

## DINTELE CA SURSĂ DE CELULE STEM

(studiu preliminar)

Stella Samson, Valeriu Burlacu, Victor Pălărie, Ieremia Zota, Viorel Nacu

Catedra Stomatologie Teraeutică FECMF, USMF „Nicolae Testimițanu”

Laboratorul de inginerie tisulară și cultivarea celulelor

### Summary

#### *Teeth as a source of stem cells*

Tooth loss compromises human oral health. Although several prosthetic methods, such as artificial denture and dental implants, are clinical therapies to tooth loss problems, they are thought to have safety and usage time issues. Recently, tooth tissue engineering has attracted more and more attention. Stem cell based tissue engineering is thought to be a promising way to replace the missing tooth. Mesenchymal stem cells are multipotent stem cells which can differentiate into a variety of cell types. This review outlines the recent progress in mesenchymal stem cell research and use in tooth regeneration [1, 2].

### Rezumat

Pierderea dinților compromite sănătatea umană orală. Deși, mai multe metode de tratament cum ar fi protezele artificiale și implanturile dentare și-au demonstrat siguranța de utilizare în timp. Recent, ingineria tisulară a capătă o vastă amploare. Celulele stem sunt considerate a fi o modalitate promițătoare pentru a înlocui dințele lipsă. Celulele stem mezenchimale sunt celule stem pluripotente care se pot diferenția într-o varietate de tipuri de celule. Acest articol prezintă progresele recente în cercetarea celulelor stem mezenchimale și utilizarea lor.

### Actualitatea

Ce sunt celulele stem? Ca medici stomatologi, de ce ar trebui să ne preocupe celule stem? Cum ar schimba celulele stem tratamentul în stomatologie? Probabil, dezvoltarea celule stem va face în timp, o revoluție mai mare decât au făcut-o implanturile dentare. Aliajele metalice, compozitele și chiar implanturi din titan nu sunt soluții permanente. În schimb, tehnologia de celule stem va genera țesuturi care sunt compatibile cu ale pacientului. Celulele stem sunt celulele care stau la baza formării tuturor țesuturilor și organelor și care se caracterizează prin capacitate de autoreplicare și capacitatea de diferențiere celulară. Autoreplicarea sau autoreînnoirea este capacitatea celulei stem de a da naștere unei celule-fiice identice cu ea însăși. Sunt celule care în anumite condiții se pot transforma în alte tipuri de celule, utile organismului nostru. Astfel din celulele stem din pulpa dinților temporari se poate genera substratul necesar formării dintelui. Celulele mezenchimale sunt celule stem care pot fi implantate în orice organism crescând imunitatea.[4]. Colectarea de celule stem dentare este ușoară, nedureroasă, rapidă și nu are complicații etice. Spre deosebire de celulele sângelui din cordonul ombilical, care trebuie să fie colectate imediat la naștere, celule stem dentare sunt derivate din dinții permanenții și temporari. Deoarece există 20 de dinți temporari, care pot fi folosiți pentru colectarea de celule stem, șansele de a găsi celule stem viabile este mai mare în comparație cu alte surse de celule stem.

În ultimii ani, datorită succeselor obținute în cercetările fundamentale, care permit cultivarea diferitelor tipuri de celule, se dezvoltă transplantarea celulară nu numai sub aspectul cercetărilor fundamentale, dar și sub aspectul utilizării lor în terapia unei diversități considerabile de patologii ale organismului uman. Actualmente, transplantarea celulară în cercetări fundamentale se utilizează pentru: studierea procesului de diferențiere a țesuturilor și a celulelor; elucidarea embriogenezei țesuturilor și a organelor; studierea interacțiunii diferitelor celule; formarea organelor *in vitro*; modelarea diferitelor maladii genetice umane; studierea mecanismelor de îmbătrânire și posibilitatea întineririi țesuturilor; obținerea himerelor genetice

pentru studierea mecanismelor imunității, rejecțiilor tisulare imune etc. [8, 9]. În experiment s-a încercat tratamentul defectului critic de os femural prin injectarea celulelor stem mezenchimale modificate genetic, recoltate din țesutul adipos [10].

