

# НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ЗАМЕЩЕНИЯ больших дефектов челюстей при лечении одонтогенных кист с помощью васкулярно-стромальноклеточной фракции

## М.Д.Перова

• д.м.н., профессор, засл. врач Российской Федерации, руководитель “Краснодарского Центра пародонтологии и дентальной имплантации”  
Адрес: 350078, г. Краснодар, ул. Тургенева, 203  
Тел./факс: 8 (861) 220-62-23  
E-mail: kav@mail.kuban.ru

## В.А.Козлов

• д.м.н., профессор, засл. деятель науки Российской Федерации, член-корр. РАМН, кафедра хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, СПбМАПО  
Адрес: 191015, СПб, Кирочная ул., 41  
Тел./факс: 8 (812) 303-50-92  
E-mail: spb-mfs@yandex.ru

## Е.А.Мельник

• врач-стоматолог-хирург, “Краснодарский Центр пародонтологии и дентальной имплантации”  
Адрес: 350078, г. Краснодар, ул. Тургенева, 203  
Тел./факс: 8 (861) 220-62-23  
E-mail: stomat3@kmi.vc.ru

## В.Б.Карпюк

• к.м.н., зав. хирургическим отделением, Южно-Российский центр косметологии и пластической хирургии  
Адрес: 350086, г. Краснодар, ул. 1 Мая, 97  
Тел.: 8 (918) 157-83-46  
E-mail: vkarpyuk@mail.ru

## А.Я.Саркисов

• ассистент кафедры челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии, Ставропольская государственная медицинская академия  
Адрес: 355017, г. Ставрополь, ул. Мира, 310  
Тел.: 8 (918) 008-24-86  
E-mail: dantist.71@mail.ru

**Резюме.** Тестируемый в настоящем исследовании метод аутоотрансплантации васкулярно-стромальноклеточной фракции показал 94% успешных результатов замещения больших костных дефектов челюстей после проведения операции цистэктомии против 21% в контрольной группе.

Отмечено структурно-функциональное восстановление хорошо васкуляризированной трабекулярной кости и компактных кортикальных пластинок челюстей, а также сохранение “причинных” зубов, длительное время находившихся в контакте со средой кистозного образования.

Мы полагаем, что такой результат обусловлен прямым внесением в костный дефект дополнительного пластического материала, способного к быстрой дифференцировке в микроокружении, с элементами биоинертной стромы и индукцией мощной миграции в ткани нейтрофильных гранулоцитов, по-видимому, участвующих в построении тканевого регенерата.

**Ключевые слова:** васкулярно-стромальноклеточная фракция жировой ткани, одонтогенные кисты больших размеров, компьютерная томография, CD34.

**New scopes of the osseous defects replacement following processed lipoaspirate cells autografting**

**in the cure the great odontogenic cysts** (M.D.Perova; V.A.Kozlov; E.A.Melnick; V.B.Karpyuk; A.Ja.Sarkisov)

**Summary.** The tested method of the processed lipoaspirate cells autografting has shown 94 % of favorable results of great osseous defects regeneration (versus 21% in control) after the cystectomy.

Structural and functional replacement of the cortical plates of jaws and trabecular bone associated to the bone marrow compartment, saving of “causal” teeth, contacted long time with the cystic environment are marked.

We speculated that such results are determined by direct entering into the osseous defects of the non-differentiated stromal cells, of a bioinert stroma derived from adipose tissue, the neutrophils influx and their participation in tissue reparative process.

**Key words:** processed lipoaspirate cells of adipose-tissue autografting, great odontogenic cysts, computer tomography, CD34.

