

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616.314.18-002-08-092.9

Сирак С.В.¹, Щетинин Е.В.¹, Кобылкина Т.Л.¹, Адамчик А.А.², Сирак А.Г.¹, Вафиади М.Ю.¹**ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕПАРАТИВНОГО ДЕНТИНОГЕНЕЗА ПУЛЬПЫ ЗУБА**¹ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, 355017, г. Ставрополь;²ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, 350063, г. Краснодар

Изучена роль C-kit-позитивных клеток пульпы зуба в оптимизации репаративного дентиногенеза при биологических методах лечения пульпита у экспериментальных животных. In vivo на 80 резцах нижней челюсти баранов получали модель острого пульпита с последующей витальной ампуацией пульпы. Использование в качестве биологического метода лечения тканеинженерной конструкции, состоящей из коллагеновой губки, гидрогеля PuraMatrix/3DM и прекультивированных эктомезенхимальных клеток позволило эффективнее защитить пульпу от инфицирования, оптимизировать воспалительный процесс с активизацией пролиферации и ускорением формирования дентинного мостика.

Ключевые слова: пульпит; тканеинженерная конструкция; эктомезенхимальные клетки.

Для цитирования: Сирак С.В., Щетинин Е.В., Кобылкина Т.Л., Адамчик А.А., Сирак А.Г., Вафиади М.Ю. Гистохимические особенности репаративного дентиногенеза пульпы зуба. Российский стоматологический журнал. 2016; 20 (6): 300-304. DOI 10.18821/1728—2802 2016; 20 (6): 300-304

Sirak S.V.¹, Shchetinin E.V.¹, Kobylkina T.L.¹, Adamchik A.A.², Sirak A.G.¹, Vafiadi M.Yu.¹

HISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF REPARATIVE DENTINOGENESIS OF THE TOOTH PULP¹Stavropol State Medical University Health Ministry of Russian Federation, 355017, Stavropol;²Kuban State Medical University Health Ministry of Russian Federation, 350063, Krasnodar

The role of C-kit-positive cells in the pulp of the tooth to optimize reparative dentinogenesis in biological methods of treatment of pulpitis in experimental animals were studied. In vivo 80 tooth of the lower jaw of sheep received a model of acute pulpitis with subsequent amputation of the vital pulp. Use as a biological method of treatment of tissue-engineered constructs composed of collagen sponge, hydrogel PuraMatrix/3DM and ectomesenchymal stem cells has allowed to better protect the pulp from infection, to optimize the inflammatory process with the activation of proliferation and acceleration of formation of dentinal bridge.

Key words: pulpitis; tissue-engineered design; ectomesenchymal stem cells.

For citation: Sirak S.V., Shchetinin E.V., Kobylkina T.L., Adamchik A.A., Sirak A.G., Vafiadi M.Yu. Histochemical characteristics of reparative dentinogenesis of the tooth pulp. Rossiyskiy stomatologicheskii zhurnal. 2016; 20 (6): 300-304. DOI 10.18821/1728—2802 2016; 20 (6): 300-304.

For correspondence: Sirak Sergey Vladimirovich, Dr. med. Sciences, Professor, head. the Department of stomatology of the Stavropol state medical University, E-mail: sergejsirak@yandex.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Received 03.03.16

Accepted 24.06.16

Пульпа зуба – чрезвычайно интересный объект для исследования. Сохранение жизнеспособной пульпы или только корневой ее части при оперативных вмешательствах обеспечивает нормальную трофику тканей зуба и предупреждает развитие периапикальных осложнений. Именно поэтому весьма перспективны биологические методы лечения пульпитов, основанные на использовании защитно-приспособительных сил пульпы [1–3]. Ряд исследователей [4, 5] в научных работах доказали, что после витальной ампуации корневая пульпа сохраняет жизнеспособность, продуцируя вторичный (репаративный) дентин. Другие авторы [6, 7] указывают на возможность образования дентинного мостика на границе между патологически измененными и жизнеспособными тканями пульпы,

когда через 6–8 нед после операции визуально и гистологически обнаруживали дентинные мостики во всех каналах зуба. В нашей стране и за рубежом постоянно ведут поиски наиболее эффективных средств, сохраняющих корневую пульпу и стимулирующих репаративный дентиногенез [8–10].

