

© Марков А. В.

УДК 616.314.18-002.4/611-013.3/612.6.03

Марков А. В.

**РЕГЕНЕРАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН  
КІСТКИ КОМІРКОВОГО ВІДРОСТКА  
ПРИ ДИСТРОФІЧНО-ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ ПАРОДОНТА**  
Національний медичний університет ім. Данила Галицького (м. Львів)

zhannaostap@mail.ru

Дана робота виконана згідно з планом науково-дослідної роботи кафедри терапевтичної стоматології факультету післядипломної освіти Львівського Національного медичного університету ім. Данила Галицького «Екологія та пародонт. Взаємозв'язок захворювань пародонта з загальносоматичною патологією. Дисфункції скронево-нижньощелепового суглобу», № державної реєстрації 0114U000112; ІН.30.000.004.15.

**Вступ.** На сьогоднішній день розповсюдженість запальних та дистрофічно-запальних захворювань пародонта серед населення України досягає 96-98%. Приблизно такий же рівень відмічений згідно літературних даних і в інших країнах. Зі збільшенням віку пацієнтів зростає розповсюдженість дистрофічно-запальних захворювань пародонта за рахунок структурно-функціональних порушень кісткової тканини. Прогресування генералізованого пародонтиту призводить до втрати кістки коміркового відростка щелеп, деформації щелепно-лицевої ділянки, змінам у скронево-щелепному суглобі та передчасній втраті зубів.

Для підвищення ефективності лікування генералізованого пародонтиту необхідно певним чином посилити регенераторний потенціал тканин пародонта, особливо кісткової тканини. Враховуючи це, зростає цікавість дослідження саме стовбурових стромальних клітин людини у тканинах пародонта. На основі подібних досліджень стає можливим стимулювати ріст кісткової тканини у даної категорії хворих на генералізований пародонтит [4-6]. Таким чином, застосування подібних методів тканинної інженерії в лікуванні ускладнень карієсу [1,10], захворюваннях пародонта та оперативного хірургічного лікування уражень щелепно-лицевої ділянки є актуальним [4-9]. Такі методи лікування є перспективними для більш ефективного відновлення втраченої пошкодженої кісткової тканини при різних захворюваннях, особливо тканин пародонта [3].

**Метою** даного дослідження було вивчення регенеративного потенціалу кісткової тканини альвеолярного відростка щелеп у хворих з дистрофічно-запальними захворюваннями тканин пародонта: генералізований пародонтит та локалізований пародонтит.

**Об'єкт і методи дослідження.** Дослідження виконані в лабораторії імунології інституту травматології та ортопедії НАМН України (Свідоцтво про атестацію № ПТ-374/11 від 10.10.2011 р. видане ДП

«Укрметрест-стандарт»). Клонування (КУОФ) стовбурових стромальних клітин кісткового мозку проводили за методикою О. Я. Фріденштейна (1973), в модифікації В. С. Астахової (1982) [2].

Матеріалом для дослідження слугувала спонгіозна кісткова тканина коміркового відростка щелепи, забір якої проводили під час оперативного втручання – екстракції зубів, проведення кюретажу тощо.

За допомогою методики клонування КУОФ кісткового мозку обстежено 31 хворого на генералізований пародонтит (основна група), яким проводили екстракції зубів з приводу генералізованого пародонтиту. Забір кісткової тканини проводили методом сшування коміркового відростка щелепи (поглиблення, гострі краї, виступи кісткової тканини) з метою усунення деформації лунки.

У 11 хворих був діагностований локалізований пародонтит. У цих пацієнтів забір кісткової тканини проводили під час проведення кюретажу пародонтальних кишень.

Групу порівняння склали 10 пацієнтів без уражень пародонта, у яких проводили операції атипичного видалення зубів поза осередками дистрофічно-запального процесу.

Клонування стовбурових клітин проводили за стандартних умов протягом 14 діб без зміни культурального середовища у чашках Петрі при 37°C у газовій суміші з 5% вмістом CO<sub>2</sub> в атмосферному повітрі з використанням летально опромінених клітин кісткового мозку кроля у якості фідера.

Регенераторний потенціал кісткової тканини щелеп оцінювали за показником ефективності клонування стовбурових стромальних клітин або колоніє утворюючих одиниць фібробластів (КУОФ) кісткового мозку серед 10<sup>5</sup> ядромісних клітин.