Полноценное замещение костных дефектов после удаления больших одонтогенных кистозных образований является крайне важным, поскольку оптимальное существование зубочелюстной системы возможно только в морфофункциональном единстве, базовым компонентом которого является челюстная кость. Анализ современной литературы показал, что неослабевающее внимание исследователей к поиску научных подходов, оптимизирующих восстановление кости, обусловлено структурной и функциональной неполноценностью сформированной ткани взамен утраченной [1, 4, 6]. Лечение кист большого объема всегда сопряжено с дефицитом пластического материала и дистрофическими изменениями, происходящими в костной ткани, прилегающей к кисте [1, 5]. Наиболее частым исходом гистогенеза в таких дефектах, особенно с вовлечением в патологический воспалительно-деструктивный процесс кортикальных костных пластинок челюстей, является отличная от нормы структура с разной степенью нарушения функциональных свойств [6].

Основываясь на выявленной способности стромальных клеток подкожной жировой клетчатки дифференцироваться, по крайней мере, в хондробласты, адипоциты и остеобласты [9] и оценив в эксперименте возможность направленной дифференцировки этих клеток в микроокружении костного дефекта [2], нами была использована выделенная из жировой ткани аутологичная васкулярно-стромальноклеточная фракция (ВСКФ). Результаты иммунофенотипирования свежeweделенной ВСКФ, представленные нами ранее [3], подтвердили наличие в составе фракции клеток с иммунофенотипом мультипотентных мезенхимных стволовых клеток (ММСК). В научной литературе мы не встретили работ по применению свежeweделенной аутологичной ВСКФ для регенерации больших костных дефектов челюстей.

**Цель работы** — оценить клинические результаты лечения больных с большими одонтогенными кистами челюстей с помощью ВСКФ и морфологически верифицировать замещенные ткани.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работу включено 57 пациентов (35 мужчин и 22 женщины) в возрасте от 20 до 69 лет (Мо — 52 года) с одонтогенными корневыми кистами и длительностью патологического процесса от 4 до 20 лет (Мо — 9 лет). У 24 (из 57) пациентов имелись сопутствующие общесоматические заболевания (желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы, метаболические расстройства). В основную группу с ВСКФ вошли 34 пациента (19 муж. и 15 жен.) с костными дефектами, наибольший размер которых после удаления кистозных образований челюстей составил 29,4 мм±6,2 мм (Мо — 32 мм). Рецидивирующее течение, чаще с бикортикальным повреждением челюстных костей и несколькими хирургическими вмешательствами в анамнезе, отмечено у 11 пациентов (рис. 1а, б). До лечения все больные подписывали формуляр добровольного информированного согласия.

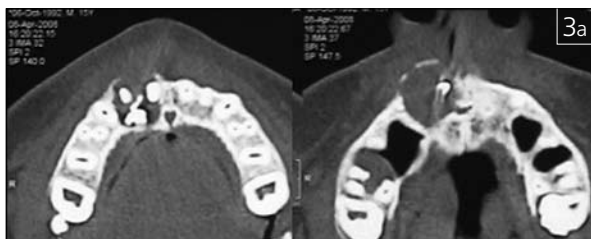


■Рис. 1а, б

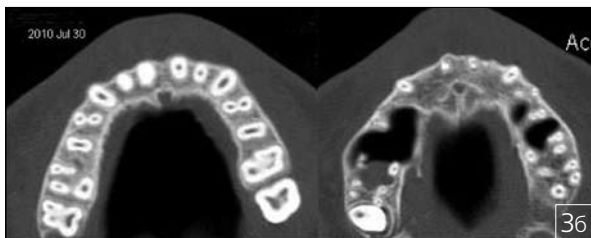
Примеры клинического материала основной группы исследования: а) бикортикальный костный дефект верхней челюсти после удаления большой одонтогенной кисты; б) исходная критическая потеря вестибулярной кости и верхнего бокового резца. Пример резецирования корня сохраненного зуба в области апикальной дефекта

■Рис. 2 а, б

Подготовленная ВСКФ и её клиническое использование: а) клеточный трансплантат со стромой жировой ткани и аутологичной костной стружкой; б) костный дефект, заполненный трансплантатом, перед наложением швов

