

ОГЛЯДИ

УДК 576.3/.7+616.31

*К. Н. Косенко, д. мед. н.*

ГУ «Институт стоматологии АМНУ»

**СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ В СТОМАТОЛОГИИ  
(ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

*К. М. Косенко*

ДУ «Інститут стоматології АМНУ»

**СТВОЛОВІ КЛІТИНИ В СТОМАТОЛОГІЇ  
(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)**

*K. N. Kosenko*

SE “the Institute of Dentistry of the AMSU”

**STEM CELLS IN DENTISTRY  
(Literary review)**

До недавнего времени проблемы клеточной дифференциации оставались предметом исследований патоморфологов и гистологов, а возможности воздействия на регенераторные процессы в организме ограничивались применением биостимуляторов и индукторов пролиферации [1, 2]. Новые горизонты для клинической медицины обозначились с открытием способов культивации первичных клеток канадскими учеными Эрнестом Мак-Кулоха и Джеймсом Тэллом в 1960 году. Данные клетки встречаются во всех многоклеточных организмах, и получили название штаммовых (стволовых) клеток [2]. Эти клетки могут самовосстанавливаться путем деления, а также дифференцироваться в достаточно большое количество специализированных типов клеток. Особенности стволовых клеток является их способность к самовосстановлению, т.е. прохождение огромного количества клеточных циклов клеточного деления и их свойство оставаться недифференцированными, одновременно возможность дифференцироваться в любой клеточный тип. Это делает стволовые клетки тотипотентными или плюрипотентными, хотя некоторые мультипотентные или даже унипотентные, предшественники некоторых клеточных линий тоже иногда называют стволовыми клетками [3].

Благодаря своим способностям к безграничному развитию и плюрипотентности, эмбриональные стволовые клетки являются потенциальным материалом для регенеративной медицины и замещения тканей после ранений или болезней. Впрочем, на сегодня нет достаточной доказательной базы для широкого медицинского использования эмбриональных стволовых клеток. И это неудивительно, учитывая то, что многие страны ввели мораторий, как на исследование стволовых клеток, так и на получение их новых линий [3].

Более глубоко исследованы соматические стволовые клетки. По сравнению с эмбриональными клет-

ками, стволовые имеют более ограниченные способности к дифференцированию, то есть являются мультипотентными или даже унипотентными. Именно они сегодня имеют наибольшее значение в регенеративной медицине [3]. Использование стволовых клеток взрослого организма в экспериментальных исследованиях и в клинической медицине не связано с существенными биоэтическими ограничениями, поэтому, в отличие от эмбриональных стволовых клеток, для исследования соматических стволовых клеток выделяются значительные средства [3, 4].

Накопленный исследователями опыт свидетельствует о том, что стволовые клетки могут кардинально изменить существующие алгоритмы лечения хронических заболеваний, в том числе, ныне считающихся неизлечимыми [3]. Большинство лечебных методов, основанных на использовании стволовых клеток, являются экспериментальными, их клиническая эффективность не имеет достаточного подтверждения, однако уже полученные результаты позволяют сделать вывод о чрезвычайной перспективности использования клеточных технологий для лечения онкопатологии, нейродегенеративных и сердечно-сосудистых заболеваний. Не является исключением и стоматологическая патология [3, 5]. Впрочем, иногда публикации по вопросам использования стволовых клеток в стоматологии носят откровенно спекулятивный характер, что дает основание скептикам к неоправданно категорическим оценкам научных и практических перспектив нового метода [6].

Целью данного обзора была оценка современного состояния проблемы использования стволовых клеток в стоматологической практике.

