adult chimpanzee. *BMC Cell Biol* 2008;9:20.
- Kim DK, Fujiki Y, Fukushima T, Ema H, Shibuya A, Nakauchi H. Comparison of hematopoietic activities of human bone marrow and umbilical cord blood CD34 positive and negative cells. *Stem Cells* 1999;17(5):286-94.
- Kreissig C, Kirsch A, Serke S. Characterization and measurement of CD34-expressing hematopoietic cells. *J Hematother* 1994;3(4): 263-89.
- Graziano A, d'Aquino R, Laino G, Papaccio G. Dental pulp stem cells: a promising tool for bone regeneration. *Stem Cell Rev* 2008;4(1):21-6.
- Liu H, Gronthos S, Shi S. Dental pulp stem cells. *Methods Enzymol* 2006;419:99-113.
- 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 U S A* 2000;97(25):13625-30.
- 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(8):531-5.
- Laino G, Graziano A, d'Aquino R, Pirozzi G, Lanza V, Valiante S, et al. An approachable human adult stem cell source for hard-tissue engineering. *J Cell Physiol* 2006;206(3):693-701.
- 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 U S A* 2003;100(10):5807-12.
- Yu J, Deng Z, Shi J, Zhai H, Nie X, Zhuang H, et al. Differentiation of dental pulp stem cells into regular-shaped dentin-pulp complex induced by tooth germ cell conditioned medium. *Tissue Eng* 2006;12(11):3097-105.
- A Bowen, A English, E Jones, S Wood, J Kirkham, XB Yang. Isolation and preliminary characterisation of stem cells from human dental pulp. *Eur Cell Mater* 2006;11(Suppl 3):58.
- Krebsbach PH, Robey PG. Dental and skeletal stem cells: potential cellular therapeutics for craniofacial regeneration. *J Dent Educ* 2002;66(6):766-73.
- Sirchia G, Rebulli P. Placental/umbilical cord blood transplantation. *Haematologica* 1999 ;84(8):738-47.
- Steen R, Tjønnfjord GE, Egeland T. Comparison of the phenotype and clonogenicity of normal CD34+ cells from umbilical cord blood, granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood, and adult human bone marrow. *J Hematother* 1994;3(4):253-62.
- 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:e79.
- Duailibi MT, Duailibi SE, Young CS, Bartlett JD, Vacanti JP, Yelick PC. Bioengineered teeth from cultured rat tooth bud cells. *J Dent Res* 2004;83(7):523-8.