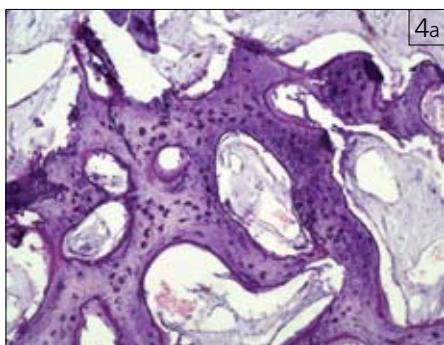


3а

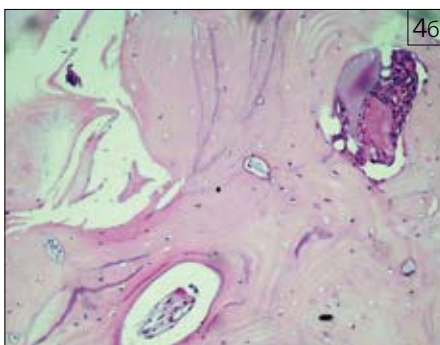


3б

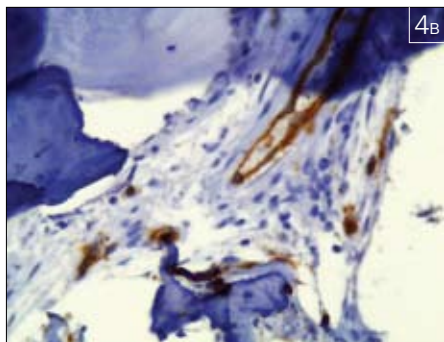
■Рис. 3а, б. Компьютерная томография верхней челюсти до и после лечения в основной группе: а) большая одонтогенная киста во фронтальном отделе. “Причинные” резцы с критической потерей опорных тканей пролечены эндодонтически, пломбировочный материал находится в полости кисты. Выраженное истончение и деформация частично перфорированной наружной кортикальной костной пластинки верхней челюсти; б) отдаленный результат лечения (36 мес.). Произошло восстановление кости с равномерной трабекулярной структурой и кортикальными пластинками без внешних деформаций челюсти. Полностью реконструирован опорный аппарат “причинных” зубов



4а



4б



4в

■Рис. 4а, б, в. Результаты морфологической верификации регенерата в основной группе: а) анастомозирующие костные трабекулы с тонким слоем остеоида по их периметру со стороны костномозговых пространств, 4 мес. Окраска ГЭ; ок. х 12, об. х 40; б) зрелая минерализованная кортикальная кость с гаверсовыми каналами, 36 мес. Окраска ГЭ; ок. х 12, об. х 10; в) CD34+ элементы, окрашенные в коричневый цвет, в строме молодого костного мозга, 4 мес. Иммуногистохимическая реакция с моноклональными антителами CD34; ок. х 12, об. х 100

Извлечение жировой ткани методом шприцевой липоаспирации и протокол получения ВСКФ изложен нами ранее [4]. Готовая ВСКФ, смешанная с костной крошкой больного, вводилась в зону дефекта ex tempore после удаления кистозного образования (рис. 2 а, б). Перед операцией подвижные зубы шинировали. Поверхность корней во время операции обрабатывали химическим путем (PrefGel, США), резецировали только участок апикальной дельты без учета степени выстояния корня в костный дефект (рис. 1б). После удаления тканей кистозного образования, внесения трансплантата в костную полость рану тщательно ушивали, дренажи и давящие повязки не использовали. Назначали дексаметпрофен 3 дня, полоскания полости рта 0,1%-ным раствором гипохлорита натрия до снятия швов.

В контрольную группу вошло 26 пациентов (16 муж., 10 жен.) с 28 костными дефектами размером 17,5мм±4,8мм (Мо — 18 мм), для замещения которых в кровяной сгусток вводили аутологичную костную крошку. Всем больным контрольной группы после операции назначали курс антибиотикотерапии.