În studiile referitoare la perspectiva utilizării celulelor predecesorii în terapia de substituție și de recuperare pot fi incluse un șir de patologii dobândite și congenitale. Domeniile posibile de utilizare a celulelor stem sunt: hematologie (leucemiile); cardiologie (infarctul miocardic); endocrinologie (diabetul); dermatologie (bolile țesutului conjunctiv); oncologie (leucemiile); sistemul nervos central și periferic (traumatisme crano-cerebrale cu afectarea țesutului neural); hepatologie (ciroza hepatică, hepatitele cronice); oftalmologie; otorinolaringologie; ortopedie și traumatologie (consolidări lente, pseudartroze, artroze deformante, osteomielite, defecte osoase, osteodistrofii) etc.

Funcția specifică morfogenetică a celulelor stem permite reglarea proceselor reparatorii în diferite organe – rinichi, ficat, oase, în afecțiuni toxice, ateroscleroză, osteoartroze, pseudartroze, distrofii osoase [7]. Sunt efectuate cercetări pentru creșterea dinților prin metoda ingineriei tisulare, care se realizează pe două căi: 1. Prin dentogeneză directă, când de la embrion se colectează mugurele dentar. Celulele obținute din el se cultivă și se implantează pe o construcție tridimensională, care are forma dintelui constituită din acizi organici (PGA (*Polyglycolic Acid*), PGLA (*Polyglactine*)) și se implantează în alveola dentară, unde sub acțiunea factorilor locali are loc dentogeneza; 2. Prin dentogeneză indirectă formarea dintelui se produce extraalveolar. După inocularea celulelor pe matrice construcția tisulară se plasează extraoral în țesuturile moi (oment, țesutul subcutan) ale pacientului pe un termen de 20-35 de săptămâni, după care dintele format se implantează în alveolă. Omul, ca organism pluricelular, este compus din multiple tipuri de celule diferențiate. Forma lor, capacitățile, proteinele exprimate în fiecare dintre ele sunt diferite, chiar dacă au aceeași origine – celulele predecesorii nediferențiate. În perioada de dezvoltare embrionară, sub acțiunea semnalelor moleculare, produse de celulele “de dirijare”, se alege un program genetic bine determinat, care conduce la diferențierea lor în celule specifice (neuroni, osteocite, miocite etc.) în timp și în modalitate perfect definite [236]. În organismul matur mai persistă celule nediferențiate, pluripotente, care încă nu au fost selectate de programul genetic pentru diferențiere. Aceste celule se activează pe parcursul vieții, permițând înlocuirea milioane de celule pierdute pe parcursul vieții. Numite celule stem, ele se transformă în substratul celular necesar, caracteristic regiunii în care se implantează: în țesutul nervos ele dau naștere neuronilor; în țesutul muscular – mioblastelor (miocitelor); în cel osos – osteoblastelor (osteocitelor) etc.

