

**WYBRANE ASPEKTY POWSTAWANIA ORGANICZNEJ
MACIERZY MINERALIZOWANYCH TKANEK ZĘBA
ORAZ ZMIANY JEJ FIZJOLOGII SPOWODOWANE
WPŁYWEM ENDOGENNEJ PROFILAKTYKI
FLUORKOWEJ. CZĘŚĆ II. ZĘBINA**

THE ASPECTS OF THE FORMATION OF EXTRACELLULAR MATRIX
IN MINERALIZED TISSUES INCLUDING THE DISTURBANCES
CAUSED BY FLUORIDE. PART II. DENTIN

Izabela MACIEJEWSKA, Zdzisław BEREZNOWSKI

Zakład Implantoprotetyki Akademii Medycznej w Gdańsku

Streszczenie: Powstawanie i mineralizacja zębiny przebiega w ściśle określony sposób. Apozycyjne odkładanie zębiny rozpoczyna się od wydzielania przez odontoblasty do przestrzeni zewnątrzkomórkowej kolagenu głównie typu I, będącego główną komponentą organicznej macierzy zębiny i tworzącego swoiste rusztowanie dla kryształów hydroksyapatytów. Mineralizacja zębiny rozpoczyna się od wydzielania bezpośrednio w okolicę tzw. frontu mineralizacji niekolagenowych białek o kwaśnym charakterze mających zdolność tworzenia z włóknami kolagenu wiązań kowalencyjnych, przy jednoczesnym silnym powinowactwie do jonów wapniowych. Dane z piśmiennictwa dowodzą, iż dla prawidłowej mineralizacji zębiny niezbędne jest współdziałanie wszystkich zarówno kolagenowych, jak i niekolagenowych białek biorących udział w tworzeniu organicznej macierzy. Jednym z pierwiastków mogących zaburzać to współdziałanie jest fluor wprowadzony do organizmu np. w postaci tabletek fluorkowych w trakcie tworzenia zębiny. W pracy opisano mechanizm tworzenia organicznej macierzy zębiny z uwzględnieniem najbardziej istotnych białek. Szczególną uwagę zwrócono na etapy w metabolizmie tych białek, na które fluor może wywierać niekorzystny wpływ powodując zaburzenia w prawidłowej mineralizacji zębiny.

Słowa kluczowe: macierz organiczna, zębina, fluorek.

Summary: The dentin formation and mineralization proceeds in the defined; matrix-mediated manner. It begins from the secretion of the organic matrix and ends with the complete mineral deposition. The dentin apposition takes place when odontoblasts begin the secretion of type I collagen into the extracellular compartment. Type I collagen is the main component of the dentin extracellular organic matrix and forms the specific scaffold for the deposition of dentin hydroxyapatite crystals. The dentin mineralization begins from the secretion of noncollagenous proteins directly at the mineralization front. These

noncollagenous, strongly acidic proteins are able to bind covalently to type I collagen fibrils. Concurrently they have the strong affinity to calcium ions. The available data confirm that the right interaction between collagen and noncollagenous proteins secretion as well as mineral deposition is the prerequisite for the complete dentin mineralization. The fluoride hypersupplementation when provided internally can alter this coordination. The mechanism of the formation of dentin extracellular matrix has been described. We focused our attention on the metabolism of the most important dentin matrix protein and emphasized the stages in the proteins metabolism which can be adversely affected by fluoride leading to the subsequent disturbances in the proper mineralization of dentin.

Keywords: extracellular matrix, fluoride, dentin.

