Телефон/факс: (343) 214-08-73, 214-08-74.
E-mail: mbt@ekbocs.ru; www.medbiotec.ru

г. Москва:
109172, г. Москва, 4-ый Котельнический переулок, дом 3/31, строение 5, офис 207
Телефон/факс: (095) 514-04-10, 514-04-11.
E-mail: medbiotec@mtu-net.ru; www.medbiotec.ru

ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА «КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ДИПЛОИДНЫХ ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ» В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА

Ронь Г. И., Глинских Н. П., Новикова И. А., Вольхина В. Н.
Уральская Государственная Медицинская академия. Екатеринбургский НИИ вирусных инфекций

Проблема заболеваний пародонта в настоящее время приобрела особое значение, так как по данным ВОЗ пародонтитом страдает более 95% населения старше 45 лет. Высокая распространённость воспалительных заболеваний пародонта, значительные изменения в зубочелюстной системе делают проблему воспалительных заболеваний пародонта социальной, общемедицинской. Известно, что заболевания пародонта неблагоприятно действуют на функцию пищеварения, психоэмоциональную сферу, снижают резистентность организма к действию инфекционных и других факторов, приводят к сенсибилизации и аллергизации организма больного (10).

Это заставляет исследователей пристально заниматься разработкой вопросов диагностики, лечения и профилактики этой патологии. В связи с вышеизложенным особую актуальность приобретает комплексное лечение воспалительных заболеваний пародонта с помощью терапевтических, хирургических, ортодонтических и ортопедических методов. При этом особое внимание уделяется хирургическим методам, так как у значительной части больных лишь их применение позволяет добиться ликвидации очагов воспаления, приостановить прогрессирование деструкции альвеолярной кости и в конечном итоге обеспечить длительную стабилизацию тканей пародонта (2,7,9). Однако несмотря на различные модификации и дополнения сами по себе хирургические вмешательства всё же не создают достаточных условий для эффективного купирования патологических процессов и восстановления утраченных костных структур альвеолярного отростка (4).

В связи с этим наиболее оправдано применение хирурги-

ческих методов с использованием средств, стимулирующих репаративные процессы. Введение в костные карманы пластического материала предупреждает вегетацию эпителия десневого края вглубь по направлению к апикальной части зуба, прекращает доступ ротовой жидкости и микрофлоры в глубину периодонтальной щели, позволяет оптимизировать репаративный остеогенез кости (8).

Существует ряд классификаций остеопластических материалов, в частности, по происхождению и по способности воздействовать на остеогенетические процессы.

Все материалы для восстановления тканей пародонта по происхождению делятся на:

1. Аутогенные - источником материала является сам пациент.
2. Аллогенные - донором является другой человек.
3. Ксеногенные - донором является животное.
4. Аллопластические - а) полученные из природных материалов (кораллов, целлюлозы); б) синтетические (синтетический гидроксиаппатит, сульфат кальция, биологически активное стекло, полимерные материалы).

Классификация костнопластических материалов, предложенная Edward Cohen (1988), основывается на выраженности остеоиндуктивного потенциала материалов, подразделяя их на 3 группы: остеоидуктивные, остеокондуктивные и остеонейтральные.

Но несмотря на большое разнообразие и многочисленность остеопластических материалов, по мнению многих авторов (1, 6), универсальный остепластический материал для заполнения костных полостей в стоматологии отсутствует. В связи с этим проводится поиск новых материалов, отвечающих современным требованиям пародонтологического лечения.

За последние два десятилетия появилось много сообщений об использовании различных культур клеток, в частности фибробластов, во многих областях медицины. Совершенствование техники культивирования клеток вне организма позволило использовать клеточные культуры в качестве модельных систем для различных фундаментальных и прикладных исследований.

Кроме традиционного применения в вирусологии (при изготовлении вакцин и диагностикумов) фибробласты используются в дерматологии и хирургии (для репарации сухожилий и связок, раневых дефектов и ускорения восстановления кожных покровов после ожогов большой площади). Применение клеточных культур в комбустиологии для лечения ожоговых ран стало возможным вследствие разработки Rheinwald и H. Green (1975г.) технологии серийного культивирования больших количеств кератиноцитов. Метод Грина получил заслуженное признание при лечении пострадавших с обширными ожогами, у которых имел место дефицит донорских ресурсов кожи (3).

Подтверждено и прямое положительное влияние выращенных в культуре фибробластов на заживление ран. Д. С. Саркисов и соавт. (1994г.) успешно пересаживали аллогенные фибробласты человека на гранулирующие раны, образовавшиеся в результате ожогов или на донорских участках после аутодермопластики. При этом использовались методы выращивания клеток на биополимерных плёнках (на носителях). Сейчас указанная методика наиболее распространена.

