

Перспективы использования фибриновых скаффолдов, заселенных стволовыми клетками пульпы и периодонта. Экспериментальное исследование

Ю.А. Домбровская¹, Н.И. Енукашвили^{1,5}, Р.Е. Банашков², Н.Ю. Семенова³, И.А. Карабак⁴, А.В. Силин¹

¹Северо-Западный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Российская Федерация

²Независимый центр рентгенодиагностики «Пикассо», Санкт-Петербург, Российская Федерация

³Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии
Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Российская Федерация

⁴Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства,
Санкт-Петербург, Российская Федерация

⁵Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Резюме

Актуальность. Создание трехмерных структур – скаффолдов – из биodeградируемых материалов и заселение их стволовыми клетками, полученными из тканей полости рта, перспективно для методик направленной регенерации тканей. Стволовые клетки пульпы и периодонта в большей степени способными к остеогенной дифференцировке, что биологически обуславливает их применение при реконструктивных операциях на костной ткани. Целью настоящего исследования явилась доклиническая оценка заживления костного дефекта в области альвеолярной части нижней челюсти лабораторных мышей с использованием фибринового скаффолда, заселенного стволовыми клетками пульпы и периодонта.

Материалы и методы. В исследовании были использованы 29 белых лабораторных мышей. Проводилось удаление моляров и формирование костного дефекта. Получали стволовые клетки пульпы зуба и периодонта и изготавливали клеточнозаселенные скаффолды, далее их вносили в область дефекта. Через 28 дней после удаления моляров животных выводили из эксперимента, проводили компьютерную томографию челюстно-лицевой области и гистологический анализ области дефекта.

Результаты. В эксперименте показан результат использования фибринового клея, заселенного стволовыми клетками пульпы и периодонта, на нижней челюсти у лабораторных мышей. В статье приведены данные компьютерной томографии и гистологического исследования. Показано влияние клеточнозаселенных скаффолдов на процессы ремоделирования костной ткани в области дефекта. В основной группе наблюдался прирост костной ткани по сравнению с контрольной.

Заключение. Доказана способность стволовых клеток пульпы зуба, заключенных в скаффолд на основе фибринового клея, сохранять способность к пролиферации и к остеогенной дифференцировке. Использованный нами скаффолд на основе фибринового клея влияет на процесс ремоделирования костной ткани в области дефектов челюстей.

Ключевые слова: скаффолд, трехмерная матрица, фибриновый клей, стволовые клетки пульпы и периодонта, остеогенная дифференцировка, направленная костная регенерация

Для цитирования: Ю.А. Домбровская, Н.И. Енукашвили, Р.Е. Банашков, Н.Ю. Семенова, И.А. Карабак, А.В. Силин. Перспективы использования фибриновых скаффолдов, заселенных стволовых клеток пульпы и периодонта. Экспериментальное исследование. Пародонтология.2021;26(2):96-103. <https://doi.org/10.33925/1683-3759-2021-26-2-96-103>.

Prospects for the use of fibrin scaffolds populated with pulp and periodontal stem cells: an experimental study

Yu.A. Dombrovskaya¹, N.I. Enukashvili^{1,5}, R.E. Banashkov², N.Yu. Semenova³, I.A. Karabak⁴, A.V. Silin¹

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russian Federation

²«Picasso» Independent X-ray diagnostics Center, Saint Petersburg, Russian Federation

³Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia,
Saint Petersburg, Russian Federation

⁴Children's Scientific and Clinical Center for Infectious Diseases, Saint Petersburg, Russian Federation

⁵Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russian Federation

Abstract

Relevance. Creating three-dimensional scaffolds from biodegradable materials and seeding them with stem cells derived from the oral tissues is a promising tool for guided tissue regeneration. Pulp and periodontal stem cells have a high potential for osteogenic differentiation, which biologically determines their use in surgical bone reconstruction. The experiment shows the result of using fibrin glue seeded with pulp and periodontal stem cells on the mandible of laboratory mice. The article presents the results of computed tomography and histological examination. The data provide evidence of the influence of seeded scaffolds on bone remodeling in the area of the defect.

Materials and methods. The Local Ethics Committee of the North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov gave permission for the practical part of the research work. The study included 29 white laboratory mice. Molars were extracted and a bone defect was formed. Pulp and periodontal stem cells were obtained and cell-seeded scaffolds were made, then they were introduced into the defect area. The animals were euthanized, maxillofacial CT scan and histology of the defect area were performed 28 days after the molar extraction.

Results. The oral cavity of mice was examined, molars were extracted, and teeth were morphologically examined under anesthesia. Scaffolds were synthesized and bone defects were filled. CT scans and histology results were analyzed. The bone volume increased in the main group compared to the control group.

Conclusion. The fibrin glue can be used to obtain a material with mechanical characteristics sufficient for a stable shape scaffold. The study proved that the pulp stem cells enclosed in a fibrin glue-based scaffold can maintain the ability to proliferate and osteogenically differentiate. The scaffold based on fibrin glue, which we used, affected the bone remodeling process in the area of jaw defects.

Key words: scaffold, three-dimensional matrix, fibrin glue, pulp and periodontal stem cells, osteogenic differentiation, guided bone regeneration

For citation: Yu.A. Dombrovskaya, N.I. Enukashvili, R.E. Banashkov, N.Yu. Semenova, I.A. Karabak, A.V. Silin. Prospects for the use of fibrin scaffolds populated with pulp and periodontal stem cells: an experimental study. *Parodontologiya*. 2021;26(2):96-103. (in Russ.) <https://doi.org/10.33925/1683-3759-2021-26-2-96-103>.