Zębina jest zmineralizowaną tkanką zęba, której apozycyjne odkładanie trwa przez cały okres życia osobniczego w przeciwieństwie do szkliwa odkładanego do czasu ostatecznego ukształtowania korony zęba. Stopień zmineralizowania dojrzałej zębiny wynosi około 70%, związki organiczne stanowią 20%, woda 10%. Zębina jest strukturą bezkomórkową, zbudowaną z kryształów apatytów odkładających się wokół tzw. kanalików zębinowych i tworzących zębinę około- i międzykanalikową. W kanalikach zębinowych znajdują się włókna Tomesa będące wypustkami odontoblastów, odpowiedzialnych za tworzenie zębiny. Odontoblasty, pomimo iż są komórkami macierzystymi dla zębiny, różnicują się z komórek ektomezodermalnych brodawki zębowej, a tym samym morfologicznie należą do miazgi zęba. Poprzez wypustki cytoplazmatyczne zwane włóknami Tomesa, odontoblasty wydzielają składniki niezbędne do budowy zębiny, w tym białka budujące organiczną macierz zębiny [10,13,38,46]. Mineralizacja zębiny odbywa się poprzez odkładanie głównie hydroksyapatytów w kuliste struktury, tzw. kalkosferyty. Zębina granicząca bezpośrednio z odontoblastami nosi nazwę przezębiny. Odkładana przez całe życie przezębina, zbudowana jest głównie z organicznej macierzy tworzonej przez kolagen i białka niekolagenowe.

W dalszych etapach rozwoju i odkładania kolejnych warstw przezębiny, odontoblasty oddalają się od granicy szkliwno-zębinowej w kierunku miazgi zęba, natomiast przezębina ulega mineralizacji tworząc zmineralizowaną zębinę. Miejsce przejścia przezębiny w mineralizowaną zębinę nazwano frontem mineralizacji. Zrębem dla zębiny jest wydzielany przez preodontoblasty kolagen typu I oraz w znacznie mniejszej ilości kolagen typu V, stanowiące główną komponentę organicznej macierzy zębiny [4,7,45]. Kolagen typu III nie występuje w zębinie ze względu na możliwość blokowania mineralizacji tkanki [7, 45]. Pozostałe, niekolagenowe białka zębiny to spotykane również w innych tkankach proteoglikany, takie jak: osteokalcyna, osteonektyna, osteopontyna, sialoproteina kostna, dekoryn, proteina zębinowej macierzy-1 oraz dwa białka charakterystyczne jedynie dla zębiny – fosfoproteina zębinowa (DDP) i sialoproteina zębinowa (DSP), obydwa do niedawna uznawane jako wytwarzane i wydzielane jedynie przez odontoblasty oraz preameloblasty [5,12]. Z najnowszych doniesień Qin i wsp. wynika, że DSP jest wytwarzana również w kości, jakkolwiek jej stężenie w tkance kostnej określono na około 400-krotnie mniejsze niż w zębinie [32]. W badaniach D'Souza i wsp. stwierdzono ekspresję DSP również w komórkach miazgi zęba, jednak brak mRNA dla syntezy DSP w miazdze sugeruje, że ekspresja DSP w komórkach miazgi zęba jest skutkiem endocytozy [13,36]. Wydzielany przez odontoblasty kolagen typu I tworzy swoistą organiczną siatkę pierwotnie niezmineralizowanej zębiny.

Występujące w znacząco mniejszej ilości (około 15%) włókna kolagenu typu V układają się poprzecznie w stosunku do włókien kolagenowych typu I tworząc kowalencyjne wiązania poprzeczne [31,50]. W takiej właśnie „siatce” kolagenowej odkładane są w trakcie mineralizacji kryształy apatytów zębiny. Niekolagenowe białka wchodzące w skład organicznej macierzy zębiny głównie fosfoproteiny zębiny (DPP), wiążąc się za pomocą wiązań kowalencyjnych do włókien kolagenowych, w ściśle określonych miejscach o silnie dodatnim ładunku tzw. „bramkach”, mają zdolność inicjacji tworzenia kryształów apatytów [39,42]. Z powyższych obserwacji wynika, iż matryca rozkładu kryształów apatytów w zębinie jest bezpośrednio zależna od struktury przestrzennej włókien kolagenowych [11].

