

CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES Y
REPARADORAS DE LOS RESTOS
EPITELIALES DE MALASSEZ (REM).

FUNCTIONAL AND REPAIRING
CHARACTERISTICS OF THE REMAINS
EPITHELIALS OF MALASSEZ (REM).

Laboratorio de Biología Molecular y Biotecnología
Facultad de Odontología - UNLP
Calle 50 e/ Av. 1 y 115 La Plata (1900). Bs. As. Argentina.
karinamayocchi@hotmail.com
Financiamiento: Universidad Nacional de La Plata

• Mayocchi K; Blasetti N; Mayocchi M; Echeverría N; Dorati P; Arcuri A; De Vita L; Darrigran L, Sirimarco, K. •

RESUMEN Numerosos estudios demostraron que los Restos Epiteliales de Malassez (REM) son considerados reservorios de células madre con alta capacidad de diferenciación, que se pueden aislar permitiendo su cultivo *in vitro* para la formación de diferentes tejidos como hueso, cemento y estructuras como fibras de Sharpey. El objetivo de este trabajo fue transmitir hallazgos emergentes vinculados a la patogénesis y reparación apical a través de la estructura y función de los REM. Se seleccionaron investigaciones relevantes, se recopilaron datos sobre cultivos de CM de saco periodontal, ligamento periodontal y quiste inflamatorio del Laboratorio de Biología Molecular y Biotecnología. Se seleccionó un paciente de 20 años, masculino, el cual presentaba imagen radiolúcida indolora alrededor de pieza 4.8 retenida, con diagnóstico presuntivo de quiste dentígero. Se realizó según protocolo la enucleación del quiste y exodoncia de la pieza dentaria. Se tomó biopsia de la lesión dividiéndola en dos partes: una conservada en formaldehído al 10%, y la segunda derivada al LBMB-FOLP, donde se realizaron explantes del saco para la obtención de CMM mediante la técnica de cultivo y expansión celular. La similitud entre las CM del saco periodontal y las células quísticas permiten inferir la presencia de CM en los REM.

Palabras clave: RESTOS EPITELIALES - CÉLULAS MADRE - QUISTES

SUMMARY Numerous studies have shown that Malassez Epithelial Remains (MER) are considered reservoirs of stem cells with high differentiation capacity, which can be isolated allowing their culture *in vitro* for the formation of different tissues such as bone, cementum and structures such as Sharpey fibers. The objective of this work was to convey emerging findings related to apical pathogenesis and repair through the structure and function of MERs. Relevant investigations were selected, data were collected on SC cultures from the periodontal sac and inflammatory cyst from the Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology. A 20-year-old male patient was selected, who presented a painless radiolucent image around the 4.8 retained tooth, with a diagnosis presumptive dentigerous cyst. The cyst enucleation and tooth extraction were performed according to the protocol. A biopsy of the lesion was taken, dividing it into two parts: one conserved in 10% formaldehyde, and the second derived to LBMB-FOLP, where sac explants were made to obtain MSCs using the cell culture and expansion technique. The similarity between the SC of the periodontal sac and cystic cells allows us to infer the presence of SC in MER.

