

## **ВЛИЯНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ КОСТНОЙ ТКАНИ**

***Рубникович Сергей Петрович***

*Доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой  
Белорусская медицинская академия последипломного образования  
Беларусь, Минск  
rubnikovichs@mail.ru*

***Денисова Юлия Леонидовна***

*Доктор медицинских наук, профессор  
Белорусская медицинская академия последипломного образования  
Беларусь, Минск  
rubnikovichs@mail.ru*

***Андреева Василина Анатольевна***

*Кандидат медицинских наук, доцент  
Белорусская медицинская академия последипломного образования  
Беларусь, Минск  
rubnikovichs@mail.ru*

***Кузьменко Елена Викторовна***

*Кандидат медицинских наук, доцент кафедры  
Белорусская медицинская академия последипломного образования  
Беларусь, г. Минск  
rubnikovichs@mail.ru*

***Хомич Илья Станиславович***

*Кандидат медицинских наук, доцент  
Белорусская медицинская академия последипломного образования  
rubnikovichs@mail.ru*

**Цель** – разработать модель экспериментального периодонтита и установить характер клинико-рентгенологических изменений в тканях периодонта при применении мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани.

**Объекты и методы.** У 45 экспериментальных животных, распределенных на 5 равнозначных групп в соответствии с выбранной методикой заполнения сформированного дефекта костной ткани биомедицинским клеточным продуктом на основе аллогенных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани, проведена оценка клинических и рентгенологических изменений в тканях периодонта на 14 сутки, через 1 и 2 месяца после оперативного вмешательства.

**Результаты.** Рентгенологические признаки восстановления костной ткани в области пострезекционного дефекта и показатели минеральной

*плотности костной ткани в группах, в которых применялись остеоиндуцированные мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани, а также смесь культур мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани и остеоиндуцированных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани, были наиболее выраженными. При этом наблюдалось полное восстановление костной ткани, а коэффициент абсорбции в области вновь образованной костной ткани соответствовал значениям этого показателя для интактной кости.*

**Заключение.** *Применение коллагеновых мембран со взвесью культур аллогенных остеоиндуцированных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани, а также мембран со взвесью смеси культур аллогенных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани и аллогенных остеоиндуцированных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани в пропорции 1:1, позволяет достичь более высоких рентгенологических показателей восстановления костной ткани.*

**Ключевые слова:** *мезенхимальные стволовые клетки; минеральная плотность костной ткани; конусно-лучевая компьютерная томография; периодонтит.*

## **INFLUENCE OF MESENCHYMAL STEM CELLS ON BONE TISSUE RESTORATION**

***Rubnikovich S. P.***

*DD, Professor, Head of Department  
Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education  
Belarus, Minsk  
rubnikovichs@mail.ru*

***Denisova J.L.***

*DD, Professor  
Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education  
Belarus, Minsk  
rubnikovichs@mail.ru*

***Andreeva V.A.***

*PhD, Associfte Professor  
Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education  
Belarus, Minsk  
rubnikovichs@mail.ru*

***Kuzmenko E.V.***

*PhD, Associfte Professor  
Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education  
Belarus, Minsk*

*rubnikovichs@mail.ru*

**Homich I.S.**

*PhD, Associfte Professor*

*Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education*

*Belarus, Minsk*

*rubnikovichs@mail.ru*

***The aim of the study** was to develop a model of experimental periodontitis and establish the nature of clinical and radiological changes in periodontal tissues when using mesenchymal stem cells of adipose tissue.*

***Objects and methods.** Clinical and radiological changes in periodontal tissues were evaluated on day 14, after 1 and 2 months after surgery in 45 experimental animals, divided into 5 equivalent groups in accordance with the selected method of filling the defect of the bone tissue with a biomedical cell product based on allogeneic mesenchymal stem cells of adipose tissue.*

***Results.** Roentgenological signs of bone tissue restoration in the area of a post-resection defect and bone mineral density in experimental groups in which osteoinduced mesenchymal adipose tissue stem cells were used, as well as a mixture of adipose tissue mesenchymal stem cell cultures and osteoinduced adipose tissue mesenchymal stem cells, were most pronounced. In this case, complete restoration of bone tissue was observed, and the absorption coefficient in the region of newly formed bone tissue corresponded to the values of this indicator for intact bone.*

