

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК
НА ФОРМИРОВАНИЕ ОБЪЕМА КОСТНОЙ ТКАНИ
В ЗОНАХ ДЕНТАЛЬНОЙ ИМПЛАНТАЦИИ**

А.Р. Хаирутдинова¹, Ф.А. Хафизова¹, Д.А. Азизова¹, И.Р. Хафизов²,
Е.Ю. Закирова¹, А.А. Ризванов¹, М.З. Миргазизов¹, Р.Г. Хафизов¹
¹*ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»,
г. Казань*

²*ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет»
МЗ РФ, г. Казань*

Частичное отсутствие зубов (частичная вторичная адентия) является одним из самых распространенных заболеваний: по данным Всемирной организации здравоохранения, им страдают до 75% населения в различных регионах земного шара. Лечение таких пациентов осложняется тем, что у них наиболее часто встречаются различного рода и степени выраженности изменения параметров альвеолярных отростков челюстей. В последнее время применяются различные методы, направленные на увеличение и оптимизацию параметров альвеолярных отростков. Нарращивание же костной ткани в зоне сегментарного дефекта челюстей с использованием остеокондуктивных материалов насыщенных стволовыми клетками и мембраной является перспективной методикой увеличения кости в объеме.

Изучение возможностей применения клеточной терапии в клинической практике — одна из важнейших проблем современной биологии и медицины. Наиболее изучены мезенхимные стволовые клетки (МСК), выделенные из костного мозга (КМ). МСК взрослого человека из КМ представляют собой легкодоступную и относительно хорошо охарактеризованную популяцию стромальных клеток-предшественников, которые содержатся в КМ как в своеобразном депо. При необходимости они выходят в кровь, поступают в

поврежденный орган или ткань и превращаются в специализированные клетки для их восстановления.

В последние годы особый интерес биологов и врачей вызывают клетки стромальной васкулярной фракции, получаемые из жировой ткани (СВФЖТ). Это обусловлено в первую очередь доступностью материала для выделения клеток, поскольку одним из способов их получения является косметическая липосакция. Популяция свежевыделенных клеток жировой ткани гетерогенна и характеризуется высоким содержанием клеток, экспрессирующих антиген CD34. В процессе культивирования наблюдается обогащение популяции клетками, несущими маркеры, идентичные МСК костного мозга, — CD29, CD44, CD71, CD90, CD105, CD106, CD166. Поэтому в ряде случаев СВФЖТ могут представлять собой альтернативу МСК из КМ, получение которых связано с определенными техническими и медицинскими проблемами.

Клетки СВФЖТ способны дифференцироваться в клетки костной, хрящевой, жировой, мышечной, нервной ткани, в клетки сосудистой стенки (эндотелиальные и перicyты). В исследованиях последних лет показано, что СКЖТ обладают выраженной ангиогенной активностью, в основном за счет секреции ряда ключевых ангиогенных факторов роста: фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), фактора роста гепатоцитов (HGF), фактора роста фибробластов 2-го типа (FGF2) и др.

Сегодня внимание сфокусировано главным образом на возможности стромальных клеток дифференцироваться в клетки костной ткани.

Известно большое количество способов пластики костных дефектов альвеолярного отростка челюстей, однако применяемые материалы не всегда удовлетворяют предъявляемым к ним требованиям.

Применение клеток СВФЖТ в стоматологии открывает широкие возможности для использования клеточных технологий в челюстно-лицевой хирургии, пародонтологии и имплантологии. Известно, что стромально-васкулярная фракция жировой ткани содержит истинные «покоящиеся» мезенхимные стволовые клетки, которые имеют характеристики, аналогичные

свойствам стромальных клеток костного мозга: обладают высокой пролиферативной активностью, способны к самоподдержанию и мультилинейной (в том числе, остеогенной) дифференцировке.

Сложность применения стромально-васкулярной фракции, содержащей стволовые клетки, заключается в том, что в отсутствии какого-либо его инкубатора-носителя она растекается в окружающие ткани. В связи с этим в данной работе был предложен способ адресной доставки и изучено влияние стволовых клеток, выделенных из жировой ткани для наращивания объема костной ткани в зонах дентальной имплантации.

На сегодняшний день в качестве материалов-инкубаторов используют различные материалы — графит, керамику, полимеры, металлы и их сплавы. Поиск материалов чаще всего определяется влиянием их на клеточные и внутриклеточные процессы — выживаемость, рост, размножение клеток. У клеток должен быть доступ к питательным веществам и выводу ненужных метаболитов, а также они должны быть обеспечены соответствующим трехмерным объемным пространством.