Palabras clave: EPITHELIAL REMAINS - STEM CELLS - CYSTS

INTRODUCCIÓN

Numerosos estudios han demostrado que los Restos Epiteliales de Malassez (REM) son considerados reservorios de células madre (CM) con alta capacidad de diferenciación, que se pueden aislar y modificar, lo que permite su cultivo *in vitro* para la formación posterior de diferentes tejidos como hueso, cemento y estructuras como las fibras de Sharpey. Fue Serres quien las describió por primera vez considerándolas restos del órgano del esmalte. Décadas después, Legros y Magiot describieron su origen epitelial y las relacionaron con la formación de quistes y otras patologías (1). Malassez, en 1885, realizó un estudio de estas células en cortes de dientes tanto transversales como longitudinales para microscopía óptica y así evidenció su presencia como una red alrededor de la raíz dentaria incluyendo el área de furcación; además, describió sus características histológicas y confirmó que se encuentran en el ligamento periodontal adulto. Por estos hallazgos se considera a Malassez como el investigador principal de estos restos y llevan su nombre (1-3). La cercanía de estas células a tejidos de la zona periodontal o periapical puede producir que los restos proliferen y den como resultado la formación de procesos inflamatorios y neoplásicos en el transcurso del desarrollo, porque en este periodo las células presentan mayor potencial para la formación de tejidos. Los REM se presentan como numerosas islas de células epiteliales escamosas no queratinizadas, bien diferenciadas y redondeadas, distribuidas en un tejido fibroso. Varios autores describieron su participación en distintas patologías, como quistes y tumores odontogénicos. Estudios recientes también demostraron que cumplen una función importante no solo en el ligamento periodontal normal, sino también en los tratamientos periodontales regenerativos, ya que se hallan sobre todo en las regiones supracrestales, donde los tejidos contienen más colágeno, lo que evidencia su participación en la regeneración periodontal. Después que la amelogénesis ha sido completada, se genera, por la unión del epitelio interno y externo del órgano del esmalte, la denominada vaina radicular de Hertwig, considerada el límite entre dos tejidos ectomesenquimales como la papila y el folículo dental. Ella es la responsable de la formación radicular. A medida que va creciendo, induce a la papila dentaria a formar los primeros odontoblastos y da inicio a la formación de la dentina radicular; este proceso hace que la vaina radicular de Hertwig pierda continuidad y nutrición por parte de la papila dental, lo que da lugar a la formación de fragmentos epiteliales llamados REM (7). Al mismo tiempo, células ectomesenquimales del saco dentario se juntan en la superficie externa de la dentina recién formada y comienza su diferenciación en cementoblastos para formar la matriz orgánica del cemento (3, 8). Por lo tanto, los REM son considerados células epiteliales o grupos de células de la vaina epitelial que sobreviven en el adulto dentro del ligamento periodontal (7). Histológicamente son células epiteliales con las siguientes características: forma poliédrica, relación núcleocitoplasmática muy alta, núcleo de forma irregular teñido intensamente, presencia de heterocromatina densa, citoplasma pequeño delineado por un halo, mitocondrias abundantes, RER poco desarrollado, presencia de proteínas, de las cuales las más importantes son las citoqueratinas (10,15). Se demostró que persisten dentro de una matriz mesenquimática en la vida posnatal (5). Los REM presentan complejos de unión específicos como tonofilamentos, hemidesmosomas, desmosomas y uniones estrechas cuya función es facilitar el paso de agua e iones entre las células que los conforman. Entre las numerosas funciones, los REM

participan en el mantenimiento y regeneración del ligamento periodontal, mantenimiento del espacio periodontal, prevención de la reabsorción radicular y la anquilosis, y se encargan de la homeostasis del ligamento periodontal (LP), tienen la capacidad de reparar el tejido del LP, promueven el crecimiento de terminales nerviosas, contribuyen a la diferenciación de ameloblastos, participan en la reparación y regeneración del cemento mediante una transición epitelial mesenquimal —con la posterior diferenciación en cementoblastos en la etapa inicial de formación de la raíz— (6). Por otra parte, los REM ayudan a la síntesis de fibras colágenas mediante la secreción de colagenasa. Este proceso ayuda a la remodelación ósea (10). Las células madre viven en varios tejidos y tienen la capacidad de autorrenovación y diferenciación en varios linajes. Al reaccionar frente a estímulos ambientales, son capaces de proliferar, ir a otros lugares y regenerar tejidos que se encuentren dañados (5). Existen muchas investigaciones sobre la población de células madre derivadas de varios tejidos como la pulpa dental, dientes temporarios, ligamento periodontal, papila apical, folículo dental y encía. Los estudios referentes a la población de CM a partir de los REM aún son escasos; sin embargo, se demostró que los REM son considerados CM debido a que entran en una transformación epitelial-mesenquimática por compartir características tanto fenotípicas como funcionales similares a los de las CMM y expresan los mismos marcadores de superficie. Por lo tanto, pueden diferenciarse en células tanto de origen ectodérmico como mesodérmico con característica multilineal, es decir, con la capacidad de diferenciarse en osteoblastos, condrocitos, adipocitos, cementoblastos y otros; la diferenciación se puede hacer de forma *in vivo* como *in vitro* (6,9,11).