Для покрытия корневой пульпы некоторые авторы предлагают препараты, содержащие коллаген, мукополисахариды, антибиотики, антисептики, анестетики, гормоны [11, 12]. Особенностью коллагена считают его способность образовывать комплексы с лекарственными и биологически активными веществами, что дает возможность создания лекарственных препаратов пролонгированного действия, в которых коллаген играет роль депо. Перспективно также использование коллагеновой губки в качестве матрицы-носителя для различных тканеинженерных конструкций [13–15]. Очень важная задача – контроль эффективности использования подобных

Для корреспонденции: Сирак Сергей Владимирович, д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой стоматологии Ставропольского государственного медицинского университета, E-mail: sergejsirak@yandex.ru

средств на клеточном уровне. Особое значение приобретают в этой связи эктомезенхимальные стволовые клетки, дающие начало одонтобластам пульпы зуба. В настоящее время в основе идентификации данных клеток организма лежит оценка их морфологии и поверхностных маркеров. Одним из наиболее перспективных маркеров стволовых клеток остается C-kit (CD117), который служит рецептором к фактору стволовых прогениторных клеток StemCellsFactor – SCF, что характеризует его как рецептор, маркирующий «взрослые» или «способные к дифференциации» стволовые клетки [16]. В научных публикациях встречаются данные об обнаружении C-kit-позитивных клеток у человека в сердце, желудке и кишечнике, мочеточниках, а также пока только единичные сведения об их идентификации в почках, поджелудочной железе и пульпе зуба [17].

Цель исследования – гистохимическими методами, включая анализ активности C-kit-трансмембранного рецептора белка тирозина, оценить характер репаративного дентиногенеза при экспериментальном лечении пульпита с использованием тканеинженерных конструкций с эктомезенхимальными клетками.

Материал и методы

Исследование проведено на пульпе центральных зубов нижней челюсти 20 взрослых баранов (80 зубов). Для получения экспериментальной модели острого пульпита применяли следующую методику. С язычной поверхности бором формировали полости по типу глубокого кариеса и инфицировали различными штаммами микроорганизмов, выделенных из кариозных зубов человека, после чего зубы пломбировали. Как показали гистологические исследования, такая методика вызывала серозно-гнойное воспаление коронковой пульпы. Через 1 сут под местной анестезией Sol. Ultracaini 4% с адреналином 1:200 000 в асептических условиях производили витальную ампутацию пульпы. Гемостаз пульпы осуществляли стерильными ватными шариками. В основной группе животных (15 животных/60 зубов) на дно пульповой камеры в области устья корневого канала накладывали тканеинженерную конструкцию, состоящую из коллагеновой губки, гидрогеля PuraMatrix/3DM и прекультивированных эктомезенхимальных клеток с последующим пломбированием зуба. В контрольной группе (5 животных/20 зубов) в состав коллагеновых губок вводили гидрокортизон, фурацилин, хондроитинсульфат, анестезин, а также кальций, поскольку он, как известно, обладает выраженным дентиногенным действием. Зубы удаляли в сроки от 1 дня до 6 мес. Материал, взятый для гистологических исследований ($n = 80$), фиксировали в 10% водном растворе нейтрального формалина, проводили через спирты возрастающей плотности и ксилол, а затем заливали в гистологическую среду «Гистомикс» с использованием гистологического процессора замкнутого типа Tissue-Tek VIP 5 Jr. производства Sakura (Япония).

После заливки исследуемые фрагменты пульпы фиксировали на стандартные гистологические кассеты, делали гистосрезы толщиной 3–5 мкм. Для обзорных целей гистосрезы окрашивали гематоксилином и

эозином, по Ван-Гизон и Маллори согласно рекомендациям, изложенным в руководстве Семченко В.В. (2006). С каждого окрашенного препарата, выполняли цифровые снимки (в формате .jpg, размером 3136 × 2352 пикселей в палитре 24 бит) при увеличении 40; 100; 200; 400; 1000.