**Материал и методы.** Информационный поиск проведен по ключевым словам «Штамм клетки» (stem cells (англ.), Stammzellen (нем.), cellules souches (фр.)), «стоматология», (dentistry (англ.), Stomatologie (нем.), stomatologie (фр.)) «лечения» (treatment (англ.), Therapie (нем.), thérapie (фр.)) в базах данных Medline, Ovid, HINARI, CINAHL, Embase, TRIP, каталогах диссертаций Национальной библиотеки Украина им. В.И. Вернадского, Российской государственной медицинской библиотеки с ретроспективой 10 лет. После исключения публикаций с низким уровнем доказательности, недостаточной релевантности и пертинентности, для дальнейшего анализа были отобраны 185 статей. Обобщение литературных данных проведено методом контент-анализа, с использованием библиографического и библиометрического метода.

**Результаты исследования.** Библиометрическое исследование показало существенное преобладание в структуре отобранных для дальнейшего анализа публикаций обзоров (210 или 79,5 %), тогда как оригинальных исследований в 2000-2010 годах было опубликовано лишь 54 (20,5 %). Большинство исследователей работают на лабораторных моделях, при преобладании исследований in vitro - 31. Ведущими странами в разработке проблемы являются США, Япония,

Китай и Германия (соответственно 106, 120, 9 и 17 публикаций).

Huang GT et al. (2010) оценили возможность регенерации васкуляризованой пульпы зуба и продукции нового дентина на сохранившихся дентинных стенках в канале зуба после проведенной обработки канала. Исследование проведено на лабораторной модели (мышь с ослабленным иммунитетом). Стволовые клетки с апикальной части сосочка и пульпы были изолированы и помещены на синтетическую подложку, которая состояла из D, L-лактид/гликолиза, введенного во фрагменты зубов, после чего трансплантированы в предварительно депульпированные каналы зубов. Как показали дальнейшие наблюдения, полость канала быстро наполнялась пульпоподобной тканью с хорошо развитыми кровеносными сосудами. Кроме того, на поверхности стенок канала образовывались отложения дентиноподобной ткани, которая содержала сиалопротеины дентина и костной ткани, щелочную фосфатазу и CD105. Образованные ткани давали положительную реакцию с человеческими митохондриальными антителами, что свидетельствует об их происхождении от человека. Таким образом, регенерация пульпы *de novo*, посредством стволовых клеток, способных дифференцироваться в одонтобласто-подобные клетки, вполне возможна [7].

В исследовании Nedel F. et al. (2009) стволовые клетки получали из ткани пульпы молочных и постоянных зубов, а также из периодонтальной связки, причем стволовые клетки из пульпы зуба демонстрировали способность образовывать гетерогенные дентинные комплексы в тканях мышей с ослабленным иммунитетом после трансплантации. Эти комплексы содержали смесь энамелобластов, мезенхимальных клеток пульпы и механического носителя. Авторы считают, что полученные результаты позволяют в будущем рассчитывать на использование стволовых клеток для замещения дефектов дентина, эмали, пульпы, реконструкции дентоальвеолярных и краниофациальных костных дефектов, а в перспективе - рассчитывать даже на замещение всего зуба. Однако, подобные результаты были получены еще в начале текущего десятилетия - в исследовании Grontos S. et al. (2002) была описана способность стволовых клеток из пульпы зубов человека к самовосстановлению, дифференцирование в разных направлениях и клонообразование. В культуре, полученной из первичных трансплантатов стволовых клеток, были восстановлены стромально-подобные клетки, которые затем повторно трансплантировали мышам с ослабленным иммунитетом. Исследование показало способность стволовых клеток к дифференциации в адипоциты и нейрноподобные клетки. Кроме того, был определен одонтогенный потенциал различных штаммов, выделенных из одной колонии клеток. Две трети штаммов продуцировали, *in vivo*, большое количество гетеротопических отложений дентина [9].