Дефекты кортикальных пластинок челюстей изолировали барьерными мембранами (BioGide,

Швейцария). Клиническое и рентгенологическое (компьютерная томография) обследование проводили до лечения, в ближайшие (до 6 месяцев) и в отдаленные (до 36 месяцев) сроки.

В окраске гематоксилином-эозином и толуидиновым синим (при pH 1,0) с поверхностным докрасиванием основным фуксином изучено 19 трепанобиопсий тканевого регенерата, взятых у добровольцев в разные сроки. Иммуногистохимическое исследование проведено с первичными моноклональными антителами для определения CD34 позитивных элементов (маркёров гемопоэтических стволовых клеток и эндотелиоцитов) (DAKO Cytoation, Дания). Подсчет элементов проведен при ув. х1200 светового микроскопа в ≥10 полях зрения каждого препарата.

Для статистической обработки материала определяли средние значения параметров (М), величину моды (Мо), ошибку средней арифметической (m), стандартное отклонение (SD) и доверительный интервал (ДИ). Значимость различий показателей до и после лечения, а также в группах исследования при p≤0,05 вычисляли с помощью параметрического t-критерия Стьюдента и программного обеспечения “Биостат” (С. Гланц, 1999).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В основной группе послеоперационный период протекал на фоне умеренного отека мягких тканей и, чаще, субфебрильной температуры тела в первые несколько суток. Раны заживали первичным натяжением при общем удовлетворительном состоянии. Уже к концу первой недели в области хирургического доступа определялось характерное выбухающее уплотнение тканей, безболезненное при пальпации. У одного больного (57 лет с сахарным диабетом) через месяц появился свищевой ход. У другой пациентки (64 лет с гипофункцией щитовидной железы и рецидивирующим течением кистозного процесса) через 6 мес. возник рецидив с необходимостью повторного хирургического вмешательства. В остальных случаях достигнут положительный результат лечения при отсутствии рецидивов и сохранении “причинных” зубов с исходной критической потерей опорного аппарата.

В группе сравнения в 6 случаях (из 28) произошло заживление первичным натяжением при размерах дефектов ≤20мм. Во всех других случаях контрольной группы наблюдался лизис кровяного сгустка, несостоятельность швов, инфицирование раны. В ближайшие сроки рецидив патологического процесса зарегистрирован у одной больной (34 года), в отдаленные сроки — еще у 3-х мужчин до 40 лет. В ходе повторного вмешательства у этих больных “причинные” зубы были удалены.

На компьютерных томограммах больных основной группы в сроки 24-36 мес. подтверждено отсутствие деформаций челюстного гребня за счет образования кортикальных костных пластинок. Между ними визуализируется равномерно сформированная в области прежнего дефекта губчатая ткань (рис. 3). Сравнительный анализ серии сагиттальных проекций КТ, проходящих через вовлеченные в кистозный процесс зубы, свидетельствует о появлении вокруг раннеинфицированных поверхностей корней новых плотных структур и формирование периодонтально-связочных элементов, хотя и не прослеживаемых по всему периметру корней в эти сроки.

При клинически благоприятном исходе лечения больных с одонтогенными кистами в группе сравнения на КТ не отмечено замещения дефектов костью в полном объеме и формирование кортикальных пластинок челюстей.