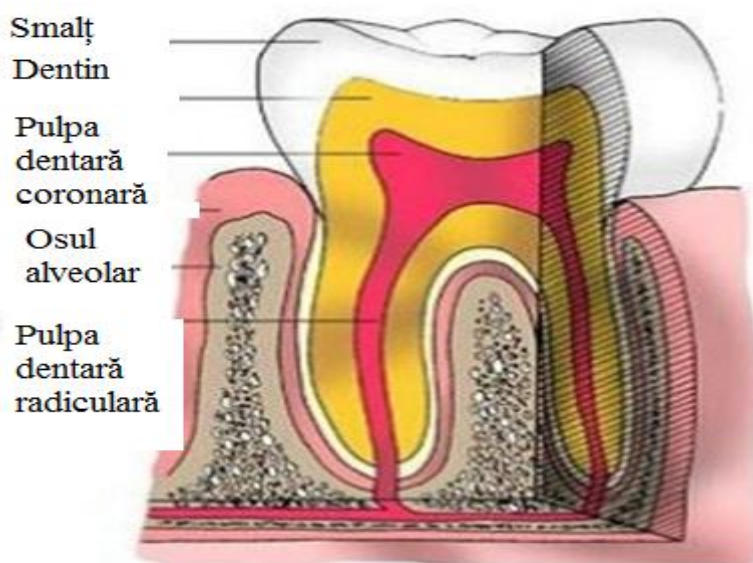


Fig.1 Diagrama molarului 3 uman ca o sursă de celule stem dentare.

Următorii dinți sunt sursa extragerii, separării și criogenării celulelor stem din pulpa dentară: dinții temporari, molarii de minte (molarii 3), dinți extrași în timpul tratamentului ortodontic [5].

### **Sarcinile**

Obținerea celulelor stem din pulpa molarilor la purceluși vietnamezi.

### **Materiale și metode**

Studiul a fost efectuat pe 25 de dinți extrași de la purceluși vietnamezi cu vârsta cuprinsă între 2-3 luni. Dinții a fost prelucrați în soluție antiseptică. Pulpa dentară a fost separată de coroana și radacina dintelui și apoi digerată într-o soluție de 3 ml - 0,25% dispază timp de 1 h la 37°C. După separare, celulele au fost cultivate într-un vas pentru cultivarea celulelor cu diametru de 3,0 cm., în MDEM, 10% FBS, 5% CO<sub>2</sub>, 96% umiditate, 37°C [7].

### **Rezultate**

Celulele au fost cultivate într-un vas pentru cultivarea celulelor cu diametru de 3,0 cm. pe parcursul a șapte zile. La sfârșitul acestei perioade, celulele au fost colorate cu soluție Romanovski și numărate la microscop.

Numărul de celule, după șapte zile de cultivare a fost:  $4,5 \pm 0,3 \times 10^6$ .

### **Concluzii**

Utilizarea celulelor stem din diverse structuri dentare constituie un nou subiect de cercetare în domeniul medicinei regenerative tisulare și organice. Cercetările în acest domeniu vizează posibilitățile terapeutice pe care diversele tipuri de celule stem adulte le pot avea în ameliorarea sau vindecarea anumitor afecțiuni. Deși posibilitățile complete de regenerare a țesuturilor dentare la oameni folosind celulele stem derivate nu sunt bine cunoscute, aceste celule ar putea juca un rol esențial pentru medicina, în special în reconstrucția regiunii craniofaciale.

### **Bibliografie**

1. Gronthos S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) *in vitro* and *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2000; 97: 13625–13630.
2. Gronthos S. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *J. Dent. Res.* 2002;81: 531–535.
3. Nacu V. Optimizarea regenerării osoase posttraumatice dereglate. Chișinău: “Tipografia – Sirius”, 2010. 188 p.
4. Shimonishi M. *In vitro* differentiation of epithelial cells cultured from human periodontal ligament. *J. Periodontal Res.* 2007;42: 456–465
5. Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) *in vitro* and *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 13625-13630.
6. Alliot-Licht B, Hurtrel D, Gregoire M. Characterization of α-smooth muscle actin positive cells in mineralized human dental pulp cultures. *Archives of Oral Biology* 2001; 46: 221–228.
7. Alliot-Licht B, Bluteau G, Magne D, Lopez-Cazaux S, Lieubeau B, Daculsi G, Guicheux J. Dexamethasone stimulates differentiation of odontoblast-like cells in human dental pulp cultures. *Cell Tissue Res* 2005; 321: 391–400.
8. Papaccio G, Graziano A, d'Aquino R, Graziano MF, Pirozzi G, Menditti D, De Rosa A, Carinci F, Laino G. 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(2):319-25.

