

Трухан Д. А.

ОСОБЕННОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ФАКТОРОВ РОСТА В ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ ПРИ ВОССТАНОВЛЕНИИ ТКАНЕЙ ЗУБА

Научный руководитель: к.б.н., доцент Рябцева Т.В.

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Аннотация. Ростовые факторы являются важными участниками регенеративной стоматологии, использующей стволовые клетки как исходный материал для синтеза. В обзоре представлены данные о структуре, локализации и механизмах активности факторов роста, применяемых для синтеза и восстановления тканей зуба как в ротовой полости (*in vivo*), так и в лабораторных условиях (*in vitro*). Показано, что сложность осуществления точного контроля всех этапов роста тканей зуба и риск неправильного формирования зуба ограничивают распространение данной технологии.

Ключевые слова: одонтогенез, морфогенетический белок кости, стволовые клетки, мезенхимальные стволовые клетки, генная инженерия, трансформирующий ростовой фактор-бета.

Введение. Удаление зуба является нежелательным, но часто неизбежным этапом стоматологического лечения, влекущим за собой медицинские и финансовые последствия для пациента. Традиционные решения проблемы — протезирование или имплантация — сопряжены с высокими затратами, длительностью процесса и риском отторжения имплантата. В связи с этим в современной биомедицине как альтернатива активно развивается регенеративная стоматология, цель которой – полноценное восстановление дентина, пульпы и, в перспективе, «биологически целого» зуба.

Понимание работы основных сигнальных путей, регулирующих эмбриональное развитие зуба, делает возможным их искусственную реактивацию в постнатальный период [1]. Другой перспективный подход заключается в использовании стволовых клеток зубного зачатка. Исследования показывают, что реимплантация зубных зачатков, созданных из мезенхимальных и эпителиальных стволовых клеток, может привести к формированию полноценного зуба с нормальной гистологической структурой, включая дентин, пульпу и периодонтальную связку, что обеспечивает его естественную интеграцию в челюстную кость [2]. Однако, несмотря на успехи *in vitro*, ключевой проблемой остается разработка клинически применимых, безопасных и стандартизированных протоколов для человека.

Цель исследования. Систематизировать и проанализировать современные научные данные о структуре, локализации и механизмах активности факторов роста в регенеративной стоматологии, оценить перспективы и сложности внедрения данных технологий в клиническую практику.

Материал и методы. Для подготовки данного обзора был применен систематический подход к поиску и анализу научной литературы, посвященной применению факторов роста в генной инженерии для восстановления тканей зуба. Поиск релевантных публикаций проводился в международных базах данных PubMed/MEDLINE, Web of Science и Scopus, а также в российской базе данных РИНЦ (eLibrary). Использовались следующие ключевые слова и их комбинации на английском и русском языках: «tooth regeneration», «growth factors», «bone morphogenetic protein», «BMP», «dentin regeneration», «pulp regeneration», «gene therapy», «dental tissue engineering», «векторы доставки генов», «регенерация дентина», «стоматология». Синтаксис запросов адаптировался под особенности каждой базы данных. В обзор включались оригинальные исследовательские статьи (*in vitro*, *in vivo*), опубликованные в рецензируемых журналах в период с 2010 по 2024 год. Критериями исключения являлись тезисы конференций, статьи, не прошедшие рецензирование, а также работы, не содержащие данных о механизмах

действия или эффективности методов генной инженерии. Для полного текстового анализа было отобрано 16. На заключительном этапе в обзор были включены 5 публикаций, наиболее полно соответствующих целям данного исследования.

Результаты исследования. Для экспериментов наиболее часто используются мезенхимальные стволовые клетки зубного происхождения (dental mesenchymal stem cells - MSCs). Среди основных типов последних выделяют [1]:

- стволовые клетки пульпы постоянных зубов (Dental Pulp Stem Cells, DPSCs): обладают высоким потенциалом для дифференцировки в пульпу и дентин. Основной проблемой является сложность забора материала, так как получение клеток является процедурой, инвазивной для интактной пульпы;

- стволовые клетки из выпавших молочных зубов (Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth, SHED): высокий потенциал дифференцировки в дентин и ткани периодонта. Этот источник клеток является наиболее перспективным, так как выпадение молочных зубов - естественный процесс, что позволяет их сбор без дополнительных потенциально травматичных процедур;