Гистологические образцы основной группы исследования демонстрировали хорошо кровоснабженную молодую кость уже в ближайшие сроки. Развитая сеть трабекул с наличием по их периметру остеоидной ткани, окрашенной толуидиновым синим в нежно-пурпурный цвет, равномерно заполняла весь объем дефектов. Снаружи костные трабекулы были выстланы слоем активных остеобластов, которые определялись в большом количестве и в толще молодого костного вещества. Межтрабекулярные пространства были представлены сформированным костным мозгом с множеством тонкостенных сосудов разного диаметра. Клеточный компонент соединительной ткани межтрабекулярных пространств представлен клетками мононуклеарами в незначительном количестве (рис. 4 а). В половине гистологических образцов в толще регенерата выявлены зоны неперестроившегося трансплантата, окрашенного оксифильно и интенсивно связанного с окружающими его молодыми тканями. Пластинчатое строение зрелой минерализованной кости с множеством витальных остеоцитов, хорошо видимыми “цементными” линиями и гаверсовыми каналами в зоне кортикальной костной пластинки выявлялось к 24 месяцам и позже (рис. 4 б). В иммуногистохимическом исследовании биоптатов основной группы в межтрабекулярных пространствах обнаружи-

ваются многочисленные кластеры CD34+, как связанные с микроциркуляторным руслом, так и не связанные с ним. Подсчитано, что в образцах группы исследования в ближайшие сроки CD34+ элементы составили 9,3 — 14,8 (M±SD 12,0±2,7; 95% ДИ 11,5 — 14,1) (рис. 4 в).


В образцах контрольной группы с положительным клиническим исходом через 4 мес. выявляется преимущественно фиброзно-волоконистая ткань, содержащая иногда небольшие участки хондрогенеза. Наблюдалась выраженная гистиоцитарно-лимфоидная инфильтрация соединительной ткани, значительно резорбированные частицы трансплантата с обилием пустых лакун, замурованные внутри фиброзной капсулы. Количество CD34+ кластеров в препаратах этой группы составило 5,1 — 7,6 (M±SD 6,3±1,3; 95% ДИ 5,1 — 6,6), что оказалось вполнине меньше показателя в основной группе (при p≤0,01).

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Использование ВСКФ способно оптимизировать процессы неостеогенеза после удаления больших кистозных образований. Формирование кортикальных пластинок челюстей в основной группе, наблюдаемое клинически (при взятии трепанбиопсии) и верифицированное гистологически (остеонная организация) является результатом вторичного ремоделирования сформированной в ранние сроки трабекулярной сети. Косвенным подтверждением полноценности остеозамещения после удаления больших воспалительных кист челюстей может служить отсутствие рецидивов заболевания в периоде наблюдения и сохранение «причинных» зубов за счет реконструкции критически разрушенного опорного аппарата. Гистотипичное образование костных структур и восстановление формы челюстей без внешних деформаций, чего не происходило в группе срав-

нения, объясняется внесенным в дефект аутологичным пластическим материалом с потенциальными быстрой и направленной дифференцировки в клетки, обеспечивающие моделирование вначале первичных, а позже зрелых структур в микроокружении костного дефекта. Этому процессу во многом способствует равномерное (за счет гелеобразной консистенции) распределение трансплантата по всему объему дефекта любой конфигурации. Кроме того, элементы аутологичной стромы жировой ткани как биоинертной и стабилизирующей пространство матрицы в составе трансплантата способны, предположительно, адгезировать на своей поверхности массу мигрировавших активированных нейтрофильных гранулоцитов, которые, по-видимому, наряду с защитной функцией, через ряд переходных форм принимают участие в неоваскулогенезе и неостеогенезе [8]. В пользу такого предположения может говорить и тот факт, что во вновь образованных структурах соединительной ткани межтрабекулярных пространств идентифицируются CD34+ клетки, которые, как известно, имеют костномозговое происхождение, не типичны для ММСК [7] и не выявлены при иммунофенотипировании ВСКФ [3].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ результатов данного контролируемого исследования позволяет заключить о возможности расширения клинических показаний к операции цистэктомии при большом объеме кистозных образований челюстей, включая бикортикальные костные изъяны, с помощью свежeweделенной аутогенной ВСКФ. Разработанная нами методика высокоэффективна (94% положительных результатов против 21% в контрольной группе), хорошо переносится больными, не требует значительных финансовых затрат и является легко воспроизводимой. 