ВВЕДЕНИЕ

Регенеративная медицина – это отрасль трансляционных исследований в области тканевой инженерии и молекулярной биологии, которая занимается «процессом регенерации человеческих клеток, тканей или органов для восстановления нормальной функции той или иной области» [1], поэтому современный мультидисциплинарный подход в решении проблемы создания скаффолд-технологий для регенерации костной ткани актуален и имеет огромный потенциал [2].

Скаффолды, благодаря конгруэнтной форме дефекта и тканеспецифичной биосовместимости, интегрируются в ткань пациента, являясь источником факторов роста и дополнительной областью клеточной адгезии для прикрепления, пролиферации и функционирования клеток, а внесенные в матрикс стволовые клетки способны дифференцироваться в клетки тканей реципиентной зоны. Способность к дифференцировке может быть усилена предтрансплантационной обработкой клеток дифференцировочными стимулами.

Существует несколько классификаций скаффолдов. Так, например, по виду веществ, применяемых для их изготовления: натуральные и синтетические полимеры, а также керамические материалы, например, гидроксипатит, трикальцийфосфат, биоактивное стекло различного состава. Все материалы вышеперечисленных групп демонстрируют отличную биосовместимость за счет их присутствия в минеральной фазе костной ткани [3].

Чаще всего для оптимизации параметров и получения нужных характеристик матриц при изготовлении комбинируют несколько материалов, которые имеют различные физико-химические и биологические свойства. По способу получения можно выделить построение трехмерной модели костного дефекта челюсти на основании сегментирования КТ-срезов, создание трехмерной модели и применение 3D-печати, также имеются запатентованные скаффолды, изготавливаемые промышленным способом [4].

В настоящее время использование трехмерных скаффолдов в различных областях медицины позволяет добиться успешного результата за счет не только объемного замещения дефекта, но и стимуляции местных репаративных процессов, способствующих полному восстановлению функции [2].

Скаффолды на основе фибринового клея считаются перспективным материалом для тканевой инженерии. Клетки в нем легче переносят трансплантацию, он пластичен и вместе с тем быстро застывает. Кроме этого, фибриновый сгусток в нативных условиях является областью привлечения мезенхимных стромальных клеток и фибробластов после образования фибринового сгустка в ране. Таким образом, фибриновый клей является удобным материалом для выполнения регенеративных методик тканей полости рта.

Стволовые клетки мезенхимного происхождения обладают высокой способностью к остеогенной дифференцировке. По этой способности с ними схожи стволовые клетки пульпы и периодонта, являющиеся потомками стволовых клеток нервного гребня, формирующих зачатки всех костей краниального отдела скелета, в том числе и зубных зачатков. Характерной особенностью этих клеток является их способность дифференцироваться в одонтобласты, секретирующие внеклеточный матрикс дентина и цемента, а также стимулировать рост нерва и сосудов пульпы. Считается, что эти клетки более предпочтительны для применения в регенеративных методиках, используемых в стоматологии. Стволовые клетки пульпы и периодонта могут быть выделены из пульпы удаляемых зубов и фрагментов периодонтальных связок, остающихся на поверхностях корня зуба.

Таким образом, биологические свойства и возможность получения из удаляемых при лечении тканей делают стволовые клетки пульпы и периодонта удобным материалом для регенеративных методов в стоматологии. Особенностью стволовых клеток пульпы зуба (СКПЗ) и других популяций стволовых клеток ротовой полости является их эктодермальное происхождение при мезодермальном фенотипе. Поэтому для эффективного функционирования культивированные стволовые клетки пульпы и периодонта должны быть скомбинированы со скаффолдом, который обеспечит прикрепление, пролиферацию, дифференцировку и миграцию клеток [7].

Цель исследования – доклиническая оценка заживление костного дефекта в области альвеолярной части нижней челюсти лабораторных мышей с использованием фибринового скаффолда, заселенного стволовыми клетками пульпы и периодонта.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Этика. Получено разрешение Локального этического комитета ФГБУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава РФ на практическую часть научно-исследовательской работы, выписка из протокола №12 от 11.12.2019.

Экспериментальные животные. В исследовании были использованы 29 половозрелых самцов (20-30 грамм) белых беспородных лабораторных мышей. Допускалось включение только животных, прошедших карантин. Возраст мышей на момент начала исследования – не более 6 месяцев. Животные в исследовании были разделены на три группы:

1. Контроль 1: 9 мышей – с костным дефектом, без дальнейшего лечения.

2. Экспериментальная группа: 10 мышей – с костным дефектом, с введенными скаффолдом, заселенным стволовыми клетками пульпы зуба и периодонта.

3. Контроль 2: 10 мышей – с костным дефектом, с введенным скаффолдом, без стволовых клеток.

Удаление моляров и формирование дефекта. Все манипуляции с животными проводили под наркозом с использованием смеси препаратов «Золетил» и «Рометар» в дозах, подобранных для мелких животных. В области моляров на нижней челюсти справа скальпелем №12 с вестибулярной стороны выполнялся фестончатый разрез слизистой оболочки полости рта. Гладилкой отслаивался лоскут, микромоторным шаровидным бором перфорировалась костная ткань альвеолярного отростка по проекции верхушек моляра, затем зажимом осуществлялись люксационные движения и удаление зуба с прилегающей костной тканью. Рана ушивалась кетгутом.