- стволовые клетки, полученные из периодонтальной связки удалённых зубов (Periodontal Ligament Stem Cells, PDLSCs): способны дифференцироваться в ткани периодонта, цемент и альвеолярный гребень; является подходящим для случаев, когда удаление зуба уже неизбежно;

- стволовые клетки, полученные из верхушки корня развивающегося постоянного зуба (Stem Cells from the Apical Papilla, SCAP): дифференцировка в структуры корня. Этот источник клеток оценён нами как наименее желательный, так как получение данных стволовых клеток связано с риском повреждения развивающихся зубных тканей и структур;

- стволовые клетки из зубного фолликула развивающегося зуба (Dental Follicle Progenitor Cells, DFPCs): дифференцировка в ткани периодонта и альвеолярного гребня; является вариантом выбора при наличии ретинированного зуба мудрости, имеющего показания к удалению.

На основании вышеперечисленного нельзя не отметить закономерность между источником стволовых клеток и типом тканей, которые могут быть из них получены. Клетки из пульпы и выпавших молочных зубов дают преимущественно дентин и пульпу, в то время как клетки из периодонтальной связки, корня зуба и зубного фолликула преимущественно дифференцируются в ткани, связанные с поддерживающими структурами зуба (периодонт, цемент и альвеолярный гребень). Предположение, которое мы можем сделать на основании этого - наилучшая морфология синтезированного зуба может быть обеспечена при комбинации стволовых клеток различного происхождения, что требует дальнейших исследований по теме.

Другим подходом является использование мезенхимальных стволовых клеток не зубного происхождения (non-dental mesenchymal stem cells) [1], таких как клетки из пуповины или красного костного мозга. Эти клетки находятся на более ранней стадии дифференцировки, что повышает их потенциал для развития в полноценные зубные ткани. Другим фактором, делающим их более удобными для использования, является менее травматичная процедура забора.

Тем не менее, одним из самых перспективных направлений в будущем являются индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (Induced Pluripotent Stem Cells, iPSCs) [2]. Эти клетки обладают практически неограниченными возможностями для дифференцировки в различные типы клеток, в том числе в ткани зуба, и могут предоставить ученым наибольшую свободу действий в регенерации зубных структур.

Ключевыми сигнальными молекулами в контексте выращивания зубов являются морфогенетический белок кости (BMP), который активирует транскрипцию генов, связанных с одонтогенезом, трансформирующий фактор роста (TGF- β), который отвечает за дифференцировку стволовых клеток, и фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), который способствует образованию кровеносных сосудов, обеспечивая питание тканей. Среди других

играющих роль молекул можно выделить Wnt (β -катенин), регулирующий пролиферацию стволовых клеток, и Sonic Hedgehog (Shh), который способствует правильной морфологии зуба, а также Msx1 [2].

Последним необходимым для поддержания развивающихся структур фактором является биологическая матрица (т.н. скаффолд), точная анатомическая форма которой достигается 3D-печатью. Используются такие материалы, как биоразлагаемые синтетические полимеры (полилактичная кислота), натуральные гидрогели (коллаген, гиалуроновая кислота), а также биоактивная керамика (гидроксиапатит, трикальцийфосфат).

Синтез зуба может быть реализован в рамках двух возможных стратегий: «in vitro», и «in vivo».

Стратегия №1: «In vitro» — Синтез зуба в лабораторных условиях и его последующая пересадка пациенту. Необходимые условия для дифференцировки и роста стволовых клеток, что достигается введением сигнальных молекул и соответствующих факторов роста и использованием скаффолда.

Сначала стволовые клетки подвергаются воздействию BMP, FGF, VEGF в определённых пропорциях, где BMP способствует дифференцировке клеток в дентин и пульпу, FGF обеспечивает рост ткани путём активации пролиферации клеток, а VEGF стимулирует ангиогенез. Результатом взаимодействия является напоминающая зачаток зуба структура, которую пересаживают на место удалённого зуба. Взаимодействие мезенхимальных стволовых клеток с эпителиальными запускает сигнальный путь Smad, который фосфорилирует Msx1. Последний стимулирует дифференцировку стволовых клеток в целевые — одонтобласты (формирующие дентин), цементобласты (формирующие цемент корня) или остеобласты (формирующие кость). Внесённый каркас постепенно рассасывается, в освобождённое место прорастают сосуды, заканчивая формирование полноценного зуба, интегрированного в системы периодонта и кровообращения.

