

In Vitro and in Vivo investigation on stem cells isolated from pulp and gingival tissues from periodontally compromised teeth.

In vitro en in vivo onderzoek naar stamcellen geïsoleerd uit de pulpa en gingivale weefsels van periodontisch aangetaste tanden.

Dr. Rodolfo Mauceri

Abstract

Tissue engineering (TE) and regenerative medicine are interdisciplinary fields that provide new regenerated tissues by the development of biological substitutes that restore, maintain and or improve tissue function.

Dental pulp stem cells (DPSCs) and gingival mesenchymal stem cells (GMSCS) are a valuable source of stem cells for bone tissues regeneration.

The main objective of the present study is to evaluate the ability of DPSCs and GMSCs harvested from periodontally-affected teeth to produce *in vitro* and *in vivo* new mineralized bone tissue, in comparison to healthy teeth.

Weefsel engineering (TE) en regeneratieve geneeskunde zijn interdisciplinaire vakgebieden die samen zorgen voor weefselregeneratie door de ontwikkeling van biologische alternatieven die de weefselfunctie herstellen, onderhouden en verbeteren.

Dentale pulpa stamcellen (DPSCs) en gingivale mesenchymale stamcellen (GMSCs) zijn waardevolle bronnen voor stamcellen voor botweefsel regeneratie.

Het hoofddoel van de huidige studie is om de capaciteit na te gaan van deze DPSCs en GMSCs, geogst uit periodontaal aangetaste tanden, om in vitro en in vivo nieuw gemineraliseerd botweefsel te produceren, in vergelijking met gezonde tanden.

Summary (Informative Abstract)

Dental pulp stem cells (DPSCs) and gingival mesenchymal stem cell (GMSCs) represent an alternative source of mesenchymal stem cells, their features make them ideal for bone tissue engineering. In this study, we verified the ability of DPSCs and GMSCs harvested from periodontally compromised teeth to produce *in vitro* and *in vivo* new mineralized bone tissue, in comparison to healthy teeth.

Initially, we isolate DPSCs and GMSCs from dental pulp and gingiva harvested from patients suffering of severe periodontitis (Test group) and from healthy patients (Control group). To characterize DPSCs and GMSCs colony-forming assay and cytofluorimetric and mRNA real time quantification analysis were performed. The effects of pro-inflammatory cytokines on MSC cell proliferation and differentiation potential were investigated. Furthermore, we investigated the capability of DPSCs and GMSCs to colonize Poly-L-lactic Acid (PLLA) scaffolds, produced by mean of Thermally Induced Phase Separation technique (TIPS). Finally, we investigate the capability of DPSCs and GMSCs from both studied groups to induce bone formation *in vivo*.

Our findings provide evidence that tissue (both pulp and gingiva) from periodontally-compromised teeth can be used as source of MSCs with intact stem properties and increased differentiation potential. Pro-inflammatory cytokines activate a cytoskeleton remodeling by recruiting heat shock proteins (HSPs) including HSP90, HSPA9, thioredoxin-1 and actin-depolymerizing factors (ADFs) as profilin-1, cofilin-1 and vinculin that probably mediated the advantage acquisition in inflamed environment. Moreover, the DPSCs and GMSCs have been shown the capability to colonize successfully the PLLA scaffolds, but, in the animal study group, we did not observe new bone formation. Indeed, new in vivo studies are ongoing: PLLA scaffolds with DPSCs or GMSCs were implanted, in order to provide a more stable osteoinductive and osteoconductive structural support.

Dentale pulpa stamcellen (DPSCs) en gingivale mesenchymale stamcellen (GMSCs) vertegenwoordigen een alternatieve bron voor mesenchymale stamcellen. De eigenschappen van deze celtypen maken hun tot ideale kandidaten voor botweefsel engineering. In deze studie gingen we na of DPSCs en GMSCs, geogst uit periodontaal aangetaste tanden, in staat zijn om in vitro en in vivo nieuw gemineraliseerd botweefsel te genereren, in vergelijking met gezonde tanden. Eerst isoleerden we DPSCs en GMSCs uit de dentale pulpa en gingiva van patiënten die leden aan ernstige periodontitis (test groep) en gezonde patiënten (controle groep). Om deze DPSCs en GMSCs te karakteriseren voerden we de kolonie-vormende assay, cytofluorimetrische en mRNA real-time kwantificatie analyses uit. Vervolgens werden de effecten van pro-inflammatoire cytokines op de proliferatie en differentiatie van MSC cellen onderzocht. Verder onderzochten we de capaciteit van DPSCs en GMSCs om Poly-L melkzuur (PLLA) substraat te koloniseren, dat geproduceerd werd door de thermaal geïnduceerde fasescheidingstechniek (TIPS). Tenslotte onderzochten we de capaciteit van DPSCs en GMSCs van beide studiegroepen om botvorming te induceren in vivo.

Onze resultaten bewezen dat weefsels (zowel uit de pulpa als uit de gingiva) uit periodontaal aangetaste tanden gebruikt kunnen worden als een bron voor MSCs met intacte stamceleigenschappen en verhoogd differentiatiepotentieel. Pro-inflammatoire cytokines activeren een cytoskelet herschikking door hiteshock eiwitten (HSPs) te rekruteren, zoals HSP90, HSPA9, thioredoxin-1 en actine-depolymeriserende factoren (ADF) zoals profilin-1, cofilin-1 en vinculin die waarschijnlijk de voordelen van een inflammatoire omgeving regelen. Bovendien vertoonden DPSCs en GMSCs de capaciteit om met succes PLLA substraten te koloniseren, maar in de dierlijke studiegroep hebben we geen nieuwe botformatie geobserveerd. Nieuwe in vivo studies worden momenteel uitgevoerd: PLLA substraten die DPSCs of GMSCs bevatten, werden geïmplantéerd om meer stabiele osteoïnductieve en osteoconductieve structurele steun te bieden.