Ефективність клонування КУОФ кісткового мозку визначали за формулою:

$$EKUOF = \frac{K}{N} \times 10^5,$$

де *K* – кількість колоній, що виростили у чашці Петрі  $\times 10^5$ ;

*N* – кількість клітин, що посаджено у чашку Петрі.

Статистичну обробку отриманого матеріалу проводили за допомогою пакета програм Statistica.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Проведені культуральні дослідження у групі хворих на генералізований пародонтит показали, що у 14 випадках з 31 (46,2%) на чашках Петрі виявлене

бактеріальне або бактеріально-грибкове проростання культур стромальних фібробластів кісткового мозку кістки коміркового відростка. На інших 16 чашках Петрі (54,8% випадків) отримані нульові показники клонування. Не було виявлено росту колоній стовбурових стромальних клітин кісткового мозку в 17 (54,8%) досліджених. Поодинокі колонії фібробластів були виявлені лише на 3-х чашках Петрі (9,7%). Результати дослідження виявили дуже низьку ефективність клонування стовбурових стромальних клітин кісткового мозку. У кількісному об'єкті у хворих на генералізований пародонтит серед  $10^5$  ядровмісних клітин вона дорівнює нулю. Отримані дані дослідження показали, що регенераторний потенціал кісткової тканини коміркового відростка у хворих на генералізований пародонтит різко пригнічений.

Деяко інший результат отриманий при дослідженні матеріалу від хворих на локалізований пародонтит. Бактеріальне та бактеріально-грибкове проростання культур стромальних фібробластів кісткового мозку щелеп отримано у 54,5% випадків (6 чашок Петрі). В 4 культурах (36,4%) – отримані нульові показники клонування. Тільки в одному випадку, що складає 9,1%, зареєстрований ріст 9 колоній стовбурових стромальних клітин кісткового мозку. Ефективність клонування стовбурових стромальних клітин або колонієутворюючих одиниць фібробластів (КУОФ) кісткового мозку серед  $10^5$  ядровмісних клітин в цьому випадку дорівнює 18. В середньому в групі пацієнтів на локалізований пародонтит вона становить 3,6 серед  $10^5$  ядровмісних клітин (середнє відхилення 8,05).

У пацієнтів контрольної групи з 10 культур стовбурових стромальних клітин кісткового мозку коміркового відростка мікробне проростання виявлено у 5 (50,0%) випадках, у 3 (30,0%) – отримані

нульові показники клонування, а у 2 (20,0%) чашках Петрі виявлений ріст 11 та 17 колоній стовбурових стромальних клітин кісткового мозку коміркового відростка. Таким чином, ефективність клонування колонієутворюючих одиниць фібробластів (КУОФ) кісткового мозку в цих випадках складає відповідно 22 та 34 серед  $10^5$  ядровмісних клітин. Тобто, середня ефективність клонування стромальних фібробластів кісткового мозку кістки коміркового відростка щелеп у пацієнтів контрольної групи становить  $11,2 \pm 7,1$  серед  $10^5$  ядровмісних клітин (середнє відхилення 15,9).

### Висновки

Проведені дослідження регенеративних властивостей стовбурових стромальних клітин кістки коміркового відростка щелеп у хворих на генералізований пародонтит свідчать про різке пригнічення регенераторного потенціалу кісткової тканини коміркового відростка. У хворих на локалізований пародонтит регенераторний потенціал кісткової тканини коміркового відростка збережений, що дає підстави до більш кращих клінічних результатів лікування пацієнтів даної групи. На основі даних лабораторних досліджень в клінічних умовах представляється можливим раціональне обґрунтування застосування медикаментозних препаратів для стимуляції процесів регенерації кісткової тканини коміркового відростка щелеп у хворих на генералізований пародонтит.

### Перспективи подальших досліджень

В процесі проведення подальших досліджень планується провести лабораторні дослідження та більш фундаментально вивчити стан кісткової тканини хворих на захворювання пародонта. На цій основі планується розробити більш ефективні методи лікування цих розповсюджених захворювань пародонта.