Стратегия №2: «In vivo» — Необходимые клетки и факторы роста вводятся непосредственно в ротовую полость в область удалённого зуба, и окружающая среда непосредственно участвует в регенерации. Условия предполагают наличие биоматериала и ферментов, задачей исследователей становится запуск «поставленного ранее на паузу» одонтогенеза. Основным ингибитором одонтогенеза является вышеупомянутый белок USAG-1 [3], который связывается с BMP и блокирует ненужное формирование зубных зачатков. Деактивация USAG-1 производится антителами Anti-USAG-1 (TRG035) [3], после чего BMP белок запускает механизм одонтогенеза, характерного для эмбрионального развития: воздействие на клетки мезенхимы запускает фосфорилирование Smad и экспрессию Msx1.

Основные проблемы для процедуры выращивания зубов связаны, прежде всего, с необходимостью строгого контроля пролиферации и дифференцировки клеток во избежание чрезмерного роста тканей или образования опухолей. Риск опухолевого роста связан с путём Wnt, при продолжительной/избыточной активации способным вызывать неконтролируемую пролиферацию клеток [4]. Подобная ситуация возможна и при чрезмерной стимуляции BMP, который также может активировать экспрессию онкогенов [5]. Для подавления продолжительной активности сигнальных путей роста (BMP и Wnt) может использоваться поэтапное снижение их концентрации или введение ингибиторов. Критически важно точно определять момент «отключения» сигналов, чтобы избежать как недоразвитости структур, так и гиперплазии. Так как в эмбриональном развитии зуба процесс роста регулируется множеством сигнальных путей и завершается после достижения морфологической зрелости.

Возможные варианты контроля включают:

- встроенные системы «kill-switch», индуцирующие гибель клетки при отклонении от нормы. Возможны варианты с встраиванием генов, кодирующих белки апоптоза, активируемые при превышении пороговой экспрессии, использованием CRISPR-систем [4], отключающих гены при нарушении регуляции, а также логических конструкций типа “AND”: клетка уничтожается, если одновременно активен Wnt и отсутствует сигнал дифференцировки;

- использование ингибиторов циклина D (Palbociclib, Ribociclib, Abemaciclib, также применяемые в онкотерапии): данные препараты тормозят активность циклина D, активация которым циклин-зависимых киназ (CDK4 и CDK6) стимулирует переход клетки из фазы G1 в фазу S [5];

- применение Non-integrating delivery-систем. В отличие от вирусных векторов, способных вызывать мутагенез при случайной интеграции в онкогенные участки ДНК, использование мРНК, белков или неинтегрирующихся (эпизомальных) плазмид позволяет снизить риски онкогенеза.

Заключение. Выращивание зубов с использованием стволовых клеток является перспективной, но сложной технологией. На текущий момент она требует высоких затрат, тщательного контроля и решения множества технических и этических вопросов. Несмотря на обещающие результаты, в ближайшем будущем технология вряд ли получит широкое применение в клинической практике, особенно из-за высокой сложности и возможных рисков.

Список литературы:

1. Umaphy, V. R. Regenerative strategies in dentistry: harnessing stem cells, biomaterials and bioactive materials for tissue repair. / V. R. Umaphy, P. M. Natarajan, B. Swamikannu // *Biomolecules*. – 2025. – Vol. 15, №4. – P. 30–36.
2. The Promise of Human Induced Pluripotent Stem Cells in Dental Research. / T. C. Srijaya, P.J. Pradeep, R. B. Zain [et al.] / *Stem Cells Int.* – 2012. – Vol. 1. – DOI: 10.1155/2012/423868.
3. Anti-USAG-1 therapy for tooth regeneration through enhanced BMP signaling. / A. Murashima-Suginami, H. Kiso, Y. Tokita [et al.] / *Sci Adv.* – 2021. – Vol. 7, №7. – P. 211–217.
4. CRISPR/Cas system: an emerging technology in stem cell research. / M. T. Valenti, M. Serena, L. D. Carbonare, D. Zipeto // *World J Stem Cells*. – 2019. – Vol. 11, №11 – P. 937–956.
5. Katoh, M. WNT signaling and cancer stemness. / M. Katoh // *Essays Biochem.* – 2022. – Vol. 66, №4. – P. 319–331.