

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН

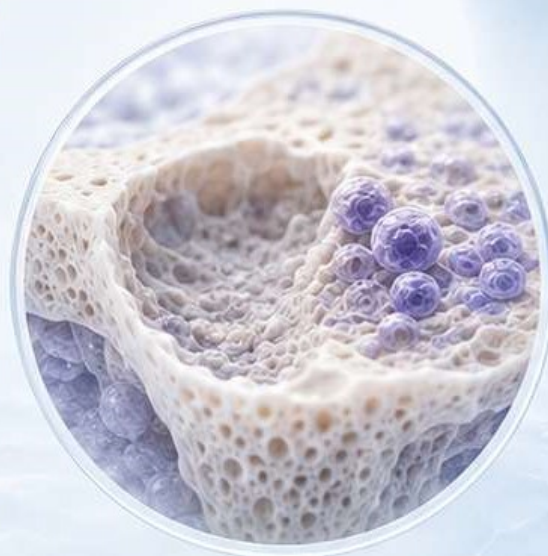
ТАШКЕНТСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ

ЦЕНТР ПЕРЕДОВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ



ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЕ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ГЛУБОКИХ ДЕФЕКТАХ МЯГКИХ ТКАНЕЙ

Методические рекомендации



Ташкент – 2026

**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI SOG'LIQNI SAQLASH VAZIRLIGI
TOSHKENT DAVLAT TIBBIYOT UNIVERSITETI**



J.X.Nishonov, N.V.Xramova, O.S.Charishnikova, N.A.Siferova

**“ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЕ
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ГЛУБОКИХ ДЕФЕКТАХ МЯГКИХ
ТКАНЕЙ”**

(uslubiy tavsiyanoma)

Toshkent-2026

Редакционно-издательское учреждение: Ташкентский государственный медицинский университет.

Составители:

Ж.Х. Нишанов Ташкентский государственный медицинский университет, самостоятельный соискатель кафедры « Челюстно-лицевая хирургия»

Н.В. Храмова Ташкентский государственный медицинский университет, д.м.н., доцент кафедры « Челюстно-лицевая хирургия»

О.С. Чарышникова Центр передовых технологий, PhD, старший научный сотрудник, заведующая лабораторией экспериментальной биофизики Центра передовых технологий

Н.А. Циферова Центр передовых технологий, PhD, старший научный сотрудник, институт биофизики и биохимии при НУУз, старший научный сотрудник

Рецензенты:

Ш.Ю. Абдуллаев Ташкентский государственный медицинский университет, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой «Заболеваний челюстно-лицевой области и травматологии»

Ш.А. Боймуратов Ташкентский государственный медицинский университет, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой « Челюстно-лицевая хирургия и стоматология»

Методическая рекомендация была рассмотрена и утверждена на центральной проблемной комиссии Ташкентского государственного медицинского университета (протокол от №_5_“22” 01. 2026 года) и совете Ташкентского государственного медицинского университета(протокол от №_8_ “ 26 ” 02. 2026 года).

Методическая рекомендация ориентированы на широкий круг врачей, врачей-стоматологов-хирургов, челюстно-лицевых хирургов, курсантов повышения квалификации врачей стоматологов, клинических ординаторов, студентов магистратуры, докторантов и студентов медицинских вузов.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АИ- апоптотический индекс

ГСК- гемопоэтическая стволовая клетка

МИ- митотического индекс

ММСК -мультипотентная мезенхимальная стромальная клетка

МЯТ- микроядерный тест

СКК -средняя клеточность крипты

СХСR4 -хемокиновый рецептор - 4 тип

ТИК – тканеинженерная конструкция

РП – раневое покрытие

БАК – биологически активный компонент

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	6
Обоснование актуальности и востребованности	6
Основная часть	8
Материал исследования	8
Клеточные линии	8
Гистоморфологические исследования органов тканей и экспериментальных животных	10
Результаты доклинических исследований на белых крысах	
Заключение	11
Список использованной литературы	12

Введение

Обоснование актуальности и востребованности

Клеточная терапия предполагает использование инновационных биомедицинских подходов, при которых клетки *in vitro* вводятся пациенту для лечения ряда патологических состояний путем замены больных или дисфункциональных клеток здоровыми функционирующими. В мире по усовершенствованию хирургического лечения пациентов с дефектами мягких тканей лица ведутся исследования по следующим приоритетным направлениям: стимулирование регенерации путем создания тканеинженерных конструкций на основе различных подложек с заданными свойствами и клеточных элементов.