Получение стволовых клеток пульпы зуба и периодонта. Удаленные моляры помещали в изотонический раствор хлорида натрия, содержащий смесь пенициллина и стрептомицина, и транспортировали в лабораторию. Далее ткани ополаскивали, зуб измельчали и затем обрабатывали коллагеназами и высевали в культуральные флаконы. Культивировали в среде DMEM (1 г/л глюкозы), содержащей 10% ASCM Supplement (HyClone, США), а также пенициллин и стрептомицин [4].

Приготовление клеточнозаселенных скаффолдов, внесение их в область дефекта. Фибриновый клей приготавливали на основе плазмы крови человека [4, 7, 8]. В случае использования клеточнозаселенных скаффолдов клеточную суспензию добавляли к фибриногеновой части (криопреципитату) заготовки для клея непосредственно перед внесением в область дефекта из расчета 1 млн клеток на 1 мл готового фибринового клея. Сразу же после смешивания с криопреципитатом компоненты клея помещали в двухкомпонентный шприц (Baxter) и вносили в рану, которую ушивали наглухо кетгутом.

В качестве основы для скаффолда был выбран фибриновый клей, с концентрацией фибриногена 20 г/л, который сохраняет форму в течение четырех дней. На пятый день сжатие сгустка становится хорошо заметным, на седьмой день размеры сгустка уменьшаются более чем на 50% [4].

Как было показано в предыдущих исследованиях, пролиферативная активность клеток при выращивании как внутри скаффолда, так и в 2D-условиях на адгезивном культуральном пластике, не различались [4]. Также иммунофенотип клеток обеих групп соответствовал иммунофенотипу мезенхимных клеток, что является одним из свойств СКПЗ [9].

Для получения фибринового клея использована технология, разработанная НИЛ КТ ранее – из концентрата плазмы крови с использованием рекомбинантного тромбина неживотного происхождения. Фибриновый клей сме-

шивали с клетками паспортизированной культуры первых трех пассажей стволовых клеток пульпы зуба и периодонта мышей. Необходимую степень жесткости можно получить, варьируя количество фибриногена и соотношение его с количеством тромбина, а также введением дополнительных компонентов, например коллагена.

Скаффолды на основе фибриногена затвердевают за счет взаимодействия фибриногена (первый раствор) и тромбина (второй раствор). В первый раствор добавляют стволовые клетки. В шприце-смесителе растворы, проходя через канюлю-миксер, смешиваются *ex tempore*, и в области сформированного костного дефекта происходит моментальное гелеобразование.

Компьютерная томография. Через 28 дней после удаления моляров животных выводили из эксперимента вводя повышенные дозы «Золетил» и «Рометар». Проводили компьютерную томографию и экстрагировали нижнюю челюсть для последующего гистологического анализа. Компьютерные томограммы выполнены на аппарате Planmeca® ProMax (Финляндия) и интерпретированы совместно врачом-стоматологом и рентгенологом. Использованный протокол сканирования: 90 кВ, 4 мА, размер вокселя 75 мкм, зона сканирования (FOV) 4 x 5 см.

Данные обработаны с применением алгоритма шумоподавления и сохранены в стандартном формате (DICOM). Анализ полученных изображений выполнен с помощью программного обеспечения Romexis® viewer. Определение зоны интереса (ROI) производилось в режиме мультипланарной реконструкции (MPR) с расположением плоскостей соответственно наибольшим измерениям границ созданных костных дефектов [10].

Микроскопия. Гистологический анализ области дефекта. Для гистологического исследования места имплантации брали вместе с окружающими тканями, в качестве контроля исследовали аналогичный участок тканей с противоположной половины челюсти.

Гистологическое исследование тканей области дефекта с последующим гистоморфометрическим анализом. При вырезке во всех случаях производился продольный разрез правой половины нижней челюсти с забором материала из области имплантации и окружающих тканей. В качестве контроля исследовали аналогичный участок тканей с противоположной половины челюсти.

Все образцы фиксировали в 10% забуференном формалине (pH7, 4) в течение 24 часов. Декальцинацию проводили в коммерческом декальцинирующем растворе TBD-2 фирмы Thermo Fisher Scientific (США) в течение 1-3 суток. Готовность образцов определяли с помощью теста с острой иглой: если игла входила в костную ткань без хруста, декальцинацию считали завершённой. Обезвоживание и пропитывание парафином проводили в автоматическом гистопроцессоре Exelsior (Thermo Fischer Scientific, США) в коммерческой среде IsoPREP (Biovitrum, Россия). Затем образцы заливали в парафин HISTOMIX (Biovitrum, Россия), изготавливали срезы толщиной 3 мкм на ротационном микротоме HM325 (Thermo Fisher Scientific, США). Подготовленные срезы окрашивали гематоксилином-эозином по протоколу производителя (Biovitrum, Россия) и анализировали с использованием микроскопа Axiolab Zeiss (Carl Zeiss Microscopy, Германия) с программным обеспечением Axio Vision (версия 4.8) для анализа изображений.

Для верификации гистологических изменений оценивали гистоархитектонику места костного дефекта и прилегающих тканей. Морфологическая характеристика исследуемых образцов включала следующие параметры:

степень фиброза, степень костного ремоделирования, выраженность воспалительной реакции в зоне дефекта.

При анализе полученных препаратов оценивались гистологические структуры в области костного дефекта и окружающие ткани. Гистоморфометрическая оценка включала изучение и полуколичественный подсчет следующих параметров: степень фиброза, степень костного ремоделирования, выраженность воспалительной реакции в зоне дефекта.

