

## Естественные науки

УДК 602.9

К.Е. Конопьянов, доктор сельскохозяйственных наук, профессор

Д.М. Калиев

E-mail: Kalievd93@mail.ru

### Особенности типов дентальных стволовых клеток

***Аннотация.** Статья посвящена популярной на сегодняшний день проблеме потери зубов и решению проблемы с помощью развития тканевой биотехнологии. Тканевая биотехнология – это совокупность методов, а также процедур, направленных на возобновление биологических тканей. Она включает следующую тройку элементов: стволовые клетки, внеклеточный матрикс или скаффолд (от англ. слова scaffold – помост), факторы роста и сигнальные пути. Стволовые клетки играют большую роль в решении данных проблем. У дентальных стволовых клеток есть уникальная способность к дифференцировке, а также к самообновлению. Благодаря ряду анализов было установлено, что каждый тип дентальных стволовых клеток имеет свои особенности и сферы применения не только в стоматологии, но и в других отраслях медицины.*

***Ключевые слова:** тканевая биотехнология, стволовые клетки, стоматология.*

Главными причинами потери зубов, по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), являются кариес и пародонтит. У пожилых людей особенно часто встречается полная потеря зубов. Около 30 % людей старше 65 и до 74 лет не имеют зубы из-за воспалительных заболеваний пародонта и патологии твердых тканей зубов [1]. Поэтому сейчас важным является поиск лучшего способа их лечения.

Одним из лучших решений является тканевая биотехнология. Это междисциплинарная отрасль, целью которой является создание таких биологических заменителей, которые восстанавливают, а также поддерживают функции ткани или органа. Высокая эффективность и потенциал методов тканевой биотехнологии заставили обратить на себя внимание большинства ученых.

Формирование зубов является достаточно сложным процессом. Он сопровождается тканевым взаимодействием, который контролируется большим количеством сигнальных молекул [2].

По мере развития зуб проходит сначала стадию плакоды, стадию почки, стадию колпачка, затем наступает стадия колокола, стадия развития корня и напоследок стадия прорезывания. Образование зуба сначала происходит в области дентальной пластинки, состоящей из мезенхимальных клеток и инвагинированного эпителия. Первым этапом является стадия плакоды, то есть из дентальной пластинки образуется зачаток зуба. После образовывается первичный эмалевый узел (стадия колпачка). На стадии колокола образовывается вторичные эмалевые узлы. Они создают бугорки будущих коронок зубов. Эпителиальные и мезенхимальные клетки зачатка зуба дифференцируются в амелобласты, одонтобласты, а также клетки дентального фолликула. Эмаль и дентин продуцируются амелобластами и одонтобластами. Клетки дентального фолликула продолжают развиваться в клетки тканей периодонта. А именно в периодонтальную связку, цемент и альвеолярную кость.

Из зародышевого листка эктодермы образуются ткани, благодаря которым развивается наш зуб. Клетки эктодермы, делясь и дифференцируясь, образуют структуры, которые необходимы для дальнейшего развития зуба. А именно в дентальный эпителий и нервный гребень, что служат образованию мезенхимы. Благодаря эпителиально-мезенхимальным взаимодействиям происходит регулирование, а также инициирование образования зуба. Первоначальным признаком развития зуба является формирование дентальной пластинки. Это подковообразное утолщение эпителия вдоль верхней и нижней челюстей. Следующие этапы это стадии плакоды, почки, затем колпачка, колокола и развитие самого корня [3].

Благодаря взаимодействию клеток эпителия и клеток мезенхимы образовывается зуб. Главный вопрос в том, почему во время развития зародыша создается зуб, а не другой любой орган? Дело в том, что это происходит благодаря одонтогенной компетентности, которой обладают именно клетки, участвующие в создании зуба. То есть способность стволовых клеток продолжать развиваться именно в дентальные клетки до конца не выяснена, даже если выделено уже более 200 генов, принимающих участие в развитии зуба. Во многих проектах, которые изучают этот феномен, больше внимания уделяется изучению эпителиальных сигнальных центров. На сегодняшнее время известны четыре таких центра. Это дентальная пластинка, плакода, первичные и вторичные эмалевые узлы. Их основная роль содержится в экспрессии сигнальных молекул, которые регулируют образование зуба [4].

Чем является тканевая биотехнология? Это комплекс методов и процедур, служащих возобновлению биологических тканей. В ней содержится три основных элемента. Ими являются стволовые клетки, внеклеточный матрикс или скаффолд (от англ. слова scaffold – помост), факторы роста и сигнальные пути (signaling). Главная задача тканевой биотехнологии – заменить утраченные клетки, ткани и органы или содействовать их возобновлению, либо регенерировать испортившуюся функцию.