Обзоры Peng L et al. (2009) и Morsczech C et al. (2008) содержат анализ публикаций по проблеме применения мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток, которые получают преимущественно из удаленных молочных зубов, пульпы зубов, стволовых клеток с апикальной части сосочка, зубного фоллику-

ла, периодонтальной связки или костного мозга. Авторы рассматривают эти клетки, как перспективные для дальнейшего применения в регенерационной стоматологии [10, 11]. Подобные взгляды разделяют и Tziafas D. и Kodonas K. (2010), которые предлагают использовать стволовые клетки в эндодонтической практике [12], и Jing W et al. (2008), которые считают стволовые клетки, полученные из жировой ткани, наиболее перспективными для наработки одонтогенных клеточных линий, чем мезенхимальные стволовые клетки, полученные из красного костного мозга [13].

Перспективам использования стволовых клеток в имплантологии посвятили свое исследование Yamada Y et al. (2009) [14]. Они установили, что в условиях введения в остеоимплант мезенхимальных стволовых клеток, полученных из пульпы зуба, молочных зубов или костного мозга, можно улучшить клинические результаты имплантологического лечения. *In vitro*, стволовые клетки отличались повышенной экспрессией генов STRO-1, CD13, CD29, CD 44, CD73, ALPL, Runx2, BGLAP. *In vivo*, в модель костного дефекта вводили обогащенную тромбоцитами плазму и стволовые клетки в состав имплантата. Через 8 и 16 недель после имплантации проводили гистологическое и гистометрическое исследование препаратов челюсти. Установлено, что при использовании стволовых клеток, регенерация костной ткани значительно ускорялась, в зоне дефекта образовывалась зрелая костная ткань и восстанавливалась сеть кровеносных сосудов.

Onyekwelu O. et al. (2007) считают искусственное выращивание зубов для последующей их имплантации большим с дефектами зубных рядов технически невозможным на современном этапе развития науки [15]. Отдельные сообщения международных агентств о создании зуба с помощью клеточной инженерии японскими учеными зимой 2007 года, являются не совсем корректными [16], речь идет лишь о попытках восстановления основных структурно-морфологических элементов зуба в лабораторных условиях. Последние достижения лаборатории Takahashi C. et al. (2010) доказали возможность дифференциации клонированных клеточных линий эпителия слизистой полости рта в амелобластах и регенерации тканей зуба при комбинации эпителиальных и мезенхимальных штаммовых клеток [17]. Опыты проводились на р53-дефицитных эмбрионах мышей в сроке 18 дней гестации, для которого свойственно практически полное завершение морфогенеза зубов. С помощью *real time* ПЦР-исследования было подтверждено наличие в клеточных линиях, полученных из эмбриональных тканей мыши, маркеров присутствия эпителия слизистой (цитокератин 14), впрочем, при культивации на пластике не были найдены маркеры амелобластов (амелогенин и амелобластах). При культивации на питательном слое или на коллагеновом геле, была определена эпителиальная природа полученных клеточных линий. В дальнейшем, биоинженерными методами были созданы зародыши зубов. Приготовленные из клеточных линий и фетальной мезенхимальной ткани, были имплантированы под капсулу почек на 2-3 недели. 5 из 6 клеточных линий регенерировали в кальцифицированные структуры, подобные натуральным зубам. По мнению авторов, эпителиальные ткани сли-

зистой полости рта эмбриона в срок 18 дней гестации сохраняют способность к дифференциации в амелобластах. Японские исследователи считают созданную ими модель перспективной для проведения исследований органогенеза зубов и их регенерации.

Otaki S et al. (2007) продемонстрировали, что клетки дентальной пульпы способны к пролиферации и продукции экстрацеллюлярного матрикса, который в дальнейшем подлежит *in vitro* минерализации [18]. Авторы установили, что в течение восьми пассажей, при имплантации под кожу мышам с ослабленным иммунитетом, клетки пульпы способны продуцировать структурно-морфологические элементы костной ткани взамен дентина. Это свидетельствует о том, что клетки пульпы являются общими предшественниками одонтобластов и остеобластов, то есть сами по себе являются мезенхимальными штаммовыми клетками. Авторы рекомендуют клетки пульпы зуба в качестве источника клеточного материала для нужд клеточной биоинженерии и регенеративной медицины.

