

С.Е. Бабова

студентка второго курса
стоматологического факультета
Одесский медицинский институт
Международного гуманитарного университета,
г. Одесса, Украина

В.А. Малиновский

кандидат биологических наук,
доцент кафедры общей и клинической фармакологии
Одесский медицинский институт
Международного гуманитарного университета,
г. Одесса, Украина

СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ В СТОМАТОЛОГИИ

***Аннотация.** Представлены современные подходы использования стволовых клеток в регенеративной стоматологии, включая данные выращивания зубов методами биоинженерии. Намечены перспективы использования клеточных технологий в пародонтологии, имплантологии и челюстно-лицевой хирургии.*

***Ключевые слова:** стволовые клетки, регенеративная стоматология.*

Когда А.А. Максимов в 1908 году на съезде гематологического общества в Берлине ввел понятие «стволовая клетка», а в 1915 году постулировал существование стволовой полипотентной кроветворной клетки, общий уровень развития биологической науки того времени не позволил воспользоваться этим открытием в полной мере [3].

В настоящее время фундаментальные открытия в области молекулярной и клеточной биологии создали все предпосылки для применения принципиально новых эффективных технологий при лечении различных заболеваний, в том числе и стволовых клеток.

Стволовые клетки – это уникальные клеточные популяции, способные к самовозобновлению и дифференцировке в различные клеточные типы. В отличие от других клеток организма, которые выполняют строго определенные функции, стволовые клетки остаются недифференцированными и обладают возможностью в ходе развития дифференцироваться в специализированные клетки. Из стволовой клетки могут возникнуть кожные, мышечные, нервные, клетки крови и др.

Наибольшее значение в регенеративной медицине на сегодняшний день имеют соматические стволовые клетки. По сравнению с эмбриональными плюрипотентными стволовыми клетками соматические стволовые клетки имеют более ограниченные способности к дифференцировке и являются мультипотентными или даже унипотентными. Доля стволовых клеток в тканях взрослого организма, как правило, очень мала. Например, кроветворные стволовые клетки встречаются с частотой 1:10 000 – 15 000 клеток костного мозга или 1:100 000 клеток периферической крови.

Идею по выращиванию зубов на месте уже утраченных на протяжении многих лет развивают ведущие ученые мира, поскольку это затрагивает интересы преобладающего числа взрослого населения Земли. Согласно статистике к 50-летнему возрасту среднестатистический европеец уже теряет около четверти зубов. В области стоматологии взрослые мезенхимальные стволовые клетки были идентифицированы в нескольких оральных и челюстно-лицевых тканях, что свидетельствует о том, что ткани полости рта представляют собой богатый источник стволовых клеток [17].

Зубные ткани человека имеют ограниченные возможности для регенерации, но открытие стоматологических стволовых клеток побудило к постановке новых грандиозных целей и новым достижениям в регенеративной стоматологии. Зачатки и пульпа третьих моляров человека являются одним из перспективных источников стволовых клеток. Главным преимуществом этого источника является доступность

биологического материала. Из пульпы здорового зуба можно выделить совсем небольшое количество клеток, от 12 до 20 штук, которые, однако, будут обладать высокой клоногенной и пролиферативной активностью. Данный вид стволовых клеток также обладает способностью дифференцироваться в дентинформирующие одонтобласты, что дает возможность применять их для восстановления тканей зуба [2]. По своим морфологическим и фенотипическим свойствам эти клеточные популяции аналогичны мезенхимным стволовым клеткам человека, поскольку они обладают свойством клоногенности. Что немаловажно, эксперименты по криоконсервации стволовых клеток из зачатков третьих моляров человека показали, что заморозка и хранение клеток не оказывали существенного влияния на их способность к пролиферации, дифференцировке и нейропротекции. Для того чтобы клетки можно было использовать в будущем, в криогенном банке их не только хранят, но и культивируют и доводят количество до терапевтической дозы, которая обычно составляет более 1 миллиона клеток. При этом клетки обязательно проходят контроль на бактериальную стерильность и жизнеспособность. Длительное хранение проводится в парах жидкого азота в сосудах Дьюара. Температура в них составляет ниже 150°С. Пульпа молочных зубов – еще один источник стволовых клеток. Первым изучением стволовых клеток пульпы молочных зубов занимался доктор С. Ши (Songao Shi), детский стоматолог, сотрудник Национального института стоматологических и черепно-лицевых исследований США, в 2002 году. Хондроциты, остеобласты, адипоциты и мезенхимальные стволовые клетки – это 4 типа стволовых клеток, которые содержит пульпа зуба и которые можно успешно и быстро вырастить, увеличить их количество и сохранить потенциал к преобразованию в другие типы клеток [1].