Материал исследования

Экспериментальные исследования выполнены в соответствии с «Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986), согласно «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ МЗ СССР №755 от 12.08.1987 г.)

Проведены доклинические исследования способов лечения глубоких дефектов мягких тканей оптимизирующие регенерацию. Эффективность способов изучена на экспериментальных моделях глубоких дефектов мягких тканей.

Определение биохимических и гематологических показателей периферической крови подопытных животных сделаны на базе аккредитованной научно-исследовательской лаборатории (НИЛ) Ташкентского Научно-исследовательского института вакцин и сывороток на основании нормативных и методических документов Государственной системы Республики Узбекистан совместно с руководителем отдела фармако-токсикологических исследований, доктором медицинских наук А.Х. Рахмановым.

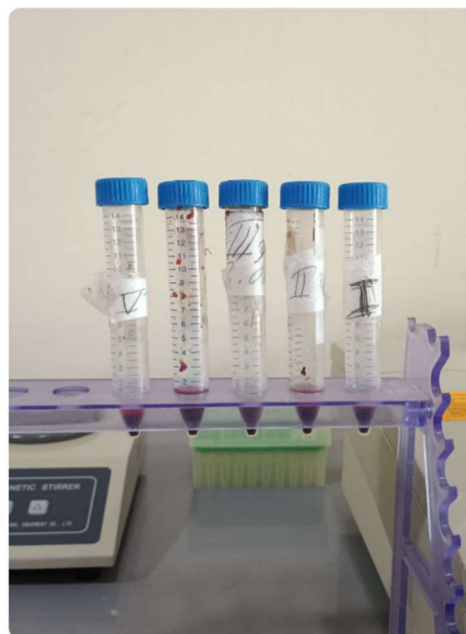
Клеточные линии

Получение первичной культуры стволовых клеток крыс.

Первичную культуру стволовых клеток крыс получали из жировой ткани белых беспородных крыс. Эвтаназию лабораторных крыс проводили методом декапитации после усыпления ингаляционной газовой смесью, содержащей изофлуран, подаваемой через наркозно-дыхательный аппарат Mindray V60 ISOFLURANE. Животных обрабатывали 70% этанолом, после чего осуществляли забор биоптата кожи.



а)



б)

Рис.1. Этапы взятия крови у экспериментальных животных для проведения гематологических и биохимических методов исследования. а- взятие крови из крысиного хвоста; б-пробирки для центрифугирования с кровью экспериментальных животных по группам.

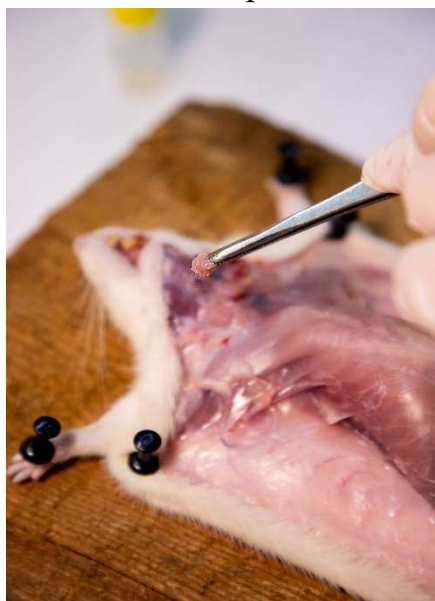
Гистоморфологические исследования органов тканей и экспериментальных животных

Для испытания предложенных тканеинженерных конструкций (50 мг/кг) использовались половозрелые крысы. После создания модели дефекта при помощи швов устанавливалась тканеинженерная конструкция, либо проводилось инъекционное лечение, соответственно группам экспериментальных животных. По истечении 3 и 7 суток осуществляли забой животных и брали для исследования органы – мозг, сердце, лёгкое, печень, селезёнка, почка, желудок, двенадцатиперстная кишка, тонкая кишка, толстая кишка, лимфоузел и участок слизистой (рис.2).