9. Laino G, Graziano A, D'Aquino R, Dirozzi G, Lanza V, Valiante S, De Rosa A, Naro F, Vivarelli E, Papaccio G. An approachable human adult stem cell source for hard tissue engineering. *J Cell Physiol* 2006; 206:693-701.
10. About I, Bottero MJ, de Denato P, Camps J, Franquin JC, Mitsiadis TA. Human dentin production in vitro. *Exp Cell Res* 2000; 258(1):33-41.
11. Shiba H, Fujita T, Doi N, Nakamura S, Nakanishi K, Takemoto T, Hino T, Noshiro M, Kawamoto T, Kurihara H, Kato Y. Differential effects of various growth factors and cytokines on the syntheses of DNA, type I collagen, laminin, fibronectin, osteonectin/secreted protein, acidic and rich in cysteine (SPARC), and alkaline phosphatase by human pulp cells in culture. *J Cell Physiol* 1998; 174(2):194-205.
12. Lopez-Cazaux S, Bluteau G, Magne D, Lieubeau B, Guicheux J, Alliot-Licht B. Culture medium modulates the behaviour of human dental pulp-derived cells: technical note. *Eur Cell Mater* 2006; 11:35-42.

## **NECESITATEA RECONTURULUI CORONAR ÎN LEZIUNI PARODONTALE ȘI DUPĂ PROCEDEUL DE ALUNGIRE CORONARĂ**

**Vasile Cirimpei, Tatiana Cirimpei, Sergiu Ciobanu, Ana Ciobanu, Dumitru Munteanu**  
Catedra Stomatologie Terapeutică, USMF „Nicolae Testemițanu”

### **Summary**

#### *Necessity of the crown recontouring in periodontal lesions and after crown lengthening procedure*

Odontal coronal lesions which need a prosthetic treatment are still actual, and until a further sure methods of caries treatment are not found they will still be present. From the total number of teeth with these lesions, a series of them are in need of crown lengthening procedure. Emergence profile, as a matter of fact very important for all of the fixed prosthesis, is more delicate for this particular tooth group. In this paper we intend to analyze this particularities.

### **Rezumat**

Leziunile odontale coronare ce necesită tratament protetic sunt încă actuale, și atît timp cît nu vor fi gasite modalități sigure de a combate caria ele încă vor exista. Din numărul total de dinți cu LOC o serie necesită procedeul de alungire coronară. Profilul de deflecție, de altfel extrem de important pentru orice proteză fixă, este mult mai delicat pentru acest grup de dinți. În lucrarea dată ne propunem să analizăm aceste particularități.

### **Actualitatea**

Un studiu longitudinal relevă caria dentară la nivelul dinților ce mențin proteze dentare fixe în 3,3% din bonturile preparate la 5 ani, 10,0% la 10 ani, 12,0% la 15 ani [Valderhaug, 1993], nu mai menționăm o altă serie de leziuni ce impun procedeul de alungire coronară [Cirimpei, 2011]. Procedeul de alungire coronară, astfel fiind necesar pentru acest grup de dinți, va fi urmat de etapa protetică. Literatura clasică recomandă o morfologie coronară cu un ecuator obligatoriu pentru protecția parodontului. De recent aceasta necesitate este des negată și considerată ca factor ce induce inflamația parodontală persistentă.

### **Obiectivele**

O serie de articole manifestă un interes deosebit asupra protecției gingivale, conturului de autocurățire, amplasării marginelor protetice precum și accesului la igienă de către pacient. Protecția gingivală ca principiu are bază doar empirică, o serie de manuale cu profil stomatologic au prezentat acest concept, dar fără careva dovezi științifice [Glikman, Goldman, Weeler, Krauss]. Astfel se presupune că profilul de emergență ar trebui să fie în așa mod încît bolul