El papel de los REM en la formación de patologías

El origen de quistes y tumores de los maxilares son atribuidos en gran parte a los epitelios odontogénicos embrionarios. Entre ellos encontramos los restos de Serres, como resultado de la desorganización de la lámina dental; los REM, producto de la fragmentación de la vaina radicular de Hertwig, y los restos del epitelio reducido del esmalte. Los mencionados restos están en estado latente, pero pueden reactivarse y continuar su crecimiento, lo que da lugar a la formación de diferentes patologías (14). Para ello, es condición que se genere una inflamación de origen pulpar en la región periapical o lateral radicular (14); posteriormente, se presenta una periodontitis apical crónica, entidad comúnmente conocida como granuloma, en la cual se observan nidos de epitelio formados por REM con gran capacidad de crecimiento. Estos forman pequeñas islas, hebras o cordones de diferentes grosores, en una trama de tejido sin licuefacción central (14). Si los restos siguen siendo estimulados por el proceso inflamatorio, seguirán proliferando hasta lograr la formación de una cavidad quística cubierta parcial o totalmente por epitelio, con contenido líquido o semilíquido. En ambos casos, son los estímulos inflamatorios e infecciosos los que actúan, basados en una predisposición genética, como elementos iniciales para la proliferación de estos restos epiteliales. Histológicamente, cuando las células presentan una distribución espacial en forma de cordones reciben el nombre de granuloma apical epitelializado, y cuando no se observa esta distribución se les denomina granuloma apical simple (1, 3). El proceso de inflamación asociado a estructuras radiculares, unido a factores de crecimiento, estimulan la prolife-

ración tridimensional de los REM, lo que provoca una hiperplasia de los tejidos afectados. En el caso de los quistes inflamatorios de origen dentario, el incremento del suministro de sangre es seguido por una necrosis central (5). Para los casos del queratociste odontogénico, el quiste dentífero y el quiste apical inflamatorio, a pesar del diagnóstico clínico, radiológico e histopatológico, puede existir la posibilidad de que presenten características histológicas similares, lo que dificulta un diagnóstico definitivo. En esos casos se recurre a estudios bioquímicos como la detección de expresiones de citoqueratinas (15). LA aparición de las mismas en el desarrollo dentario ha sugerido también su presencia en la formación de quistes y tumores odontogénicos. Es decir, la expresión de queratina no solo permite identificar a una célula como epitelial, también permite que sea un importante auxiliar de diagnóstico para determinar la posible histogénesis de lesiones quísticas y tumorales de origen odontogénico (14) Entre los quistes que se originan a partir de los REM está el quiste radicular, considerado como el más común de la cavidad oral, y que se produce después de la pérdida de la barrera biológica que protege a la pulpa dental, por caries invasiva o por trauma dental, que lleva a la necrosis pulpar, la formación de un granuloma y, finalmente, la formación quística a nivel apical con un diente no vital. Así mismo, el crecimiento en número de los REM es considerado como la razón principal para la formación de lesiones patológicas, siendo las más frecuentes, como ya se mencionó, los quistes inflamatorios como el periapical o el residual, el quiste periodontal, el quiste paradental y el quiste odontogénico calcificante. El objetivo de este trabajo es transmitir hallazgos emergentes vinculados a la patogénesis y reparación apical a través de la estructura y función de los REM.