Для покрытия корневой пульпы при биологическом методе лечения пульпита использовали тканеинженерную конструкцию, в состав которой входит гидрогель PuraMatrix/3DM с эктомезенхимальными клетками, иммобилизованными на коллагеновую губку. Данная тканеинженерная конструкция представляет собой синтетический биodeградируемый матрикс-гель на основе олигопептидных фрагментов, формирующий нанонити, и предварительно культивированные эктомезенхимальные клетки барана, обработанные 5-азациитидином. Готовый тканеинженерный продукт получали путем механического смешивания геля с прекультивированными эктомезенхимальными клетками *in situ*, а затем иммобилизовали на стерильную коллагеновую губку, которую получали путем лиофилизации замороженных растворов коллагена. Коллагеновые губки просты и дешевы в изготовлении, легко стерилизуются и могут длительно храниться в обычных условиях. Выбор губки в качестве матрицы-носителя тканеинженерной конструкции обусловлен тем, что, меняя параметры исходного раствора и режима лиофилизации, можно варьировать структуру губки, изменяя тем самым ее механическую прочность, эластичность, адсорбционную емкость, скорость ангио- и неогенеза в зависимости от цели применения. Кроме того, большая внутренняя поверхность, гидрофильность коллагеновых губок обуславливают хороший гемостатический эффект, и губка резорбируется быстрее, благодаря чему осуществляется наибольший контакт корневой пульпы с тканеинженерной конструкцией.

Идентификацию введенных в состав тканеинженерной конструкции прекультивированных клеток и собственных клеток пульпы проводили с использованием гистохимических методов оценки, включая анализ активности C-kit-трансмембранного рецептора белка тирозина, который кодируется доминантной аллелью (насыщенным окрасом, white-spotting, или ген *W*).

Полученные материалы исследований анализировали, а статистическую обработку числовых данных проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа и множественного сравнения Ньюмена–Кейлса в программе Primer of Biostatistics 4.03 для Windows. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Научно-исследовательская работа проведена в рамках Государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации на научные исследования и разработки по теме «Стволовые клетки пульпы зуба в регенерации и иммуномодуляции» совместно с Всероссийским НИИ овцеводства и козоводства и Ставропольским государственным аграрным университетом.

Результаты

Комбинация коллагена с другими препаратами при витальной ампутации пульпы зуба в эксперименте ис-

пользована, исходя из принципов патогенетической терапии ран: закрытие раневой поверхности от вторичной инфекции; ускорение дентиногенеза за счет стимуляции его образования на поверхности тканеинженерной конструкции из коллагена с прекультивированными эктомезенхимальными клетками и гидрогелем PuraMatrix/3DM; стимуляции заживления раны и отложения солей кальция путем комплексообразования с хондроитинсульфатом, который служит естественным активатором фибриллогенеза и связывает ионы кальция; ускорение регенерации действием продуктов лизиса. Предполагали, что коллаген в составе тканеинженерной конструкции может стать основой для образования новой ткани и, рассасываясь, постепенно будет замещаться дентином, образуя дентинный мостик, прикрывающий вход в корневые каналы.

В сроки 7–14 сут гистологические исследования пульпы зубов в контрольной группе показали явления вакуолизации одонтобластов, гиперемии пульпы, наличие внутрипульпарных кист, кровоизлияний в пульпе и слое одонтобластов (см. рисунок, *a* на вклейке). На гистологических препаратах в основной группе в эти же сроки после витальной ампутации и наложения коллагеновой губки с тканеинженерной конструкцией также выявлены воспалительные изменения, выражающиеся в незначительном полнокровии сосудов корневой пульпы, отеке, диапедезных кровоизлияниях. К 30-м суткам эксперимента в контрольной группе серозно-фибринозная экссудация сменяется диффузной нейтрофильной, а затем лимфоидно-макрофагальной инфильтрацией. Резорбция инокулированной коллагеновой губки в основном осуществляется макрофагами, которые к данному сроку наблюдения местами формируют макрофагальный барьер между губкой и корневой пульпой. В основной группе процессы регенерации пульпы протекают значительно быстрее, и к сроку 1 мес развитие соединительной ткани на месте лизированной коллагеновой губки идет не только с периферии, но и из центра корневой пульпы. Гистохимическими методами установлено, что в резорбции тканеинженерной конструкции активно участвуют многоядерные гигантские клетки, появляющиеся позднее макрофагов вокруг нерезорбированных фрагментов коллагеновой матрицы (см. рисунок, *b* на вклейке).

Через 2 мес после начала опыта в контрольной группе наблюдают фрагменты новообразованного дентина, расположенные на периферии корневого канала, но не смыкающиеся в центре; описанная картина на некоторых препаратах имела вид «прерванного моста».

