

Heterogeniczność fibroblastów

Heterogenicity of fibroblasts

Katedra i Klinika Chirurgii Stomatologicznej i Periodontologii,
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
Chair and Department of Oral Surgery and Periodontology, Poznan University of Medical Sciences

DOI: <http://dx.doi.org/10.20883/df.2020.15>

STRESZCZENIE

Fibroblasty stanowią najliczniejsze komórki tkanki łącznej. Komórki te oraz produkowane przez nie składniki macierzy zewnątrzkomórkowej odgrywają kluczową rolę w utrzymaniu spójności tkanki łącznej, procesach gojenia i procesach patologicznych. Mimo licznych podobieństw w strukturze i funkcjonowaniu fibroblastów zaobserwowano również różnice wskazujące na to, że fibroblasty nie stanowią jednorodnej grupy komórek. Różnice pomiędzy fibroblastami opisano zarówno w komórkach pochodzących z różnych regionów anatomicznych, jak i pochodzących z tej samej tkanki.

Słowa kluczowe: fibroblasty dziąsłowe, fibroblasty włókien ozębnej, fibroblasty brodawki dziąsłowej, heterogeniczność.

ABSTRACT

Fibroblasts are the most numerous cell type in connective tissue. These cells and their extracellular matrix products play essential role in maintaining integrity of connective tissue, in healing processes and pathological processes. Despite numerous structural and functional similarities between fibroblasts, the differences indicating that fibroblasts are not homogenous group have been observed. Differences have been described both between cells from different anatomical sites and within localized tissue.

Keywords: gingival fibroblast, periodontal fibroblast, skin fibroblast, heterogenicity.

Tkanka łączna stanowi jedną z czterech podstawowych tkanek organizmu. Jest obecna pomiędzy innymi tkankami w całym organizmie, gdzie pełni funkcję podporową i ochronną. Zbudowana jest z komórek, włókien i macierzy zewnątrzkomórkowej. Najliczniejszymi komórkami tkanki łącznej są fibroblasty. Są to komórki osiadłe, posiadające zdolność ruchu. Z powodu braku specyficznych markerów umożliwiających identyfikację *in vivo* fibroblasty najczęściej rozpoznawane są ze względu na wrzecionowaty lub trójkątny, spłaszczony kształt z kilkoma wypustkami, zdolność do przylegania do plastikowych pojemników do hodowli komórkowych oraz brak markerów dla innych linii komórkowych. Morfologicznie posiadają pojedyncze owalne jądro komórkowe z jednym lub dwoma jąderkami, rozbudowane szorstkie retikulum endoplazmatyczne i widoczny aparat Golgiego. W większości tkanek fibroblasty przylegają do sąsiednich komórek oraz produkowanych przez siebie włókien, tworząc charakterystyczną siateczkę,

przy czym przyleganie dotyczy ograniczonej powierzchni, co daje wrażenie izolowanych komórek [1–3].

W przeszłości uważano, iż fibroblasty pełnią jedynie funkcję podtrzymania struktury dla innych komórek tkanki. Późniejsze badania wykazały, że biorą udział w prawidłowym funkcjonowaniu tkanek, jak i procesach patologicznych. Odgrywają również znaczącą rolę w procesie gojenia. Główną funkcją fibroblastów jest utrzymanie integralności tkanki łącznej poprzez wydzielanie substancji macierzy zewnątrzkomórkowej. Produkują kolagen, włókna retikulino- i elastyczne, glikoproteiny, glikozaminoglikany, cytokiny, czynniki wzrostu oraz enzymy kolagenazę i stromeolizynę [2–6].

Fibroblasty są komórkami pochodzenia mezodermalnego. Cechą specyficzną fibroblastów dziąsła i innych tkanek jamy ustnej, podobnie jak innych fibroblastów w obrębie głowy, jest pochodzenie z grzebienia nerwowego, a nie pierwotnej mezodermy. Komórki prekursorowe fibroblastów

włókien ozębnej (podobnie jak osteoblasty) pochodzą z wewnętrznej warstwy mieszka zębowego, fibroblasty dziąsła natomiast najprawdopodobniej z zarodkowej błony śluzowej lub komórek mieszka zębowego [6–9].