Стволовые клетки играют огромную роль в решении данных проблем. Они могут создавать промежуточные клеточные типы, так называемые, предшественники. Эти недифференцированные эмбриональные либо взрослые клетки могут проходить через огромное количество клеточных делений. Дифференцируясь в различные клетки, они образуют настоящие полные ткани и органы.

По масштабу дифференцировки стволовые клетки бывают четырех видов. Тотипотентные, плюрипотентные, а также мультипотентные и унипотентные. Перейдем к тотипотентным клеткам. Они могут подразделяться в какой-либо тип клеток взрослого организма. Плюрипотентные клетки могут производить специализированные клетки трёх зародышевых листков. Ими являются эктодермы, энтодермы и мезодермы, но не весь организм. Мультипотентные клетки вырабатывают маленький набор типов клеток. Унипотентные клетки могут дифференцироваться лишь в один вид клеток.

В 1998 году определили первую клеточную линию эмбриональных стволовых клеток. С тех времен в их развитии произошел огромный прогресс.

Пока эмбрион развивается, из бластоцисты берут стволовые клетки. Благодаря им вырастает три зародышевых слоя. А именно экто-, эндо- и мезодерме. Клетки тотипотентные. Это значит, что они могут происходить в каждом из более 200 типов клеток взрослого организма.

На сегодняшний день обнаружено три источника эмбриональных стволовых клеток млекопитающих. Это клетки, взятые из внутренней клеточной массы бластоцисты, клетки тератом и первичные половые клетки зачатка.

«Взрослые» стволовые клетки имеются в организме в разных тканях, например в костном мозге или в кровеносных сосудах, в печени или в коже, в жировых и дентальных тканях. Все они расположены в определенных нишах, где есть управление их пролиферации, миграции, а также сроков жизни. Постнатальные стволовые клетки мультипотентны. Они дают рост только одному типу клеток.

Что представляют собой дентальные стволовые клетки? Это популяция постнатальных мезенхимальных стволовых клеток (МСК), которые обладают такими свойствами, как самообновление и дифференцировка. В зависимости от местонахождения депо МСК делят на следующие клетки:

- СК пульпы;
- СК апикального сосочка;
- СК удаленных молочных зубов;
- клетки-предшественники зубного фолликула;
- СК периодонтальной связки;
- МСК, взятые из альвеолярного отростка;
- МСК десны;
- прогениторные клетки зубного зачатка (МСК, нацеленные на дифференцировку только в необходимый тип клеток) [5].

Из пульпы удаленных зубов весьма быстро можно получить стволовые клетки. Это замечательный источник аутологичных стволовых клеток. Их применение весьма необходимо при восстановлении дентина пульпы, цемента и костной ткани. Кроме этого, их проявление нейрорегенеративной активности приводит к большим успехам при лечении повреждении в спинном мозгу. МСК пульпы помимо подавления начального воспалительного ответа, подавляют апоптоз нейронов, астроцитов и олигодендроцитов после травмы. Что дает возможность сохранить нервные волокна и миелиновые оболочки. Было установлено, что они способствуют самообновлению перерезанных аксонов. Таким образом, ученые считают, что МСК пульпы смогут показать результаты по терапевтическим преимуществам в лечении травм спинного мозга [6].

Стволовые клетки из выпавших молочных зубов – это огромное количество стволовых клеток с пролиферативной способностью, высокой жизнеспособностью и потенциалом многолинейной дифференциации (например, в остеобласты, нейронные клетки и одонтобласты). Мезенхимальные стволовые клетки десны просто идеальны для улучшения регенерации поврежденных тканей пародонта, а также мышц и сухожилий. Но пока не ясно, смогут ли они создавать клетки дентина и пульпы [7].

На стадии колокола в мезенхиме зачатка третьего моляра была найдена новая разновидность прогениторных клеток зубного зародыша. Они схожи с другими МСК зуба, а именно также представляют многоуровневую дифференциацию, имеют такую же способность к дифференцировке в адипоциты, остеобласты, одонтобласты, хондроциты и нейроны. Могут дифференцироваться в клетки с морфологическими, фенотипическими и функциональными характеристиками гепатоцитов.

Таким образом, можно сделать вывод, что разновидности дентальных стволовых клеток имеют свои уникальные особенности и широко применяются не только в стоматологии, но и в других отраслях медицины.

