

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.311.2-073.756.8-08:602.9-092.4-036.8

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-178-190>

Поступила в редакцию 09.12.2019

Received 09.12.2019

**С. П. Рубникович¹, С. В. Сирак², Ю. Л. Денисова³, В. А. Андреева¹, Е. В. Кузьменко¹,
И. С. Хомич¹, И. Д. Волотовский⁴**

¹Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь

²Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Российская Федерация

³Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

⁴Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

КЛИНИКО-РЕНТГЕНОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ТКАНЕЙ ПЕРИОДОНТА У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Аннотация. В статье исследованы клиничко-рентгенологические изменения в тканях периодонта лабораторных животных при использовании мезенхимальных стволовых клеток (МСК).

Цель исследования – разработать модель экспериментального периодонтита и установить характер клиничко-рентгенологических изменений в тканях периодонта при применении биомедицинского клеточного продукта на основе аллогенных МСК жировой ткани (МСК ЖТ).

В ходе исследования клиничко-рентгенологических изменений в тканях периодонта у экспериментальных животных, у которых сформированные дефекты костной ткани заполняли МСК ЖТ, установлено, что во всех основных группах животных сроки заживления слизистой оболочки в области операционного поля были сопоставимы между собой. При этом в контрольной группе наблюдали послеоперационную рецессию десны. В I–IV группах значимых различий в клиничко-рентгенологической картине на всех сроках наблюдений после оперативного вмешательства не выявлено. Однако обнаруженные при рентгенологическом исследовании признаки восстановительного процесса в области пострезекционного дефекта в группах, где применяли остеиндуцированные МСК, а также смесь культур мезенхимальных и остеиндуцированных стволовых клеток, были наиболее выраженными, что подтвердили показатели минеральной плотности костной ткани.

Разработана модель экспериментального периодонтита, позволяющая оценивать восстановительные процессы в костной ткани у лабораторного животного. Так, применение коллагеновых мембран с взвесью культур аллогенных остеиндуцированных МСК ЖТ, а также мембран с взвесью смеси культур аллогенных и аллогенных остеиндуцированных МСК ЖТ в соотношении 1:1 позволяет достичь более высоких показателей восстановления костной ткани.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки, минеральная плотность костной ткани, конусно-лучевая компьютерная томография, периодонтит

Для цитирования: Клиничко-рентгенологическая оценка состояния тканей периодонта у лабораторных животных при применении мезенхимальных стволовых клеток / С. П. Рубникович [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2020. – Т. 17, № 1. – С. 178–190. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-178-190>

**Sergey P. Rubnikovich¹, Sergey V. Sirak², Yuliya L. Denisova³, Vasilina A. Andreeva¹, Elena V. Kuzmenko¹,
Ilya S. Khomich¹, Igor D. Volotovskiy⁴**

¹Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus

²Stavropol State Medical University, Stavropol, Russian Federation

³Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

⁴Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

CLINICAL AND ROENTGENOLOGICAL EVALUATION OF THE STATUS OF PERIODONTAL TISSUES IN LABORATORY ANIMALS IN THE APPLICATION OF MESENCHYMAL STEM CELLS

Abstract. The article examines the clinical and roentgenological changes in the periodontal tissues of laboratory animals when mesenchymal stem cells (MSC) are used.

The aim of the study is to create a model of experimental periodontitis and identify the characteristics of clinical and radiological changes in periodontal tissues when applying a biomedical cell product based on allogeneic mesenchymal adipose stem cells (AT MSCs).

During the examination of the clinical and radiological changes in the periodontal tissues of experimental animals with formed bone defects filled with AT MSCs, it was found that the mucous membrane regeneration time in the surgical area was comparable in all main groups of animals. Postoperative gum recession was observed in the control group animals. The significant differences between the clinical pictures in groups I–IV during all observation periods after surgery were not

revealed. However, the restoration process signs in the post-resection area found during the roentgenological examination in the groups using osteoinduced MSCs, as well as a mixture of MSC cultures and osteo-induced MSCs, were most pronounced, which is confirmed by the bone mineral density.

The experimental periodontitis model, which could be used for assessing the bone tissue restoration processes of a laboratory animal, was developed. Thus, the use of collagen membranes with a suspension of allogeneic osteo-induced AT MSCs cultures, as well as membranes with a suspension of a mixture of allogeneic and allogeneic osteo-induced AT MSCs in the ratio of 1:1 allows achieving higher bone tissue recovery rates.

Keywords: mesenchymal stem cells, bone mineral density, cone beam computed tomography, periodontitis

For citation: Rubnikovich S. P., Sirak S. V., Denisova Yu. L., Andreeva V. A., Kuzmenko E. V., Khomich I. S., Volotovskiy I. D. Clinical and roentgenological evaluation of the status of periodontal tissues in laboratory animals in the application of mesenchymal stem cells. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 1, pp. 178–190 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-178-190>

Введение. Проблема успешного лечения болезней пародонта остается одной из наиболее значимых в стоматологии и требует дальнейшего поиска эффективных методов ее решения. Актуальность данного вопроса обусловлена тем, что болезни пародонта занимают лидирующие позиции в структуре стоматологической заболеваемости пациентов как зрелого (90–95 %), так и молодого (80–83 %) возраста [1, 2].

Особенности течения воспалительного процесса и недостаточная эффективность методов терапии приводят к развитию выраженных патологических изменений непосредственно в тканях пародонта и со стороны целого ряда органов и систем организма пациента [3, 4]. Социальная значимость проблемы обусловлена тем, что деструктивный характер воспалительного процесса в тканях пародонта сопровождается резорбцией костной ткани, потерей зубов, формированием хронических очагов инфекции с последующей сенсибилизацией организма, снижением иммунитета, возникновением общесоматической патологии, что в конечном итоге приводит к временной частичной потере трудоспособности пациента [5, 6].

Комплексный подход к лечению болезней пародонта, сочетающий в себе медикаментозный, физиотерапевтический, хирургический, ортодонтический и ортопедический методы, является относительно эффективным, однако не дает полной стабилизации, восстановления и сохранения в течение длительного времени утраченных тканей пародонта [2–5, 7, 8].

Перспективным направлением развития современной медицинской науки, в частности стоматологии, является применение биомедицинских клеточных продуктов. Проводимые исследования свидетельствуют о высокой способности мезенхимальных стволовых клеток (МСК) инициировать и ускорять восстановительные процессы в тканях пародонта, что значительно повышает эффективность проводимого лечения [4–7, 9].

В качестве оптимального источника МСК большинство исследователей рассматривает жировую ткань [10–12]. Представлены данные о дифференцировке МСК жировой ткани (МСК ЖТ) непосредственно в тканях пародонта, а также об их способности секретировать различные факторы, стимулирующие резидентные клетки-предшественники [7, 11–13].

Следует отметить, что в Республике Беларусь и в Российской Федерации проводится работа по совершенствованию методик получения стволовых клеток из жировой ткани и их последующего применения для лечения органов и тканей. В специальной литературе представлены результаты, свидетельствующие о высокой эффективности применения МСК в лечении рецессии десны [14–20].

Вместе с тем более глубокое понимание морфологических и патофизиологических процессов, происходящих в тканях пародонта, дает основание применять клеточные технологии в стоматологии и моделировать болезни пародонта у экспериментального животного (ЭЖ) с учетом необходимости создания максимально схожих с человеческими условий и параметров [12, 15]. Кроме того, целесообразна разработка эффективных методов лечения на основе экспериментальных исследований с выбором корректных методов объективной оценки полученных результатов [21–23].