***Conclusion.** The use of collagen membranes with a suspension of cultures of allogeneic osteoinduced mesenchymal stem cells of adipose tissue, as well as membranes with a suspension of cultures of allogeneic mesenchymal stem cells of adipose tissue and allogeneic osteoinduced mesenchymal stem cells of adipose tissue in 1:1 ratio, allows to achieve higher bone regeneration roentgenological indices.*

***Keywords:** mesenchymal stem cells; bone mineral density; cone beam computed tomography; periodontitis.*

Болезни периодонта занимают лидирующие позиции в структуре стоматологической заболеваемости как среди пациентов зрелого (90–95 %), так и молодого возраста (80–83 %) [1]. Длительное прогрессирующее течение воспалительного процесса и недостаточная эффективность методов терапии приводят к развитию выраженных патологических изменений непосредственно в тканях периодонта и в целом ряде органов и систем организма пациента [2].

Вопросы эффективного лечения периодонтита и ускорения сроков восстановления костной ткани, равно как и проблема объективизации методов контроля эффективности проводимой клеточной терапии являются крайне актуальными в настоящее время и требуют дальнейшего изучения и совершенствования [3–5].

Изложенное выше свидетельствует о целесообразности проведения экспериментально-клинических исследований по применению в стоматологии

мезенхимальных стволовых клеток с целью восстановления костной ткани, а, следовательно, и повышения эффективности лечения пациентов с болезнями периодонта.

**Цель исследования.** Разработать модель экспериментального периодонтита у лабораторных животных и установить характер клинических и рентгенологических изменений в тканях периодонта при применении биомедицинского клеточного продукта на основе мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани.

**Объекты и методы исследования.** У всех экспериментальных животных (ЭЖ) под действием наркоза в стерильных условиях в области межкорневой перегородки центральных резцов с помощью фрезы был сформирован костный дефект шириной 2 мм и глубиной 5 мм. Далее в соответствии с запланированным методом лечения ЭЖ были разделены на 5 однородных групп: контрольную (9 ЭЖ) и 4 опытные группы (по 9 ЭЖ в каждой).

В контрольной группе подготовленное костное ложе заполняли кровяным сгустком, после чего операционную рану ушивали. В I группе сформированный костный дефект заполняли стерильным биоматериалом – пористой мембраной на основе костного коллагена. Мембрану пропитывали физиологическим раствором в соответствии с инструкцией производителя и адаптировали в дефекте, после чего края раны сближали и накладывали швы.

Во II группе, в отличие от I, на мембране иммобилизовали 50 тыс. аллогенных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани (МСК ЖТ). В III группе на мембране иммобилизовали 50 тыс. аллогенных остеоиндуцированных МСК ЖТ. В IV группе на мембране иммобилизовали смесь из 25 тыс. аллогенных и 25 тыс. аллогенных остеоиндуцированных МСК ЖТ. Регистрацию клинических и рентгенологических показателей, оценку эффективности различных методов лечения экспериментального периодонтита осуществляли на 14-е сутки, спустя 1 и 2 месяца после оперативного вмешательства. Рентгенологический контроль восстановления костной ткани осуществляли путем анализа изображений, полученных с помощью современного конусно-лучевого компьютерного томографа.

Качественный анализ и количественную оценку динамики уровней плотности трабекулярной костной ткани в области послеоперационного дефекта осуществляли с помощью трехмерной реконструкции полученного изображения. Для характеристики плотности костной ткани использовали коэффициент абсорбции Хаунсфилда [3]. Плотностные характеристики костной ткани выражали в условных единицах Хаунсфилда (HU).

Анализ плотности костной ткани проводили последовательно на трех томографических срезах (сагиттальном, аксиальном и коронарном) в точке их пересечения с «захватом» зоны костного дефекта, ранее сформированного в области межкорневой перегородки центральных резцов. Толщина анализируемых срезов во всех группах составляла 0,2 мм. Значение плотности костной ткани для исследуемой области определяли как среднее арифметическое от показателей минеральной плотности в каждом срезе.

**Результаты исследований.** Клинические наблюдения позволили установить, что во всех группах исследования сроки эпителизации существенно не отличались, а послеоперационные раны через 2 недели после вмешательств эпителизовались первичным натяжением. У животных контрольной группы в отличие от опытных групп, в которых для заполнения дефекта применялись мембраны на основе костного коллагена, регистрировалась послеоперационная рецессия десны. У кроликов I–IV групп исследования значимых различий клинических картин через 2 месяца после оперативного вмешательства не выявлено.