Do głównych niekolagenowych białek charakterystycznych dla zębiny należą fosfoproteina zębinowa (DPP) oraz sialoproteina zębinowa (DSP). DPP po kolagenie jest najobficiej występującym białkiem organicznej macierzy zębiny [11,12]. Masa cząsteczkowa DPP różni się znacząco u poszczególnych gatunków i wynosi 155 kDa dla bydła, 72 kDa dla myszy, 90 lub 38 kDa dla szczura. Różnice w precyzyjnym określeniu masy cząsteczkowej wynikają prawdopodobnie z zastosowanych metod badawczych [20]. Dla człowieka masa cząsteczkowa DPP wynosi 140 kDa. Komórkami odpowiedzialnymi za wytwarzanie DPP są odontoblasty oraz preameloblasty. DPP wydzielana jest do płynu zewnątrzkomórkowego otaczającego tworzący się pryzmat, poprzez wypustki odontoblastów zwane włóknami Tomesa, w miejscu oddalonym około 10–20 μm od miejsca granicy szklivno-zębinowej nazwanym frontem mineralizacji [22,34]. Tam tworząc elektrostatyczne wiązania z włóknami kolagenu w środowisku jonów wapniowych i fosforanowych, inicjuje powstawanie kryształów apatytów zębiny [21]. Charakterystyczną cechą fosfoproteiny zębiny jest wysoka zawartość fosfoseryny (45–50%) oraz kwasu asparaginowego (35–38%) nadających jej silnie kwaśny charakter. Punkt izoelektryczny dla DPP wynosi 1,1 [12]. Butler i wsp. wykazali występowanie trzech różnych form DPP zależnych od stopnia fosforylacji białka [8]. Są to formy wysokofosforylowana (HP) zawierająca około 50% reszt fosforowych, średniofosforylowana (MP) około 25% oraz niskofosforylowana (LP). Stopień fosforylacji DPP zdaje się odgrywać znaczącą rolę w mineralizacji zębiny, gdyż jedynie ufosforylowane białko ma zdolność krystalizacji kryształów apatytów zębiny [51]. W badaniach Marsh [26] wykazano jednoznacznie, że jedynie fosfoproteina o wysokim stopniu fosforylacji tworzy w środowisku jonów wapnia nierozpuszczalne kuliste kompleksy. Przy nasyceniu roztworu jonami wapnia równej 65% dochodzi w łańcuchach DPP do powstania wewnętrznych, kowalencyjnych wiązań poprzecznych. Liczba wiązań wzrasta proporcjonalnie do stopnia nasycenia roztworu jonami wapnia. Przy 100% nasyceniu roztworu wysokofosforylowana forma DPP może przyłączyć maksymalnie 1,33 jonu wapnia przypadających na jedną resztę fosforanową [26]. Tak silne powinowactwo do jonów wapniowych redukuje kwaśny charakter HP DPP. George i wsp. po dokonaniu analizy struktury końca COOH dla DPP oraz przejrzeniu biblioteki cDNA odontoblastów stwierdzili, że najczęściej powtarzającą się sekwencją 245 reszt aminokwasowych była triada Asp-Ser-Ser oznaczana jako DS*S* dla uwzględnienia fosforylacji seryny [14]. Na tej podstawie wysnuto wniosek, że fosforylowane reszty seryny zajmują miejsce na dwóch przeciwstawnych biegunach łańcucha głównego DPP, a reszty karboksylowe

kwasu asparaginowego tworzą dwa przeciwstawne wobec siebie brzegi „biegnące” równoległe do brzegów z reszt fosforanowych. Znacznie rzadziej występująca sekwencja końca terminalnego – COOH w DPP, składająca się z sekwencji S*D wykazuje strukturę dwóch zjonizowanych krańców w łańcuchach przestrzennych, gdzie grupy fosforanowe zgrupowane są na jednym końcu, a karboksylowe na końcu przeciwnym. Powyższe fakty wskazują, że fosfoproteina zębiny mająca silne powinowactwo do wiązania jonów Ca^{2+} , przyłączając się do kolagenu tworzy trójwymiarową strukturę reszt karboksylowych i fosforanowych, co przyczynia się do inicjacji krystalizacji kryształów hydroksyapatytów. W literaturze światowej istnieje zgodność dotycząca roli DPP w inicjacji procesu krystalizacji hydroksyapatytów zębiny [2,39]. Większość autorów uważa również, iż w późnej fazie sekrecyjnej oraz przejściowej i dojrzewania zawiązka zęba DPP i/oraz DSP stają się inhibitorami wzrostu kryształów apatytów oraz przyczyniają się do wydłużania okresu dojrzewania zębiny [3,41,43].