Trubiani O et al. (2006), оценивая перспективы применения различных одонтогенных клеток-предшественников (odontogenic progenitors), предпочитают мезенхимальные стволовые клетки, полученные из пульпы зуба или перидонтальной связи. Авторы указывают на недостаточный уровень изучения молекулярных механизмов клеточной дифференциации как на основную причину задержки внедрения новейших методов клеточной терапии в стоматологии [19].

В более поздних (2000-2005 годы) публикациях содержатся преимущественно поисковые исследования. Они посвящены отработке методологии использования стволовых клеток в клинично-лабораторной практике, поиску оптимальных методов их культивирования и активации [20, 21].

Наиболее существенные результаты достигнуты в использовании стволовых клеток пульпы зуба с подложкой из коллагеновой губки для лечения дефектов костной ткани [22]. Однако, до недавнего времени, научные достижения в основном касались применения аутологичных тканей крови и некоторых других унипотентных клеточных комплексов [23, 24]. В частности, украинские ученые, с целью стимуляции репаративной регенерации костных тканей, применяют аутологичские клетки костного мозга, суспензию клеток крови, фибробласты кожи, нанесенные на коллагеновую биоматрицу, для регенерации дефектов челюстей. В профессиональной литературе последних лет существуют и другие сообщения о применении аутологичных тканей с целью ускорения регенерации костных дефектов в челюстно-лицевой хирургии и имплантологии. Так, Abukawa H et al. (2009) на лабораторной модели доказали, что использование аутологичных имплантатов, полученных из костного мозга и тканей пульпы зуба, позволяет восстановить костные дефекты нижней челюсти [25]. Клиническая эффективность метода была доказана с помощью КТ высокого разрешения, гистологического и иммуногистохимического исследования.

Таким образом, сегодня применение стволовых клеток в стоматологии ограничивается проведением поисковых лабораторных исследований. Впрочем,

уже накопленный опыт свидетельствует о значительных перспективах применения нового метода.