Для оценки патоморфологических изменений в группах использовалась модифицированная шкала полуколичественной оценки в баллах по следующим параметрам выраженности признака: 0 – отсутствует; 1 – слабо выражен; 2 – умеренно выражен; 3 – выражен. Анализ проводился в пяти полях зрения при увеличении $\times 100$. Было рассчитано среднее значение параметра для каждой выборки, а затем среднее значение параметра для группы.

Статистическая обработка результатов

Объем выборок указан в разделе «Экспериментальные животные». Для оценки значимости различий ($p < 0,05$) использовали множественный t-test. Анализ полученных данных и построение графиков проводили в программе GraphPad Prism 7. Данные представлены в виде среднего \pm ошибка среднего ($M \pm m$). При обработке для оценки значимости различий ($p < 0,05$) гистологических данных использовали критерий Крускала-Уоллиса.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Под наркозом был проведен осмотр полости рта мышей. Слизистая оболочка преддверия и собственно полости рта бледно-розового цвета, альвеолярный отросток выражен центральных и боковых участках. На верхней челюсти выявлены два крупных центральных резца, клыки и премолары отсутствуют, в боковых отделах обнаружены и по три моляра с каждой стороны.

На нижней челюсти визуализировались два центральных резца, клыки и премолары отсутствовали, в дистальных отделах располагались по два моляра с каждой стороны.

Коронковая часть всех моляров была покрыта эмалью. Центральные резцы верхней и нижней челюстей темно-желтого цвета, коронковые части представлены дентином, не покрытым эмалью, рентгенологически имели по одному массивному корню, занимающему значительный объем в толще костной ткани челюстей.

В ходе эксперимента было проведено удаление первого моляра на нижней челюсти справа, вместе с данной манипуляцией создавался костный дефект (рис. 1).

В результате анатомического исследования, проведенного с помощью стереомикроскопа Leica M205 C (Leica, Германия, 2007), и анализа фотографий с большой глубиной фокуса (рис. 2) выявлены особенности строения моляров мыши.

На фото представлена микрорельеф окклюзионной поверхности первого моляра, на котором превалирует медио-дистальное направление пучков эмалевых призм.

На первом нижнем моляре отчетливо визуализируются три щечных и два язычных бугорка, разделенных фиссурами, заполненными остатками пищевых волокон. Второй нижний моляр имеет два язычных и два щечных бугорка.

После экстракции зуба в первом и втором молярах обнаружены медиальный и дистальный корни цилиндрической формы, сжатые в медио-дистальном направлении. Апикальные части – широкие. Длина моляров от бугра до апекса 1,5-2 мм.

В результате морфологического исследования было выявлено отсутствие пульпарной камеры и канала корня, однако в области апикальной части корня было выявлено достаточное для культивирования количество клеток пульпы; клетки периодонта были представлены в полном объеме.

Из апикальной области корней моляров были получены мышинные стволовые клетки пульпы и периодонта. На рисунке 2 показаны моляры мыши, между корнями которых видна костная ткань.

Сформированный костный дефект в челюсти заполнялся скаффолдом, заселенным культивированными стволовыми клетками пульпы и периодонта, и рана ушивалась наглухо кетгутотом (рис. 3).

Результаты анализа срезов компьютерной томографии в области сформированных дефектов. Через 1 месяц выполнено введение наркоза, проведена компьютерная томография, после которой экстрагирована нижняя челюсть для гистологического исследования (рис. 4).

С учетом неоднозначности данных литературы о соответствии значений серого цвета КЛКТ (CBCT GV) единицам Хаунсфилда (HU), пониженного соотношения сигнал : шум (SNR), ассоциированного с высоким пространственным разрешением, и небольшого размера зоны интереса (ROI), от измерений плотностных характеристик решено воздержаться. Для объективной оценки состояния костной ткани использовались значения площади сечения нижней челюсти в зоне интереса.

Результаты произведенных измерений представлены на диаграмме, где отражена выявленная статистически достоверная разница между контрольной группой и двумя другими группами (рис. 5).

Данные гистологического исследования

Процесс восстановления костного дефекта в разных группах протекает с разной степенью активности (табл. 1).

Выраженные изменения гистоархитектоники в зоне дефекта и окружающих тканей отмечались в экспериментальной группе. В этой группе на большей площади отмечались ремоделирование костной ткани и различной степени выраженности фиброз в окружающих мягких тканях. В группе «Контроль 2» по этим параметрам нет значимых отличий от контрольной группы: ремоделирование и фиброз отмечается на небольших участках.

В части образцов отмечена умеренно выраженная и выраженная полиморфноклеточная воспалительная инфильтрация, что, вероятно, более связано с наличием бактериальной инфекции в ротовой полости. В двух случаях в экспериментальной группе и в одном случае в группе «Контроль 2» отмечались фрагменты костной ткани с перифокальной эпителиоидно-гигантоклеточной реакцией. Также такая реакция отмечалась рядом с остатками шовного материала.

По результатам морфологического исследования стоит отметить, что исследуемые образцы имплантатов интактны к окружающим тканям, не вызывают деструктивных изменений и ярко выраженных воспалительных процессов. Имплантируемые материалы ускоряют процесс ремоделирования костного дефекта и фиброза в окружающих мягких тканях, без образования рубцов.