Аллогенные фибробласты оказывают непосредственное влияние на заживление ран (Ross, 1968) и на эпителизацию (Coulomb et el, 1989). Известно, что фибробласты могут продуцировать коллагены 1 и 2 типов (Varga et al.,1987) и компоненты внеклеточного матрикса: ламинин, нидоген, тинасцин, хондроитин-4-сульфат, протеогликан (Halfter et al., 1990), фибронектин (Matsura, Hakamori, 1985), некоторые факторы роста, а также другие вещества.

В настоящее время имеется значительное число работ, свидетельствующих о большой роли факторов роста в эпителизации ран. Факторы роста - это регуляторные пептиды (тканевые гормоны), вырабатываемые клетками различных типов, которые в значительной степени ускоряют регенераторный процесс.

Многие факторы роста продуцируются фибробластами:

1. Основной фактор роста фибробластов (bFGF) положительно влияет на рост всех типов клеток в ране, стимулирует продукцию компонентов внеклеточного матрикса фибробластами (фибронектина и коллагена).

2. Трансформирующий ростовой фактор (TGF-бета) стимулирует хемотаксис фибробластов и продукцию ими коллагена и фибронектина (Капс С. et al., 1991).

3. Трансформирующий ростовой фактор (TGF-альфа) влияет на ангиогенез (Chen J.et al.,1993). Продуцируемые фибробластами факторы роста могут ускорять восстановление поражённой дермы, что во многом объясняет стимулирующее воздействие аллогенных клеток на заживление ран.

В пародонтологии опыт применения клеточных культур аллофибробластов на сегодняшний день незначителен.

О положительном эффекте лечения пародонтита с использованием культуры аллофибробластов, полученной из дермы плодов человека, недавно заявили отечественные исследователи (В. П. Туманов с соавт., 1988г.). Данными авторами был разработан новый способ лечения воспалительно-деструктивной формы пародонтита с использованием культуры аллофибробластов человека, заселённых на твёрдую мозговую оболочку.

В своей диссертационной работе "Использование культивированных аллофибробластов в комплексном лечении заболеваний пародонта" Г. С. Рунова на основании полученных экспериментальных данных убедительно показала эффективность разработанного оригинального метода лечения хронического пародонтита при использовании культивированных аллофибробластов и твёрдой мозговой оболочки. Преимущество данного способа лечения пародонтита заключается в том, что: в раневом ложе при имплантации ТМО и аллофибробластов не происходит так называемого процесса биодеградации плодного материала и культивированных аллофибробластов, а имплантант встраивается в костный дефект и трансформируется в дальнейшем в грубоволокнистую костную ткань альвеолярных отростков. Культивированные аллофибробласты постоянно выделяют основной фактор роста (bFGF), формируют экстрацеллюлярный матрикс, фиронектин и другие вещества, которые способствуют активации процессов ангиогенеза и дальнейшего остеогенеза.

Анализ экпериментальных и клинических данных, проведённых автором, позволил сделать заключение, что приме-

нение трансплантата твёрдой мозговой оболочки с аллофибробластами при лечении хронического генерализованного пародонтита средней и тяжёлой степени имеет ряд преимуществ перед другими способами лечения: процессы регенерации тканей пародонта, в т.ч. костной происходят более интенсивно, чем при трансплантации синтетических материалов.

Вызывают интерес работы, проводимые в ЦНИИ стоматологии, в отделении пародонтологии, возглавляемом д.м.н., профессором А. И. Грудяновым. Для хирургического лечения воспалительно-деструктивных форм пародонтита, использовались препараты фирмы "Geistlich": Bio-OSS, Bio-Gide. В ходе оперативного лечения на этапе внесения остеопластического материала использовали взвесь клеток линии М-22-линии диплоидных фибробластов мышц эмбриона человека.

Материал Bio-Oss в сочетании с мембраной Bio-Gide были использованы при хирургическом лечении пародонтальных дефектов глубиной 6-10 мм у 42 человек с пародонтитом умеренной и тяжёлой степени. Перед применением гранулы Bio-Oss пропитывали взвесью клеток линии М-22 и помещали в костные дефекты. В дальнейшем, при клиническом наблюдении пациентов контрольной группы, в оперированном участке выявлялась стабильная ремиссия к сроку 3 мес. и сохранялась дальше до 6 мес (максимальный срок наблюдения). Рентгенологически было выявлено формирование новых костных структур, исчезновение или резкое снижение остеопороза, увеличивалась чёткость контуров кости. Глубина пародонтальных каналов уменьшалась в среднем на 5,3+0,6 мм при среднем исходном значении 8,7+1,3 мм. Рецессия прикреплённой десны в среднем не превышала 1,5+0,5 мм (5).

