

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТКАНЕЙ ПЕРИОДОНТА
ПРИ ПРИМЕНЕНИИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК**

¹Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

²Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук
Беларуси, г. Минск

Актуальность. Проводимые в настоящее время исследования свидетельствуют о высокой способности мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани (МСК ЖТ) инициировать и ускорять восстановительные процессы в тканях периодонта, а также секретировать различные факторы, стимулирующие резидентные клетки-предшественники, что значительно повышает эффективность проводимого лечения. Активно проводятся исследования эффективности применения клеточных технологий в различных областях медицины, в том числе и в периодонтологии. В научной литературе представлены данные, свидетельствующие об уменьшении распространенности и интенсивности рецессии десны, улучшении процессов микроциркуляции периодонта при применении МСК. Изложенное выше свидетельствует о целесообразности проведения экспериментально-клинических исследований по применению в стоматологии МСК с целью восстановления костной ткани, а следовательно, и повышения эффективности лечения пациентов с болезнями периодонта.

Цель исследования – установить характер морфологических изменений в тканях периодонта при применении биомедицинского клеточного продукта на основе мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани.

Материал и методы исследования. Экспериментальными животными (ЭЖ) являлись 36 кроликов обоего пола породы Шиншилла с массой тела 3,7 кг. ЭЖ содержали в стационарных условиях вивария в соответствии с ветеринарно-санитарными правилами, утвержденными в Республике Беларусь. До начала эксперимента ЭЖ в течение 2 недель находились в виварии под карантинным наблюдением. В день начала эксперимента проведено дополнительное обследование и взвешивание ЭЖ. Принимая во внимание хронобиологическую зависимость большинства физиологических и биохимических процессов в организме животных, эксперименты проводили утром в одно и то же время суток.

В соответствии с запланированным методом лечения ЭЖ были разделены на 4 однородных группы: контрольную (9 ЭЖ) и 3 опытные группы (по 9 ЭЖ в каждой). В контрольной группе подготовленный КД заполняли кровяным сгустком, в I группе – пористой мембраной на основе костного коллагена с иммобилизованными на ней 50 тыс. аллогенными мезенхимальными стволовыми клетками жировой ткани (МСК ЖТ), во II группе – мембраной с иммобилизованными на ней 50 тыс. аллогенными остеиндуцированными МСК ЖТ, в III группе – мембраной со смесью из 25 тыс. аллогенных и 25 тыс. аллогенных остеиндуцированных МСК ЖТ. После заполнения КД операционные раны ЭЖ ушивали. По истечении срока наблюдения ЭЖ контрольной и опытных групп выводили из эксперимента с соблюдением принципов биоэтики в соответствии со стандартами надлежащей лабораторной практики (GLP).

Производили забор костно-периодонтальных блоков нижней челюсти ЭЖ, содержащих зубы и ткани периодонта. Иссеченные участки нижней челюсти фиксировали

в 10%-ном нейтральном формалине в течение 48 часов. Декальцинацию проводили смесью муравьиной и соляной кислот с обязательным контролем полноты декальцинации оксалатом кальция. Затем участки нижней челюсти промывали в проточной воде в течение 24 часов, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации (70, 80, 96, абсолютный спирт). Далее материал проводили через спирт-ксилол, ксилол, ксилол-парафин и заливали в парафин. Из парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 3–5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином, по Массону.

Морфометрический анализ гистологических препаратов проводили на увеличении 50. Исследовали каждый микропрепарат в 5 случайно выбранных полях зрения. Площадь поля зрения была постоянна и составляла 4561048,00 мкм². Определяли площадь фиброретикулярной ткани. Полученные результаты представляли как отношение площади фиброретикулярной ткани к общей площади поля зрения, выраженное в процентах. Изучение микропрепаратов и изготовление микрофотографий проводили с помощью микроскопов Axio Imager («Zeiss», Германия) и DMLS с программным обеспечением («Leica», Германия).