Когда были проведены дальнейшие эксперименты с выпавшими у детей молочными зубами, стало понятно, что стволовые клетки из пульпы растут гораздо быстрее и они намного пластичнее в своем преобразовании в другие типы клеток, формирующие ткани и органы, чем те, которые выделены из периферической крови или костного мозга взрослого человека [6]. Последние исследования британских и американских ученых показывают, что отличным источником стволовых клеток также могут стать и зубы мудрости, а точнее клетки, из которых они развиваются, – сосочки.

Но все же ученых и пациентов не перестает волновать вопрос, можно ли вырастить человеку настоящий биологический зуб? Учитывая современные темпы развития учения о стволовых клетках, это теоретически возможно и, по всей видимости, практические результаты не заставят долго ждать, т.к. регенеративная терапия имеет большие перспективы в будущем для замены нефункционирующих органов биоинженерными аналогами. Однако до недавнего времени искусственные органы, которые были сконструированы с использованием различных клеток и биоматериалов, не могли восстанавливать функциональность заменяемых органов и, следовательно, не являлись жизнеспособными вариантами для долговременной замены органов *in vivo* [13]. Тем не менее, впервые было показано, что биоконструируемый орган можно выращивать *in vivo* на моделях амфибий, в которых обработанные активинном клеточные агрегаты способны были образовывать вторичное пульсирующее (!) сердце, а также регенерировать глаза, чувствительные к свету и связанные нервными стволами с зрительными центрами мозга хозяина [10; 12]. В последнее время удалось также из стволовых клеток сначала регенерировать зубные зачатки и затем добиться полностью функционирующей замены зуба у взрослой мыши путем трансплантации биоинженерно выращенного зародыша зуба в лунку выпавшего зуба [7]. Предполагается, что заместительная терапия будет развиваться в будущем путем трансплантации биоинженерного зрелого органа с полной функциональностью и долговременной жизнеспособностью. В современных экспериментах *in vivo* уже успешно создаются контролируемые по размерам биоинженерные зрелые зубные единицы, поскольку рост функциональных целых органов *in vitro* пока невозможен [14]. Органы требуют достижение достаточной массы (количество клеток) и правильной формы для обеспечения нормальной функционирования, и зуб в этом плане ничем принципиально не отличается от других органов, т.к. состоит из нескольких тканей, имеет сосуды и нервы, помимо гиперкальцинированной соединительно-тканной основы, и имеет сложную как макро-, так и микроструктуру. Зуб морфологически уникален ввиду наличия таких морфологических особенностей, как ширина и длина зубной коронки наряду с в значительной степени разветвленной корневой системой. Однако технология регулирования морфогенеза в регенерации всего зуба до сих пор остается неисследованной [9]. Недавно был разработан новый метод регуляции морфогенеза зубных зачатков, позволяющий варьировать ширину коронки зуба путем регулирования площади контакта между слоями эпителиальных и мезенхимальных клеток [8]. Получены результаты эквивалентной длины пересаженного биоинженерного зуба и удаленного биологического зуба после трансплантации в оральную среду искусственно выращенного из стволовых клеток зубного зачатка. Это

достигается путём ограничения продольного пространства для выращиваемого зубного блока. Таким образом, есть все основания полагать, что рост биоинженерного зуба можно контролировать в трех измерениях с использованием специализированного устройства. Считается, что выращиваемые из стволовых клеток зубы можно генерировать путём контроля как ширины коронки посредством манипуляции с ячейкой, так и длины зуба путем ограничения трехмерного пространственного размера [7; 8].