Fibroblasty różnią się pomiędzy sobą w zależności od regionu anatomicznego, z którego pochodzą, co może być widoczne w metabolizmie i fenotypie komórek. Na przykład fibroblasty błony śluzowej jamy ustnej rozmnażają się znacznie szybciej niż fibroblasty skóry. Uważa się, iż ma to związek z większym wydzielaniem HGF (hepatocyte growth factor) i KGF (keratinocyte growth factor) przez fibroblasty błony śluzowej jamy ustnej. Fibroblasty pobrane w trakcie pojedynczej biopsji również nie tworzą jednolitej grupy komórek, co dowodzi istnienia subpopulacji w obrębie tej samej tkanki [10].

Tkanka łączna dziąsła i ozębnej zawiera wiele typów komórek, wśród których fibroblasty stanowią najliczniejszą grupę – około 5,6% całkowitej objętości tkanki [9]. W tkankach aparatu zębowego rozróżniamy dwie podstawowe grupy fibroblastów ze względu na lokalizację – fibroblasty włókien ozębnej (PDLF) i fibroblasty dziąsła (GF). W obrębie dziąsła osobną subpopulację stanowią fibroblasty brodawki dziąsłowej (PAPF). Różnice dotyczą zarówno fibroblastów z tkanek zdrowych, jak i z tkanki ziarninowej.

Różnice pomiędzy fibroblastami dziąsła i włókien ozębnej zostaną rozpatrzone w aspekcie morfologii, zdolności do zlewania się i przylegania do powierzchni, produkcji substancji macierzy zewnątrzkomórkowej, szybkości wzrostu, zmian pod wpływem rozciągania, ekspresji genów, rodzaju protein cytoszkieletu i aktywności fosfatazy alkalicznej.

Morfologia

W mikroskopie fazowo-kontrastowym i skaningowym zarówno PDLF jak i GF charakteryzuje podobny wydłużony, wrzecionowaty lub gwiaździsty kształt z położonym centralnie kulistym jądrem komórkowym. Fibroblasty włókien ozębnej są większe niż fibroblasty dziąsła, bardziej wrzecionowate, posiadają rozbudowany cytoszkielet [11], a w ich cytoplazmie zaobserwowano zbiorniki glikogenu i pasma kurczliwych mikrofilamentów. Położone są wzdłuż produkowanych przez siebie włókien, otaczając je wypustkami cytoplazmatycznymi [12]. Rose i wsp. opisali dwie podgrupy PDLF, bazując na różnicach morfologicznych – jedna z grup zawierała zbiorniki glikogenu w obrębie cytoplazmy, podczas gdy druga ich nie zawierała [11]. W obrębie GF nie zaobserwowano mikrofilamentów [7, 13, 14].

W obrębie fibroblastów dziąsła Häkkinen i Larjawa znaleźli 3 podgrupy fibroblastów, bazując na różnicach morfologicznych. W tkankach zdrowych opisali komórki wrzecionowate, duże komórki gwiaździste oraz podobne do komórek nabłonkowych, w tkance ziarninowej natomiast zaobserwowali jedynie komórki o kształcie gwiaździstym [11]. Fibroblasty brodawki dziąsłowej hodowane na plastikowych naczyniach laboratoryjnych lub powierzchni żelu kolagenowego charakteryzują się wrzecionowatym kształtem, mniejszymi rozmiarami w porównaniu z GF ($81 \pm 21 \mu\text{m}$, $n = 50$ vs. $210 \pm 56 \mu\text{m}$, $n = 50$). Hodowane w macierzy kolagenowej 3-D oba typy fibroblastów były morfologicznie identyczne – oba typy przybierały kształt gwiaździsty i charakteryzowały się podobnymi rozmiarami [15]. Dodatkowo cechą rozróżniającą fibroblasty brodawki dziąsłowej jest ich podobieństwo do fibroblastów skóry płodu w produkcji czynnika stymulującego migrację (MSF) [11, 15, 16].