Известно также, что использование конусно-лучевой компьютерной томографии (КЛКТ) позволяет оценивать состояние костной ткани, ее максимальную и минимальную минеральную

плотность в диагностически значимой области на различных уровнях, а следовательно, осуществлять объективный контроль эффективности проводимой клеточной терапии [22].

Изложенное выше свидетельствует о целесообразности проведения экспериментально-клинических исследований по применению в стоматологии МСК с целью восстановления костной ткани, а следовательно, и повышения эффективности лечения пациентов с болезнями периодонта.

Цель исследования – разработать модель экспериментального периодонтита у лабораторных животных и установить характер клинических и рентгенологических изменений в тканях периодонта при применении биомедицинского клеточного продукта на основе мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани.

Объекты и методы исследования. Экспериментальная часть исследования выполнена на базе патофизиологической группы научно-исследовательской лаборатории Белорусской медицинской академии последипломного образования (БелМАПО) в условиях вивария с соблюдением санитарных правил и норм [12]. Проведение настоящего экспериментального исследования одобрено независимым этическим комитетом БелМАПО.

Объектами исследования являлись 45 кроликов обоего пола породы Шиншилла с массой тела 3500–3800 г. Животных содержали в стационарных условиях вивария в соответствии с ветеринарно-санитарными правилами, утвержденными в Республике Беларусь [12, 14]. Основной рацион ЭЖ соответствовал санитарно-гигиеническим нормативам, утвержденным в Республике Беларусь для содержания ЭЖ в условиях вивариев. Пищу для них хранили в специально отведенном месте и не подвергали дополнительной контаминации как при хранении, так и при раздаче. Животные потребляли водопроводную воду, соответствующую требованиям СанПИН 10-124 РБ 99 к питьевой воде, и имели свободный доступ к поилкам. Температура воздуха составляла +22–24 °С, влажность воздуха – 40–45 %. До начала эксперимента ЭЖ в течение 2 недель находились в виварии под карантинным наблюдением.

Для эксперимента были отобраны активные животные без видимых признаков заболеваний, с гладким и блестящим шерстным покровом, нормальной окраской видимых слизистых оболочек, охотно поедающие корм. После взвешивания на электронных весах ЭЖ были распределены на 5 групп – контрольную и 4 опытные. За 24 ч до испытания и во время его проведения ЭЖ находились в спокойной обстановке в отдельном, изолированном от шума помещении с постоянной температурой воздуха, не отличающейся более чем на 2,5 °С от температуры воздуха в помещении, в котором животных содержали до эксперимента.

В день начала эксперимента проведено дополнительное обследование и взвешивание ЭЖ. Принимая во внимание хронобиологическую зависимость большинства физиологических и биохимических процессов в организме животных, эксперименты проводили утром в одно и то же время суток.

Выделение и культивирование аллогенных МСК ЖТ ЭЖ, проведение контроля качества клеточной культуры, включавшего в себя подсчет количества и оценку жизнеспособности МСК, определение фенотипа клеток с использованием моноклональных антител, оценку и контроль контаминации микроорганизмами, а также проведение индукции развития клеток в остеогенном направлении, оценку дифференцировки и иммобилизации клеток на биодеградируемом носителе проводили в лабораторных условиях на базе государственного научного учреждения «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси». В качестве биодеградируемого носителя для иммобилизации клеток использовали пористую мембрану на основе костного коллагена I типа «Остеопласт» («Витаформ», Россия).

ЭЖ вводили в наркоз с помощью однократного внутримышечного введения раствора кетамина (50 мг/мл) в объеме 1 мл/кг массы тела животного. Далее наркоз углубляли и поддерживали по мере необходимости в течение операции смесью 0,05 %-ного раствора фентанила и 0,25 %-ного раствора дроперидола в соотношении 1:2.

Методика создания экспериментальной модели периодонтита у ЭЖ. При проведении операции животное укладывали на спину и фиксировали на предназначенном для крупных лабораторных животных операционном столе. После соответствующей подготовки операционного поля обеспечивали доступ к вестибулярной поверхности фронтального отдела нижней челюсти

ЭЖ. Местную анестезию проводили путем инфильтрации 4 %-ного раствора артикаина в слизистую оболочку в области центральных зубов.

Всем ЭЖ под действием наркоза в стерильных условиях после антисептической обработки слизистой оболочки проводили интрасулькулярный разрез с вестибулярной стороны фронтальных зубов нижней челюсти. Распатором скелетировали вестибулярную поверхность и удерживали рану в раскрытом состоянии с помощью гладилки. С целью подготовки костного ложа производили сверление пилотной фрезой и последующее формирование в области межкорневой перегородки центральных резцов костного дефекта шириной 2 мм, глубиной 4 мм, высотой 5 мм. У всех ЭЖ при помощи градуированного зонда измеряли высоту и глубину сформированного костного дефекта.

Далее в соответствии с запланированным методом лечения ЭЖ были разделены на 5 однородных групп: контрольную (9 ЭЖ) и 4 опытные группы (по 9 ЭЖ в каждой). Минимальное количество групп исследования и их численный состав определялись в соответствии с требованиями и рекомендациями к проведению экспериментальных исследований.

В *контрольной группе* подготовленное костное ложе заполняли кровяным сгустком, после чего операционную рану ушивали. При этом использовали отдельные узловые швы, а в качестве шовного материала – мононить из нейлона 5/0.

В *I группе* формировали костный дефект размером 5×5 мм в соответствии с описанной выше методикой и заполняли стерильным биоматериалом – пористой мембраной на основе костного коллагена. Мембрану пропитывали физиологическим раствором в соответствии с инструкцией производителя и адаптировали в дефекте, после чего края раны сближали и накладывали швы.

Во *II группе*, в отличие от I, на мембране иммобилизовали 50 тыс. аллогенных МСК ЖТ, после чего края раны сближали и ушивали (рис. 1).

В *III группе* на мембране иммобилизовали 50 тыс. аллогенных остеоиндуцированных МСК ЖТ, после чего рану ушивали.

В *IV группе* на мембране иммобилизовали смесь из 25 тыс. аллогенных и 25 тыс. аллогенных остеоиндуцированных МСК ЖТ, после чего края раны сближали и накладывали швы.

В послеоперационном периоде осуществляли наблюдение за общим состоянием ЭЖ: массой тела, состоянием видимых слизистых, шерстного покрова, двигательной активностью, поведенческими реакциями, потреблением пищи и воды.

Состояние лабораторных животных в первые несколько дней после операции было адекватным тяжести вмешательства. Нормализация потребления воды и пищи наступала на 2-е сутки после оперативного вмешательства.