Применение в хирургической пародонтологии культивированных аллофибробластов в качестве оптимизаторов раневого заживления обусловлено высокой терапевтической эффективностью фибробластов: стимуляцией ими белкового синтеза, выделением факторов роста и усилением регенерации тканей. Влияние трансплантации аллофибробластов можно сравнить с действием основного фактора роста фибробластов (bFGF) на процессы регенерации - это ускорение процессов ангиогенеза, пролиферации эндотелиоцитов ка-

пилляров, их миграцию в коллаген.

В настоящее время существует следующая модель взаимодействия основного фактора роста фибробластов с клетками и матриксом. Фактор роста (bFGF) связывается с протеогликанами, содержащими гепарин-сульфат, последующий может диффундировать через строму к клеткам-мишеням и связываться со специфическими рецепторами клеток.

В отличие от других факторов роста, таких как тромбоцитарный фактор роста, эпидермальный фактор роста, фактор роста фибробластов (bFGF) может стимулировать in vitro и in vivo пролиферацию всех типов клеточных элементов, вовлечённых в процесс заживления.

Нами была разработана "Композиция для лечения воспалительных заболеваний пародонта на основе клеточной культуры". В качестве клеточной культуры мы использовали препарат "Культуры клеток диплоидных человека для заместительной терапии", производимый компанией "Медицина и биотехнологии" г. Екатеринбург. Препарат представляет авторский штамм диплоидных клеток эмбриона человека ЛЭЧ-4 (81), разработанный в 1983 году в Екатеринбургском НИИ вирусных инфекций группой авторов(авторское свидетельство № 1147748). В связи с тем, что при хирургическом лечении заболеваний пародонта требуется применение остеопластических материалов для восстановления утраченных структур, нами была отобрана группа отечественных материалов. Мы остановили свой выбор на остеопластических препаратах, содержащих в своём составе коллаген и гидроксиапатит. Выбор этих материалов не был случайным. Использование коллагенсодержащих материалов обусловлено последующим включением ксеногенного коллагена в строящийся костный матрикс. Применение гидроксиапатита является правомочным в связи с тем, что гидроксиапатит участвует в минеральном обмене организма, активируя механизм регенерации поражённой костной ткани. Анализ результатов проведённого экспериментального исследования активности клеток, культивируемых in vitro с различными видами остеопластических материалов, показал, что наиболее пригодными для создания композиции являются препараты "Гапкол" и "Коллапан", которые мы использовали в качестве носителей для клеточных культур.

КОРОТКО О МЕТОДИКЕ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ТРАНСПЛАНТАТА.

Для этого остеопластический подсадочный материал ("Гапкол", "Коллапан") замачивали в растворе антисептика (0,5% р-р метронидазола, 0,05% р-р хлоргексидина биглюконата), после чего раствор смывали, отмывали свежими порциями среды Игла три раза по 10 минут. Отмытый остеопластический препарат помещали в стерильный культуральный сосуд, куда вносили подготовленную взвесь клеток в концентрации 50 000 клеток в 1 мл. В качестве среды роста использовали среду Игла-МЕМ с добавлением 10% эмбриональной сыворотки крови крупного рогатого скота. pH среды роста=7,2-7,4. Сосуд помещали в термостат при температуре 35-37 градусов на 48-72 часа.

Полученные положительные результаты использования композиции на основе остеопластического препарата и культуры диплоидных клеток в эксперименте на животных позволили использовать его для пластики пародонтальных костных карманов при хирургическом лечении воспалительных заболеваний пародонта.

Лечение с использованием препарата "Культуры клеток диплоидных человека для заместительной терапии" было проведено у 50 больных в возрасте от 30 до 50 лет, страдающих пародонтитом средней и тяжёлой степени. Курс предоперационной подготовки включал обучение пациента гигиене полости рта и гигиенический контроль, общую и местную противовоспалительную терапию (с применением антибактериальных препаратов, аппликаций и повязок на основе 0,05% хлоргексидина, 0,06% трихопола, геля "Метрогил-Дента"), лечение кариеса и его осложнений, удаление над- и поддесневых зубных отложений. При наличии супраконтактов и недостаточной стираемости эмалевых бугров проводили функциональное избирательное пришлифовывание по Дженкельсону; зубы с подвижностью 2-3 степени шинировали. Составляли план дальнейшего ортопедического лечения. После проведения всего комплекса предварительного лечения и по достижении пациентами стабильно хорошей гигиены полости рта приступали непосредственно к хирургическому лечению. Для оперативных методов лечения заболеваний тканей пародонта под проводниковым и инфильтраци-

онным обезболиванием рассекали межзубные сосочки, отслаивали слизисто-надкостничный лоскут с оральной и вестибулярной поверхности с последующей его деэпителизацией. Удаляли твёрдые зубные отложения, грануляционную ткань, рану промывали антисептическими растворами. Костный дефект рыхло заполняли композицией на основе остеопластического препарата и культуры клеток. Слизисто-надкостничный лоскут укладывали на место и фиксировали в каждом межзубном промежутке. В качестве шовного материала использовали "Vicryl".