К данному сроку в основной группе во всех исследуемых препаратах отмечают четко сформированный дентинный мостик, по структуре схожий с дентином, отделяющий корневую пульпу от пульповой камеры (см. рисунок, *в*, *г* на вклейке). Дентин с хорошо выраженными, параллельно расположенными дентинными каналцами образуется от стенок корневого канала и, смыкаясь, формирует четкий барьер. Корневая пульпа полностью сохранена, иногда отмечается полнокровие сосудов. Слой одонтобластов также хорошо выражен, на некоторых препаратах при четко сформированном дентинном мостике в корневой пульпе отмечают склеротические изменения и очаги

лимфогистиоцитарной инфильтрации. Гистохимические методы исследования показали, что в результате использования разработанной тканеинженерной конструкции произошла активизация клеток как эктомезенхимального, так и мезенхимального стволовых компартментов пульпы зуба. Именно прекультивированные эктомезенхимальные клетки из тканеинженерной конструкции в короткие сроки обеспечили более активное участие в процессе регенерации пульпы на каждом этапе межклеточного взаимодействия по регуляции большинства биологических процессов, таких как пролиферация, дифференцировка, адгезия клеток и миграция. За счет реакции фосфорилирования тирозина тирозинкиназой обеспечивается связывание трансмембранного рецептора C-kit с лигандом SCF, что позволяет оценить антиапоптотические события в прогениторных клетках на каждом из этапов репаративного дентиногенеза.

Таким образом, в контрольной группе при использовании коллагеновой губки в комбинации с различными препаратами, призванными стимулировать регенерацию корневой пульпы после витальной ампутации, образование дентинного мостика протекает значительно медленнее, чем в основной группе. Намечающийся дентинный мостик в контрольной группе мы наблюдали только к сроку 3–5 мес. Напротив, в основной группе репаративный дентиногенез завершался построением дентинного моста к сроку 2–3 мес. Этот процесс был стимулирован и обеспечен клетками тканеинженерной конструкции. В ряде случаев корневая пульпа под дентинным мостиком в контрольной группе вообще не регенерировала, и на большинстве препаратов наблюдали явления ее фиброзного превращения.

Заключение

Таким образом, в ранние сроки наблюдения от 1 до 7 сут в корневой пульпе после витальной ампутации коронковой пульпы у экспериментальных животных основной и контрольной групп развивается асептическое воспаление. В последующие сроки наблюдения в основной группе разработанная тканеинженерная конструкция оказывает наиболее выраженное влияние на каждом этапе процесса заживления: защищает пульпу от инфицирования, уменьшает экссудацию, оказывает гемостатический эффект, а в отдаленные сроки способствует значительному ускорению образования дентинного мостика.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сирак А.Г., Сирак С.В. Морфофункциональные изменения в пульпе зубов экспериментальных животных при лечении глубокого кариеса и острого очагового пульпита с использованием разработанных лекарственных композиций. *Современные проблемы науки и образования*. 2013; (2): 44.
2. Сирак А.Г., Сирак С.В. Динамика репаративного дентиногенеза после лечения глубокого кариеса и острого очагового пульпита разработанной поликомпонентной лечебной пастой. *Фундаментальные исследования*. 2013; 5 (2): 384–8.