MATERIAL Y MÉTODO

Se seleccionaron las investigaciones más relevantes, analizadas respecto a las características funcionales y reparadoras de los REM mediante motores de búsqueda. Al mismo tiempo se recopilaron datos sobre cultivos de CM de saco periodontal y quiste inflamatorio del Laboratorio de Biología Molecular y Biotecnología (LBMB). Se seleccionó un paciente 20 años de edad, sexo masculino, el cual presentaba una imagen radiolúcida indolora de aproximadamente un centímetro alrededor de la pieza dentaria 4.8, retenida, con diagnóstico presuntivo de quiste dentífero. Luego de realizar el protocolo y bajo anestesia local se realizó el tallado del colgajo y legrado para enuclear el quiste y la exodoncia de la pieza dentaria en retención ósea. Se tomó una biopsia de la lesión la cual se dividió en dos partes: una conservada en formaldehído al 10 % para realizar el estudio histopatológico, y la segunda se derivó a LBMB-FOLP, donde se realizó explantes de la membrana quística para la obtención de CM mediante la técnica de cultivo y expansión celular, puesto a punto en proyecto anterior. Asimismo, se colocaron en cultivo homólogo el tejido resultante del raspaje de la raíz en formación. Para analizar las características morfológicas y el comportamiento in vitro de las células del saco dental, ligamento periodontal y quiste radicular se realizaron observaciones bajo el microscopio invertido de contraste de fases (LeicaD-Mil). El aspecto morfológico se determinó mediante coloración de rutina H-E para Microscopía óptica

RESULTADOS

Se halló correlación morfofuncional entre las células Quísticas en cultivo (fig. 1) y las CM del saco periodontal (fig.2) y ligamento periodontal, donde se observa una confluencia de células epiteliales (fig. 3). El resultado histopatológico arrojó hiperplasia irregular del epitelio e infiltración crónica activa severa (Fig. 4). Se observa en forma focal en el espesor del estroma una cavidad de aspecto quístico, colapsada, revestida por epitelio estratificado (fig. 5), correspondiente a quiste dentífero inflamatorio.