## Література

1. АллафХішам. Пульпіт: особливості розвитку та вибір методу лікування: автореф. дис... канд. мед. наук: 14.01.22 «Стоматологія» / Аллаф Хішам. – Київ, 1993. – 20 с.
2. Астахова В.С. Остеогенные клетки – предшественники костного мозга человека / В.С. Астахова. – Киев. – 2000. – 172 с.
3. Геращенко С.Б. Стовбурові клітини зуба / С.Б. Геращенко, Ю.Б. Чайковський, О.І. Дельцова // Галицький лікарський вісник. – 2011. – Т.18. – №4. – С.5-8.
4. Золотухина Е.Л. Стволовые клетки и перспективы их применения в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии / Е.Л. Золотухина // Молодий вчений. – 2014. – № 6. – С. 145-147.
5. Маланчук В.А. Остеогенные клетки – предшественники костного мозга человека в реконструктивно-восстановительной хирургии / В.А. Маланчук, В.С. Астахова, О.Л. Циленко // Журн. АМН Украины. – 2009. – № 2. – С. 276-288.
6. Маланчук В.О. Реконструктивно-відновлені операції на нижній щелепі (клініко-лабораторне дослідження): автореф. дис... докт. мед. наук: 14.01.22. «Стоматологія» / В.О. Маланчук. – Київ, 1994. – 45 с.
7. Циленко О.Л. Сравнительная характеристика типов колоний КОЕ - ф пульпы зуба и стволовых стромальных клеток костного мозга человека в условиях IN VITRO / О.Л. Циленко, А.В. Сосидко // Современная ортодонтия. – 2015. – № 3. – С. 57-60.
8. Honda M.J. Dental Follicle stemcells and tissue engineering / M.J. Honda, M. Imaizumi, S. Tsuchiya [et al.] // J. Oral Sci. – 2010. – Vol. 52 (4). – P. 541-552.
9. Renard E. Stem cell of dental pulp / E. Renard, S. Lopez, J. Caraux [et al.] / CR. Biol. – 2007. – Vol. 330 (9). – P. 635-643.
10. Saber S.E. Tissue engineering in endodontitis / S.E. Saber // J. Oral Sci. – 2009. – Vol. 51. – P. 495-507.

УДК 616.314.18-002.4/611-013.3/612.6.03

### РЕГЕНЕРАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН КІСТКИ КОМІРКОВОГО ВІДРОСТКА ПРИ ДИСТРОФІЧНО-ЗАПАЛНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ ПАРОДОНТА

Марков А. В.

**Резюме.** В даний час зростає інтерес дослідників до вивчення властивостей стовбурових клітин кісткової тканини у хворих на генералізований пародонтит.

Метою було вивчення регенераторного потенціалу кісткової тканини коміркового відростка щелеп у хворих з дистрофічно-запальними захворюваннями пародонта: генералізований пародонтит, локалізований пародонтит.

Клонування стовбурових стромальних клітин кісткового мозку коміркового відростка щелеп проводили за методикою О. Я. Фріденштейн (1973), в модифікації В. С. Астахової (1982). Матеріалом для дослідження слугувала кісткова тканина коміркового відростка щелеп.

У статті представлені результати клонування стовбурових клітин кісткової тканини. Виявлено різке пригнічення регенераторного потенціалу кісткової тканини у хворих на генералізований пародонтит, менш виражене у хворих на локалізований пародонтит, що слід враховувати при виборі раціональної остеостимулювальної терапії.

**Ключові слова:** дистрофічно-запальні захворювання пародонта, генералізований пародонтит, локалізований пародонтит, стовбурові стромальні клітини, кісткова тканина коміркового відростка щелеп.

УДК 616.314.18-002.4/611-013.3/612.6.03

### **РЕГЕНЕРАТОРНЫЕ СВОЙСТВА СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТИ АЛЬВЕОЛЯРНОГО ОТРОСТКА ПРИ ДИСТРОФИЧЕСКИ-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПАРОДОНТА**

**Марков А. В.**

**Резюме.** В настоящее время возрастает интерес исследователей к изучению свойств стволовых клеток костной ткани у больных генерализованным пародонтитом.

Целью было изучение регенераторного потенциала костной ткани альвеолярного отростка челюстей у больных с дистрофически-воспалительными заболеваниями пародонта: генерализованный пародонтит, локализованный пародонтит.

Клонирование стволовых стромальных клеток костного мозга альвеолярного отростка челюстей проводили по методике О. Я. Фриденштейна (1973), в модификации В. С. Астаховой (1982). Материалом для исследования служила костная ткань альвеолярного отростка челюстей.

В статье представлены результаты клонирования стволовых клеток костной ткани. Выведено резкое угнетение регенераторного потенциала костной ткани у больных генерализованным пародонтитом, менее выраженное у больных локализованным пародонтитом, что следует учитывать при выборе рациональной остеостимулирующей терапии.