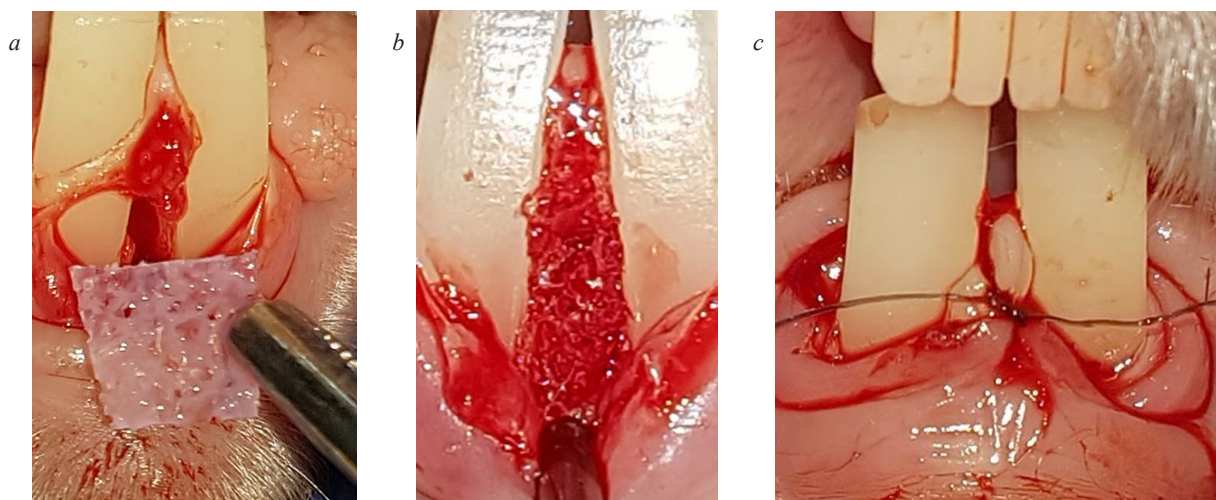


Рис. 1. Формирование костного дефекта у ЭЖ II группы: *a* – введение мембраны; *b* – адаптация мембраны в костном дефекте; *c* – наложение швов

Fig. 1. Bone defect formation in experimental group II animals II: *a* – membrane insertion; *b* – membrane adaptation inside a bone defect; *c* – wound suturing

Регистрацию клинических и рентгенологических показателей, оценку эффективности различных методов лечения экспериментального периодонтита осуществляли на 14-е сутки, спустя 1 и 2 мес. после оперативного вмешательства. Выбранные сроки послеоперационного наблюдения являются наиболее информативными для оценки клинической, рентгенологической и гистологической картин процесса восстановления костной ткани [7, 9, 12, 21].

По истечении срока наблюдения ЭЖ контрольной и опытных групп выводили из эксперимента с соблюдением принципов биоэтики в соответствии со стандартами GLP.

Рентгенологический контроль восстановления костной ткани осуществляли путем анализа изображений, полученных с помощью современного конусно-лучевого компьютерного томографа.

Качественный анализ и количественную оценку динамики уровней плотности трабекулярной костной ткани в области послеоперационного дефекта осуществляли с помощью трехмерной реконструкции полученного изображения. Для характеристики плотности костной ткани использовали коэффициент абсорбции Хаунсфилда [1]. Плотностные характеристики костной ткани выражали в условных единицах Хаунсфилда (HU).

Анализ плотности костной ткани проводили последовательно на трех томографических срезах (сагиттальном, аксиальном и коронарном) в точке их пересечения с «захватом» зоны костного дефекта, ранее сформированного в области межкорневой перегородки центральных резцов. Толщина анализируемых срезов во всех группах составляла 0,2 мм. Значение плотности костной ткани для исследуемой области определяли как среднее арифметическое от показателей минеральной плотности в каждом срезе.

Полученные данные обрабатывали статистически с помощью программ Statistica (Version 10, StatSoft Inc., США) и Excel.

Результаты и их обсуждение. Клиническая оценка восстановительного процесса. Клинические наблюдения в послеоперационном периоде позволили установить, что к 3-м суткам после вмешательства у ЭЖ всех групп в области операционной раны сохранялись отек и гиперемия слизистой оболочки, фибринозный налет. При этом швы у всех ЭЖ были сохранены.

На 14-е сутки после проведенных вмешательств отек и гиперемия слизистой оболочки у ЭЖ во всех группах исследования значительно уменьшились, послеоперационные раны эпителизировались первичным натяжением. В области межзубного сосочка сохранялись слабовыраженные отек и гиперемия. Клинические картины в группах исследования существенных различий не имели.

Через 1 мес. слизистая оболочка в области оперативных вмешательств у ЭЖ всех групп имела бледно-розовую окраску, гиперемия отсутствовала.

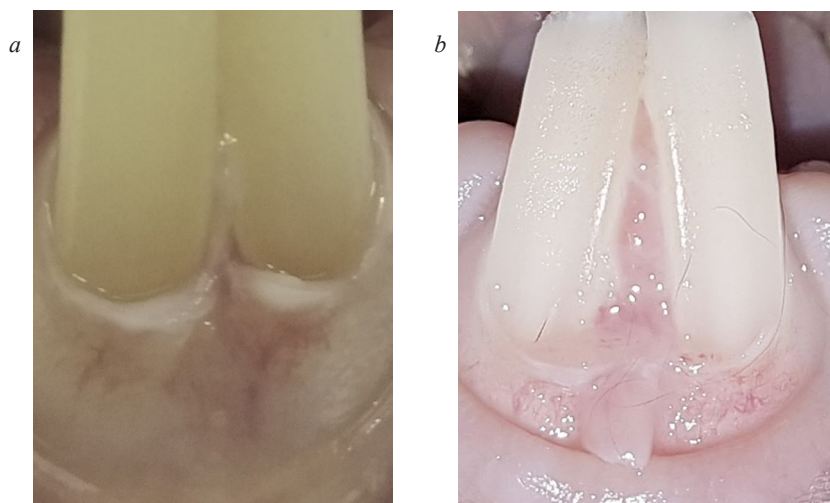


Рис. 2. Клиническая картина в области сформированного дефекта через 2 мес. после оперативного вмешательства у ЭЖ контрольной (а) и I (b) групп

Fig. 2. Clinical manifestation in the area of the formed defect 2 months after surgery in experimental animals in control group (a) and group I (b)

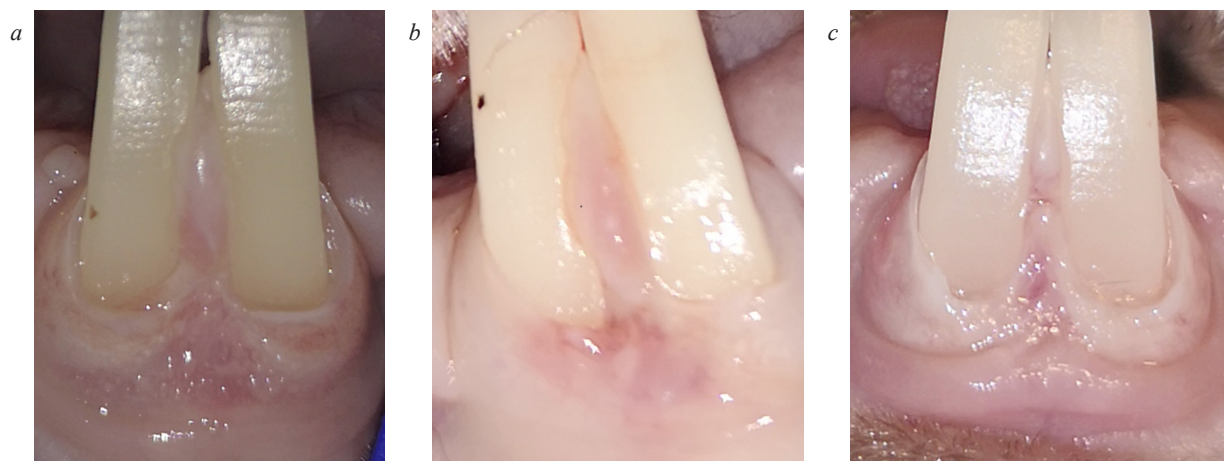


Рис. 3. Клиническая картина в области сформированного дефекта через 2 мес. после оперативного вмешательства у ЭЖ II (a), III (b) и IV (c) групп

Fig. 3. Clinical manifestation in the area of the formed defect 2 months after surgery in experimental animals in groups II (a), III (b) and IV (c)

Клиническая картина через 2 мес. после проведенных вмешательств в группах исследования представлена на рис. 2, 3. Следует отметить, что у ЭЖ контрольной группы (рис. 2, a) наблюдали рецессию десны, а в группах I–IV межзубный промежуток был заполнен тканью.

