

Пульпа зуба является ценным и доступным источником дентальных стволовых клеток (ДСК, Dental pulp stem cells, DPSC) с характеристиками, аналогичными мезенхимным стволовым клеткам (МСК), такие как способность к самообновлению, мультипотентность, экспрессия маркеров, связанных с МСК, и иммуномодулирующие эффекты. ДСК играют важную роль в восстановлении дентина и постнатальном гомеостазе зубов, дифференцируясь в одонтобласты, кроме того, они обладают высоким остеогенным, нейрогенным и ангиогенным потенциалом, что позволяет их использовать в регенеративной медицине.

Цель исследования – оценка жизнеспособности дентальных стволовых клеток выделенных из пульпы зуба третьего моляра.

Материалы и методы. Дентальные стволовые клетки были выделены из третьего моляра без стоматологической или пародонтальной патологии, удаленные по назначению стоматолога клиники «ВЛАДМИВА» г. Белгород с подписанием пациентом информированного добровольного согласия на проведение стоматологического вмешательства. Зуб обрабатывали антисептическими растворами, разрушали при помощи хирургических кусачек и используя шприц вымывали пульпу из канала зуба. В дальнейшем применяли метод эксплантации — пульпа зуба фрагментируется на части и культивируется во флаконе 25 см² (компания SPL Lifesciences, Корея) в питательной среде DMEM/F12 (компания «ПанЭко», РФ) с 10% ЭТС и антибиотиками в инкубаторе при 37°C, 5% CO₂, 100% влажности (рис.1).

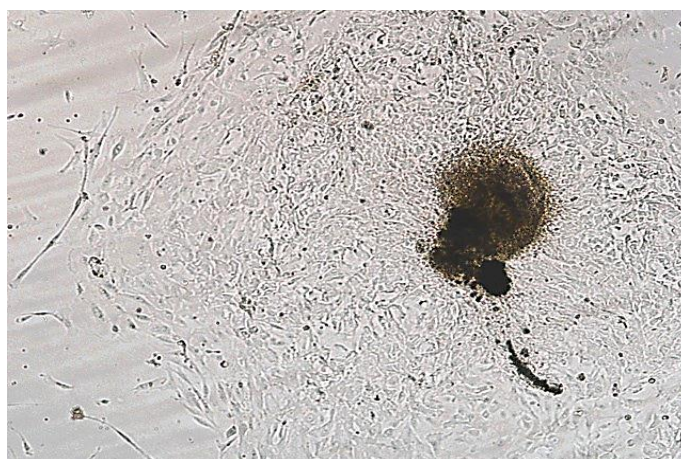


Рисунок 1. Выход дентальных стволовых клеток из эксплантата пульпы зуба. Ув.х100

После выхода ДСК из эксплантатов клетки пассивировали раствором 0,05% трипсина-ЭДТА, суспензию ДСК пропускали через сеточки для клеток с диаметром ячейки 100 мкм (компания SPL Lifesciences, Корея).

Для определения жизнеспособности клеток использовали 20 мкл клеточной суспензии, которую смешивали с 20 мкл 0,4%-ного раствора трипанового синего (компания Suvchem, Индия). Краситель трипановый синий применяется для селективного окрашивания мертвых клеток и тканей, не окрашивает живые клетки. После 5 минут культивирования ДСК подсчитывали с использованием камеры Горяева (компания «МиниМед», РФ) под световым микроскопом.

Результаты исследования. Анализ жизнеспособности дентальных стволовых клеток с использованием окрашивания трипановым синим показал, что жизнеспособность клеток превышала 90%. Процент жизнеспособных клеток варьировался от 90,78% ± 2,33% до 94,63% ± 2,73%.

Таким образом, из пульпы зуба третьего моляра без стоматологической или пародонтальной патологии методом эксплантации можно получить жизнеспособные дентальные стволовые клетки, которые в дальнейшем можно эффективно размножить и использовать в регенеративной стоматологии.