Рис.2. Модель глубокого дефекта на спинке крысы

Удаленные органы и участки слизистой полости рта животных фиксировали в 10% забуференном растворе формалина в течение 24 часов. Органы после фиксации запускались в гистопроцессор автоматического карусельного типа «Thermo Fisher STP 120» (TFS, США) для дегидратации, пропитки и парафинизации. Полученные на ротационном микротоме 3-4 мкм срезы НМ 325 (TFS, США) окрашивали гематоксилином и эозином и изучали на разных увеличениях микроскопом Axio Lab.A1 (Carl Zeiss, германия) и фотографировали с помощью цифровой видеокамеры SDPTOP. помощью цифровой видеокамеры SDPTOP.



а)



б)



в)



г)

Рис.3. Изъятие внутренних органов у экспериментальных животных:
а-лимфатический узел; б-сердце; в-почки; г-головной мозг.

Создание модели экспериментального глубокого дефекта мягких тканей осуществляли путем формирования с помощью скальпеля на спине круглого дефекта слизистой диаметром 2 x 2 см, после предварительной обработки операционного поля. Затем в сформированный дефект помещали созданную тканеинженерную конструкцию (ТИК) со стволовыми клетками. Наблюдение проводилось в течение 1-х, 3-х, 5-х, 7-х и 14-х, 21, 28 суток. В ходе экспериментов оценивались локальный статус, общее состояние, потребление корма и воды, изменение массы тела (каждые 2 дня), особенности поведения, интенсивность и характер двигательной активности, координация движений, реакция на внешние раздражители, частота и глубина дыхательных движений, состояние шерстного и кожного покрова, окраска слизистых оболочек, положение хвоста, количества и вид фекальных масс, регистрировались клинические признаки интоксикации:

Выведение животных из эксперимента осуществлялось передозировкой эфира. Патоморфологические исследования внутренних органов животных проводились по общепринятой методике. Кусочки тканей помещались в 10% формалиновый раствор, заливались в парафиновые блоки. Срезы толщиной 4-5 мкм окрашивали гематоксилин-эозином. Микроскопическое исследование проводили с помощью светового микроскопа МИКМЕД-2 с встроенным фотоаппаратом с увеличением в 40, 100, 200 и 400 раз.

Результаты доклинических исследований на белых крысах

В эксперименте использовались здоровые взрослые белые беспородные крысы – самцы с исходной массой 180-220 гр. Содержание животных соответствовало санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально – биологических клиник. Кормление животных осуществлялось натуральными и брикетированными кормами, в соответствии с утвержденными нормами. Животные предварительно прошли карантин и акклиматизацию в условиях вивария в течение 14 дней. Каждая экспериментальная группа, включая контрольную состояла из 6 животных с учетом массы тела. Все животные после создания экспериментальной модели дефекта содержались в одинаковых условиях и на обычном рационе.

Изучение репаративной регенерации стволовых клеток было проведено в Ташкентском Научно-исследовательском институте вакцин и сывороток

Наблюдение в динамике проводилось в течение 1-х, 3-х, 5-х, 7-х, 14-ти суток. Оценивалось общее состояние животных и клинические признаки возможной интоксикации: общее состояние животных, потребление корма и воды, изменение массы тела, особенности их поведения, интенсивность и

характер двигательной активности. Также оценивался локальный статус. Взятие биопсии и крови для биохимического анализа на 3 и 7 сутки.