Клиническое наблюдение показало, что у животных всех групп исследования сроки эпителизации существенно не отличались, а послеоперационные раны через 2 недели после вмешательств эпителизовались первичным натяжением. У ЭЖ контрольной группы, в отличие от животных опытных групп, у которых дефект заполнялся мембраной на основе костного коллагена, наблюдалась послеоперационная рецессия десны. Через 2 мес. после оперативного вмешательства между клиническими картинами ЭЖ I–IV групп не выявлено значимых различий.

Рентгенологическая картина восстановления костной ткани на 14-е сутки после оперативного вмешательства. Результаты рентгенологического исследования, выполненного на 14-е сутки после оперативного вмешательства, показали, что в контрольной, а также в I группе, в которой пострезекционный дефект заполняли мембраной на основе костного коллагена, показатели ширины сформированных дефектов не имели достоверных различий и составляли $1,89 \pm 0,10$ и $1,86 \pm 0,08$ мм соответственно, а также достоверно не изменились по сравнению с первоначальными ($p > 0,05$) (табл. 1). В обоих случаях границы дефектов имели четкие и ровные контуры.

Т а б л и ц а 1. Динамика изменений показателей ширины дефектов костной ткани (мм) по данным КЛКТ

Т a b l e 1. Dynamics of change in the width of bone tissue defects (mm) according to the CBCT data

Сроки наблюдения	Группа исследования				
	Контрольная	I	II	III	IV
14 сут	$1,89 \pm 0,10$	$1,86 \pm 0,08$	$1,44 \pm 0,07^{**}$	$1,32 \pm 0,03^{***}$	$1,47 \pm 0,08^{**}$
1 мес.	$1,68 \pm 0,07$	$1,35 \pm 0,14^*$	$0,65 \pm 0,05^{***}$	$0,45 \pm 0,11^{***}$	$0,52 \pm 0,09^{***}$
2 мес.	$1,21 \pm 0,12$	$0,89 \pm 0,05^*$	$0,12 \pm 0,02^{***}$	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$

П р и м е ч а н и е. Достоверность различий по сравнению с показателями у ЭЖ в контрольной группе: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$. То же в табл. 2.

Во II–IV группах ширина пострезекционных дефектов на 14-е сутки достоверно уменьшилась по сравнению с таковой в группе контроля (табл. 1): во II опытной группе – на 23,81 % ($p < 0,01$), в III – на 30,16 % ($p < 0,001$), в IV – на 22,23 % ($p < 0,01$). Границы костных дефектов в этих группах имели неровные и нечеткие контуры, что указывало на имевшие место процессы восстановления костной ткани.

Рентгенологический анализ костной ткани на 14-е сутки исследований позволил установить, что в контрольной и I опытной группах плотность костной ткани составила $231,63 \pm 19,81$ и $278,54 \pm 28,62$ НУ соответственно и данные показатели не имели достоверных различий ($p > 0,05$). Значения показателей минеральной плотности костной ткани у ЭЖ в II–IV опытных группах достоверно выше по сравнению с таковыми у ЭЖ контрольной группы. Наиболее значимый коэффициент абсорбции выявлен у ЭЖ III опытной группы, у которых показатель минеральной плотности костной ткани был на 61,04 % ($p < 0,001$) выше, чем в контрольной группе. Показатели плотности костной ткани у ЭЖ II и IV опытных групп увеличились по сравнению с группой контроля на 59,77 и 58,76 % соответственно ($p < 0,01$) (табл. 2, рис. 4).

Т а б л и ц а 2. Динамика минеральной плотности костной ткани (усл. ед. Хаунсфилда (НУ)) по данным КЛКТ

Table 2. Dynamics of the bone mineral density (conventional units of Hounsfield (HU)) according to the CBCT data

Группа исследования	Сроки наблюдения		
	14-е сутки	через 1 мес.	через 2 мес.
Контрольная	$231,63 \pm 19,81$	$401,63 \pm 21,01$	$512,13 \pm 55,66$
I	$278,54 \pm 28,62$	$512,54 \pm 48,22^*$	$680,54 \pm 42,89^*$
II	$575,76 \pm 43,12^{**}$	$655,92 \pm 21,19^{**}$	$761,89 \pm 37,75^{***}$
III	$594,54 \pm 34,41^{***}$	$727,41 \pm 11,84^{***}$	$847,32 \pm 24,01^{***}$
IV	$561,71 \pm 39,30^{**}$	$712,42 \pm 45,78^{***}$	$859,73 \pm 16,12^{***}$

Таким образом, восстановительные процессы в костной ткани, наблюдаемые на 14-е сутки после оперативного вмешательства, в II–IV группах животных, которым замещение сформированных дефектов выполняли с использованием МСК ЖТ, были более выражены ($p < 0,01$ – $0,001$), чем в контрольной и I группах.

Рентгенологическая картина восстановления костной ткани через 1 мес. после оперативного вмешательства. Анализ компьютерных томограмм, полученных через 1 мес. после оперативного вмешательства, выявил неровность и нечеткость границ сформированных костных дефектов у образцов в группе исследования с использованием мембран на основе костного коллагена, что свидетельствовало об активизации восстановительных процессов у ЭЖ указанной группы. Средний показатель ширины дефектов в данной опытной группе достоверно снизился на 19,64 % ($p < 0,05$) по сравнению с показателем в контрольной группе (см. табл. 1).

Процессы восстановления костной ткани, наблюдаемые во II–IV опытных группах, проходили достоверно более активно, чем в контрольной и I опытной группах, на что указывало значительное сокращение размеров сформированных костных дефектов на 61,31; 73,21 и 69,07 % соответственно ($p < 0,001$) и наличие признаков восстановления костной ткани непосредственно в зоне резекции (табл. 1).

Через 1 мес. после оперативного вмешательства плотность костной ткани в контрольной группе, по данным КЛКТ, составила $401,63 \pm 21,01$ НУ. В этот же период исследования в I опытной группе выявлено достоверное увеличение плотности костной ткани на 21,64 % ($p < 0,05$) по сравнению с аналогичным показателем в группе контроля. Во II–IV опытных группах, в которых сформированные дефекты костной ткани заполняли коллагеновыми мембранами с взвесью культур МСК ЖТ, плотностные показатели вновь сформированной костной ткани были достоверно значимо выше – на 38,77 ($p < 0,01$), 44,78 ($p < 0,001$) и 43,62 % ($p < 0,001$) соответственно, чем в контрольной группе (табл. 2). Следует отметить, что коэффициенты абсорбции, наблюдаемые в III и IV группах исследования, были статистически достоверно выше, чем во II опытной группе (табл. 2, рис. 5) ($p < 0,001$).