#### **Рентгенологическая картина восстановления костной ткани на 14 сутки после оперативного вмешательства**

Рентгенологическое исследование, выполненное на 14 сутки после оперативного вмешательства, позволило установить, что в контрольной группе, а также I группе исследования, в которой пострезекционный дефект заполнялся мембраной на основе костного коллагена, показатели ширины сформированных дефектов не изменились по сравнению с первоначальными ( $p < 0,05$ ) (таблица). В обоих случаях границы дефектов имели четкие и ровные контуры.

Таблица – динамика изменений показателей ширины дефектов костной ткани по данным КЛКТ, в мм

Срок наблюдения	Группы исследования				
	Контрольная	I группа	II группа	III группа	IV группа
14 суток	1,89±0,10	1,86±0,08	1,44±0,07	1,32±0,03	1,47±0,08
1 месяц	1,68±0,07	1,35±0,14	0,65±0,05	0,45±0,11	0,52±0,09
2 месяца	1,21±0,12	0,89±0,05	0,12±0,02	0,00±0,00	0,00±0,00

Во II, III и IV группах исследования ширина пострезекционных дефектов достоверно уменьшилась по сравнению с первоначальными значениями (таблица) ( $p < 0,05$ ). Границы костных дефектов в перечисленных опытных группах имели неровные и нечеткие контуры, что указывало на происходившие процессы репарации.

Рентгенологический анализ репаративной регенерации костной ткани позволил установить, что в контрольной и I группах исследования плотность костной ткани составила  $231,63 \pm 19,81$  HU и  $278,54 \pm 28,62$  HU соответственно. Полученные значения более чем в 2 раза ниже значений коэффициента абсорбции, выявленных в группах, где сформированные дефекты костной ткани заполнялись коллагеновыми мембранами со взвесью культур аллогенных МСК ЖТ ( $p < 0,01$ ).

Таким образом, процессы костной репарации, наблюдаемые на 14 сутки после оперативного вмешательства, в группах исследования, в которых замещение сформированных дефектов выполнялось с использованием МСК ЖТ, были значимо более выражены, чем в контрольной и I опытной группах. В то

время как внутри указанных групп, не зависимо от типов применяемых стволовых клеток, статистически достоверных отличий не установлено ( $p < 0,05$ ).

### **Рентгенологическая картина восстановления костной ткани через 1 месяц после оперативного вмешательства**

Анализ компьютерных томограмм, полученных через 1 месяц после оперативного вмешательства, позволил выявить неровность и нечеткость границ сформированных костных дефектов у образцов в группе исследования с использованием мембран на основе костного коллагена, что свидетельствовало об активизации процессов репарации в указанной опытной группе. Показатели ширины дефектов в I группе исследования значительно сократились по сравнению с первоначальными и были достоверно меньше, размеров, полученных в контрольной группе (таблица) ( $p < 0,05$ ).

Процессы репаративной регенерации, наблюдаемые в II, III и IV группах проходили достоверно более активно, чем в контрольной и I группах, на что указывало значительное сокращение размеров сформированных костных дефектов и наличие признаков восстановления костной ткани непосредственно в зоне резекции (таблица) ( $p < 0,01$ ).

Плотностные характеристики костной ткани в контрольной и I опытной группах составляли  $401,63 \pm 21,01$  HU и  $512,54 \pm 48,22$  HU соответственно. В группах исследования, в которых сформированные дефекты костной ткани заполнялись коллагеновыми мембранами со взвесью культур мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани, плотностные показатели вновь сформированной костной ткани были значимо выше, чем в контрольной и I опытных группах ( $p < 0,01$ ). Следует отметить, что коэффициенты абсорбции, наблюдаемые в III и IV группах исследования, были статистически достоверно выше, чем во II опытной группе ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, процессы костной репарации, наблюдаемые через 1 месяц после оперативного вмешательства, в группах исследования, в которых замещение сформированных дефектов выполнялось с использованием МСК ЖТ, были значимо более выражены, чем в контрольной и I опытных группах. При этом плотностные характеристики вновь образованной костной ткани в группах, в которых применялись остеоиндуцированные МСК ЖТ, а также смесь культур МСК ЖТ и остеоиндуцированных МСК ЖТ, были значимо выше, чем в группе, в которой применялись недифференцированные МСК ЖТ.