Drugim białkiem charakterystycznym dla zębiny jest sialoproteina zębinowa (DSP). DSP wytwarzana jest przez młode, sekrecyjne odontoblasty. Nie stwierdzono ekspresji sialoproteiny zębinowej w preodontoblastach. Potwierdzono natomiast jej obecność również w preameloblastach, przębinie i zębinie [5,9,13]. Szczególnie duże wysycenie DSP oznaczono w wypustce Tomesa odontoblastów, co mogłoby sugerować udział DSP w procesie mineralizacji [36]. DSP stanowi 5–8% zawartości zębiny. Jej masa cząsteczkowa oznaczona została na 53 kDa, jakkolwiek, w czasie elektroforezy niejednokrotnie identyfikowana jest jako 95 lub 210 kDa ze względu na silne ufosforylowanie (6,2 reszt fosforanowych/cząsteczkę) [33]. DSP zawiera 30% reszt węglowodanowych oraz 10% kwasu sialowego, jest bogata w glutaminę, asparaginę, serynę oraz glicynę [11,12]. Analiza genomu szczura wykazała istnienie dwóch form DSP. Funkcja, jaką pełni DSP w powstawaniu zębiny, nie została dotychczas poznana, jednak fakt kodowania DPP oraz DSP jako jednej sekwencji (rozdzielanej później na dwa różne białka) w chromosomie 4 genomu człowieka oraz 5 szczura oraz równoczesne pojawianie się DSP i DPP na froncie mineralizacji natychmiast po utworzeniu kolagenowej macierzy zębiny, a także ekspresja immunohistochemiczna DSP w odontoblastach i preameloblastach nasuwa przypuszczenie, że DSP w powiązaniu z DPP może pełnić znaczącą rolę w procesie mineralizacji zarówno zębiny, jak i szkliwa [23,35,36]. Prowadzone *in vitro* próby samoistnej krystalizacji hydroksyapatytów na powierzchni DPP i DSP dały wynik dla DSP znacząco słabszy w porównaniu z wynikiem DPP [2], dlatego przewiduje się możliwość pełnienia przez DSP roli białka regulatorowego (tzw. cząsteczki sygnalizacyjnej) we wzajemnym stymulacyjnym oddziaływaniu tkanki mezenchymatycznej (zębiny) oraz ektodermalnej (szkliwa) [12,13].

Kolejnym białkiem pierwotnie uznanym za specyficzne jedynie dla zębiny (występuje w odontoblastach sekrecyjnych) jest białko zębinowej macierzy-1 (DMP-1). Niedawno zostało ono jednak wykryte również jako białko składowe organicznej macierzy kości. Masę cząsteczkową DMP-1 określono na 175–200 kDa, jednak ze względu na małą stabilność białka produkty jego rozpadu najczęściej są identyfikowane na poziomie 57 kDa. Jego silnie kwaśny charakter spowodowany wysoką zawartością kwasu asparaginowego oraz glutaminowego, a także silne powinowactwo do jonów wapnia sugeruje, iż obok DPP i DSP DMP-1 bierze czynny udział w tworzeniu apatytów zębiny [11,15].

Badania *in vitro* potwierdziły, że DMP-1 wiążąc się w określonych końcach N-telopeptydu z kolagenem typu I powoduje zmianę konformacji przestrzennej włókien kolagenowych budujących organiczny zrąb zębiny oraz ułatwia odkładanie się apatytów zębiny jedynie w tzw. bramkach kolagenowych utworzonych w miejscu wiązania DMP-1 [16,40]. DMP-1 uważa się również za białko biorące udział w mineralizacji zębiny [6].

Poza wyżej wymienionymi, organiczną macierz zębiny tworzy szereg innych białek, np. sialoproteina kostna czy osteokalcyna, których funkcja dla dentinogenezy jest bądź mniej znacząca, bądź też dotychczas nieznaną. Jednakże fakt, iż występują one również w innych tkankach pochodzenia mezodermalnego, np. w tkance kostnej może sugerować, że w obydwu tkankach pełnią zbliżoną rolę.