Таким образом, процессы восстановления костной ткани через 1 мес. после оперативного вмешательства в группах исследования, в которых замещение сформированных дефектов выполняли с использованием МСК ЖТ, были более выраженными, чем в контрольной и I опытной группах ($p < 0,01$ – $0,001$). При этом плотностные характеристики вновь образованной костной

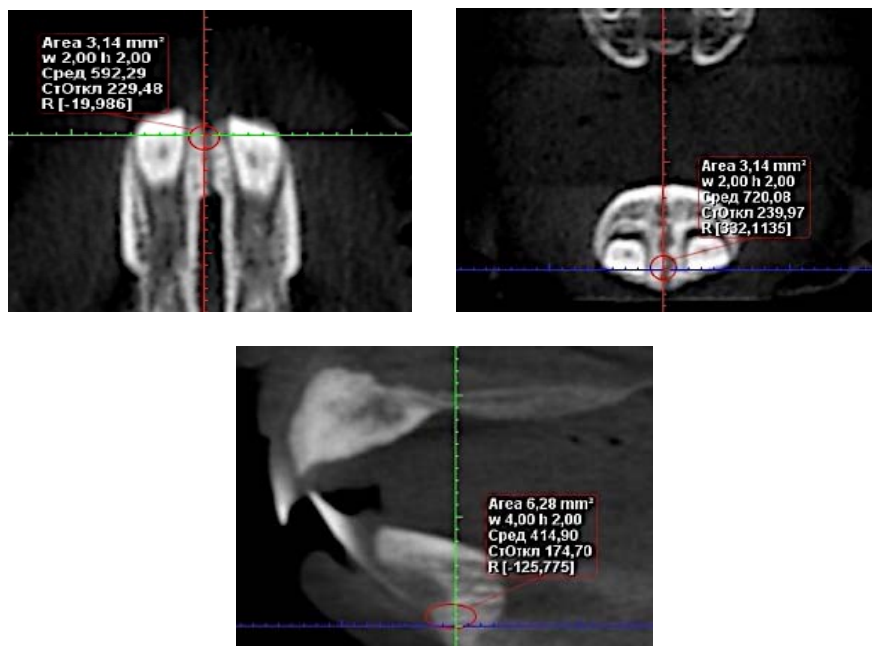


Рис. 4. КЛКТ дефекта костной ткани, заполненного коллагеновой мембраной с взвесью культур МСК ЖТ, на 14-е сутки после оперативного вмешательства: *a* – аксиальный срез (плотностные значения вновь сформированных структур костной ткани в зоне пострезекционного дефекта – 592,29 HU); *b* – коронарный срез (плотностные значения – 720,08 HU); *c* – сагитальный срез (плотностные значения – 414,9 HU)

Fig. 4. CBCT of a bone tissue defect filled in with a collagen membrane with a suspension of AT MSC cultures on the 14th day after surgery: *a* – axial section (the density value of the newly formed bone tissue structures in the area of the post-resection defect is 592.29 HU); *b* – coronary section (the density value – 720.08 HU); *c* – sagittal section (the density value – 414.9 HU)

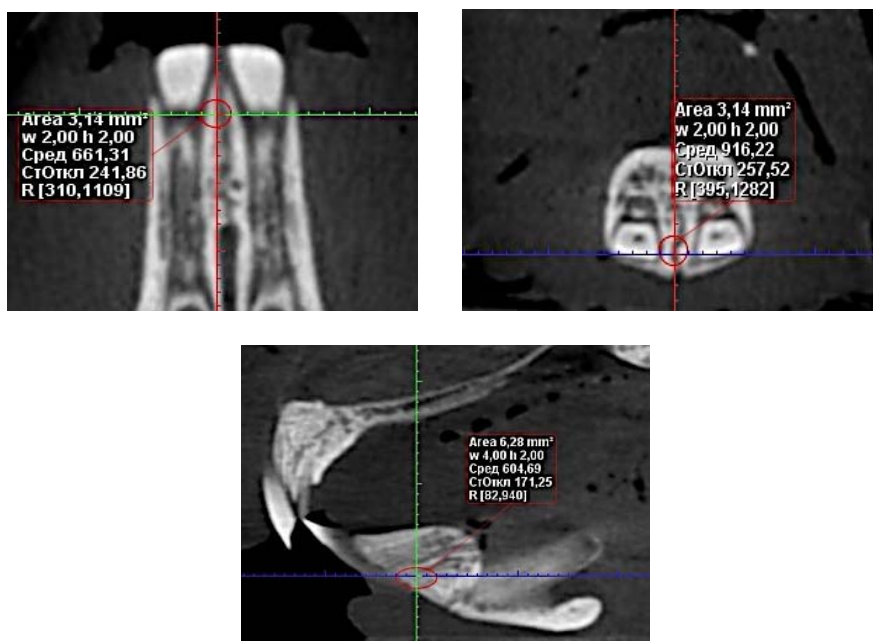


Рис. 5. КЛКТ дефекта костной ткани, заполненного коллагеновой мембраной с взвесью культур остеоиндуцированных МСК ЖТ, через 1 мес. после оперативного вмешательства: *a* – аксиальный срез (плотностные значения вновь сформированных структур костной ткани в зоне пострезекционного дефекта – 661,31 HU); *b* – коронарный срез (плотностные значения – 916,22 HU); *c* – сагитальный срез (плотностные значения – 604,69 HU)

Fig. 5. CBCT of the bone tissue defect filled with a collagen membrane with a suspension of osteo-induced AT MSC cultures 1 month after surgery: *a* – axial section (the density value of the newly formed bone tissue structures in the area of the post-resection defect is 661.31 HU); *b* – coronary section (the density value – 916.22 HU); *c* – sagittal section (the density value – 604.69 HU)

ткани в группах животных, которым применяли остеоиндуцированные МСК ЖТ, а также смесь культур МСК ЖТ и остеоиндуцированных МСК ЖТ, были значимо выше (на 43,62–44,78 %, $p < 0,001$), чем в группе, в которой использовали недифференцированные МСК ЖТ (ниже на 12,77 %, $p < 0,01$).

Рентгенологическая картина восстановления костной ткани через 2 мес. после оперативного вмешательства. Через 2 мес. после оперативного вмешательства в контрольной группе наблюдали сокращение размеров пострезекционных костных дефектов на 35,97 % ($p < 0,05$) по сравнению с первоначальными, наличие признаков перестройки костной ткани в зоне резекции (табл. 1). Однако выявленные изменения были менее выраженными, чем в опытных группах ($p < 0,01$).

В I группе исследования, где послеоперационные дефекты заполняли только мембранами на основе костного коллагена, ширина дефектов костной ткани уменьшилась на 26,44 % ($p < 0,05$) по сравнению с таковой в контрольной группе. Во II группе этот показатель превышал более чем на 70 % аналогичные показатели в I группе ($p < 0,001$). В III и IV опытных группах через 2 мес. после оперативного вмешательства наблюдали полное закрытие пострезекционных дефектов. Полученные данные указывают, что процессы восстановления костной ткани проходили более выражено в III и IV опытных группах, в которых помимо коллагеновых мембран применяли остеоиндуцированные МСК ЖТ и смесь культур аллогенных и остеоиндуцированных МСК ЖТ.

Минеральная плотность костной ткани через 2 мес. после оперативного вмешательства наиболее выраженной была в III и IV опытных группах, где показатели по своим значениям достигли физиологической нормы и составили $847,32 \pm 24,01$ и $859,72 \pm 16,12$ HU соответственно.

В I опытной группе показатель плотности костной ткани соответствовал $680,54 \pm 42,89$ HU, что на 24,75 % ($p < 0,05$) выше, чем в контрольной группе, но был на 19,68–19,91 % ($p < 0,05$) ниже, чем в опытных группах, где сформированные дефекты костной ткани заполняли коллагеновыми мембранами с взвесью культур МСК ЖТ.