Proteiny cytoszkieletu

Badania wykazują, że ilość aktyn cytoszkieletu jest trzykrotnie wyższa w PDLF niż w GF, co sprawia, że fibroblasty włókien ozębnej mają bardziej rozbudowaną sieć włókien wewnątrzkomórkowych. Zarówno GF jak i PDLF wykazują wysoką zawartość aktyny (α -smooth-muscle actin). W hodowli komórkowej procent fibroblastów włókien ozębnej zawierających aktynę był wyższy niż fibroblastów dziąsłowych, a różnica ta wzrastała z przejściem kolejnego cyklu komórkowego. Obecność miozyny (smooth-muscle myosin) zaobserwowano w PDLF po piątym pasażu komórkowym, we wczesnych cyklach nie stwierdzono jej aktywności. GF nie wykazują obecności miozyny. Oba typy fibroblastów nie wykazują obecności desminy [7, 14].

Produkcja substancji macierzy pozakomórkowej

Oba rodzaje komórek produkują różnego rodzaju proteiny, zarówno kolagen, jak i białka niekolagenowe, zwiększając produkcję macierzy pozakomórkowej w trakcie rozwoju i w obecności czynników zapalnych. Pełna produkcja protein przez GF i PDLF jest podobna. PDLF syntetyzują większe ilości kolagenu typu I i III w porównaniu do GF, a GF większe ilości białek niekolagenowych. Obecność większości białek zwiększa produkcję protein przez fibroblasty włókien ozębnej (o 300% produkcję kolagenu typu I), nie wpływając na aktywność fibroblastów dziąsłowych [2, 7, 8, 13, 14, 17, 18].

W hodowli komórkowej fibroblasty dziąsła charakteryzują się niższą ekspresją kolagenu oraz pro-

teoglikanów (syndekan, fibromodulina i periostin) oraz fibronektyny i wyższym wydzielaniem osteonidogenu, tropoelastyny i fibryliny w porównaniu z fibroblastami włókien ozębnej. Poziom ekspresji tenascyny w obu grupach komórek jest podobny [3, 19]. Wydzielanie glikoaminoglikanów przez fibroblasty dziąsła jest różne w zależności od miejsca pochodzenia komórek. Podstawowym GAG wydzielanym przez komórki jest kwas hialuronowy (HA). Badając podłoże hodowlane można stwierdzić, że fibroblasty dziąsła wolnego (FGF) wydzielają większe ilości GAG i HA w porównaniu do fibroblastów dziąsła związanego (AGF). AGF wydzielają natomiast procentowo większe ilości siarczanów (dermatanu DS, heparanu HS i chondroityny CS) w porównaniu z FGF. W przypadku oceny frakcji komórkowej całkowita zawartość GAG jest identyczna w obu przypadkach, ale stosunek HA/siarczanowy wskazuje wyższy procent siarczanów w FGF w porównaniu z AGF. Fenytoina powoduje wzrost ilości HA, CS, DS oraz zmniejszenie ilości HS we frakcji komórkowej fibroblastów dziąsła związanego. W przypadku AGF zwiększeniu uległa ilość wszystkich siarczanów. Fenytoina nie zmienia ilości GAG w podłożu hodowlanym zarówno FGF jak i AGF [20].

Zlewanie się i przyleganie komórek

Jedną z cech różnicujących typy fibroblastów jest ich zdolność do zlewania się. W badaniach *in vitro* fibroblasty pochodzące z dziąsła zaczynały łączyć się około 4 doby, podczas gdy PDLF nie łączyły się do 6 doby [13, 21]. Zdolność adhezji do plastikowych powierzchni jest jedną z podstawowych cech fibroblastów. Po umieszczeniu na plastikowej powierzchni mniej niż 40% PGLF i GF zaczynało przylegać przez około 90 minut. Natomiast pokrycie tej powierzchni różnymi proteinami zmieniało szybkość, z jaką rozpoczynał się proces adhezji. Kolagen typu I i IV przyspieszał proces przylegania fibroblastów dziąsła, fibronektyna zwiększała szybkość przylegania obu rodzajów komórek. Żelatyna, laminina i witronektyna były natomiast bardziej skuteczne w stosunku do fibroblastów włókien ozębnej. Natomiast po 24 godzinach oba rodzaje fibroblastów przylegały podobnie zarówno do czystej powierzchni, jak i do powierzchni pokrytej proteinami [14].

Proliferacja i migracja

Badania wskazują na znacząco większy stopień proliferacji fibroblastów dziąsła w porównaniu do fibroblastów włókien ozębnej. GF mogą rozrastać się znacznie szybciej (3–4 dni) niż PDLF (8–10 dni).