Результаты исследования. *Морфологическая картина восстановления костной ткани в контрольной группе.* На 14 сутки у ЭЖ контрольной группы, у которых заживление происходило под кровяным сгустком, наблюдали костный дефект (КД) треугольной формы, отграниченный от материнской пластинчатой кости тонкой полоской фиброретикулярной остеогенной ткани, очагово врастающей в пластинчатую кость (капсуляция КД). В просвете КД – рыхлая отечная соединительная ткань (СТ), мышечная ткань (МТ), очаги грануляционной ткани с локальными кровоизлияниями. В донной части КД – очаговое формирование фиброретикулярной остеогенной ткани. В прилежащей к КД пластинчатой кости наблюдали полнокровие сосудов каналов остеонов.

Через 1 месяц КД сохранял треугольную форму с западением поверхности и был отграничен от материнской пластинчатой кости тонкой полоской фиброретикулярной остеогенной ткани. В просвете КД – рыхлая отечная СТ с очагами кровоизлияний и кистозной трансформации. В поверхностном отделе донной части КД – участки некротизированной СТ, рыхлая СТ, расширенные кровеносные сосуды. Наблюдали очаговое формирование фиброретикулярной остеогенной ткани. В прилежащей к КД пластинчатой кости – полнокровие сосудов каналов остеонов.

Через 2 месяца КД имел округло-клиновидную форму и на 2/3 был заполнен остеогенной фиброретикулярной тканью. В зоне КД наблюдали множественные обширные кровоизлияния. В поверхностном отделе КД – участки некротизированной ткани. В донной части КД определяли очаговые скопления остеобластов и фибробластов. В прилежащих участках матричной кости – эктазия сосудистых костных каналов с фрагментацией и элиминацией их соединительнотканного компонента, очаговая жировая трансформация межбалочной ткани.

Морфологическая картина восстановления костной ткани в I группе. На 14 сутки наблюдали КД мешковидной формы с западением поверхности, заполненный МТ с расширенными кровеносными сосудами, рыхлой отечной СТ. По периметру КД определяли фрагменты отслоенной и расслоенной СТ полоски, отграничивающей дефект от матричной кости. В поверхностной части КД – фрагменты коллагеновой мембраны, участки некроза, очаг хондрофикации. В донной части КД – островки фиброретикулярной остеогенной ткани. В костной ткани матричной кости наблюдали констрикцию каналов остеонов и пролиферацию клеточного компонента.

Через 1 месяц определяли КД мешковидной формы, по краям на всем протяжении отграниченный от компактной кости неравномерно узкой полосой соединительной ткани. В просвете дефекта наблюдали мышечную ткань с мелким очагом деструкции и лимфоидно-клеточной инфильтрацией. В донном отделе – сегменты рыхлой волокнистой, грануляционной и компактной фиброретикулярной ткани. Вне зоны КД – очаги гиперплазии межбалочной СТ.

Через 2 месяца КД имел овальную форму и был окаймлен неравномерно узкой полосой соединительной ткани, отслоенной от компактной кости. В поверхностной части КД определяли фрагменты коллагеновой мембраны, а также участки некроза. В донной части КД – рыхлая отечная СТ и очаги фиброретикулярной остеогенной ткани. В перифокальной пластинчатой костной ткани наблюдали эктазию и полнокровие сосудов каналов остеонов с разрыхлением периваскулярной ткани и гиперплазией клеточного компонента.

Морфологическая картина восстановления костной ткани во II группе. На 14 сутки КД имел овальную форму и по краям был ограничен от матричной кости тонкой полосой расслоенной рыхлой волокнистой или фиброретикулярной ткани. В донной части КД определяли рыхлую волокнистую незрелую СТ с диапедезными кровоизлияниями. Просвет КД заполнен МТ и рыхлой волокнистой СТ. В поверхностном отделе КД наблюдали фрагменты коллагеновой мембраны. В перифокальной пластинчатой костной ткани – эктазия и полнокровие сосудов каналов остеонов.

Через 1 месяц наблюдали КД овальной формы, окаймленный тонкой полосой расслоенной рыхлой волокнистой или фиброретикулярной ткани. В донной части КД – рыхлая волокнистая незрелая СТ с диапедезными кровоизлияниями. Просвет КД заполнен МТ и рыхлой волокнистой СТ. В поверхностном отделе КД – фрагменты коллагеновой мембраны. В перифокальной пластинчатой костной ткани наблюдали эктазию и полнокровие сосудов каналов остеонов.