Решить многие проблемы в области как поиска необходимого материала для инкубатора-носителя, так и биоинтеграции клеточного материала в нем, позволяет использование для этих целей одного из видов пористого проницаемого материала на основе никелида титана. Созданные в НИИ медицинских материалов и имплантатов с памятью формы (г. Томск) объемные пористо-проницаемые инкубаторы из никелида титана обладают уникальными свойствами: имеют пористо-проницаемую структуру с высокой степенью открытостью пор, обладают хорошей смачиваемостью с тканевыми жидкостями, высокой биологической, биомеханической и биохимической совместимостью на клеточном уровне.

В данной работе в качестве «поставщика-носителя» клеток используются биосовместимый мелкогранулированный пористый никелид титана с размерами пор от 0,1-1000 мкм, полученный методом самораспространяющегося высокотемпературного синтеза (СВС). Структура

инкубатора из пористого проницаемого никелида титана представляет собой трехмерное поровое пространство, морфологическое строение которого типично для высокопористых материалов. Пористый материал имеет большую удельную поверхность, обусловленную наличием в нем системы открытых и взаимосвязанных пор. Поверхность стенок пор очень развита, она рельефная и шероховато-микропористая.

Развитая шероховато-микропористая поверхность пор и наличие большого количества мелких пор в стенках крупных пор, где всегда есть питательная среда, являются идеальными условиями для роста и размножения клеток. Таким образом, пористый проницаемый инкубатор из никелида титана является уникальным биосовместимым носителем клеточных культур тканей организма и может использоваться для создания искусственных тканеинженерных конструкций.

Методика заключается в наращивании объема костной ткани в зонах дентальной имплантации с использованием стволовых клеток, выделенных из жировой ткани большого сальника собаки. Из забранной жировой ткани производилось выделение клеток стромально-васкулярной фракции (СВФЖТ) как описано ранее. Для этого жировую ткань трижды промывали в физиологическом растворе в стерильных условиях. Далее производилась ферментизация жировой ткани с добавлением коллагеназы. Для проведения исследования заранее создавался сегментарный дефект альвеолярного отростка беззубого участка челюсти. Клетки СВФЖТ в комбинации с остеокондуктивными материалами (пористые никелид-титановые гранулы, насыщенные стволовыми клетками, ксеногенный костный матрикс и др.) доставляли в зону дефекта альвеолярного отростка. Перспективность использования стволовых клеток жировой ткани обусловлена, в первую очередь, доступностью биологического материала и легкостью выращивания в условиях культивирования *in vitro*.

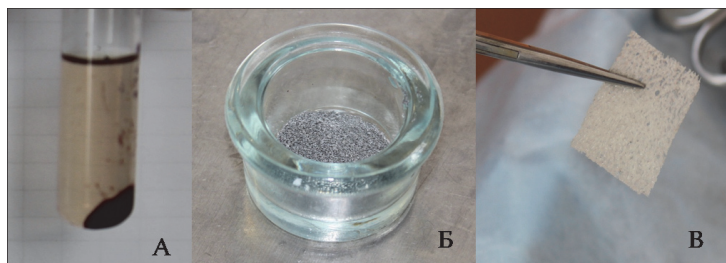


Рис. 1. Материалы, используемые для направленной тканевой регенерации, которые укладываются в зону дефекта альвеолярного отростка. А. Клетки стромально-васкулярной фракции; Б. Никелид-титановые гранулы; В. Собственно ксеногенный костный матрикс (мембрана)

Проведение данного эксперимента состояло из следующих этапов:

1. Создание модели беззубого участка непосредственно после удаления зубов;
2. Забор жировой ткани;
3. Получение стромальной-васкулярной фракции;
4. Заполнение дефекта костной ткани:
 - а) стромально-васкулярной фракцией с остеокондуктивными материалами и мембраной;
 - б) стромально-васкулярной фракцией с остеокондуктивными материалами без использования мембраны.
5. Ушивание раны.
6. Проведение эксперимента сопровождали рентгенологическими исследованиями и клиническими наблюдениями. Через 1, 3, 6 месяца производили забор никелид-титановых костных блоков, которые в дальнейшем подвергались гистологическим наблюдениям.

На сегодняшний день имеются данные о наращивании костной ткани с использованием костного морфогенетического белка, аутологических стромальных стволовых клеток, полученных из аспирата костного мозга, но у данных способов имеются значительные недостатки, а именно:

- 1) длительное культивирование клеток *in vitro* может приводить к нежелательным изменениям генотипа и увеличению материальных затрат;
- 2) сложность и болезненность забора костного мозга;
- 3) отсутствие какого-либо носителя костного морфогенетического белка будет приводить к растеканию и диффузии белка в окружающие ткани.