ZAGROŻENIA W MINERALIZACJI ZĘBINY WYNIKAJĄCE Z EKSPOZYCJI NA JON FLUORKOWY

Fakt słabszej mineralizacji, a tym samym większego uwodnienia zębiny niż szkliwa sugeruje, iż jon fluorowy w zębinie gromadzi się w niej w większej ilości [44]. Milhaud i wsp. wykazał dwukrotnie większą koncentrację fluoru w zębinie niż szkliwie zwierząt przewlekle intoksykowanych fluorem w paszy [29]. Jednakże w piśmiennictwie spotyka się znacząco mniej doniesień dotyczących wpływu fluoru na zębinę. Appleton obserwował, że duże dawki fluoru zawarte w paszy skutkowały poważnymi zaburzeniami mineralizacji zębiny, co objawiało się powstawaniem rozległych przestrzeni międzykulistych wypełnionych białkami organicznej macierzy zębiny oraz zatarciem granicy pomiędzy niezmineralizowaną przębina a zmineralizowaną zębina [1]. Jarzynka i wsp. oprócz rozległych przestrzeni międzykulistych zauważyła szerokie prążki odwapnienia identyfikujące rejon słabszej mineralizacji [17,18,19]. W badaniach własnych zanotowano statystycznie istotnie większą objętość frakcji zębiny w grupie zwierząt pijących wodę ze śladową zawartością fluoru w porównaniu ze zwierzętami pojonymi wodą z małym (10 mg/l) lub wysokim (110 mg/l) stężeniem fluorku sodowego [25]. Badania wpływu fluoru na organiczną macierz zębiny wykazały zmiany zarówno w ekspresji kolagenu typu I będącego głównym organicznym budulcem zębiny, jak i białek niekolagenowych powstających w zębinie w okresie jej tworzenia i mineralizacji [30]. Veron i wsp. wykazał, w hodowlach komórkowych miazgi zęba traktowanych fluorem o stężeniu 10 ppm, 16-krotny spadek ilości m-RNA dla łańcucha $\alpha 1(I)$ kolagenu, przy jednoczesnym ograniczonym wpływie fluoru na ekspresję $\alpha 2(I)$ oraz $\alpha 1(III)$ [47]. Badania ostatnich lat udowodniły blokowanie przez fluor posttranslacyjnej fosforylacji fosfoproteiny zębinowej (DPP) jako skutek obniżenia aktywności fosfatazy alkalicznej, a także wzmożenia aktywności kinazy kazeinowej II będących bezpośrednio odpowiedzialnych za ostateczną fosforylację DPP [27,28]. Zmniejszenie ilości grup fosforanowych w DPP obniża jej zdolność do przyłączania jonów wapniowych, a tym samym mineralizację zębiny. Wstępne badania własne wskazują również na fluorozależną zmianę w ekspresji sialoproteiny zębinowej (DSP) w zawiązkach zębów szczura [24].

Podobnym modyfikacjom podlegają inne, niekolagenowe białka zębiny – proteoglikany. Badania hodowli tkankowych prowadzone w środowisku fluoru wykazały istotne obniżenie ekspresji oraz skrócenie czasu żywotności drobnocząsteczkowych białek bogatych w liszę typu I (SLRPs) w komórkach miazgi zęba oraz przyspieszoną substytucję dwuglikanu w siarczan dermatanu w przębinie, a następnie w siarczan chondroityny w zębinie [48]. Doniesienia ostatnich lat wskazują na silny wpływ środowiska fluorkowego na posttranslacyjną modyfikację glikoaminoglikanów, polegającą na skróceniu ich łańcucha, co z kolei zaburza fibrogenzę włókien kolagenowych organicznej macierzy zębiny [49]. Najnowsze doniesienia Vieira i wsp. [44] wskazują korelację pomiędzy stężeniem fluoru w zębinie a zmianami morfologicznymi w pryzmatach szkliwa będącymi skutkiem tabletkowej suplementacji fluorkowej, dlatego aktualne badania skierowane są na ustalenie wpływu fluoru na poszczególne niekolagenowe białka organicznej macierzy zębiny biorące udział w jej mineralizacji.