Obecność komórek nabłonka stymuluje rozrost obu rodzajów fibroblastów [13, 22, 23]. Fibroblasty brodawki dziąsłowej charakteryzują się szybszą proliferacją (wzrost obserwowany po 48 godzinach) w porównaniu do fibroblastów dziąsłowych – wykazując właściwości podobne do fibroblastów płodowych [11, 15]. W badaniu przeprowadzonym przez Irwin i wsp. stwierdzono, że hodowane *in vitro* PAPF w początkowym okresie wykazywały cechy komórek płodowych. Po 10 cyklu komórkowym nabierały w morfologii i zdolności migracji cech dojrzałych fibroblastów, co koresponduje z zanikiem produkcji MSF [15].

Ogólnie ujmując, szybkość migracji fibroblastów dziąsłowych na powierzchni żelu kolagenowego jest dwukrotnie większa niż fibroblastów włókien ozębnej, przy czym szybkość migracji GF zależy od rodzaju kolagenu. I tak fibroblasty dziąsłowe poruszają się bardzo szybko na powierzchni kolagenu III, umiarkowanie na powierzchni kolagenu V i znacznie wolniej na powierzchni kolagenu I [8].

Zmiany pod wpływem bodźców mechanicznych

Pod wpływem rozciągania GF i PDLF ulegają spłaszczeniu, zmieniając kształt z wielokątnego na bardziej wrzecionowaty. Oba rodzaje komórek nie oddzielają się od podłoża, pozostając żywe w procesie rozciągania i ulegając wydłużeniu o 10%. Rozmieszczenie protein wimentyny i winkuliny jest podobne w obu rodzajach komórek. PDLF wydzielają czynniki kontrolujące przebudowę kości – RANKL stymulujący różnicowanie osteoklastów i hamującą różnicowanie osteoprotegrynę [24].

Fibroblasty dziąsła na stały nacisk reagują gwałtownym spadkiem poziomu F-aktyny, następnie po 1 min następuje dwukrotny jej wzrost. Po 3 min komórki kurczą się. W przypadku PDLF nie zaobserwowano wzrostu F-aktyny, komórki natomiast również kurczą się [8]. Chemicznie pierwotną odpowiedzią na nacisk w PDLF jest zwiększenie aktywności małych GTP-az (małych białek G) Rho i Rab i w konsekwencji aktywacja czynników transkrypcyjnych c-Jun i c-Fos [8, 25, 26], natomiast w GP dochodzi do zwiększenia ekspresji filaminy A pod wpływem białka CLIP-170 i α -tubuliny [27]. W wypadku cyklicznych naprężeń w PDLF zwiększeniu ulega wydzielanie transformującego czynnika wzrostu TGF- β 1, a w GF czynnika stymulującego tworzenie kolonii makrofagów M-CSF [8, 28].

Bodźcem mechanicznym wpływającym na fibroblasty dziąsła i włókien ozębnej są codzienne czynności higieniczne, takie jak szczotkowanie czy używanie irygatora. Przeprowadzone na psach ba-

danie wykazało w stosunku do fibroblastów dziąsła znaczący wzrost proliferacji i wydzielania macierzy zewnątrzkomórkowej – głównie syntezy prokolagenu typu I. PDLF ze względu na lokalizację (bariera kostna wyrostka zębodołowego) nie wykazują żadnej odpowiedzi na szczotkowanie [29]. W reakcji na pulsujący strumień płynu w fibroblastach dziąsła i włókien ozębnej dochodzi do gwałtownego wzrostu wydzielania prostaglandyny E2 po 1 godzinie, przy czym w PDLF wzrost wydzielania E2 utrzymuje się również po zakończeniu działania bodźca. W odróżnieniu od GF fibroblasty włókien ozębnej dodatkowo uwalniają tlenek azotu [30].