Как следствие этих экспериментов, профессор Такаси Цудзи из токийского Университета естественных наук изучил поведение зародышевых клеток, из которых в организме мыши формируются зубы, и разработал способ стимулировать их рост. Он смог провести во рту грызуна операцию и тот вскоре защелкал искусственно выращенным клыком! Для этого 40-50 тысяч стволовых клеток извлекалось из зародышей мышей и некоторое время выращивалось в желеобразном коллагене. Как только зародыш зуба достигал размера около полумиллиметра, его пересаживали взрослой мыши на место выпавшего резца. Зуб пробивался через десну уже по истечении 37 дней, и еще спустя 12 дней (в сумме 49) невозможно было отличить новый зуб от соседних старых. С любой пищей мышей эти новые зубы справляются отлично [7].

Однако еще предстоит определить, может ли такой искусственно выращенный зуб достичь полной функциональности, включая достаточную жевательную активность, биомеханическое взаимодействие с тканями области полости рта, челюстно-лицевой области и надлежащую ответную реакцию на вредные стимуляции в челюстно-лицевой области через сенсорные рецепторы. В настоящее время нет опубликованных отчетов, описывающих успешную замену естественного, но нефункционирующего органа полностью функциональным биоинженерным органом.

В настоящее время в международной базе клинических исследований зарегистрировано несколько десятков проектов по терапевтическому применению стволовых клеток в стоматологии. Наиболее интересными и перспективными среди них являются использование стволовых клеток периодонтальной связки при лечении периодонтита и практике эндодонтической терапии [5].

А в челюстно-лицевой хирургии наблюдается большой спрос на костные graftы для возмещения челюстно-лицевых дефектов. Наращивание костной ткани часто является и первым этапом стоматологической имплантации, без которого невозможно успешное установление импланта зуба. Как известно, мезенхимальные стволовые клетки обладают высоким остеогенным потенциалом и могут рассматриваться как идеальный биоматериал для биоинженерии кости. Установлено, например, что 500 мг мезенхимальных стволовых клеток позволяют получить 3 кг костной ткани.

Преимуществам использования стволовых клеток в имплантологии посвятила своё исследование группа доктора Ямады. Этими авторами установлено, что в условиях введения в остеоимплант мезенхимальных стволовых клеток, полученных из молочных зубов, пульпы зуба или костного мозга, можно значительно улучшить клинические результаты лечения. Перспективы заключаются в том, что вместо того, чтобы высверливать корневые каналы и ставить пломбы, можно просто заполнить трещины собственными стволовыми клетками или же с их помощью регенерировать пульпу. Таким образом, возможно получение регенерированного зуба, не имеющего ни единого шва или признаков пломбировки [16].

Таким образом, сегодня применение стволовых клеток в стоматологии ограничивается лишь проведением поисковых лабораторных исследований. Впрочем, уже накопленный опыт свидетельствует о значительных перспективах применения нового метода. Лечение стволовыми клетками является одним из примеров возможности использования таких соматических клеток, полученных из собственных тканей пациентов, и можно ожидать, что в ближайшем будущем такое лечение может стать обычным делом в стоматологической практике. Надежда состоит в том, что станет возможным регенерация костных и зубных тканей, в том числе периодонтальной связки, зубной массы и эмали, а также создание новых зубов. Учитывая эту возможность достижения реставрации с помощью регенеративной медицины, можно считать, что начинается новая эра в стоматологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Велиханова Л.К., Фирсова И.В. Применение стволовых клеток пульпы зуба в заместительной клеточной терапии // Бюллетень медицинских интернет-конференций. 2013. Т. 3, В. 3. С. 346–348.
2. Грудянов А.И., Сысоева В.Ю., Терновой Ю.В. Стволовые клетки и возможности их применения в пародонтологии. Стоматология. 2012. Т. 91. № 1. С. 71–75.
3. Пальцев М.А. Биология стволовых клеток и клеточные технологии. М.: Медицина, 2009. Т. 1. 272 с.