PIŚMIENNICTWO

- [1] APPLETON J. Formation and structure of dentine in the rat incisor after chronic exposure to sodium fluoride. *Scanning Microscopy* 1994; **8**: 711–719.
- [2] BOSKEY A, SPEVAK L, TAN M, DOTY SB, BUTLER WT. Dentin sialoprotein (DSP) has limited effects on *in vitro* apatite formation and growth. *Calcif Tissue Int* 2000; **67**: 472–478.
- [3] BOSKEY AL. Osteopontin and related phosphorylated sialoproteins: effects on mineralization. *Ann NY Acad Sci* 1995; **21**: 249–256.
- [4] BRONCKERS AL, GAY S, LYARUU DM, GAY RE, MILLER EJ. Localization of type V collagen with monoclonal antibodies in developing dental and periodontal tissues of the rat and hamster. *Coll Relat Res* 1986; **6**: 1–13.
- [5] BRONCKERS AL, D'SOUZA RN, BUTLER WT, LYARUU DM, VAN DIJK S, GAY S, WOLTGENS JH. Dentin sialoprotein: biosynthesis and developmental appearance in rat tooth germs in comparison with amelogenins, osteocalcin and collagen type-I. *Cell Tiss Res* 1993; **272**: 237–247.
- [6] BUTLER WT, BRUNN JC, QIN C, MCKEE MD. Extracellular matrix proteins and the dynamics of dentin formation. *Connect Tissue Inter* 2002; **43**: 301–307.
- [7] BUTLER WT. The structure of $\alpha 1$ chain of rat collagen. The triptic peptides from skin and dentin collagen. *Biochem Biophys Res Commun* 1972; **48**: 1540–1548.
- [8] BUTLER WT, BHOWN M, DRMUZIO MT, COTHARAN WC, LINDE A. Multiple forms of dentin phosphoproteins. *Arch Biochem Bioph* 1983; **225**: 178–186.
- [9] BUTLER WT, BROWN M, BRUNN JC, D'SOUZA RN, FARACH-CARSON MC, HAPPONEN RP, SCHROHENLOHER RE, SEYER JM, SOMERMAN MJ, FOSTER RA i wsp. Isolation, characterization and immunolocalization of a 53-kDa dentin sialoprotein (DSP). *Matrix* 1992; **12**: 343–351.
- [10] BUTLER WT. Dentin Matrix proteins and dentinogenesis. *Connect Tissue Res* 1995; **33**: 59–65.
- [11] BUTLER WT, RITCHIE H. The nature and functional significance of dentin extracellular Matrix proteins. *Int J Biol* 1995; **39**: 169–179.
- [12] BUTLER WT. Dentin Matrix proteins. *Eur J Oral Sci* 1998; **106**: 204–210.
- [13] D'SOUZA RN, BRONCKERS AL, HAPPONEN RP, DOGA DA, FARACH-CARSON MC, BUTLER WT. Developmental expression of a 53 KD dentin sialoprotein in rat tooth organs. *J Histochem Cytochem* 1992; **40**: 359–366.
- [14] GEORGE A, BANNON L, SABSAY B, DILLON J, MALONE J, VEIS A, JENKINS N, GILBERT D, COPELAND N. The carboxyl-terminal domain of phosphophoryn contains unique extended amino acid repeat sequences forming ordered carboxyl-phosphate interaction ridges that may be essential in the biomineralization process. *J Biol Chem* 1996; **271**: 32869–32873.