3. Shchetinin E.V., Sirak S.V., Khodzhasyan A.B., Dilekova O.V., Sirak A.G., Vafiadi M.Y. et al. Pathogenetic aspects of dental pulp pathology. *Med. News North Caucasus*. 2015; 10 (2): 187–91. DOI: 10.14300/mnnc.2015.10044
4. Слетов А.А., Переверзев Р.В., Ибрагимов И.М., Кодзиков Б.А., Сирак С.В. Экспериментальное определение регенераторного потенциала клеток костного мозга. *Стоматология для всех*. 2012; (2): 29–31.
5. Avila-Ortiz G., Buitrago J.G.D., Reddy M.S. Periodontal regeneration – furcation defects: A systematic review from the AAP regeneration workshop. *J. Periodontol*. 2015; 86: 108–30. DOI: 10.1902/jop.2015.130677
6. Claus I., Laureys W., Cornelissen R., Dermaut L.R. Histologic analysis of pulpal revascularization of autotransplanted immature teeth after removal of the original pulp tissue. *Am. J. Orthodont. Dentofac. Orthoped*. 2004; 125 (1): 93–9. doi: 10.1016/S0889-5406(03)00619-X
7. Lee Y.-H., Kang Y.-M., Heo M.-J., Kim G.-E., Bhattarai G., Lee N.-H. et al. The survival role of peroxisome proliferator-activated receptor gamma induces odontoblast differentiation against oxidative stress in human dental pulp cells. *J. Endodont*. 2013; 39 (2): 236–41. doi: 10.1016/j.joen.2012.11.006
8. Щетинин Е.В. Сирак С.В., Ходжаян А.Б., Радзиевская Н.Г., Петросян Г.Г. Патофизиологические аспекты регенерации лунки удаленного зуба в эксперименте. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2014; 9 (3): 262–5. DOI: 10.14300/mnnc.2014.09073.
9. Kim B.-C., Bae H., Kwon I.-K., Lee E.-J., Park J.-H., Khademhosseini A. et al. Osteoblastic/cementoblastic and neural differentiation of dental stem cells and their applications to tissue engineering and regenerative medicine. *Tissue Engineering. Part B: Reviews*. 2012; 18 (3): 235–44. doi: 10.1089/ten.teb.2011.0642
10. Murakami S. Periodontal tissue regeneration by signaling molecule (s): What role does basic fibroblast growth factor (FGF-2) have in periodontal therapy? *Periodontology*. 2000. 2011; 56 (1): 188–208. doi: 10.1111/j.1600-0757.2010.00365.x
11. Сирак С.В., Сирак А.Г., Копылова И.А., Бирагова А.К. Изучение морфологических изменений в пульпе зубов экспериментальных животных при лечении глубокого кариеса и острого очагового пульпита. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2011; 23 (3): 29–33.
12. Lin Z., Rios H.F., Cochran D.L. Emerging regenerative approaches for periodontal reconstruction: A systematic review from the AAP regeneration workshop. *J. Periodontol*. 2015; 86: 134–52. DOI: 10.1902/jop.2015.130689
13. Grimm W.D., Dannan A., Giesenhagen B., Schau I., Varga G., Vukovic M.A. et al. Translational research: palatal-derived ectomesenchymal stem cells from human palate: a new hope for alveolar bone and cranio-facial bone reconstruction. *Int. J. Stem Cells*. 2014; 7 (1): 23–9.
14. Grimm W.D., Ploger M., Schau I., Vukovic M.A., Shchetinin E.V., Akkalaev A.B. et al. Complex, three-dimensional reconstruction of critical size defects following delayed implant placement using stem cell-containing subepithelial connective tissue graft and allogenic human bone blocks for horizontal alveolar bone augmentation: a case report as proof of clinical study principles. *Med. News N. Caucasus*. 2014; 9 (2): 131–3. DOI: 10.14300/mnnc.2014.09037
15. Kanafi M.M., Ramesh A., Gupta P.K., Bhonde R.R. Dental pulp stem cells immobilized in alginate microspheres for applications in bone tissue engineering. *Int. Endodont. J*. 2014; 47 (7): 687–97. doi: 10.1111/iej.12205
16. Ashman L.K. The biology of stem cell factor and its receptor C-kit. *Int. J. Biochem. Cell Biol*. 1999; 31 (10): 1037–51. doi: 10.1016/S1357-2725(99)00076-X
17. Ding R., Jiang X., Ha Y., Wang Z., Guo J., Jiang H. et al. Activation of Notch1 signalling promotes multi-lineage differentiation of c-Kit-POS/NKX2.5POS bone marrow stem cells: Implication in stem cell translational medicine. *Stem Cell Res. Ther*. 2015; <http://stemcellres.com> doi: 10.1186/s13287-015-0085-2
18. *mennie problemy nauki i obrazovaniya*. 2013; (2): 44. (in Russian)