Значения коэффициентов абсорбции, наблюдаемые в III и IV опытных группах, достоверно выше, чем во II группе ($p < 0,001$) (табл. 2), и в 1,67–1,65 раза ($p < 0,001$) выше, чем в контрольной. Однако статистически значимых отличий между показателями минеральной плотности вновь сформированной в области пострезекционного дефекта костной ткани в III и IV опытных группах не установлено ($p > 0,05$), что обосновывает необходимость последующего проведения морфологического исследования с целью анализа более тонких структур.

Таким образом, наиболее значимое влияние на процессы восстановления костной ткани оказывает применение остеоиндуцированных МСК ЖТ, а также сочетанное использование культур аллогенных и остеоиндуцированных МСК ЖТ, которые применяли в III и IV опытных группах (дисперсионный анализ, $p < 0,00532$ – $0,00237$) (рис. 6–8).

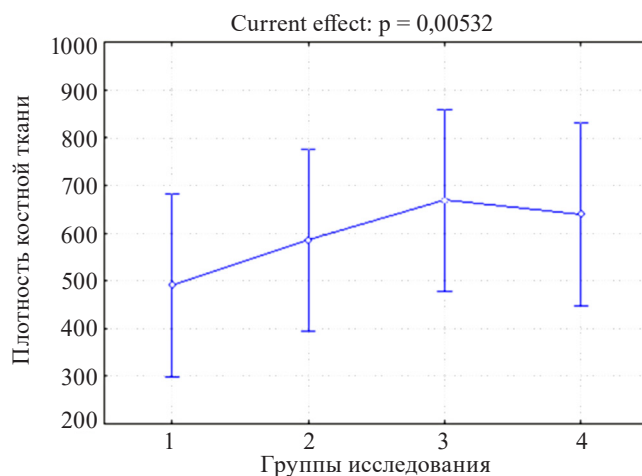


Рис. 6. Плотность костной ткани по результатам однофакторного дисперсионного анализа оценки значимости способов лечения в I–IV опытных группах, HU

Fig. 6. Bone tissue density based on the results of the one-factor analysis of variance for assessing the significance of treatment methods in experimental animal groups I–IV, HU

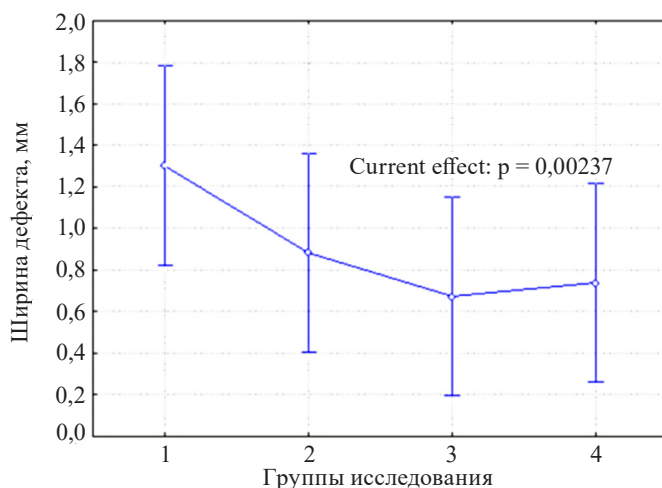


Рис. 7. Ширина дефекта костной ткани по результатам однофакторного дисперсионного анализа оценки значимости способов лечения в I–IV опытных группах, мм

Fig. 7. Bone defect width based on the results of the one-factor analysis of variance for assessing the significance of treatment methods in experimental animal groups I–IV, mm

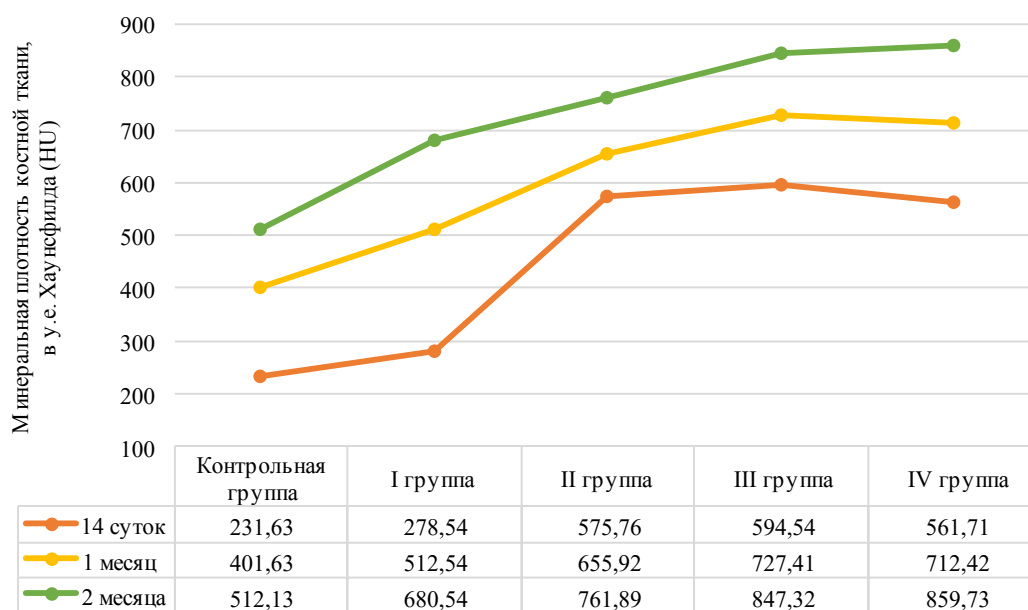


Рис. 8. Динамика восстановления костной ткани в зоне пострезекционного дефекта

Fig. 8. Dynamics of bone tissue regeneration in the post-resection defect area

Заключение. Разработанная нами модель экспериментального периодонтита у животных воспроизводит признаки патологии костной ткани с ее дефектом и демонстрирует возможность ее использования для оценки восстановительных процессов.

Сравнительная характеристика клинической эффективности применения МСК выявила достоверные различия уже на 14-е сутки эксперимента между контрольной группой, в которой костные дефекты были заполнены стерильным биоматериалом в виде мембран на основе костного коллагена, и основными опытными группами, в которых сформированные дефекты заполняли коллагеновыми мембранами с взвесью культур аллогенных МСК ЖТ, с взвесью аллогенных остеиндуцированных МСК ЖТ и с взвесью смеси культур аллогенных и аллогенных остеиндуцированных МСК ЖТ ($p < 0,01-0,001$).