В раннем послеоперационном периоде рекомендовали щадящий режим, назначали анальгетики. Швы снимали на 5-7 день после операции. Состояние пародонта оценивали с помощью критериев: клинического (глубина пародонтального кармана и рецессия десны) и рентгенологического (сопоставление ортопантограмм до и после лечения).

У всех больных, которым применяли хирургическое лечение с использованием препарата клеточной культуры в сроки до 30 дней, уменьшались пародонтальные карманы, исчезал запах изо рта, прекращалась кровоточивость дёсен, слизистая оболочка приобретала бледно-розовый цвет, т.е. визуализировалась положительная динамика заболевания. При рентгенологическом контроле в сроки от 6 до 12 месяцев определялся прирост костной ткани, уменьшение глубины и ширины пародонтальных костных карманов, что свидетельствует о реминерализации костной ткани. Подвижность зубов 2 степени исчезала, при подвижности 3 степени достигала уровня 1.

Результаты, полученные в процессе хирургического лечения пациентов с воспалительно-деструктивными заболеваниями пародонта при использовании композиции на основе остеопластического препарата и культуры диплоидных клеток, выглядят многообещающими, поэтому для оценки её эффективности в комплексном лечении пародонтита мы считаем целесообразным провести более длительные исследования.

Список использованной литературы:

1. Балин В. Н., Иорданишвили А. К., Ковалевский А. М. Практическая периодонтология. - Спб.:ПитерПресс, 1995. - 272с.

2. Безрукова А. П. Хирургическое лечение заболеваний пародонта. - Медицина, 1987, стр. 158.

3. Грин Г. Использование культур клеток для лечения болезней.// В мире науки. - 1992. № 1, с.52-59.

4. Грудянов А. И., Ерохин А. И. Остеопластические материалы, используемые при хирургическом лечении заболеваний пародонта. // Пародонтология, 1998, № 1, с.13-23.

5. Грудянов А. И., Ерохин А. И., Бякова С. Ф. Применение препаратов фирмы "Geistlic" / Новое в стоматологии. - № 8, 2001. - с.72-77.

6. Зуев В. П., Дмитриева Л. А., Панкратов А. С. и др. Сравнительная характеристика стимуляторов репаративного остеогенеза в лечении заболеваний пародонта. // Стоматология. - 1996 - т. 75, № 5. - с. 31-34.

7. Иванов В. С. Заболевания пародонта. - 3-е издание.// Москва: "Медицинское информационное агентство", 1998. - 296с.

8. Орехова Л. Ю., Кудрявцева Т. В., Прохорова О. В. Возможные пути влияния на репаративный остеогенез при заболеваниях пародонта. // Пародонтология. 2000, № 4, с. 5-11.

9. Степанов А. Е. Френулопластика, вестибулопластика и основные операции на тканях пародонта. // Москва: "Паритет", 2000. - 368 с.

10. Терапевтическая стоматология: Учебник / Боровский Е. В., Барышева Ю. Д., Максимовский Ю. М. и др.; под редакцией проф. Боровского Е. В. - М., Медицина, 1998г. - 303-304 с.

КЛИНИЧЕСКИЙ ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА «КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ДИПЛОИДНЫХ ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ» НА ЭТАПЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ПАРОДОНТИТА.

В.Н. Вольхина
Стоматологическая студия "Скульптура", кафедра стоматологии детского возраста УГМА г.Екатеринбург

Несмотря на существующее большое количество методов, лечение больных с патологией пародонта является сложной и трудоёмкой проблемой в современной стоматологии. В настоящее время нет оптимальных методов воздействия на процессы патогенеза воспалительных заболеваний пародонта, поэтому проблема адекватного лечения воспалительно-деструктивных процессов пародонта продолжает оставаться актуальной. Заболевания пародонта в большинстве случаев приводят к преждевременной потере зубов вследствие выраженного деструктивного процесса, что является стойким нарушением зубочелюстной системы. Не теряет своей актуальности и проблема достижения длительной стабилизации после комплексного лечения развившегося пародонтита.

Современные методы лечения пародонтита заключаются не только в устранении периодонтальной инфекции, но и в проведении репаративного остеосинтеза с использованием разнообразных остеопластических материалов. Эти методы