Преимущества же наращивания костной ткани с использованием СВФЖТ обусловлены:

- доступностью биологического материала;
- легкостью наращивания в условиях культивирования *in vitro*;
- малой травматичностью;
- не требует существенных материальных затрат в связи с их достаточным количеством практически у любого пациента;
- простотой забора жировой ткани;
- наличием гетерогенной популяции клеток, которые не только стимулируют процессы регенерации, но и подавляют воспаление в зоне имплантации за счет присутствия M2 поляризованных макрофагов, стимулируют реваскуляризацию за счет эндотелиальных предшественников и т.д.

В результате применения СВФЖТ в комбинации с наноструктурным остеокондуктивным материалом нитигран создаются благоприятные условия для регенерации костной ткани в подмембранном пространстве по заданной форме гребня альвеолярного отростка при восстановлении сегментарного дефекта гребня альвеолярного отростка. Предложенный способ направленной

тканевой регенерации открывает новые возможности при восстановлении сегментарного дефекта гребня альвеолярного отростка челюстей в зонах дентальной имплантации.

Литература

- 1.Грудянов А.И., Зорин В.Л., Зорина А.И. и соавт. Клеточные технологии в пародонтологии // Стоматология. — 2009. — 1. — С. 71-73.
- 2.Корочкин Л.И. Стволовые клетки в биологии и медицине // Вестник эстетической медицины. — 2005. — 1. — С. 9-18.
- 3.Масгутов Р.Ф., Ризванов А.А., Салафутдинов И.И., Ханнанова И.Г., Муллин Р.И., Богов А.А., Галлямов А.Р. Коррекция дефекта мягких тканей лица с применением аутогенной жировой ткани, обогащенной клетками стромально-васкулярной фракции // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. — 2012. — Т. 7, № 3. — С. 177-179.
- 4.Патент № 2464646, РФ. Метод глубокого травления. Миргазизов М.З., Миргазизов Р.М., Хафизова Ф.А. и соавт.
5. Хафизов Р.Г., Миргазизов М.З., Азизова Д.А., и соавт. Особенности восстановления сегментарного дефекта альвеолярной части нижней челюсти у собак // Ученые записки КГАМ им. Н.Э. Баумана. — Казань, 2012. — Т. 209. — С. 335-339.
- 6.Масгутов Р.Ф., Салихов Р.З., Плаксейчук Ю.А., Салафутдинов И.И., Ризванов А.А., Богов А.А. Применение клеток стромальной васкулярной фракции жировой ткани при ложном суставе бедренной кости: клинический случай // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. — 2013. — Т. 8, № 3. — С. 116-118.
- 7.Lee R.H., Kim B.C., Choi I.S. et al. Characterization and expression analysis of mesenchymal stem cells from human bone marrow and adipose tissue // Cell Physiol. Biochem. — 2004. — 14. — P. 311-324.
- 8.Кулаков А.А., Григорян А.С., Киселева Е.В. и соавт. Устранение критических костных дефектов с помощью биоинженерной конструкции на нерезорбируемой полимерной основе с использованием аутогенных

мультипотентных стромальных клеток из жировой ткани // Стоматология. — 2010. — 3. — С. 9-12.

9.Cao Y., Sun Z., Liao L. et al. Human adipose tissue-derived stem cells differentiate into endothelial cells in vitro and improve postnatal neovascularization in vivo // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 2005. — 332. — 2. — P. 370-379.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ИНТЕРФЕЙСА «ИМПЛАНТАТ-КОСТЬ»
ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МИНИИМПЛАНТАТОВ ИЗ
ОТЕЧЕСТВЕННОГО СПЛАВА ВТ1-0**

Р.Г. Хафизов^{1,3}, М.З. Миргазизов^{1,2}, Ф.А. Хафизова^{1,3}, М.З. Миргазизов^{1,2},
А.Р. Хаирутдинова^{1,3}

¹*ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»,
г. Казань*

²*Фонд развития высоких стоматологических технологий «Биосовместимые
материалы и имплантаты», г. Москва*

³*Стоматологический центр «Имплантстом», г. Казань*

Необходимость в улучшении свойств применяемых материалов и конструкций имплантатов в настоящее время остается актуальной и перспективной задачей. Применение инновационных нанотехнологий сегодня дают большую свободу в разработке новых материалов и имплантатов.

Имплантаты из субмикрористаллического ВТ1-0 были использованы для испытания в эксперименте на собаках. Условия испытаний максимально были приближены к клиническим: на нижней челюсти собаки сформирован беззубый участок для установки имплантатов, аналогичный по многим параметрам беззубых участков нижней челюсти человека. Через 3-4 мес. в этой зоне с помощью специально созданных инструментов создавали костное ложе и устанавливали имплантаты (рис. 1).