Сроки биодеградации фибриновых матриц, по данным литературы, варьируются в зависимости от состава от 3 до 21 дня, что, безусловно, требует дополнительного изучения с целью оценки возможностей применения в различных областях стоматологии, так как, в зависимости от нозологической формы заболевания, предъявляются различные требования к срокам биодеградации [5]. В основной группе показаны участки



Рис. 1. Удаление первого моляра у лабораторной мыши
Fig. 1. Removal of the first molar in a laboratory mouse



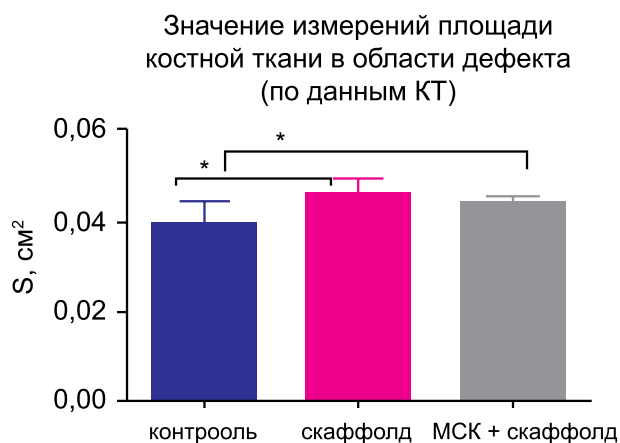
Рис. 2. Моляры мыши
Fig. 2. Mouse molars



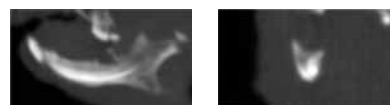
Рис. 3. Момент ушивания раны кетгутом
Fig. 3. Moment suturing the wound with catgut



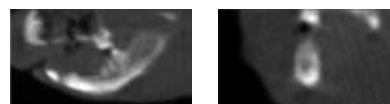
Рис. 4. Компьютерная томография мышей
Fig. 4. Computed tomography of mice



Группа 1 (контроль)



Группа 2 (клетка)



Группа 3 (скаффолд)

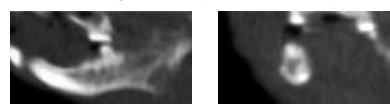


Рис. 5. Результаты анализа компьютерной томографии
Fig. 5. Results of computed tomography analysis

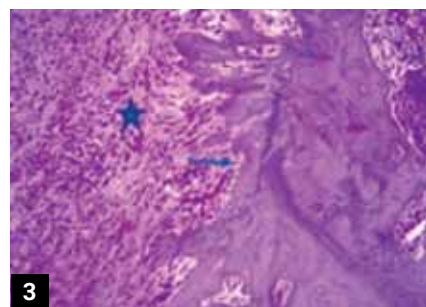
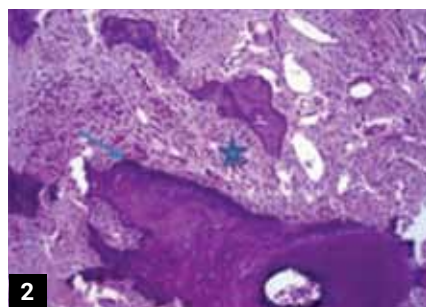
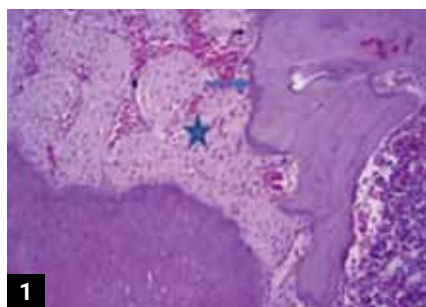


Рис. 6. Результаты гистологического исследования: 1 – контрольная группа, 2 – группа Скаффолд, 3 – группа Скаффолд + стволовые клетки. Окраска гематоксилин-эозин, увеличение x100
Fig. 6. Results of histological examination: 1 – control group, 2 – Scaffold group, 3 – Scaffold group+stem cells. Hematoxylin-eosin staining, x 100 magnification

Таблица 1. Гистоморфометрическая характеристика образцов
Table 1. Sample histomorphological characteristics

Показатель Parameter	Группа / Group			P
	Контроль 1 Control 1	Контроль 2 Control 2	Экспериментальная Experimental	
Воспаление, Me [Q1-Q3] / Inflammation, Me [Q1-Q3]	0 [0-2]	1 [0-2]	2 [2-2]	0,203
Фиброз, Me [Q1-Q3] / Fibrosis, Me [Q1-Q3]	2 [2-3]	2 [2-2]	3 [2-3]	0,243
Ремоделирование кости, Me [Q1-Q3] / Bone remodeling, Me [Q1-Q3]	1 [1-3]	1 [1-2]	2 [2-2]	0,193

разрастания фиброзной ткани с умеренно выраженной лейкоцитарной инфильтрацией (звездочка) и участки ремоделирования костной ткани (стрелки) (рис. 6).

В ряде случаев необходимо продление сроков биодеградации скаффолда до двух месяцев. Для продления сроков дегенерации скаффолда перспективным представляется добавление к фибриновому клею еще одного хорошо исследованного материала для скаффолдов — коллагена, добавляемого в различных концентрациях [6]. Длительность биодеградации таких скаффолдов будет проверена нами в дальнейших исследованиях.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведенным исследованием мы показали техническую целесообразность создания скаффолдов на основе фибрина, с формой, точно соответствующей анатомическому дефекту челюстной кости.