Рентгенологический анализ минеральной плотности костной ткани показал, что применение на экспериментальной модели коллагеновых мембран с аллогенными остеоиндуцированными МСК ЖТ и мембран с взвесью смеси культур аллогенных и аллогенных остеоиндуцированных МСК ЖТ (1:1) позволяет получить значимые показатели восстановления костной ткани.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Распространенность болезней пародонта, кариеса корня зуба, чувствительности дентина и зубочелюстных деформаций в Республике Беларусь по результатам обследования населения в возрастных группах 35–44, 45–54 и 55–64 года / Л. Н. Дедова [и др.] // *Стоматолог.* – 2016. – № 1. – С. 6–53.
2. Reich, E. Trends in caries and periodontal health epidemiology in Europe / E. Reich // *Int. Dental J.* – 2001. – Vol. 51, N S6. – P. 392–398. <https://doi.org/10.1111/j.1875-595x.2001.tb00585.x>
3. The effect of magnetophototherapy on morphological changes of tissues of pathologically changed periodontium / S. P. Rubnikovich [et al.] // *Мед. вестн. Север. Кавказа.* – 2017. – Т. 12, № 3. – С. 303–307.
4. Фомин, Н. А. Новые возможности исследования кровотока мягких тканей ротовой полости / Н. А. Фомин, С. П. Рубникович, Н. Б. Базылев // *Инж.-физ. журн.* – 2008. – Т. 81, № 3. – С. 508–517.
5. Иммуногистохимическая оценка изменений в тканях пародонта у экспериментальных животных с остеопорозом костного скелета / С. В. Сирак [и др.] // *Мед. вестн. Север. Кавказа.* – 2019. – Т. 14, № 4. – С. 681–685.
6. Морфологические показатели репаративной регенерации костной ткани в условиях лекарственного ультрафонолиза гидрокортизоном и гиалуроновой кислотой / Е. В. Щетинин [и др.] // *Мед. вестн. Север. Кавказа.* – 2019. – Т. 14, № 4. – С. 660–663.
7. Клинико-рентгенологическая оценка остеоинтеграции дентальных имплантатов после ремоделирования периимплантной зоны / М. М. Гарунов [и др.] // *Мед. вестн. Север. Кавказа.* – 2019. – Т. 14, № 4. – С. 699–701.
8. Рубникович, С. П. Цифровые лазерные спекл-технологии в определении кровотока в биотканях и напряженно-деформированного состояния зубочелюстной системы / С. П. Рубникович, Ю. Л. Денисова, Н. А. Фомин // *Инж.-физ. журн.* – 2017. – Vol. 90, N 6. – С. 1588–1599.
9. Клеточные технологии в лечении пациентов с рецессией десны / С. П. Рубникович [и др.]. – Минск : Беларус. навука, 2019. – 199 с.
10. Murphy, M. B. Mesenchymal stem cells: environmentally responsive therapeutics for regenerative medicine / M. B. Murphy, K. Moncivais, A. I. Caplan // *Exp. Mol. Med.* – 2013. – Vol. 45, N 11. – P. e54. <https://doi.org/10.1038/emm.2013.94>
11. Применение клеточных биотехнологий в лечении рецессии десны / С. П. Рубникович [и др.] // *Стоматолог.* – 2019. – № 2. – С. 50–55.
12. Метод моделирования экспериментального периодонтита у животных / С. П. Рубникович [и др.] // *Мед. журн.* – 2011. – № 1. – С. 97–101.
13. Характеристика степени замещения пародонтальных дефектов разной топографии после аутотрансплантации васкуляльно-стромальноклеточной фракции липоаспирата / М. Д. Перова [и др.] // *Кубан. науч. мед. вестн.* – 2013. – № 6. – С. 142–148.
14. Обоснование применения стволовых клеток в лечении рецессии десны / С. П. Рубникович [и др.] // *Докл. НАН Беларуси.* – 2019. – Т. 63, № 4. – С. 476–484.
15. Использование стволовых клеток крови плода крысы при воспалительно-деструктивных процессах в тканях пародонта / В. В. Алямовский [и др.] // *Ин-т стоматологии.* – 2014. – № 1. – С. 103–105.
16. Применение клеточных технологий в лечении пациентов с рецессией десны / С. П. Рубникович [и др.] // *Мед. журн.* – 2019. – № 2. – С. 101–107.
17. Оценка эффективности комплексного применения мезенхимальных стволовых клеток и биопластического материала КОЛЛЮСТ на модели рецессии десны в эксперименте *in vivo* / С. П. Рубникович [и др.] // *Рос. стоматология.* – 2018. – Т. 11, № 3. – С. 35–44.
18. Сысоева, В. Ю. Стволовые клетки в стоматологии / В. Ю. Сысоева, Ю. М. Тернова // *Совр. стоматология.* – 2012. – № 2. – С. 28а–30.
19. Стоматологические клеточные биотехнологии в лечении болезней пародонта / С. П. Рубникович [и др.] // *Стоматология. Эстетика. Инновации.* – 2019. – Т. 3, № 2. – С. 136–143.
20. Рубникович, С. П. Применение стволовых клеток в стоматологии / С. П. Рубникович, Г. Ю. Панасенкова // *Стоматология. Эстетика. Инновации.* – 2019. – Т. 3, № 2. – С. 144–155.
21. Регенеративные клеточные технологии в лечении рецессии десны / С. П. Рубникович [и др.] // *Совр. технологии в медицине.* – 2018. – Т. 10, № 4. – С. 94–104.
22. Бондаренко, Н. Н. Измерение оптической плотности костной ткани альвеолярного отростка челюстей при заболеваниях пародонта с помощью трехмерной компьютерной томографии / Н. Н. Бондаренко, Е. В. Балахонцева // *Казан. мед. журн.* – 2012. – № 4. – С. 660–662.
23. Laser monitor for soft and hard biotissue analysis using dynamic speckle photography / N. Fomin [et al.] // *Laser Physics.* – 2003. – Vol. 13, N 5. – P. 786–795.