- [15] HAO J, ZOU B, NARAYANAN K, GEORGE A. Differential expression patterns of the dentin matrix proteins during mineralized tissue formation. *Bone* 2004; **34**: 921–932.
- [16] HE G, GEORGE A. Dentin matrix protein 1 immobilized on type I collage fibrils facilitates apatite deposition *in vitro*. *J Biol Chem* 2004; **279**: 11649–11656.
- [17] JARZYŃKA W, PUT A. Wpływ przewlekłego zatrucia fluorem na obraz morfologiczny zębiny szczura białego. *Czas Stomat* 1984; **37**: 169–175.
- [18] JARZYŃKA W, PUT A. Histomorfologiczne badania zębiny u szczurów eksponowanych na fluor. *Czas Stomat* 1982; **35**: 5–6.
- [19] JARZYŃKA W, PUT A, CEGLECKA M. Mikromorfologia zębiny siekaczy szczurów przewlekle narażonych na działanie fluorku amonowego. *Czas Stomat* 1990; **43**: 256–260.
- [20] JONTELL M, PERTOFT H, LINDE A. Disagreement in molecular weight determination of dentin phosphoprotein. *Biochim Biophys Acta* 1982; **10**: 315–320.
- [21] KUBOKI Y, FUJISAWA R, AOYAMA K, SASAKI S. Calcium-specific precipitation of dentin phosphoproteins: a new method of purification and the significance for the mechanism of calcification. *J Dent Res* 1979; **58**: 1926–1932.
- [22] LINDE A, LUSSI A, CRENSHAW MA. Mineral induction by immobilized polyanionic proteins. *Calcif Tissue Int* 1989; **44**: 286–295.
- [23] MacDOUGALL M, SIMMONS D, LUAN X, NYDEGGER J, FENG J, GU TT. Dentin phosphoprotein and dentin sialoprotein are cleavage products expressed from a single transcripts coded by a gene on human chromosome 4. *J Biol Chem* 1997; **272**: 835–842.
- [24] MACIEJEWSKA I, DOMARADZKA-PYTEL B, SPODNIK JH, WÓJCIE S, BUTLER WT, BEREZNOWSKI Z. DSP developmental expression in rats tooth germ supplemented with fluoride. Abstract, Joint Meeting of CED;NOF;ID of IADR, 25-29.08.2004 Istanbul, Turkey.
- [25] MACIEJEWSKA I, ADAMOWICZ-KLEPALSKA B, KMIEC Z, DZIEWIĄTKOWSKI J. Influence of diet and fluoride on dentin and enamel deposition and maturation in rats. *Folia Morphol* 2000; **59**: 131–136.
- [26] MARSH M. Binding of calcium and phosphate ions to dentin phosphophoryn. *Biochemistry* 1989; **28**: 346–352.
- [27] MILAN AM, WADDINGTON RJ, EMBERY G. Fluoride alters casein kinase II and alkaline phosphatase activity *in vitro* with potential implications for dentine mineralization. *Arch Oral Biol* 2001; **46**: 343–351.
- [28] MILAN AM, WADDINGTON RJ, EMBERY G. Altered phosphorylation of rat dentine phosphoproteins by fluoride *in vivo*. *Calcif Tissue Int* 1999; **64**: 234–238.
- [29] MILHAUD GE, CHARLES E, LOUBIERE ML, KOLF-CLAUW M, JOUBERT C. Effects of fluoride on secretory and postsecretory phases of enamel formation in sheep molars. *Am J Vet Res* 1992; **53**: 7.
- [30] MOSELEY R, WADDINGTON RJ, SLOAN AJ, SMITH AJ, HALL RC, EMBERY G. The influence of fluoride exposure on dentin mineralisation using an *in vitro* organ culture model. *Calcif Tissue Int* 2003; **73**: 470–475.
- [31] NIYIBIZI C, EYRE DR. Structural characteristics of cross-linking sites in type V collagen of bone. Chain specificities and heterotypic links to type I collagen. *Eur J Biochem* 1994; **224**: 943–950.
- [32] QIN C, BRUNN JC, CADENA E, RIDALL A, TSUJIGIWA H, NAGATSUKA H, NAGAI N, BUTLER WT. The expression of dentin sialophosphoprotein gene in bone. *J Dent Res* 2002; **81**: 392–394.
- [33] QIN C, BRUNN JC, BABA O, WYGANT JN, MCINTYRE BW, BUTLER WT. Dentin sialoprotein isoforms: detection and characterization of the high molecular weight dentin sialoprotein. *Eur J Oral Sci* 2003; **111**: 235–242.
- [34] RITCHIE HH, HOU H, VEIS A, BUTLER WT. Cloning and sequence determination of rat dentin sialoprotein a novel dentin protein. *J Biol Chem* 1994; **269**: 3698–3702.
- [35] RITCHIE HH, SHIGEYAMA Y, STRAYHORN C, HANKS CT, SOMERMAN MJ, BUTLER WT. Specific expression of DSP mRNA by odontoblasts. *J Dent Res* 1996; **75**: 153.
- [36] RITCHIE HH, BERRY JE, SOMERMAN MJ, HANKS CT, BRONCKERS AL, HOTTON D, PAPAGERAKIS P, BERDAL A, BUTLER WT. Dentin sialoprotein (DSP) transcripts: developmentally-sustained expression in odontoblasts and transient expression in pre-ameloblasts. *Eur J Oral Sci* 1997; **105**: 405–413.
- [37] RITCHIE HH, RITCHIE DG, WANG LH. Six decades of dentinogenesis research. *Eur J Oral Sci* 1998; **106**: 211–220.
- [38] SAITO T, ARSENAULT AL, YAMAUCHI M, KUBOKI Y, CRENSHAW MA. Mineral induction by immobilized phosphoproteins. *Bone* 1997; **21**: 305–311.
- [39] STETLER-STEVENSON WG, VEIS A. Type I collagen shows a specific binding affinity for bovine dentin phosphophoryn. *Calcif Tissue Int* 1986; **38**: 135–141.