Из соматических стволовых клеток получают индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК). Они были обнаружены в 2006 году японскими учеными Кадзутоси Такахаси и Синъя

Яманака. Благодаря увеличению экспрессии определенных факторов ранскрипции перепрограммировали соматические клетки в ИПСК. По сравнению со стволовыми эмбриональными клетками эти клетки не показывают таких этических препирательств и являются иммунологически нейтральными. Но для их перепрограммирования были задействованы вирусные агенты, и это могло повлечь за собой создание новообразований. Были сделаны попытки задействовать вместо вирусов химические молекулы, но, к сожалению, процент успешного репрограммирования оказался мал. В данное время разрабатывают новые способы получения ИПСК, так как их использование выглядит очень привлекательным и многообещающим [8].

Чтобы задействовать стволовые клетки в тканевой инженерии, нужен скаффолд и ростовые факторы. Подходящий по всем параметрам скаффолд должен поддерживать прикрепление и миграцию, пролиферацию и пространственную организацию клеток.

Невероятно быстро достигла прогресса технология регенеративной медицины. Возможно, уже придумали все самые необходимые положения для тканевой инженерии зуба. Это все получено благодаря знаниям о клеточных и молекулярных основах развития зуба. Отсюда следует, что идеальный результат в биоинженеринге зуба получится лишь в присутствии клеток эпителия и мезенхимальной клетки. Но и этого недостаточно для построения зуба. Поэтому роль факторов роста, а также внеклеточного матрикса очень важна. Вероятно, в скором будущем копилка знаний под названием «тканевая биотехнология зуба» пополнится еще одной ценной «монетой».

При сравнении с другими зрелыми клетками стволовые клетки могут проходить через множество делений и понемногу специализироваться, образуя клетки различных типов. Тотипотентными являются эмбриональные стволовые клетки. Они могут измениться в любой из двухсот видов клеток взрослого организма. Постнатальные стволовые клетки мультипотентны и имеют способность сохраняться в тканях взрослого организма. Мультипотентные клетки могут дать начало только некоторым типам клеток. Находятся в соответствующих тканях или в костном мозгу, печени, кровеносных сосудах, коже или дентальных тканях.

В зависимости от местонахождения дентальные стволовые клетки (ДСК) подразделяются на стволовые клетки пульпы, удаленные молочные зубы, периодонтальные связки, десны, клетки предшественников зубного фолликула и т.д. Стволовые клетки пульпы можно взять прямо из удаленных зубов – это весьма удобный и перспективный источник ДСК. Подходят для восстановления дентина, пульпы, цемента и костной ткани. Кроме этого, они показывают выраженную нейрорегенеративную активность, ингибируя гибель нейронов, астроцитов и олигодендроцитов, образованных после травмы, ускоряя таким образом восстановление поврежденных аксонов. Популяция стволовых клеток удаленных молочных зубов может дифференцироваться в клетки нервной и костной тканей, а ДСК десны подходят для восстановления пародонта, мышц и даже сухожилий.

Механизмы развития одонтогенных стволовых клеток еще окончательно не выяснены, но уже идентифицировано более двухсот работающих в них генов. Ясно, что каждый тип ДСК имеет свои замечательные особенности, которые обещают им применение в различных областях медицины. Еще одним ресурсом стволовых клеток для выращивания зубов остается индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК), которые получены «перепрограммированием» взрослых дифференцированных клеток за счет обработки специальным коктейлем сигнальных молекул. Ученые продолжают разрабатывать безопасные методы создания ИПСК и их использования.

Для того, чтобы развить и образовать сложные структуры зрелой ткани, требуется опора, скаффолд из молекул межклеточного матрикса: именно благодаря ему поддерживается прикрепление, миграция и пространственная организация клеток. Просветы и поры в нем дают возможность движению клеток, ростовых факторов и обмену веществ. Искусственный скаффолд должен быть простым в использовании, а также обладать биосовместимостью, способностью к деградации в этом организме и достаточно низкой иммуногенностью, хорошими механическими свойствами. Для формирования скаффолда среди синтетических материалов нам стоит упомянуть «биоактивное» стекло, оно может срастаться с биологическими тканями, полимолочной кислотой и композитами на основе металла, керамики или полимеров. Все они позволяют изготавливать скаффолды нужной формы, хотя их применение остается очень ограниченным, так как они имеют низкую биосовместимость и токсичность. В противоположность им выступают натуральные биоматериалы для скаффолдов, а именно коллаген, хитозан или гиалуроновая кислота. Они биосовместимы и легко биодеградируются. Однако натуральные биоматериалы для скаффолда менее прочны и имеют способность вызывать реакции отторжения. В любом случае идеальным подходящим материалом для скаффолда будет структура, которая получена непосредственно из натуральных полимеров внеклеточного матрикса или из их синтетических аналогов. Выросшие на таком скаффолде стволовые клетки пульпы и периодонта во время обработки соответствующими сигнальными веществами успешно развивались в одонтогенном направлении – к образованию тканей зуба. К этому мы еще вернемся позже, а пока перейдем к третьему виду ингредиентов.