Культивируемые стволовые клетки пульпы и периодонта, однородно перемешанные со скаффолдом, защищены от окислительного стресса, сохраняют жизнеспособность и миграционную активность. Основа скаффолда из фибрина удерживает значительную часть клеток на участке их имплантации, не изменяя их свойств.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nyberg EL, Farris AL, Hung BP et al. 3D-Printing Technologies for Craniofacial Rehabilitation, Reconstruction, and Regeneration. *Ann Biomed Eng.* 2017;45(1):45-57. <https://doi.org/10.1007/s10439-016-1668-5>.
2. Иванов АН, Норкин ИА, Пучиньян ДМ. Возможности и перспективы использования скаффолд-технологий для регенерации костной ткани. *Цитология.* 2014;56(8):543-548. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21791148>
3. Яременко АИ, Галецкий ДВ, Королев ВО. Современные остеопластические и остеоиндуктивные материалы. Состояние проблемы. Перспективы применения в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии. *Институт стоматологии.* 2011;2(51):70-71. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=16553534>.
4. Енукашвили НИ, Домбровская ЮА, Котова АВ, Билык СС, Коваленко АН, Силин АВ. Оценка возможности создания фибриновых скаффолдов, заселенных стволовыми клетками пульпы зуба, для замещения костных дефектов челюсти. *Трансляционная медицина.* 2020;7(1):59-69. <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2020-7-1-59-69>.
5. Buchta C, Hedrich HC, Macher M, Höcker P, Redl H. Biochemical characterization of autologous fibrin sealants produced by CryoSeal and Vivostat in comparison to the homologous fibrin sealant product Tissucol/Tisseel. *Biomaterials.* 2005;26(31):6233-6241. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.04.014>.
6. Шехтер АБ, Гуллер АЕ, Истратов ЛП, Истратова ЕВ, Бутнару ДВ, Винаров АЗ и др. Морфология коллагено-

В эксперименте на модели мыши мы не выявили иммунной реакции после имплантации скаффолда, скомбинированного с аллогенными стволовыми клетками. Напротив, наблюдали остеогенную дифференцировку клеток и увеличение объема костной ткани в области дефекта в основной группе по сравнению с контрольной.

Стволовые клетки тканей полости рта обладают высоким остеогенным потенциалом; поэтому их использование для восстановления костной ткани является перспективным методом трансляционной медицины.

ВЫВОДЫ

1. Показана возможность использования фибринового клея для получения материала с механическими характеристиками, достаточными для получения скаффолда стабильной формы.
2. Доказана способность стволовых клеток пульпы зуба, заключенных в скаффолд на основе фибринового клея, сохранять способность к пролиферации и к остеогенной дифференцировке.
3. Использованный нами скаффолд на основе фибринового клея влияет на процесс ремоделирования костной ткани в области дефектов челюстей.

вых матриц для тканевой инженерии (биосовместимость, биодеградация, тканевая реакция). *Архив патологии.* 2015;77(6):29-38.

<https://doi.org/10.17116/patol201577629-38>.

7. Енукашвили НИ, Айзенштадт АА, Багаева ВВ, Сипильникова ОВ, Иволгин ДА, Масленникова ИИ. и др. Оценка возможности применения фибринового клея на основе пуповинной крови в качестве скаффолда для мезенхимальных стволовых клеток. *Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова.* 2017;9(2):35-44. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=32453294>.
8. Багаева ВВ, Айзенштадт АА, Савинцев АМ, Александрова ЛВ, Енукашвили НИ, Шерзод ФА. и др., авторы; Общество с ограниченной ответственностью «Покровский банк стволовых клеток», патентообладатель. Способ получения двухкомпонентного препарата для лечения повреждения суставов путем малоинвазивного введения в суставную сумку и препарат, полученный этим способом. Пат. 2 638 796 С1. Рос. Федерация. Оubl. 15.12.2017.
9. Супотницкий МВ, Елапов АА, Меркулов ВА, Борисевич ИВ, Климов ВИ, Миронов АН. Основные технологические процессы, используемые при производстве биомедицинских клеточных продуктов. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2015;(2):36-45. <https://www.biopreparations.ru/jour/article/view/12>.
10. Pauwels R, Jacobs R, Singer SR, Mupparapu M. CBCT-based bone quality assessment: are Hounsfield units applicable? *The British Journal of Radiology.* 2015;44(1):20140238. <https://doi.org/10.1259/dmfr.20140238>.

REFERENCES

1. Nyberg EL, Farris AL, Hung BP et al. 3D-Printing Technologies for Craniofacial Rehabilitation, Reconstruction, and Regeneration. *Ann Biomed Eng.* 2017;45(1):45-57. <https://doi.org/10.1007/s10439-016-1668-5>.
2. Ivanov AN, Norkin IA, Puchinyan DM. Possibilities and prospects of using scaffold technology for bone tissue regeneration. *Tsitologiya.* 2014;56(8):543-548. (In Russ.). <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21791148>.
3. Yaremenko AI, Galetsky DV, Korolev VO. Modern osteoplastic and osteoinductive materials. The state of the problem. Prospects of application in dentistry and maxillofacial surgery. *The Dental Institute.* 2011;2(51):70-71. (In Russ.). <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=16553534>.
4. Erukashvili NI, Dombrovskaya YuA, Kotova AV, Bilyk SS, Kovalenko AN, Silin AV. Fibrin scaffolds containing dental pulp stem cells for the repair of periodontal bone defects. *Translational medicine.* 2020;7(1):59-69. (In Russ.). <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2020-7-1-59-69>.
5. Buchta C, Hedrich HC, Macher M, Höcker P, Redl H. Biochemical characterization of autologous fibrin sealants produced by CryoSeal and Vivostat in comparison to the homologous fibrin sealant product Tissucol/Tisseel. *Biomaterials.* 2005;26(31):6233-6241. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.04.014>.
6. Schechter AB, Guller AE, Istranov LP, Istranova EV, Butnaru DV, Vinarov AZ. et al. Morphology of collagen matrices for tissue engineering (biocompatibility, biodegradation, tissue response). *Arkhiv Patologii.* 2015;77(6):29-38. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol201577629-38>.
7. Erukashvili NI, Aizenshtadt AA, Bagaeva VV, Supilnikova OV, Ivoglin DA, Maslennikova II. et al. Assessing the possibility to apply the fibrin glue made of cord blood plasma as a scaffold for mesenchymal stem cells transplantation. *HERALD of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov.* 2017;9(2):35-44. (In Russ.). <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=32453294>.
8. Bagaeva VV, Ajzenshtadt AA, Savintsev AM, Alexandrova L.V., Erukashvili NI., Sherzod FA. et al. inventors; „Pokrovsky Stem Cell Bank” Limited Liability Company, assignee. Method for obtaining of two-component preparation for treatment of joints damage by low-invasive introduction into joint bag and preparation obtained by this method. Russian Federation patent RU 2 638 796 C1. 2017 December 15. (In Russ.).
9. Supotnitskiy MV, Elapov AA, Merkulov VA, Borisevich IV, Klimov VI, Mironov AN. Common technological processes used in manufacture of biomedical cell culture products. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment.* 2015;(2):36-45. (In Russ.). <https://www.biopreparations.ru/jour/article/view/12>.
10. Pauwels R, Jacobs R, Singer SR, Mupparapu M. CBCT-based bone quality assessment: are Hounsfield units applicable? *The British Journal of Radiology.* 2015;44(1):20140238. <https://doi.org/10.1259/dmfr.20140238>.