- [40] TARTAIX PH, DOULAVERAKIS M, GEORGE A, FISHER L, BUTLER WT, QUIN C et al. *In vitro* effects of dentin matrix protein 1 on hydroxyapatites formation provide insights into *in vivo* functions. *J Biol Chem* 2004; **27**: 18115–18120.
- [41] TERMINE JD, EANES ED, CONN KM. Phosphoprotein modulation of apatite crystallization. *Calcif Tissue Int* 1980; **31**: 247–251.
- [42] TRAUB W, JODAIKIN A, ARAD T, VEIS A, SABSAY B. Dentin phosphophoryn binding to collagen fibrils. *Matrix* 1992; **12**: 197–201.
- [43] UDICH HJ, HOFT HD, BORING H. Effect of phosphoproteins on precipitation and crystallization of calcium phosphate salts. An *in vitro* study using an agar gel Matrix model. *Biomed Biochim Acta* 1986; **45**: 703–711.
- [44] VIEIRA AP, HANCOCK R, LIMEBACK H, MAIA R, GRYNPAS MD. Is fluoride concentration in dentin and enamel a good indicator of dental fluorosis? *J Dent Res* 2004; **83**: 76–80.
- [45] VOLPIN D, VEIS A. Cyanogen bromide peptides from insoluble skin and dentin bovine collagens. *Biochemistry* 1973; **12**: 1452–1464.
- [46] VEIS A. Mineral-Matrix interactions in bone and dentin. *J Bone Miner Res* 1993; **8**: 493–497.
- [47] VERON MH, COUBLE ML, MAGLOIRE H. Selective inhibition of collagen synthesis by fluoride in human pulp fibroblasts *in vitro*. *Calcif Tissue Int* 1993; **53**: 38–44.
- [48] WADDINGTON RJ, MOSELEY R, SMITH AJ, SLOAN AJ, EMBERY G. Fluoride-induced changes to proteoglycan structure synthesised within the dentin-pulp complex *in vitro*. *Biochim Biophys Acta* 2004; **1689**: 142–151.
- [49] WADDINGTON RJ, EMBERY G, HALL RC. The influence of fluoride on proteoglycan structure using a rat odontoblast *in vitro* system. *Calcif Tissue Int* 1993; **52**: 392–398.
- [50] YAMAUCHI M, CHANDLER GS, KATZ EP. Collagen cross-linking and mineralization. W: Chemistry and Biology of Mineralized Tissue. Elsevier, New York 1992; 39–46.
- [51] ZANETTI M, DE BERNARD B, JONTELL M, LINDE A. Ca²⁺ binding studies of the phosphoprotein from rat-incisor dentine. *Eur J Biochem* 1981; **113**: 541–545.

Redaktor prowadzący – Maciej Zabel

Otrzymano: 01.03. 2005 r.

Przyjęto: 21.09. 2005 r.

80-208 Gdańsk, ul. Orzeszkowej 18

e-mail: Izabelam@amg.gda.pl