2. Sirak A.G., Sirak S.V. Dynamics of reparative dentinogenesis after treatment of deep caries and acute focal pulpitis developed polycomponent medicinal paste. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2013; 5 (2): 384–8. (in Russian)
3. Shchetinin E.V., Sirak S.V., Khodzhasyan A.B., Dilekova O.V., Sirak A.G., Vafiadi M.Y. et al. Pathogenetic aspects of dental pulp pathology. *Med. News North Caucasus*. 2015; 10 (2): 187–91. DOI: 10.14300/mnnc.2015.10044
4. Sletov A.A., Pereverzev R.V., Ibragimov I.M., Kodzikov B.A., Sirak S.V. Experimental determination of the regenerative potential of bone marrow cells. *Stomatologiya dlya vsekh*. 2012; (2): 29–31. (in Russian)
5. Avila-Ortiz G., Buitrago J.G.D., Reddy M.S. Periodontal regeneration – furcation defects: A systematic review from the AAP regeneration workshop. *J. Periodontol*. 2015; 86: 108–30. DOI: 10.1902/jop.2015.130677
6. Claus I., Laureys W., Cornelissen R., Dermaut L.R. Histologic analysis of pulpal revascularization of autotransplanted immature teeth after removal of the original pulp tissue. *Am. J. Orthodont. Dentofac. Orthoped*. 2004; 125 (1): 93–9. doi: 10.1016/S0889-5406(03)00619-X
7. Lee Y.-H., Kang Y.-M., Heo M.-J., Kim G.-E., Bhattarai G., Lee N.-H. et al. The survival role of peroxisome proliferator-activated receptor gamma induces odontoblast differentiation against oxidative stress in human dental pulp cells. *J. Endodont*. 2013; 39 (2): 236–41. doi: 10.1016/j.joen.2012.11.006
8. Shchetinin E.V., Sirak S.V., Khodzhasyan A.B., Radzieskaya N.G., Petroсяn G.G. Pathophysiological aspects of regeneration of the alveolus of the tooth in the experiment. *Meditsinskiy vestnik Severnogo Kavkaza*. 2014; 9 (3): 262–5. DOI: 10.14300/mnnc.2014.09073. (in Russian)
9. Kim B.-C., Bae H., Kwon I.-K., Lee E.-J., Park J.-H., Khademhosseini A. et al. Osteoblastic/cementoblastic and neural differentiation of dental stem cells and their applications to tissue engineering and regenerative medicine. *Tissue Engineering. Part B: Reviews*. 2012; 18 (3): 235–44. doi: 10.1089/ten.teb.2011.0642
10. Murakami S. Periodontal tissue regeneration by signaling molecule (s): What role does basic fibroblast growth factor (FGF-2) have in periodontal therapy? *Periodontology*. 2000. 2011; 56 (1): 188–208. doi: 10.1111/j.1600-0757.2010.00365.x
11. Sirak S.V., Sirak A.G., Kopylova I.A., Biragova A.K. The study of morphological changes in the dental pulp of experimental animals in the treatment of deep caries and acute focal pulpitis. *Meditsinskiy vestnik Severnogo Kavkaza*. 2011; 23 (3): 29–33. (in Russian)
12. Lin Z., Rios H.F., Cochran D.L. Emerging regenerative approaches for periodontal reconstruction: A systematic review from the AAP regeneration workshop. *J. Periodontol*. 2015; 86: 134–52. DOI: 10.1902/jop.2015.130689
13. Grimm W.D., Dannan A., Giesenhagen B., Schau I., Varga G., Vukovic M.A. et al. Translational research: palatal-derived ecto-mesenchymal stem cells from human palate: a new hope for alveolar bone and cranio-facial bone reconstruction. *Int. J. Stem Cells*. 2014; 7 (1): 23–9.
14. Grimm W.D., Ploger M., Schau I., Vukovic M.A., Shchetinin E.V., Akkalaev A.B. et al. Complex, three-dimensional reconstruction of critical size defects following delayed implant placement using stem cell-containing subepithelial connective tissue graft and allogenic human bone blocks for horizontal alveolar bone augmentation: a case report as proof of clinical study principles. *Med. News N. Caucasus*. 2014; 9 (2): 131–3. DOI: 10.14300/mnnc.2014.09037
15. Kanafi M.M., Ramesh A., Gupta P.K., Bhonde R.R. Dental pulp stem cells immobilized in alginate microspheres for applications in bone tissue engineering. *Int. Endodont. J*. 2014; 47 (7): 687–97. doi: 10.1111/iej.12205
16. Ashman L.K. The biology of stem cell factor and its receptor C-kit. *Int. J. Biochem. Cell Biol*. 1999; 31 (10): 1037–51. doi: 10.1016/S1357-2725(99)00076-X
17. Ding R., Jiang X., Ha Y., Wang Z., Guo J., Jiang H. et al. Activation of Notch1 signalling promotes multi-lineage differentiation of c-Kit-POS/NKX2.5POS bone marrow stem cells: Implication in stem cell translational medicine. *Stem Cell Res. Ther*. 2015; <http://stemcellres.com> doi: 10.1186/s13287-015-0085-2