### ЛИТЕРАТУРА:

1. Волков А.В. Использование аутогенных клеток костного мозга, адгезированных на гидроксипатит, в лечении костных кист у взрослых пациентов // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. - 2006. - Т. IV. - № 2. - с. 26-27.
2. Карюк В.В., Перова М.Д., Козлов А.В., Шубич М.Г., Понкина О.Н., Мельник Е.А. Экспериментальная модель реконструкции кости путем остеогенной трансформации аутогенных стромальных клеток свежeweделенных стромальных клеток жировой ткани // Анналы пластической и реконструктивной хирургии. - 2007. - № 4. - С. 14-18.
3. Карюк В.В., Перова М.Д., Шубич М.Г. К изучению свежeweделенных аутогенных стромальных клеток подкожной жировой клетчатки для регенерации биологических тканей // Институт Стоматологии. - 2009. - № 3. - С. 74-76.
4. Киселева Е.В., Черныев С.Е., Васильев А.В., Воложин А.И. Перспективы использования стромальных клеток в реконструкции челюстно-лицевого скелета // Стоматология. - 2009. - Т. 88. - № 4. - С. 77-81.
5. Кулаков А.А., Григорьев А.С., Киселева Е.В., Хамраев Т.К., Филонов М.Р., Патишев А.Б. Устранение критических костных дефектов с помощью биоинженерной конструкции на нерезорбируемой полимерной основе с использованием аутогенных мультипотентных стромальных клеток из жировой ткани // Стоматология. - 2010. - Т. 89. - № 3. - С. 9-12.
6. Мелихова В.С., Сабурова И.Н., Орлов А.А., Мартыросян И.А., Репин В.С., Новикова Н.И., Мурашов А.Н. Моделирование функционального остеогенеза с использованием биодеградируемого матрикса и аутогенных стромальных клеток подкожной жировой клетчатки // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. - 2009. - Т. IV. - № 1. - С. 59-68.
7. Парфенова Е.В., Цоколаева З.И., Трапезев Д.О., Джонстон Б., Рахмат-зад Т.М., Калинин Н.И., Талицкий К.А., Ратнер Е.И., Марч К.Л., Качук В.А. Поиск новых «инструментов» для терапевтического ангиогенеза // Молекулярная медицина. - 2006. - № 2. - С. 10-23.
8. Перова М.Д., Шубич М.Г., Козлов В.А., Тропина А.В. Результаты аутогенной трансплантации васкуляризированной стромальной фракции при пародонтите и особенности формирования тканевого регенерата // Институт Стоматологии. - 2010. - № 2. - С. 62-64.
9. Zuk P.A., Zhu M., Ashjian P., De Ugarte D.A., Huang J.L., Mizuno H., Alfonso Z.C., Fraser J.K., Benhaim P., Hedrick M.H. Human Adipose Tissue Is a Source of Multipotent Stem Cells // Mol. Biol. Cell. - 2002. - v. 13. - p. 4279 - 4295.



У Ф А

XI специализированная выставка





# ДЕНТАЛЭКСПО

# СТОМАТОЛОГИЯ УРАЛА

## 18-20 октября

# 2011

## Второй открытый Чемпионат зубных техников



**НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИНСТИТУТ  
ИНФОРМАЦИИ АНАЛИЗА  
И МАРКЕТИНГА В СТОМАТОЛОГИИ**

**КОНТАКТЫ В УФЕ:**

**ЛИГАС**  **ЛИГАС**

Выставочный центр «Лигас»

тел./факс: +7 (347) 253-76-05, 253-81-89

e-mail: ligas@ufanet.ru

www.ligas-ufa.ru

**В МОСКВЕ:**

**DENTALEXPO®**

125319, Москва, ул. Усневича, 8А

тел.: +7 (495) 921-40-69

e-mail: info@dental-expo.com

www.dental-expo.com