Конфликт интересов:

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов/

Conflict of interests:

The authors declare no conflict of interests

Поступила / Article received 25.11.2020

Поступила после рецензирования / Revised 18.01.2021

Принята к публикации / Accepted 01.02.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Автор, ответственный за связь с редакцией:

Домбровская Юлия Андреевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры стоматологии общей практики Северо-Западного государственного медицинского университета имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Для переписки: Yuliya.Dombrovskaya@szgmu.ru

<https://orcid.org/0000-0001-7715-1008>

Енукашвили Натэлла Иосифовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник НИЛ клеточных технологий Северо-Западного государственного медицинского университета имени И.И. Мечникова, заведующий лабораторией некодирующей ДНК Института цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург, Российская Федерация

E-mail: n.enukashvily@incras.ru

<https://orcid.org/0000-0002-5971-7917>

Банашков Роман Евгеньевич, врач-рентгенолог Независимого центра рентгено-диагностики «Пикассо» Санкт-Петербург, Российская Федерация

E-mail: picasso.spb.doctor@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0003-4398-4524>

Семенова Наталья Юрьевна, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией по изучению лейкозов Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Российская Федерация

E-mail: semenova@mlc-lab.ru

<https://orcid.org/0000-0003-4069-0678>

Карабак Ирина Александровна, врач-патологоанатом лаборатории патоморфологии Детского научно-клинического центра инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства

E-mail: irina-karabak@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-3725-7737>

Силин Алексей Викторович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой стоматологии общей практики Северо-Западного государственного медицинского университета имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Российская Федерация

E-mail: a.silin@szgmu.ru

<https://orcid.org/0000-0002-3533-5615>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Corresponding author:

Yuliya A. Dombrovskaya, MD, PhD, Associate professor of the Department of General Dentistry, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russian Federation

For correspondence: Yuliya.Dombrovskaya@szgmu.ru

<https://orcid.org/0000-0001-7715-1008>

Natella I. Erukashvili, MD, PhD Senior Researcher, Research Laboratory of Cellular Technologies, North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov; Head of the Non-coding DNA Laboratory, Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russian Federation

E-mail: n.enukashvily@incras.ru

<https://orcid.org/0000-0002-5971-7917>

Roman E. Banashkov, MD, radiologist, «Picasso» Independent X-ray diagnostics Center, Saint Petersburg, Russian Federation

E-mail: picasso.spb.doctor@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0003-4398-4524>

Natalia Yu. Semenova, MD, PhD, Head of the Laboratory for the Study of Leukemia, Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of the Federal Medical and Biological Agency, Saint Petersburg, Russian Federation

E-mail: semenova@mlc-lab.ru

<https://orcid.org/0000-0003-4069-0678>

Irina A. Karabak, pathologist, Laboratory of Pathomorphology, Children's Research and Clinical Center for Infectious Diseases of the Federal Medical and Biological Agency, Saint Petersburg, Russian Federation

E-mail: irina-karabak@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-3725-7737>

Alexey V. Silin, MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of General Dentistry, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russian Federation

E-mail: a.silin@szgmu.ru

<https://orcid.org/0000-0002-3533-5615>

Юбилей «Пародонтологии»!

В ЭТОМ ГОДУ ЖУРНАЛУ ИСПОЛНЯЕТСЯ

25 ЛЕТ!

Научно-практический журнал «Пародонтология» основан в 1996 году в Санкт-Петербурге

«ПАРОДОНТОЛОГИЯ» СЕГОДНЯ – ЭТО:

- Более 20 лет входит в Перечень рецензируемых научных изданий ВАК РФ
- Издается Российской Пародонтологической Ассоциацией (ассоциированный член Европейской Федерации Пародонтологии)
- Распространяется в электронном (www.parodont.ru) и печатном виде
- Статьи в журнале публикуются на русском и английском языках
- С 2019 года индексируется в Russian Science Citation Index на платформе Web of Science
- Импакт-фактор РИНЦ – 2,114

25 ЛЕТ

РАБОТАЕМ ДЛЯ РАЗВИТИЯ
РОССИЙСКОЙ НАУКИ

ЧЕТВЕРТЬ ВЕКА!
ВМЕСТЕ С ВАМИ!