REFERENCES

1. Sirak A.G., Sirak S.V. Morphofunctional changes in the dental pulp of experimental animals in the treatment of deep caries and acute focal pulpitis by using the developed pharmaceutical compositions. *Sovre-*

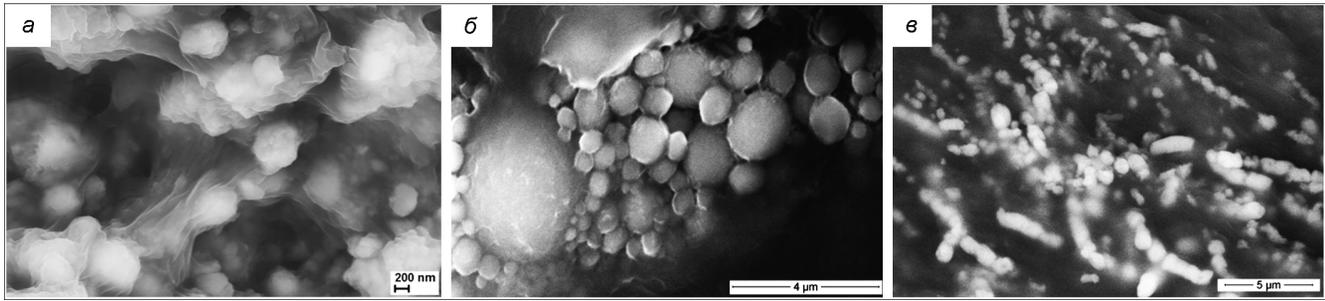
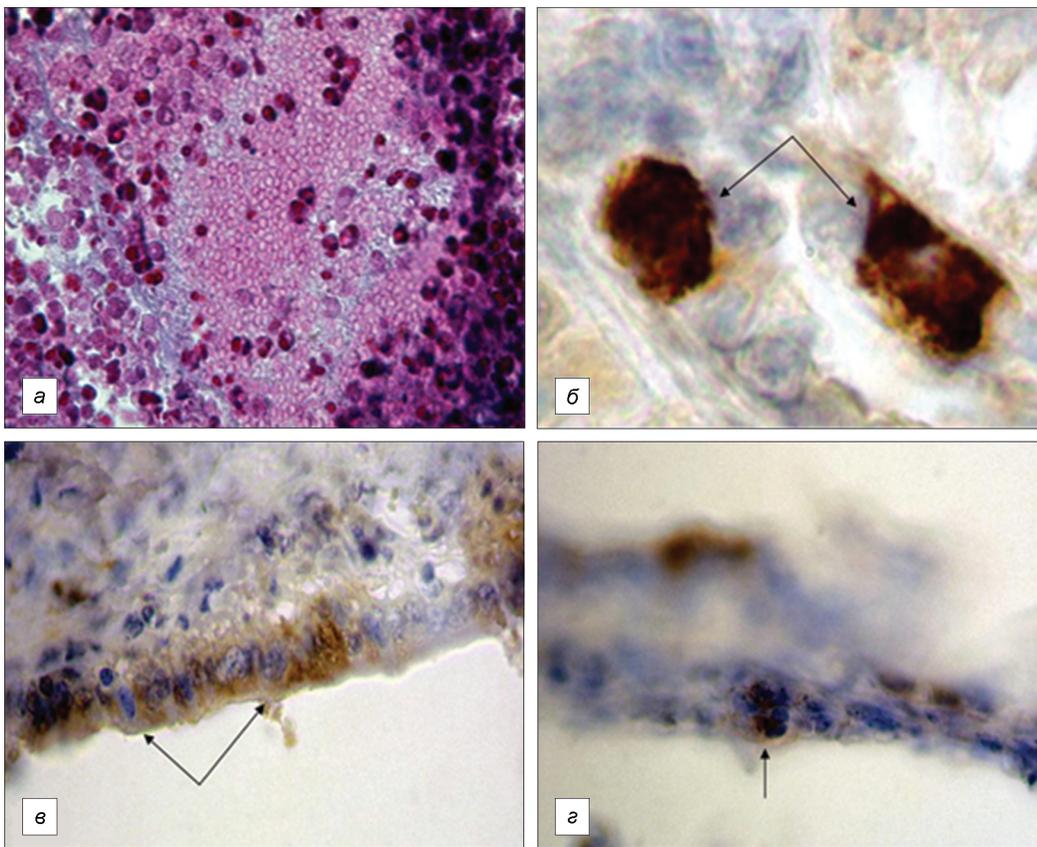