### **Рентгенологическая картина остеорепаляции через 2 месяца после оперативного вмешательства**

Через 2 месяца после оперативного вмешательства в контрольной группе наблюдалось сокращение размеров пострезекционных костных дефектов по сравнению с первоначальными, наличие признаков перестройки костной ткани в зоне резекции (таблица) ( $p < 0,05$ ). Однако выявленные изменения были значимо менее выражены, чем во всех опытных группах ( $p < 0,01$ ).

В группе исследования, в которой послеоперационный дефект заполнялся мембранами на основе костного коллагена, значения ширины дефектов костной ткани уменьшились в 2 раза по сравнению с первоначальными ( $p < 0,05$ ). Однако

скорость перестройки костной ткани была статистически достоверно менее выражена, чем в группах исследования, в которых помимо коллагеновых мембран применялись МСК ЖТ (таблица) ( $p < 0,01$ ). В опытных группах, в которых применялись остеоиндуцированные МСК ЖТ, а также смесь культур МСК ЖТ и остеоиндуцированных МСК ЖТ через 2 месяца после оперативного вмешательства наблюдалось полное закрытие пострезекционных дефектов.

Минеральная плотность костной ткани в контрольной группе составила  $512,13 \pm 55,66$  НУ, в I опытной группе  $680,54 \pm 42,89$  НУ, что значимо ниже значений показателей остеорепаляции, наблюдаемых в группах, где сформированные дефекты костной ткани заполнялись коллагеновыми мембранами со взвесью культур аллогенных МСК ЖТ ( $p < 0,01$ ).

Значения коэффициентов абсорбции, наблюдаемые в III и IV группах исследования были достоверно выше, чем во II группе ( $p < 0,05$ ). Однако статистически значимых отличий между показателями минеральной плотности вновь сформированной в области пострезекционного дефекта костной ткани в III и IV опытных группах не установлено ( $p < 0,05$ ), что обосновывает необходимость последующего проведения морфологического исследования с целью анализа более тонких структур.

Таким образом, признаки остеорепаляции пострезекционного дефекта и показатели минеральной плотности костной ткани в группах, в которых применялись остеоиндуцированные МСК ЖТ, а также смесь культур МСК ЖТ и остеоиндуцированных МСК ЖТ, были наиболее выраженными. При этом в данных группах наблюдалось полное восстановление костной ткани, а коэффициент абсорбции в области вновь образованной костной ткани соответствовал значениям этого показателя для интактной костной ткани данной анатомической области.

**Заключение.** В результате рентгенологического анализа полноты восстановления костной ткани и анализа ее минеральной плотности было установлено, что применение коллагеновых мембран со взвесью культур аллогенных остеоиндуцированных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани, а также мембран со взвесью смеси культур аллогенных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани и аллогенных остеоиндуцированных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани в пропорции 1:1, позволяет достичь более высоких показателей восстановления костной ткани.

#### Список литературы

1. Распространенность болезней периодонта, кариеса корня зуба, чувствительности дентина и зубочелюстных деформаций в Республике Беларусь по результатам обследования населения в возрастных группах 35–44, 45–54 и 55–64 года / Л. Н. Дедова [и др.] // Стоматолог. – 2016. – №1 (20). – С. 9-15.
2. Денисова, Ю. Л. Современные методы лечебно-диагностических мероприятий у пациентов с болезнями периодонта в сочетании с зубочелюстными деформациями / Ю. Л. Денисова // Медицинский журнал. – 2012. – № 3. – С. 49-51.

3. Клеточные технологии в лечении пациентов с рецессией десны / С. П. Рубникович, [и др.]. – Минск : Беларуская навука. – 2019. – С. 20-78.

4. Рубникович С. П. Костные трансплантаты и заменители для устранения дефектов и аугментации челюстных костей в имплантологии и периодонтологии / С. П. Рубникович, И. С. Хомич // Стоматолог. – 2014. – № 1(12). – С. 77-86.

5. Рубникович, С. П. Метод моделирования экспериментального периодонтита у животных / С. П. Рубникович, Т. Э. Владимирская, И. А. Швед, Н. Н. Веялкина // Медицинский журнал. – 2011. – № 1 (35). – С. 97 - 101.