4. Суетенков Д.Е., Петрова А.П., Зобнин К.Ю. и др. Регенеративная медицина и стоматология. Сеченовский вестник. 2017. № 1, В. 27. С. 4–9.
5. Benatti B.B., Silv rio K.G., Casati M.Z. et al. Physiological features of periodontal regeneration and approaches for periodontal tissue engineering utilizing periodontal ligament cells // J. Biosci. Bioeng. 2007. V. 103. № 1. P. 1–6.
6. Gronthos S., Brahim J., Li W. et al. Stem Cell Properties of Human Dental Pulp Stem Cells // J. Dent. Res. 2002. V. 81, № 8. P. 531–535.
7. Ikeda E., Morita R., Nakao K. et al. Fully functional bioengineered tooth replacement as an organ replacement therapy // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 2009. V.106, № 32. P. 13475–13480.
8. Ishida K., Murofushi M., Nakao K. et al. The regulation of tooth morphogenesis is associated with epithelial cell proliferation and the expression of Sonic hedgehog through epithelial-mesenchymal interactions // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2011. V. 405, № 3. P. 455–461.
9. Jernvall J., Thesleff I. Reiterative signaling and patterning during mammalian tooth morphogenesis. Mech. Dev. 2000. V. 92, № 1. P. 19–29.
10. Kinoshita M., Ariizumi T., Yuasa S., et al. Creating frog heart as an organ: in vitro-induced heart functions as a circulatory organ in vivo // Int. J. Dev. Biol. 2010. V. 54, № 5. P. 851–856.
11. Oshima M., Mizuno M., Imamura A. Functional tooth regeneration using a bioengineered tooth unit as a mature organ replacement regenerative therapy // PLoS One. 2011. V.6, № 7. P. 1–11.
12. Sedohara A., Komazaki S., Asashima M. In vitro induction and transplantation of eye during early Xenopus development // Dev. Growth Differ. 2003. V.45, № 5-6. P. 463–471.
13. Uygun B.E., Soto-Gutierrez A., Yagi H. et al. Organ reengineering through development of a transplantable recellularized liver graft using decellularized liver matrix // Nat. Med. 2010. V. 16, № 7. P. 814–820.
14. Wang X., Yan Y., Zhang R. Recent trends and challenges in complex organ manufacturing // Tissue Eng. Part B. Rev. 2010. V. 16, № 2. P. 189-97.
15. Woods E.J., Perry B.C., Hockema J.J. et al. Optimized cryopreservation method for human dental pulp-derived stem cells and their tissues of origin for banking and clinical use // Cryobiology. 2009. V. 59, № 2. P. 150–157.
16. Yamada Y., Nakamura S., Ito K. et al. A feasibility of useful cell-based therapy by bone regeneration with deciduous tooth stem cells, dental pulp stem cells, or bone-marrow-derived mesenchymal stem cells for clinical study using tissue engineering technology // Tissue Eng. Part A. 2010. V.16, № 6. P. 1891–1900.
17. Zhao H., Chai Y. Stem Cells in Teeth and Craniofacial Bones // J. Dent. Res. 2015. V. 94, № 11. P. 1495–1501.

С.Є. Бабова, В.О. Малиновський. Стовбурові клітини та перспективи їх застосування в стоматології. – Стаття.

Анотація. Представлено сучасні підходи використання стовбурових клітин у регенеративній стоматології, включаючи дані вирощування зубів методами біоінженерії. Намічено перспективи використання клітинних технологій у парадентології, імплантології та щелепно-лицевій хірургії.

Ключові слова: стовбурові клітини, регенеративна стоматологія.

S. Babova, V. Malinovskii. Stem cells and their application in dentistry. – Article.

Summary. Modern methods of using stem cells in regenerative dentistry, including data on the cultivation of teeth using bioengineering methods, are presented. The prospects for using cellular technologies in periodontal disease, implantology, and maxillofacial surgery are outlined.

Key words: stem cells, regenerative dentistry.