References

1. Dedova L. N., Denisova Yu. L., Kandrukevich O. V., Solomevich A. S., Rosenik N. I. The prevalence of periodontal disease, tooth root caries, dentin sensitivity and dentofacial deformities in the Republic of Belarus according to the results of a population survey in the groups aged 35–44, 45–54 and 55–64 years. *Stomatolog = Stomatologist*, 2016, no. 1, pp. 6–53 (in Russian).
2. Reich E. Trends in caries and periodontal health epidemiology in Europe. *International Dental Journal*, 2001, vol. 51, no. S6, pp. 392–398. <https://doi.org/10.1111/j.1875-595x.2001.tb00585.x>
3. Rubnikovich S. P., Maizet A. I., Denisova Yu. L., Bykova N. I., Arutyunov A. V., Kopylova I. A., Avanesyan R. A. The effect of magnetophototherapy on morphological changes of tissues of pathologically changed periodontium. *Meditsinskii vestnik Severnogo Kavkaza = Medical news of North Caucasus*, 2017, vol. 12, no. 3, pp. 303–307. <https://doi.org/10.14300/mnnc.2017.12095>
4. Fomin N. A., Rubnikovich S. P., Bazylev N. B. New possibilities of investigating blood flow in soft tissues of the mouth. *Journal of Engineering Physics and Thermophysics*, 2008, vol. 81, no. 3, pp. 533–543. <https://doi.org/10.1007/s10891-008-0065-9>
5. Sirak S. V., Rubnikovich S. P., Shchetinin E. V., Perikova M. G., Petrosyan G. G., Bykova N. I., Kobylkina T. L., Didenko M. O. Immunohistochemical evaluation of changes in periodontal tissues in experimental animals with bone skeleton osteoporosis. *Meditsinskii vestnik Severnogo Kavkaza = Medical news of North Caucasus*, 2019, vol. 14, no. 4, pp. 681–685 (in Russian).
6. Shchetinin E. V., Sirak S. V., Rubnikovich S. P., Kochkarova Z. M., Andreev A. A., Muratova A. Yu., Perikova M. G., Petrosyan G. G. Morphometric parameters of reparative regeneration of the bone tissue in terms of medicinal phonophoresis with hydrocortisone and hyaluronic acid. *Meditsinskii vestnik Severnogo Kavkaza = Medical News of North Caucasus*, 2019, vol. 14, no. 4, pp. 660–663 (in Russian).
7. Garunov M. M., Sevbitov A. V., Dolgalev A. A., Sirak S. V., Solov'eva O. A., Remizova A. A., Dzgoeva M. G., Rubnikovich S. P. Clinical and radiographic assessment of osteointegration of dental implants after remodeling of the perimplant zone. *Meditsinskii vestnik Severnogo Kavkaza = Medical news of North Caucasus*, 2019, vol. 14, no. 4, pp. 699–701 (in Russian).
8. Rubnikovich S. P., Denisova Y. L., Fomin N. A. Digital laser speckle technologies in measuring blood flow in biotissues and the stressed-strained state of the maxillo-dental system. *Journal of Engineering Physics and Thermophysics*, 2017, vol. 90, no. 6, pp. 1513–1523. <https://doi.org/10.1007/s10891-017-1713-8>
9. Rubnikovich S. P., Volotovskii I. D., Denisova Yu. L., Andreeva V. A., Panasenkov G. Yu., Kvacheva Z. B. *Cell technology in the treatment of patients with gum recession*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2019. 199 p. (in Russian).
10. Murphy M. B., Moncivais K., Caplan A. I. Mesenchymal stem cells: environmentally responsive therapeutics for regenerative medicine. *Experimental and Molecular Medicine*, 2013, vol. 45, no. 11, pp. 45–54. <https://doi.org/10.1038/emm.2013.94>
11. Rubnikovich S. P., Volotovskii I. D., Denisova Yu. L., Dedova L. N., Andreeva V. A., Panasenkov G. Yu., Novik T. P. Application of cell biotechnologies in the treatment of gum recession]. *Stomatolog = Stomatologist*, 2019, no. 2, pp. 50–55 (in Russian).
12. Rubnikovich S. P., Vladimirskaia T. E., Shved I. A., Veyalkina N. N. Method for modeling experimental periodontitis in animals. *Meditsinskii zhurnal [Medical journal]*, 2011, no. 1, pp. 97–101 (in Russian).
13. Perova M. D., Gaivoronskaya T. V., Karpuyuk V. B., Tropina A. V. Characteristics of the degree of replacement of different topography periodontal defects after autotransplantation of vascular-stromal cell fraction of lipoaspirate. *Kubanskii nauchnyi meditsinskii vestnik [Kuban scientific medical bulletin]*, 2013, no. 6, pp. 142–148 (in Russian).
14. Rubnikovich S. P., Volotovskii I. D., Denisova Yu. L., Andreeva V. A., Panasenkov G. Yu. The rationale for the use of stem cells in the treatment of gum recession. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2019, vol. 63, no. 4, pp. 476–484 (in Russian).
15. Alyamovskii V. V., Shestakova L. A., Yarygin E. I., Schmidt P. A., Lazarenko L. I. The use of stem cells of the blood of a rat fetus in inflammatory and destructive processes in periodontal tissues. *Institut stomatologii [Institute of dentistry]*, 2014, no. 1, pp. 103–105 (in Russian).
16. Rubnikovich S. P., Volotovskii I. D., Denisova Yu. L., Andreeva V. A., Panasenkov G. Yu., Kvacheva Z. B. The use of cell technology in the treatment of patients with gum recession. *Meditsinskii zhurnal [Medical journal]*, 2019, no. 2, pp. 101–107 (in Russian).
17. Rubnikovich S. P., Denisova Yu. L., Andreeva V. A., Kvacheva Z. B., Panasenkov G. Yu., Khomich I. S. Clinical estimation of the efficacy mesenchymal stem cells and bioplastic material COLLOST for treating gingival recession in the experiment *in vivo*. *Rossiiskaya stomatologiya [Russian dentistry]*, 2018, vol. 11, no. 3, pp. 35–44 (in Russian).
18. Sysoeva V. Yu., Ternova Yu. M. Stem cells in dentistry. *Sovremennaya stomatologiya [Modern dentistry]*, 2012, no. 2, pp. 28a–30 (in Russian).
19. Rubnikovich S. P., Volotovskii I. D., Denisova Yu. L., Andreeva V. A., Panasenkov G. Yu., Novik T. P. Dental cell biotechnologies in the treatment of periodontal diseases. *Stomatologiya. Estetika. Innovatsii [Dentistry. Aesthetics. Innovations]*, 2019, vol. 3, no. 2, pp. 136–143 (in Russian).
20. Rubnikovich S. P., Panasenkov G. Yu. The use of stem cells in dentistry. *Stomatologiya. Estetika. Innovatsii [Dentistry. Aesthetics. Innovations]*, 2019, vol. 3, no. 2, pp. 144–155 (in Russian).

21. Rubnikovich S. P., Denisova Yu. L., Vladimirskaia T. E., Andreeva V. A., Kvacheva Z. B., Panasenkova G. Yu., Volotovskii I. D. Regenerative cell technology in the treatment of gum recession. *Sovremennye tekhnologii v meditsine* [Modern technologies in medicine], 2018, no. 4, pp. 94–104 (in Russian).

22. Bondareno N. N., Balakhontseva E. V. Measurement of the optical density of bone tissue of the alveolar ridge of the jaw in periodontal diseases using three-dimensional computed tomography. *Kazanskii meditsinskii zhurnal* [Kazan medical journal], 2012, no. 4, pp. 660–662 (in Russian).

23. Bazylev N., Fomin N., Fuentes C., Hirano T., Lavinskaja E., Martemianov S., Mizukaki T., Nakagawa A., Rubnikovich S., Saulnier J.-B., Takayama K., Tuhault J.-L. Laser monitor for soft and hard biotissue analysis using dynamic speckle photography. *Laser Physics*, 2003, vol. 13, no. 5, pp. 786–795.

Информация об авторах

Рубникович Сергей Петрович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: rubnikovichs@mail.ru

Сирак Сергей Владимирович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Ставропольский государственный медицинский университет (ул. Мира, 310, 355017, г. Ставрополь, Российская Федерация). E-mail: sergejsirak@yandex.ru

Денисова Юлия Леонидовна – д-р мед. наук, профессор. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: denisova-yul@mail.ru

Андреева Василина Анатольевна – канд. мед. наук, доцент. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: vasilinastomatolog@tut.by

Кузьменко Елена Викторовна – канд. мед. наук, доцент. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: elena-stom@yandex.ru

Хомич Илья Станиславович – канд. мед. наук, доцент. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: ilya.khomich@gmail.com

Волотовский Игорь Дмитриевич – академик, д-р биол. наук, профессор. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: volot@biobel.bas-net.by

Information about the authors

Sergey P. Rubnikovich – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, Brovki Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: rubnikovichs@mail.ru

Sergey V. Sirak – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Stavropol State Medical University (310, Mir Str., 355017, Stavropol, Russian Federation). E-mail: sergejsirak@yandex.ru

Yuliya L. Denisova – D. Sc. (Med.), Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Av., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: denisova-yul@mail.ru

Vasilina A. Andreeva – Ph. D. (Med.), Assistant Professor. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, Brovki Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vasilinastomatolog@tut.by

Elena V. Kuzmenko – Ph. D. (Med.), Assistant Professor. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, Brovki Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: elena-stom@yandex.ru

Ilya S. Khomich – Ph. D. (Med.), Assistant Professor. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, Brovki Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus).

Igor D. Volotovskiy – Academician, D. Sc. (Biol.), Professor. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: volot@biobel.bas-net.by