Ekspresja genów

Poziom transkrypcji większości genów jest podobny w PDLF i GF. Różnice ekspresji stwierdzono w wypadku 1,8% wszystkich genów – 163 geny wykazywały inną ekspresję [13]. Różnice dotyczą genów kodujących dla białek transbłonowych i białek pokrewnych cytoszkieletu – mają one tendencję do zwiększonej ekspresji w PDLF, podczas gdy w GF zwiększona jest ekspresja genów kodujących dla białek regulujących cykl komórkowy i metabolizm komórki. W PDLF większy jest poziom desmoplakiny, co może mieć związek z ochroną koneksonów w trakcie skurczu komórek pod wpływem przesuwania zębów i naprawy tkanek przyzębia. Zarówno PDLF jak i GF wykazują zbliżony wzorzec ekspresji mRNA. Pod wpływem rozciągania w GF doszło do zwiększenia ekspresji mRNA dla kodowania metaloproteinaz MMP-1 i MMP-2. W PDLF większy wzrost dotyczył kodowania dla MMP-1. W obu komórkach aktywność mRNA kodującego dla metaloproteinaz błonowych MT1-MMP była podobna i nie uległa zmianie pod wpływem rozciągania komórki. Rozciąganie wywołuje również zmiany w ekspresji mRNA kodującego dla α i β -integrzyn. W GF obserwujemy nadmierną ekspresję mRNA dla $\alpha 2$, $\alpha 6$, $\beta 1$, $\beta 3$ integrzyn i zahamowanie ekspresji mRNA dla $\alpha 3$. W PDLF zwiększeniu uległa ekspresja mRNA kodującego dla $\alpha 6$, ale nie dla $\alpha 2$ i $\beta 3$. Zmniejszeniu natomiast uległ poziom mRNA kodującego dla $\alpha 5$, który to poziom nie uległ zmianie w GF [13, 24].

Aktywność fosfatazy alkalicznej i innych markerów

Zarówno fibroblasty dziąsła, jak i fibroblasty ozębnej nie wykazują różnic w zakresie większości markerów biochemicznych. Fibroblasty włókien ozębnej wykazują ekspresję markerów specyficznych dla osteoblastów – osteopontyny, osteokalcyny i fosfatazy zasadowej, jednak mimo to nie ulega-

ją mineralizacji. Poziom aktywności fosfatazy alkalicznej jest różny w fibroblastach włókien ozębnej w zależności od miejsca w obrębie włókien ozębnej [14, 17]. PDLF mają znacząco wyższy poziom aktywności fosfatazy alkalicznej (ALPase) w porównaniu do GF. Mierzony po 4 dniach inkubacji komórek poziom fosfatazy alkalicznej w PDLF był jedynie nieznacznie wyższy niż w GF. Różnica stała się bardziej widoczna w 7 dniu inkubacji, kiedy poziom fosfatazy alkalicznej w fibroblastach włókien ozębnej wzrósł prawie dwukrotnie, a w fibroblastach dziąsłowych pozostał na niezmiennym poziomie. Różnica ta staje się bardziej widoczna w przypadku hodowli komórek w obecności dexametazonu. Steryd nie wpływa na poziom fosfatazy w FG, która pozostaje na niskim poziomie. PDLF jednakże wykazują wzrost aktywności fosfatazy alkalicznej o 170% po 4 dniach i o 260% po 7 dniach inkubacji [19, 31]. Aktywność fosfatazy alkalicznej w fibroblastach dziąsłowych zaobserwowano w dwóch przypadkach – w fibroblastach tkanki ziarninowej bogatej w fibronektynę powstałą w procesie gojenia oraz hodowli komórkowej w odpowiedzi na obecność kwasu askorbinowego [8].

Zarówno PDLF jak i GF reagują na prostaglandynę E2 i isoproterenol, produkują cykliczne AMP (cAMP) (wyższy poziom zaobserwowano w fibroblastach włókien ozębnej) i nie reagują na parahormon. Pod wpływem bradykininy i histaminy zwiększeniu ulega wydzielanie PGE2 z obu typów komórek, przy czym poziom prostaglandyny jest wyższy w przypadku fibroblastów dziąsła [31].

Reakcja na kwas lizofosfatydowy

Kwas lizofosfatydowy LPA powoduje wzrost proliferacji, migracji i wydłuża czas żywotności komórek. Zarówno GF jak i PDLF posiadają trzy receptory dla kwasu lizofosfatydowego – 1, 2, 3. Różnice pomiędzy dwiema grupami fibroblastów zaznaczają się w odpowiedzi chemotaktycznej na LPA. W GF głównym receptorem dla LPA jest receptor kwasu lizofosfatydowego 1, w PDLF aktywne były również receptory 2 i 3. W procesach gojenia zwiększają szybkość migracji fibroblastów dziąsłowych przez synergistyczne działanie z płytkopochodnym czynnikiem wzrostu PDGF-BB [8].