Рис. 12. СЭМ-микрофотографии кальцийсодержащих наночастиц от различных образцов патологической минерализации в организме человека.

а – образец почечных конкрементов (Supra 40, SE2, Ув. 18 500); *б* – образец минерализованной аорты (Quanta 3D 200i, LFD, Ув. 12 500); *в* – образец зубного камня (Quanta 3D 200i, BSED, Ув. 6000).



Микропрепараты – гистологические срезы биоптатов пульпы и слое одонтобластов экспериментальных животных контрольной (*а*) и основной групп (*б-г*) на 7-е (*а*), 30-е сутки (*б*) и через 2 мес (*в, г*) после начала опыта.

а – обширные кровоизлияния в пульпе и слое одонтобластов; *б* – многоядерные гигантские клетки (отмечены стрелками), имеющие более темное окрашивание вокруг ядра по всей цитоплазме; *в* – сформированный дентинный мостик, по структуре схожий с дентином, отделяющий корневую пульпу от пульповой камеры, С-kit-позитивные клетки в субодонтобластическом слое пульпы (отмечены стрелками); *г* – прекультивированная эктомезенхимальная клетка в стадии дифференцировки (отмечена стрелкой). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 15, об. 20 (*а*). Гистохимическая реакция на С-kit (CD117) маркер (рецептор фактора стволовых клеток). Ок. 15, об. 100 (*б-г*).

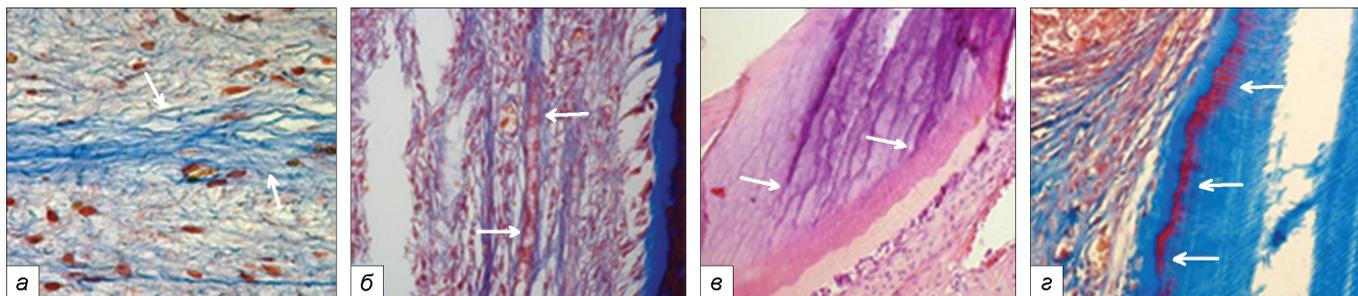


Рис. 1. Микропрепараты на 3-и (*а*), 5-е (*б*), 7-е (*в*) и 14-е (*г*) сутки эксперимента.

1-я основная группа (параформальдегид): *а* – извилистость и неровность контуров капилляров и посткапилляров микроциркуляторного русла пульпы (отмечено стрелками). Окраска по Массону. Об. 100, ок. 10; *б* – увеличение диаметра капилляров за счет контрактильных свойств эндотелия (отмечено стрелками). Окраска по Массону. Об. 100, ок. 10; *в* – уменьшение количества капиллярных петель, проникающих в глубину слоя одонтобластов (отмечено стрелками). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 100, об. 10; *г* – некроз одонтобластов в субодонтобластическом слое пульпы (отмечено стрелками). Окраска по Массону. Об. 100, ок. 10.