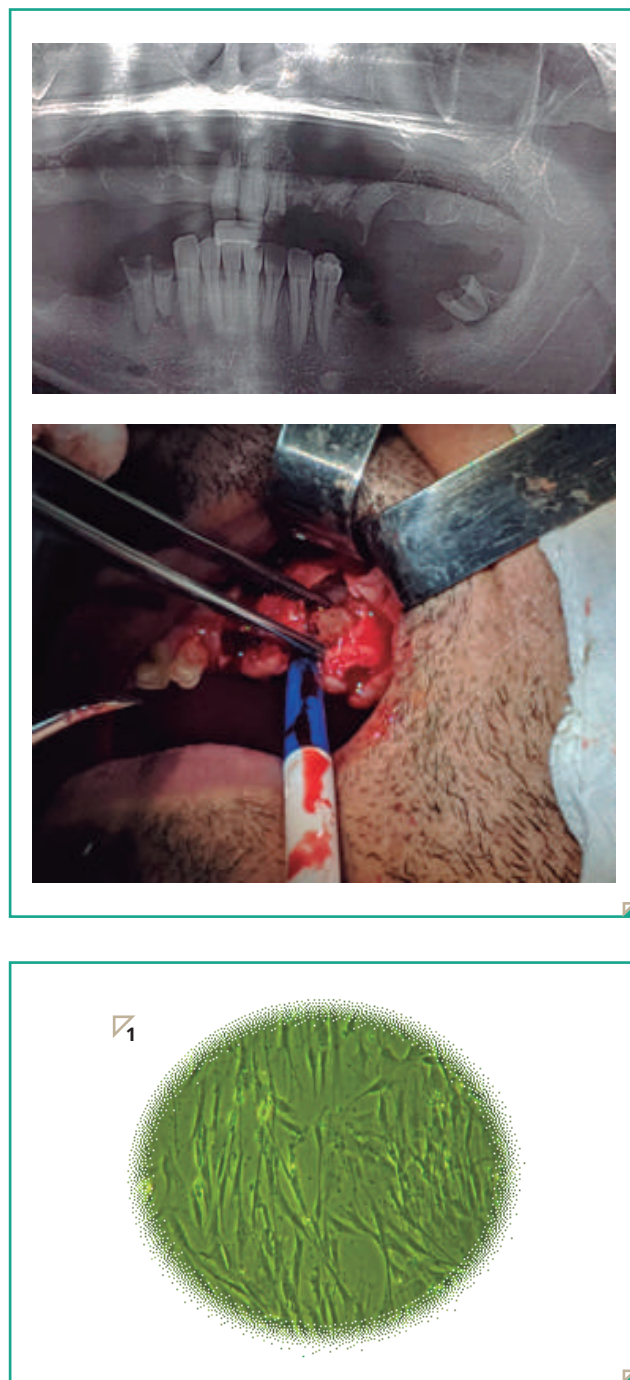
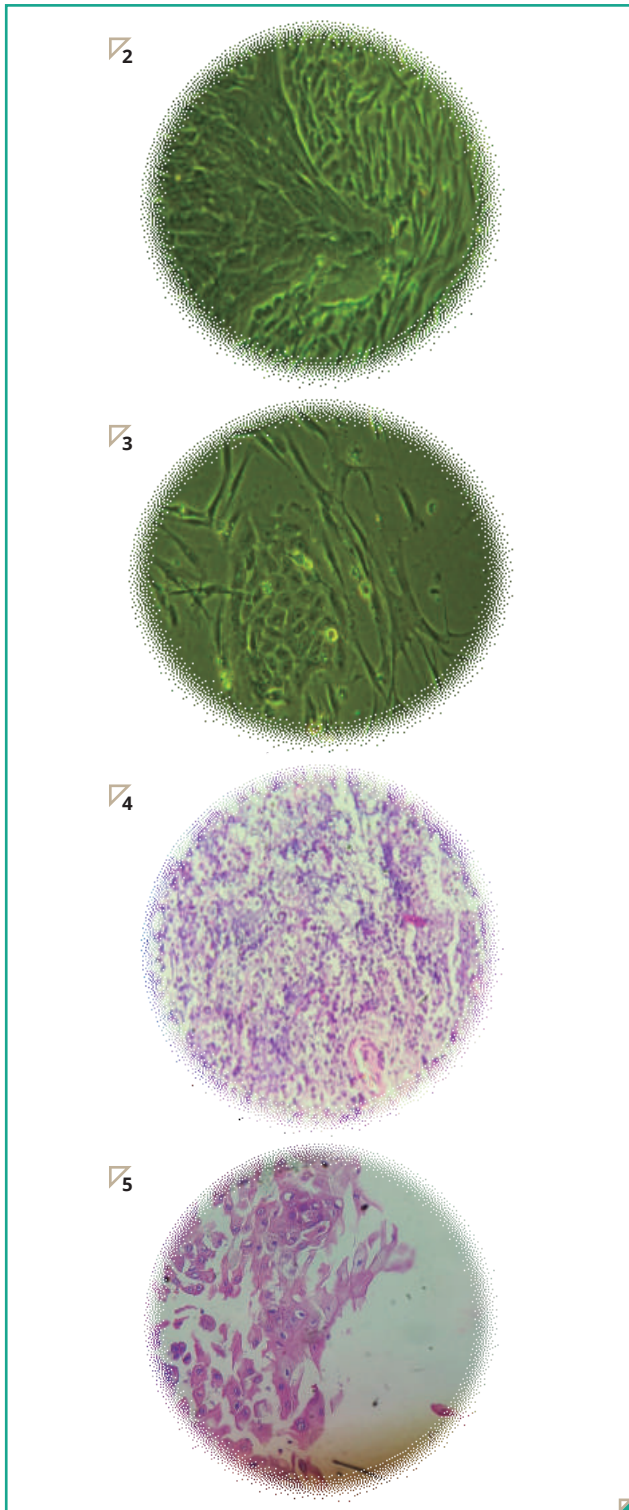


Figura 1.



Figuras 2 a 5.