Podsumowanie

Powyższe informacje wskazują, że fibroblasty nie należą do homogennej grupy komórek. Znajdowane są w różnych tkankach i w zależności od tkanki i jej lokalizacji wykazują różnice w morfologii i metabolizmie komórek. Różnice mogą wynikać z faktu rozwoju mieszka zębowego z innych części.

Oświadczenia

Oświadczenie dotyczące konfliktu interesów

Autorzy deklarują brak konfliktu interesów w autorstwie oraz publikacji pracy.

Źródła finansowania

Autorzy deklarują brak źródeł finansowania.

Piśmiennictwo

- [1] Chang HY, Chi JS, Dudoit S, Bondre C, Van de Rijn M, Botstein D, Brown PO. Diversity, topographic differentiation, and positional memory in human fibroblasts. *PNAS*, October 1, 2002, vol.99, no.20, 12877–12882.
- [2] Chang Y, Li H, Guo Z. Mesenchymal Stem Cell-Like Properties in Fibroblasts. *Cell Physiol Biochem* 2014;34:703–714.
- [3] Abercrombie M. Fibroblasts. *J. cli. Path., Suppl. (Roy. Coll. Path.)*, 12, 1–6.
- [4] Ravikanth M, Soujanya P, Manjunath K, Saraswathi TR, Ramachandran CR. Heterogeneity of fibroblasts. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2011 May-Aug; 15(2):247–250.
- [5] Fries KM, Blieden T, Looney RJ, Sempowski GD, Silvera MR, Willis RA, Phipps RP. Evidence of fibroblast heterogeneity and the role of fibroblast subpopulations in fibrosis. *Clin Immunol Immunopathol*. 1994 Sep; 72(3):283–92.
- [6] Shah M, Patel A, Patel S, Surani J. Fibroblast Heterogeneity And Its Implication. *NJIRM* 2016: Vol. 7(5) September-October.
- [7] Lekic PC, Pender N, McCulloch CAG. Is Fibroblasts Heterogeneity Relevant To The Health, Diseases, And Treatment Of Periodontal Tissues? *Crit Rev Oral Biol Med* 8(3), 253–268 (1997).
- [8] Chiquet M, Katsaros Ch, Klefsas D. Multiple functions of gingival and mucoperiosteal fibroblasts in oral wound healing and repair. *Periodontology* 2000, Vol. 68, 2015, 21–40.
- [9] Häkkinen L, Larjava H, Fournier PJ. Distinct phenotype and therapeutic potential of gingival fibroblasts. *Cytotherapy*, 2014;16:1171–1186.
- [10] Mueller MM, Fusenig NE. Tumor-Associated Fibroblasts and their Matrix, 2011, XVI, 23–36.
- [11] Phipps RP, Borrello MA, Blieden TM. Fibroblast heterogeneity in the periodontium and other tissues. *J Periodont Res* 1997;32:159–165.
- [12] Nanci A, Bosshardt DD. Structure of periodontal tissues in health and disease. *Periodontology* 2000, Vol. 40, 2006, 11–28.
- [13] Archana A, Srikanth V, Sasireka, Kurien B, Ebenezer. Fibroblast Heterogeneity in Periodontium – a Review. *International Journal of Dental Sciences and Research*, 2014, Vol.2, No.3, 50–54.
- [14] Giannopoulou C, Cimasoni G. Functional Characteristics of Gingival and Periodontal Ligament Fibroblasts. *J Dent Res* 75(3), 895–902, March, 1996.
- [15] Irwin CR, Picardo M, Ellis I, Sloan P, Grey AM, McGurk M, Schor SL. Inter- and intra-site heterogeneity in expression of fetal-like phenotypic characteristics by gingival fibroblasts: potential significance for wound healing. *J Cell Sci* 107, 1333–1346 (1994).
- [16] Csiszar A, Wiebe C, Larjava H, Häkkinen L. Distinctive molecular composition of human gingival interdental papilla. *J Periodontol*, February 2007, Vol.78, Issue 2, 304–314.
- [17] Somerman MJ, Archer SY, Imm GR, Foster RA. A Comparative Study of Human Periodontal Ligament Cells and Gingival Fibroblasts in vitro. *J Dent Res* 67(1):66–77, January, 1988.