**Ключевые слова:** дистрофически-воспалительные заболевания пародонта, генерализованный пародонтит, локализованный пародонтит, стволовые стромальные клетки, костная ткань альвеолярного отростка челюстей.

UDC 616.314.18-002.4/611-013.3/612.6.03

### **REGENERATIVE PROPERTIES OF STEM CELLS OF THE ALVEOLAR BONE IN PATIENTS WITH DYSTROPHIC-INFLAMMATORY PERIODONTAL DISEASES**

**Markov A. V.**

**Abstract.** According to many epidemiological studies the prevalence of the dystrophic-inflammatory periodontal diseases (generalized and localized periodontitis) is highest among the population. Over the past decades there has been a significant increase in this disease due to structural and functional abnormalities of bone tissue. The progression of generalized periodontitis result in destruction of the periodontal tissue, especially alveolar bone and premature loss of teeth.

A large number of investigations in the last decade were devoted to the study of stromal stem cells of patients with generalized and localized periodontitis. Scientific co-authorship understands the need for fundamental stem cell research for the stimulation of alveolar bone regeneration. Recently, there is an interest in the application of the principles of tissue engineering in endodontics, the treatment of periodontal disease and another diseases of maxilla-facial area. These treatment methods could potentially be an alternative to the traditional approach and for use of directional development of tooth tissues, reconstruction and replacement of the lost or damaged alveolar bone tissue.

**Objective.** To study the regenerative potential of alveolar bone patients with dystrophic-inflammatory periodontal diseases.

**Material and methods.** The cloning of stromal stem cells of alveolar bone marrow carried out by the method of OJ Friedensteyn (1973), as modified by VS Astakhova (1982). Researches were performed in the Laboratory of Immunology (certificate number PA-374/11 of 10.10.2011r. Issued by SE «Ukrmetretest-standard»).

Using cloning techniques KUOf of bone marrow from 31 patients with generalized periodontitis (main group), 11 patients with localized periodontitis were examined. Collection of bone tissue was made by biting off an alveolar bone of the jaw (hollow, sharp edges, protrusion of bone tissue) in order to eliminate distortion. 10 patients comprised the group of comparison with atypical removal (extraction) of teeth outside of the inflammation and degenerative-dystrophic lesions.

Cloning was performed under standard conditions for 14 days without changing the culture medium in Petri dishes at 37°C in a gas mixture of 5% CO<sub>2</sub> in air using lethally irradiated bone marrow cells of a rabbit as a feeder. Regenerative potential of bone jaw was evaluated in terms of the efficiency of cloning stem cells or stromal colony forming units of fibroblasts (KUOf) of bone marrow among 10<sup>5</sup> nuclear containing cells.

*Results and discussion.* As the results of the research culture in the study group showed, in 14 cases out of 31, which is about 46.2%, fixed bacterial or bacterial – fungal growth of bone marrow stromal fibroblasts cultures of jaws in patients with generalized periodontitis. In other 54.8% – received zero rates cloning. Growth of bone marrow colonies SSC is not registered in any case of the 17, only in 3 petri dishes there were isolated fibroblasts, which do not form colonies. So cloning efficiency of stromal stem cells of the bone marrow of patients with generalized periodontitis among  $10^5$  nuclear containing cells is zero. In other words regenerative potential of jaw tissue bone in patients with generalized periodontitis is dramatically suppressed. As for the patients with localized periodontitis was registered growth of 9 colonies of stromal stem cells of the bone marrow.

As for the patients in the group of comparison, taking into consideration 10 cultures SSC of bone marrow registered growth of 11 and 17 colonies of stem stromal cells of the bone marrow was registered. The efficiency of cloning KUOf bone marrow in these cases is respectively 22 and 34 among  $10^5$  nuclear containing cells.

*Conclusions.* There was observed sharp depression of alveolar bone regenerative potential in patients with generalized periodontitis which must consider when choosing a rational osteostimulating therapy.

Perspective for further research. In the course of further research, it is planned to conduct laboratory studies and examine the bone tissue of patients with periodontal disease more fundamentally. On this basis, it is planned to develop more effective treatments for these common periodontal diseases.

**Keywords:** dystrophic-inflammatory periodontal diseases, generalized periodontitis, localized periodontitis, stromal stem cells, alveolar bone tissue.

*Рецензент – проф. Аветиков Д. С.  
Стаття надійшла 29.02.2016 року*