### Список литературы

1. **Smyth N.** Gene and Cell Therapy: Therapeutic Mechanisms and Strategies, Third Edition / Nancy Smyth Templeton. – NY : CRC Press ; 3 ed. – 2008. 1120 p.
2. **McCulloch E.A.** The radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells, determined by quantitative marrow transplantation into irradiated mice. / Ernest McCulloch, James Till. // Radiation Research – 1960 – Vol. 13(1) – P. 115-125
3. **Запорожан В. Н.** Стволовые клетки. / Валерий Запорожан, Юрий Бажора Одесса, Одес.мед.университет, 2004. - 228 с.
4. **McCormick JB.** Stem cells and ethics: current issues. / McCormick JB, Huso HA. // J Cardiovasc Transl Res. 2010 Apr;3(2):122-7
5. **Oral Cells and Tissues** / Philius R. Garant Quintessence Publishing (IL); 1 ed. - 2003 - 430 p.
6. **Woods S.** Stem cell stories: from bedside to bench. / S. Woods // J Med Ethics. 2008 – Vol. 34(12) – P. 845-848
7. **Stem/progenitor** cell-mediated de novo regeneration of dental pulp with newly deposited continuous layer of dentin in an in vivo model. / GT Huang, T. Yamaza, LD Shea [et al.] // Tissue Eng Part A. - 2010 – Vol. 16(2) – p. 605-615.
8. **Stem cells:** therapeutic potential in dentistry. / F. Nedel, A. de André, I. de Oliveira [et al.] // J Contemp Dent Pract. - 2009 – Vol. 10(4) – p. 90-96
9. **Stem cell** properties of human dental pulp stem cells. / S. Gronthos, J. Brahim, W. Li [et al.] // J Dent Res. - 2002 – Vol. 81(8) – P. 531-535.
10. **Peng L** Mesenchymal stem cells and tooth engineering. / Peng L, Ye L, Zhou XD. // Int J Oral Sci. - 2009 – Vol. 1(1) – P. 6-12
11. **Somatic** stem cells for regenerative dentistry. / C. Morsczeck, G. Schmalz, TE Reichert [et al.] // Clin Oral Investig. - 2008 – Vol. 12(2) – P. 113-118.
12. **Tziafas D.** Differentiation potential of dental papilla, dental pulp, and apical papilla progenitor cells. / D. Tziafas, K. Kodonas // J Endod. - 2010 – Vol. 36(5) – P. 781-789
13. **Odontogenic** differentiation of adipose-derived stem cells for tooth regeneration: necessity, possibility, and strategy. / W. Jing, L. Wu, Y. Lin [et al.] // Med Hypotheses. – 2008 – Vol. 70(3) – P. 540-542
14. **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. / Y. Yamada, S. Nakamura, K. Ito [et al.] // Tissue Eng Part A. - 2010 – Vol. 16(6) – P. 1891-1900
15. **Tooth development:** 2. Regenerating teeth in the laboratory. / O. Onyekwelu, M. Seppala, M. Zoupa, M. Cobourne // Dent Update. - 2007 – Vol. 34(1) – P. 20-22
16. **Japanese** scientists grow teeth from cells. Reuters. 19.02.2007 Электронный ресурс. Режим доступу: <http://uk.reuters.com/article/idUKN1834654020070219>
17. **Newly** established cell lines from mouse oral epithelium regenerate teeth when combined with dental mesenchyme. / C. Takahashi, H. Yoshida, A. Komine [et al.] // In Vitro Cell Dev Biol Anim. - 2010 – Vol. 46(5) – P. 457-468
18. **Mesenchymal** progenitor cells in adult human dental pulp and their ability to form bone when transplanted into immunocompromised mice. / S. Otaki, S. Ueshima, K. Shiraishi [et al.] // Cell Biol Int. - 2007 – Vol. 31(10) – P. 1191-1197.
19. **Regenerative** potential of human periodontal ligament derived stem cells on three-dimensional biomaterials: a morphological report. / O. Trubiani, G. Orsini, N. Zini [et al.] // J Biomed Mater Res A. - 2008 - Vol.87(4) – P. 986-993

20. **Bioengineered** teeth from cultured rat tooth bud cells. / MT Duailibi, SE Duailibi, CS Young [et al.] // J Dent Res. - 2004 – Vol. 83(7) – P. 523-528

21. **Modino SA** Tissue engineering of teeth using adult stem cells. / SA Modino, PT Sharpe // Arch Oral Biol. - 2005 - Vol. 50(2) – P. 255-258.

22. **Rimondini L.** Stem cell technologies for tissue regeneration in dentistry. / L. Rimondini, S. Mele // Minerva Stomatol. - 2009 – Vol. 58(10) – P. 483-500

23. **Яринич-Бучинська Н. П.** Клініко - експериментальне обґрунтування застосування аутологічних клітин крові в комплексному лікуванні хронічного генералізованого парадонтиту: автореф. дис... канд. мед. наук: 14.01.22 / Вищий

держ. навчальний заклад України "Українська медична стоматологічна академія". — Полтава, 2008. — 19 с.

24. **Влияние** аллогенных и аутологичных мультипотентных стромальных клеток жировой ткани на регенерацию костной ткани дефекта угла нижней челюсти кролика / С.Е. Черняев, Е.В. Киселева, А.С. Григорьян, А.И. Воложин // Стоматология. – 2010 - №1 – С. 23-29

25. **Reconstructing** mandibular defects using autologous tissue-engineered tooth and bone constructs. / H. Abukawa, W. Zhang, CS Young [et al.] // J Oral Maxillofac Surg. – 2009 – Vol. 67(2) – P. 335-347

Поступила 02.08.11.