Стволовые клетки являются нашим основным ресурсом, скаффолд – это основа его развития, но управлять их взаимодействием будут сигнальные молекулы, которые включают факторы роста и интерферирующие рибонуклеиновые кислоты (РНК). Факторы роста – это такие молекулы пептидов,

которые передают сигналы для управления клеточным поведением через воздействие на специфические рецепторы на поверхности клеток. Оно обеспечивает взаимосвязь и взаимодействие между клетками, а также между ними и внеклеточным матриксом. Например, если кариозная полость оказалась близко расположена к чувствительной пульпе или у пациента наблюдается повышенная стираемость зубов, то соответствующие факторы роста запускают образование вторичного и третичного дентина. Обнаружен и целый ряд факторов роста, действующих во время выращивания зубов, таких как костный морфогенетический белок (BMP), тромбоцитарный фактор роста (PDGF) и фактор роста фибробластов (FGF). Они доставляются к стволовым клеткам благодаря наночастицам или через скаффолд и заполняют его необходимым набором молекул. Для того, чтобы контролировать дифференцировку клеток, используют и молекулы интерферирующей РНК. Они связываются с матричной РНК и после останавливают синтез того или иного белка. Для целевой доставки эту РНК превращают в дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) и после в виде плазмиды переносят в клетку. У нас есть всё необходимое для создания зуба: дентальные стволовые клетки (в ассортименте), скаффолд (продукт, идентичный натуральному) и факторы роста (по вкусу).

Начальные принципы тканевой инженерии зубов уже разработаны, а попытки перейти к применению на практике уже предпринимаются больше чем полутора десятков лет. Одними из первых в выращивании зубов можно назвать английских ученых, которые приступили к таким исследованиям еще в 2002 году. Их эксперименты по регенерации твердых зубных тканей особого результата не показали. Ученые из команды Такаши Цуи провели более успешные опыты, которые продлились около двух лет. После решения ряда проблем они смогли выделить дентальные стволовые клетки из мышиных эмбрионов, «собрать» из них биоинженерный зачаток и после вырастить из него полноценный зуб, который имплантировали в челюсть мыши. Протокол, подготовленный японскими специалистами в ходе этой работы, сейчас является одним из ключевых руководств, которыми пользуются многие ученые для экспериментов в области тканевой инженерии. Благодаря ему и российские ученые из стоматологического университета имени Евдокимова (МГМСУ) в 2017 году провели собственные успешные опыты по выращиванию мышиных зубов. Человеческие зубы более сложны и громоздки, поэтому вырастить их пока не удастся. Пока остаются нерешенными проблемы, связанные с иннервацией и кровоснабжением «биоинженерного» зуба, его связочным аппаратом, а главное – с выбором пула стволовых клеток.

Дело в том, что получить человеческие ДСК можно из здорового зуба (повредив его) или из зуба с удаленной пульпой. Доступные же клетки – такие, как стволовые клетки десны, – не обладают одонтогенной способностью. Научиться получать нужные ДСК из имеющихся ресурсов или индуцированных плюрипотентных стволовых клеток пока только предстоит. Однако нет сомнений в том, что через некоторое время биоинжиниринг зубов поможет и взрослым, и детям окончательно забыть о трепете перед визитом к стоматологу.

Таким образом, в данной статье была рассмотрена проблема потери зубов. Решением является выращивание зуба, который будет абсолютно идентичным собственному зубу человека. В этом большую роль играют исследования, посвященные изучению дентальных стволовых клеток. Но чтобы вырастить зуб у нас в стране, необходимо:

- финансовые вложения;
- предоставление лабораторий;
- изучение дентальных стволовых клеток;
- устройство для извлечения стволовых клеток;
- создание подходящего скаффолда;
- факторы роста.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Здоровье полости рта. Информационный бюллетень // ВОЗ. – № 318. – 2012.
- 2 Нельсон Монтейро, Памела С. Елик. Достижения и перспективы в области зубной инженерии. – 2017. – С. 2443-2461.
- 3 Дж. Джернвалл, И. Теслефф. Формирование зуба и восстановление зуба: развитие с теми же сигналами // Развитие, 2012. – С. 139, 3487-3497.
- 4 Марианна Бей. Молекулярная генетика развития зубов. Текущее мнение в области генетики и развития. – 2009. – С. 504-510.
- 5 Хан Дж., Мениканин Д., Гронто С., Бартольд П.М. Стволовые клетки, тканевая инженерия и регенерация пародонта. – 2014. – С. 117-130.
- 6 Йен А.-Н., Йлик П.С. Регенерация зубной ткани // Мини-обзор геронтологии, 2011. – С. 85-94.
- 7 Миура М., Гронто С., Чжао М. / Соавт. SHED. Стволовые клетки отшелушенных молочных зубов человека // Proc Natl Acad Sci USA, 2003. – С. 5807-5812.
- 8 Morscheck C., Götz W., Schierholz J. Выделение клеток-предшественников из зубного фолликула зубов мудрости человека. – 2005. – С. 155-165.

**REFERENCES**

- 1 Zdorov'e polosti rta. Informacionnyj byulleten' // VOZ. – № 318. – 2012. – maj.
- 2 Nel'son Montejro, Pamela S. Elik. Dostizheniya i perspektivy v oblasti zubnoj inzhenerii. – 2017. – S. 2443-2461.
- 3 Dzh. Dzhernvall, I. Tesleff. Formirovanie zuba i vosstanovlenie zuba: razvitie s temi zhe signalami // Razvitie, 2012. – S. 139, 3487-3497.
- 4 Marianna Bej. Molekulyarnaya genetika razvitiya zubov. Tekushchee mnenie v oblasti genetiki i razvitiya. – 2009. – S. 504-510.
- 5 Han Dzh., Menikanin D., Grontos S., Bartol'd P.M. Stvolovye kletki, tkanevaya inzheneriya i regeneraciya parodonta. – 2014. – S. 117-130.
- 6 Jen A.-H., Jlik P.S. Regeneraciya zubnoj tkani // Mini-obzor. gerontologii, 2011. – S. 85-94.
- 7 Miura M., Grontos S., CHzhao M. / Coavt. SHED. Ctvolovye kletki otshelushennyh molochnyh zubov cheloveka // Proc Natl Acad Sci USA, 2003. – S. 5807-5812.
- 8 Morszeck C., Götz W., Schierholz J. Vydelenie kletok-predshestvennikov iz zubnogo follikula zubov mudrosti cheloveka. – 2005. – S. 155-165.

**ТҮЙІН**

**Қ.Е. Конопьянов**, ауыл шаруашылығы ғылымдарының докторы, профессор  
**Д.М. Калиев**  
 Инновациялық Еуразия университеті (Павлодар қ.)

***Дентальды бағаналы жасушалары түрлерінің ерекшеліктері***

Бұл мақала бүгінгі таңда өзекті мәселелердің біріне арналған. Ол тістерді жоғалту мәселесі және тін биотехнологиясының дамуы арқылы оны шешу. Тіндік биотехнология биологиялық тіндерді регенерациялауға бағытталған әдістер мен процедуралардың жиынтығы болып табылады. Ол негізгі элементтердің триадасын қамтиды. Оларға діңгек жасушалары, жасушадан тыс матрикс немесе скаффолд, өсу факторлары және сигналдық жолдар жатады. Орын алған мәселелерді шешуде үлкен рөлді дің жасушаларымен байланыстырады. Дентальды дің жасушаларының қабілеттеріне өздігінен жаңару мен саралау кіреді. Талдау негізінде дентальды дің жасушаларының әрбір түрі стоматологияда ғана емес, сондай-ақ медицинаның басқа да салаларында қолдану аясы бар екендігі анықталды.

**Түйін сөздер:** тіндік биотехнология, бағаналық жасушалары, стоматология.

**RESUME**

**K.E. Konopyanov**, doctor of agricultural Sciences, Professor  
**D.M. Kaliev**  
 Innovative University of Eurasia (Pavlodar)

***Particularities of dental stem cells types***

The article is devoted to the actual problem of tooth loss and solving the problem through the development of tissue engineering. Tissue engineering is a set of methods and procedures aimed at the regeneration of biological tissues. It includes a triad of basic elements: stem cells, extracellular matrix or scaffold, growth factors and signaling pathways. An important role in solving the existing problems is associated with stem cells. Dental stem cells are capable of self-renewal and differentiation. Based on the analysis, it was found that each type of dental stem cells has its own characteristics and applications not only in dentistry, but also in other areas of medicine.

**Key words:** tissue biotechnology, stem cells, dentistry