CONCLUSIONES

La similitud entre las CM del saco periodontal y las células quísticas, y la presencia de células epiteliales en el ligamento periodontal en cultivo, nos permiten inferir la presencia de CM en los REM, lo cual confirma los hallazgos preexistentes y conforme a la literatura analizada. La generación de conocimientos sobre CM de saco dental, y la identificación de poblaciones de CM compatibles con la patología quística hace factible la extrapolación a la clínica odontológica, tanto en el conocimiento de la patogenia como en la posibilidad de reparación y regeneración del tejido apical a partir de dichas células.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Serres A. *Essai sur L'anatomie et la physiologie des dents ou nouvelle théorie de la dentition*. Mequignon-Marvis, Paris. 1817; 28.
2. Malassez L. *Sur l'existence de restes épithéliaux autour de la racine des dents chez l'homme adulte et à l'état normal (debris épithéliaux paradentaires)*. Arch Physiol. 1885; 5: 129-48.
3. Pulitano Manisagian GE, Núñez FL, Mandalunis PM. *El rol de los restos epiteliales de Malassez en el ligamento periodontal*. Rev. Fac. Odontol. (B.Aires). 2012; 27: 35-46.
4. Rincón JC, Young WG, Bartold PM. *Minirevision. Los restos epiteliales de Malassez: ¿un posible papel en la regeneración periodontal?* Univ Odontol. 2009; 28 (60): 19-28.
5. Becktor KB, Nolting D, Becktor JP, Kjaer I. *Immunohistochemical localization of epithelial rests of Malassez in human periodontal membrane*. Eur J Orthod. 2007; 29 (4): 350-3.
6. Xiong J, Mrozik K, Gronthos S, Bartold PM. *Epithelial cell rests of Malassez contain unique stem cell populations capable of undergoing epithelial-mesenchymal transition*. Stem Cells Dev. 2012; 21 (11): 2012-25. doi: 10.1089/scd.2011.0471
7. Luan X, Ito Y, Diekwisch TG. *Evolution and development of Hertwig's epithelial root sheath*. Dev Dyn. 2006; 235 (5): 1167-80. doi: 10.1002/dvdy.20674
8. Foster BL, Popowics TE, Fong HK, Somerman MJ. *Advances in defining regulators of cementum development and periodontal regeneration*. Curr Top Dev Biol. 2007; 78: 47-126.
9. Tsunematsu T, Fujiwara N, Yoshida M, Takayama Y, Kujiraoka S, Qi G, et al. *Human odontogenic epithelial cells derived from epithelial rests of Malassez possess stem cell properties*. Lab Invest. 2016; 96 (10): 1063-75.
10. Volponi AA, Pang Y, Sharpe PT. *Stem cell-based biological tooth repair and regeneration*. Trends Cell Biol. 2010; 20 (12): 715-22. doi: 10.1016/j.tcb.2010.09.012.
11. Tansiratanawong K, Ishikawa H, Toyomura J, Sato S. *Establishment and characterization of novel epithelial-like cell lines derived from human periodontal ligament tissue in vitro*. Hum Cell. 2017; 30 (4): 237-48.
12. Sala-Pérez S, Marco-Molina V, Gay-Escoda C. *Squamous odontogenic tumor-like proliferation in a radicular cyst: A case report*. J Clin Exp Dent. 2013; 5 (5): e298-301.
13. Keinan D, Cohen RE. *The significance of epithelial rests of Malassez in the periodontal ligament*. J Endod. 2013; 39 (5): 582-7. doi: 10.1016/j.joen.2013.01.004 Rev Cient Odontol (Lima). 2020; 8(1): e008 Los restos de Malassez, vida y destino en los tejidos odontogénicos.
14. Ide F, Obara K, Yamada H, Mishima K, Saito I, Horie N, et al. *Hamartomatous proliferations of odontogenic epithelium within the jaws: a potential histogenetic source of intraosseous epithelial odontogenic tumors*. J Oral Pathol Med. 2007; 36 (4): 229-35.
15. Chu PG, Weiss LM. *Keratin expression in human tissues and neoplasms*. Histopathology. 2002; 40 (5): 403-39.