ЦИПРОФЛОКСАЦИН 500 МГ +
ТИНИДАЗОЛ 600 МГ

Таблетки N10

РУ: N015922/01 23.07.2008

ЦИФРАН® СТ

СОЧЕТАНИЕ 2-Х МОЛЕКУЛ И ВЫСОКАЯ БИОДОСТУПНОСТЬ ПОЗВОЛЯЕТ ОХВАТИТЬ САМЫЙ ШИРОКИЙ СПЕКТР ВОЗБУДИТЕЛЕЙ:^{1,*}

ЦИПРОФЛОКСАЦИН



ТИНИДАЗОЛ

Аэробы

Анаэробы +
простейшие

Грам +

Грам -



ЦИФРАН СТ ЭФФЕКТИВНО ПРЕОДОЛЕВАЕТ БИОПЛЕНКИ И СПРАВЛЯЕТСЯ С ПАТОГЕНАМИ^{1,2,*}

Сокращенная информация по медицинскому применению лекарственного препарата Цифран СТ®

Торговое наименование: Цифран СТ®. **МНН:** Тинидазол + Ципрофлоксацин. **Лекарственная форма*:** таблетки, покрытые пленочной оболочкой, Тинидазол 600 мг + Ципрофлоксацин 500 мг. **Показания к применению*:** Смешанные бактериальные инфекции, вызванные чувствительными грамположительными и грамотрицательными микроорганизмами, в ассоциации с аэробными и анаэробными микроорганизмами и/или простейшими: пневмония; инфекции кожи и мягких тканей; инфекции костей и суставов; инфекции органов малого таза и половых органов; инфекции почек и мочевыводящих путей; осложненные интраабдоминальные инфекции. **Противопоказания*:** гиперчувствительность к ципрофлоксацину (в том числе к другим хинолонам), тинидазолу (в том числе к другим имидазолам) а так же к вспомогательным веществам; болезни крови, угнетение костномозгового кроветворения; органические заболевания центральной нервной системы (ЦНС); одновременный прием с тизанидином; возраст до 18 лет; беременность; период грудного вскармливания; дефицит лактазы. **С осторожностью*:** заболевания ЦНС (эпилепсия, судорожные припадки в анамнезе, выраженный атеросклероз сосудов головного мозга, нарушения мозгового кровообращения, органические поражения головного мозга); психические заболевания (депрессия, психоз), выраженная почечная и/или печеночная недостаточность, поражение сухожилий при ранее проводившемся лечении хинолонами, повышенный риск удлинения интервала QT или развития аритмии типа «пируэт», одновременное применение ингибиторов изоферментов CYP4501A2, миастения gravis, дефицит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, пожилой возраст. **Способ применения и дозы*:** внутрь, после еды, запивая достаточным количеством воды, 1 таблетка 2 раза в день, 7-10 дней. **Побочное действие*:** Тинидазол - анорексия, сухость и неприятный вкус во рту, диарея, тошнота, рвота; головная боль, головокружение, атаксия; аллергические реакции; транзиторная лейкопения. Ципрофлоксацин - тошнота, диарея, боль в животе, диспепсия, метеоризм, нарушение вкуса; микотическая суперинфекция; эозинофилия; снижение аппетита; психомоторная гиперактивность, agitation; головная боль, головокружение, нарушение сна; сыпь, зуд, крапивница; артралгия; нарушения функции почек; общее недомогание, лихорадка. **Срок годности*:** 2 года. **Условия отпуска:** отпускают по рецепту. **Полная информация по препарату представлена в инструкции по медицинскому применению П N015922/01-050619.**

*Полная информация - см. инструкцию по медицинскому применению препарата Цифран СТ®.

¹ В рамках показаний ЛП Цифран СТ: смешанные бактериальные инфекции костей, мягких тканей, вызванные чувствительными к тинидазолу и ципрофлоксацину грамположительными и грамотрицательными микроорганизмами, в ассоциации с аэробными и анаэробными микроорганизмами и/или простейшими. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Цифран СТ П N015922/01-050619. ² Экспериментальное исследование антимикробной и антибиопленочной активности комбинации ципрофлоксацина и тинидазола in vitro Пародонтология Том 24, № 3 (2019), Царев В.Н.1, д.м.н., профессор, Ушаков Р.В.2, д.м.н., профессор, Ипполитов Е.В.1, д.м.н., профессор, Подпорин М.С.1, мл. научный сотрудник. ³ Государственный реестр лекарственных средств от 23.07.2008. Эл. ресурс: <https://grls.rosminzdrav.ru> Дата обращения на сайт 11.11.2019.

За дополнительной информацией обращайтесь в Представительство компании с ограниченной ответственностью "Сан Фармасьютикал Индастриз Лимитед" (Индия)
Адрес: 107023, г. Москва, ул. Электрозаводская, дом 27, строение 8, офисы 29,30; Тел: +7 (495) 234-56-11, Факс: +7 (495) 234-56-19
www.sunpharma.com/russia

При возникновении возможных нежелательных реакций (НР) на препараты компании Сан Фарма просьба информировать об этом нашего регионального представителя, а также медицинский отдел представительства компании Сан Фарма в России по телефону: +7(495) 234 56 11 (доб.4) или по электронной почте drugsafety.russia@sunpharma.com



CCT-HCP-1-08/20

ИНФОРМАЦИЯ ПРЕДНАЗНАЧЕНА ТОЛЬКО ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ РАБОТНИКОВ