Через 2 месяца КД имел овально-мешковидную форму и был ограничен от матричной пластинчатой кости узкой полосой рыхлой СТ в поверхностном отделе и фиброретикулярной в донном отделе. Просвет КД заполнен отечной МТ с очагами кровоизлияний. В донном отделе – фиброретикулярная остеогенная ткань и очаги кровоизлияний. В зоне фиброретикулярной ткани наблюдали остеогенные островки с редкими остеобластами на их поверхности. Отдельные гаверсовы каналы костного матрикса матричной кости расширены, сосуды полнокровны.

Морфологическая картина восстановления костной ткани в III группе. На 14 сутки наблюдали мешковидный КД. По краю пластинчатой костной ткани дефект ограничивал узкий тяж соединительной ткани, сегментарно отслоенный и расслоенный, в том числе в донной части КД. В поверхностном отделе КД – мелкие фрагменты некротизированной ткани. В просвете КД – дистрофичная мышечная ткань на всем протяжении с очаговым некрозом. В донной части КД – поперечный узкий тяж соединительной ткани с очаговым склерозом и диапедезными кровоизлияниями, ограничивающий КД от подлежащей пластинчатой костной ткани. В матричной кости наблюдали пикнотичные остециты и очагово их некроз.

Через 1 месяц по краю пластинчатой костной ткани, ограничивающей КД, наблюдали сформированную полоску фиброретикулярной остеогенной ткани. В просвете КД в поверхностном отделе – фрагменты малоклеточной или бесклеточной гомогенной ткани с очаговой мелкоячеистой трансформацией, очаги атрофичной лимфоидной ткани и, преимущественно, участки дистрофичной мышечной ткани с очагами некроза. В донной части КД – участки рыхлой малоклеточной волокнистой ткани и фиброретикулярной остеогенной ткани, очаг хондрофикации. Наблюдали распространенное полнокровие сосудов гаверсовых каналов матричной кости.

Через 2 месяца пологий и неглубокий КД был сегментарно окаймлен неравномерно тонкой мелкоячеистой полоской фиброретикулярной остеогенной ткани. В просвете КД наблюдали участки фиброретикулярной остеогенной ткани с формирующимися остеогенными островками и костными трабекулами. Отмечали очаговые скопления остеобластов и их высокую плотность. Костный матрикс матричной кости имел нормальное гистологическое строение, при этом определялось распространенное полнокровие сосудов гаверсовых каналов матричной кости.

Морфометрическое исследование позволило установить, что в III опытной группе, где использовали коллагеновую мембрану со смесью МСК ЖТ и остеоиндуцированных МСК ЖТ в пропорции 1:1, показатели площади фиброретикулярной ткани достоверно выше по сравнению с данными I и II групп ($p < 0,05$). Максимальные показатели площади остеогенной ткани выявлены в III опытной группе на всех сроках эксперимента ($p < 0,05$).

Выводы. Применение коллагеновой мембраны с остеоиндуцированными МСК ЖТ позволяет сократить сроки регенерации КД по сравнению со сроками восстановления костной ткани при применении МСК ЖТ, что выражается в более раннем заполнении просвета дефекта наряду с мышечной тканью рыхлой волокнистой соединительной тканью с участками фиброретикулярной остеогенной ткани, формировании очагов грануляций и выраженной сосудистой реакции ткани костного дефекта.

Применение смеси МСК ЖТ и остеоиндуцированных МСК ЖТ в пропорции 1:1 позволяет сократить сроки регенерации костного дефекта по сравнению с длительностью восстановления костной ткани при применении МСК ЖТ, остеоиндуцированных МСК ЖТ, что выражается в заполнении дефекта костной ткани наряду с мышечной фиброретикулярной остеогенной тканью через 1 месяц после оперативного вмешательства. Через 2 месяца в зоне дефекта, заполненного коллагеновой мембраной со смесью МСК ЖТ и остеоиндуцированных МСК ЖТ в пропорции 1:1, выявлены признаки начала формирования костных балок, что свидетельствует о более полноценном остеосинтезе, чем при заживлении под кровяным сгустком.

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«Белгородский государственный национальный
исследовательский университет»

Стоматологическая Ассоциация России
Белгородская региональная общественная организация
«Стоматологическая ассоциация»

СТОМАТОЛОГИЯ СЛАВЯНСКИХ ГОСУДАРСТВ

Сборник трудов
XVII Международной научно-практической конференции



Белгород 2024