- [18] McCulloch CAG, Bordin S. Role of fibroblast subpopulation in periodontal physiology and pathology. *J Periodont Res* 1991;26:144–154.
- [19] Kuru L, Parkar MH, Griffiths GS, Newman HN, Olsen I. Flow cytometry analysis of gingival and periodontal ligament cells. *J Dent Res* 77(4):555–564, April, 1998.
- [20] Pagliarini A, Stabellini G, Carinci F, Calura G, Tognon M, Evangelisti R. Heterogeneity of fibroblast derived from human free and attached gingiva. Glycosaminoglycan synthesis and effects of phenytoin (PHT) treatment. *J Oral Pathol Med* 1995;24:72–77.
- [21] Mariotti A, Cochran DL. Characterization of Fibroblasts Derived From Human Periodontal Ligament and Gingiva. *J Periodontol* 1990;61:103–111.
- [22] Han X, Amar S. Identification of Genes Differentially Expressed in Cultured Human Periodontal Ligament Fibroblasts vs. Human Gingival Fibroblasts by DNA Microarray Analysis. *J Dent Res* 81(16):399–405, 2002.
- [23] Wanichpakorn S, Kedjarune-Laggat U. Primary cell culture from human oral tissue: gingival keratinocytes, gingival fibroblasts and periodontal ligament fibroblasts. *Songklanakar J. Sci. Technol.* 32(4), 327–331, Jul-Aug 2010.
- [24] Bolcato-Bellemin AL, Elkaim R, Abehsera A, Fausser JL, Haikel Y, Tenebaum H. Expression of mRNAs Encoding for α and β Integrin Subunits, MMPs, and TIMPs in Stretched Human Periodontal Ligament and Gingival Fibroblasts. *J Dent Res* 79(9):1712–1716, 2000.
- [25] Klefsas D, Basdra EK, Papavassiliou AG. Effect of protein kinase inhibitors on stretch-elicited c-Fos and c-Jun up-regulation in human PDL osteoblast like cells. *J cell Physiol* 2002;190:313–321.
- [26] Jiang N, Guo W, Chen M, Zheng Y, Zhou J, Kim SG, Embree MC, Song KS, Marao HF, Mao JJ. Periodontal Ligament and alveolar Bone in Health and Adaptation; Tooth Movement. *Front Oral Biol*. 2016, vol 18, 1–8.
- [27] D’Addario M, Arora PD, Ellen RP, McCulloch CA. Regulation of tension-induced mechano-transcriptional signals by the microtubule network in fibroblasts. *J Biol Chem* 2003;278:53090–53097.
- [28] Klimoto S, Matsuzawa M, Matsubara S, Komatsu T, Uchimura N, Kawase T, Saito S. Cytokine secretion of periodontal ligament fibroblasts derived from human deciduous teeth: effect of mechanical stress on the secretion of transforming growth factor-beta 1 and macrophage colony stimulating factor. *J Periodont Res* 1999;34:235–243.
- [29] Tomofuji T, Ekuni D, Yamamoto T, Horiuchi M, Sakamoto T, Watanabe T. Optimum force and duration of tooth-brushing to enhance gingival fibroblast proliferation and procollagen type I synthesis in dogs. *J Periodontol* 2003;74:630–634.

- [30] van der Pauw MT, Klein-Nulend J, van der Bos T, Burger EH, Everts V, Beertsen W. Response of periodontal ligament fibroblasts and gingival fibroblasts to pulsating fluid flow: nitric oxide and prostaglandin E2 release and expression of tissue non-specific alkaline phosphatase activity. *J Periodontol* 2000;35:335–343.
- [31] Ogata Y, Niisato N, Sakurai T, Furuyama S, Sugiya H. Comparison of the characteristics of human gingival fibroblasts and periodontal ligament cells. *J Periodontol* 1995 Dec;66(12):1025–31.

Zaakceptowano do edycji: 2020-10-06
Zaakceptowano do publikacji: 2020-10-06

Adres do korespondencji:

Sylwia Klewin-Steinböck
Katedra i Klinika Chirurgii Stomatologicznej
i Periodontologii
Bukowska 70
60-812 Poznań
mobile: +48602382525
e-mail: sylwiasteinb@wp.pl