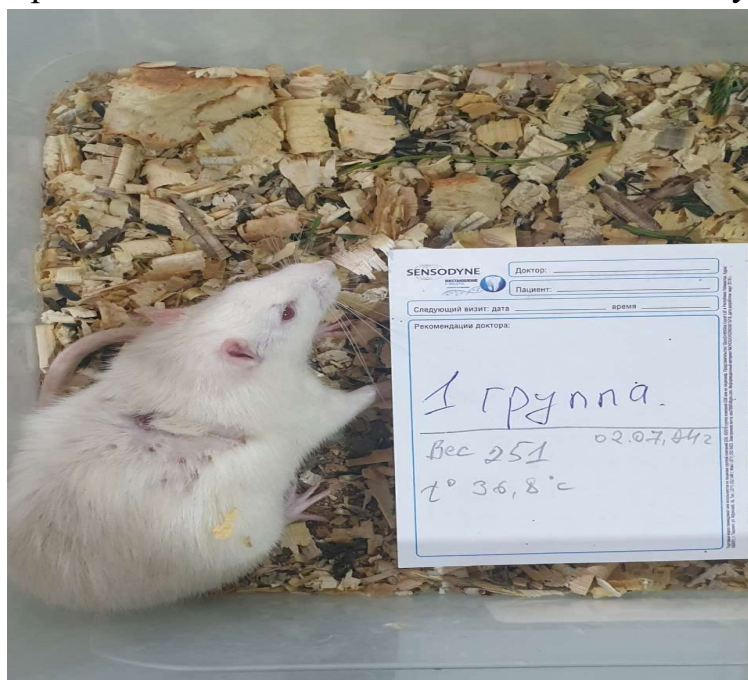


Рис.4.Наблюдение за экспериментальными животными

Полученные результаты указывают на то, что РП не обладает цитотоксическим действием на клетки, структура покрытия идеально подходит для прорастания клеток вглубь покрытия, формируя тканеподобную структуру, пересадка сформированной ТИК не снижает пролиферативный потенциал внедренных в покрытие клеток, о чем свидетельствует формирование монослоя клеток за пределами ТИК.

Полученные клинико-экспериментальные данные (отсутствие эндогенной интоксикации, активация регенерации в месте повреждения, в том числе с индукцией неоангиогенеза), а также отсутствие осложнений за время наблюдения свидетельствовали об эффективности и безопасности разработанного метода лечения глубоких дефектов мягких тканей при помощи клеточной терапии.

Область планируемого применения: регенеративная медицина, челюстно-лицевая хирургия, хирургическая стоматология, военная медицина.

Медицинская эффективность

Применение клеточных продуктов на основе стволовых клеток и созданных на их основе тканеинженерных конструкций целесообразно использовать в качестве регулятора раневого процесса для лучшего приживления трансплантатов при лечении дефектов полости рта различного генеза, а также в качестве подготовки операционного поля у планово-оперирующихся больных.

Социальная эффективность

Полноценное анатомо-функциональное восстановление тканей слизистой полости за счет применения тканеинженерных конструкций на основе мезенхимальных стволовых клеток и различных носителей, а также применение инъекционного способа введения стволовых клеток позволяет получить оптимальный результат при лечении больных с дефектами мягких тканей у плановых пациентов.

Экономическая эффективность

Экономическая эффективность рассчитывалась исходя из применения в клинической практике предлагаемой методической рекомендации. Предложенные варианты применения клеточных продуктов на основе стволовых клеток могут быть коммерциализированы для внутреннего и внешнего рынка медицинской продукции.

Заключение

Применение клеточной терапии для оптимизации заживления дефектов мягкой ткани являются вспомогательным и позволяет достичь оптимального результата. Однако существует ряд факторов, которые должны быть учтены при применении данного метода лечения так как технология использования клеток является дорогостоящей процедурой и может быть рекомендована в сложных клинических ситуациях, однако несомненные преимущества данной клеточной терапии позволяют обосновать наиболее оправданный в настоящее время направление лечения больных с дефектами мягких тканей лица

Предложения по внедрению

Методические рекомендации внедрены в научно-практическую деятельность отделения экстренной челюстно-лицевой хирургии 7 ой городской клинической больницы г. Ташкента и в отделении челюстно-лицевой хирургии Центральной Больницы Самаркандского Городского Медицинского Объединения.

Список использованной литературы

1. Charyshnikova O.S., Khramova N.V., Umurzakova Kh.Kh., Akhmedov Zh.A., Tsiferova N.A. Genetics, genomics va biotechnology zamonaviy muammolari. Republic of Ilmiy Anjumani. May 18, 2021 p. 189
2. Khramova N.V., Kholmatova M.A., Mungiev M.Z. On the issue of using wound dressings and cellular technologies to optimize skin regeneration // “Stomatologiya” (Central Asian scientific and practical journal), Tashkent, No. 4, (73), 2018, pp.57-59
3. Khramova N.V., Makhmudov A.A., Khusanova Yu.B. Skin equivalents: pros and cons // Journal of dentistry and craniofacial research. Tashkent, No. 1 (01), 2020, pp. 72-754.
4. Potekaev N.N., Frigo N.V., Petersen E.V. Artificial leather: types, areas of application. Clinical dermatology and venereology, 6, 2017, pp. 7-15, doi.org/10.17116/klinderma20171667-15
5. Zorin V.L., Zorina A.I., Petrakova O.S., Cherkasov V.R. Dermal fibroblasts for the treatment of skin defects. Genes and cells. 2009;
6. Zorin VL, Zorina AI, Petrakova OS, Cherkasov VR. Dermal fibroblasts for the treatment of skin defects. Genes and cells. 2009;(In Russ.)].<http://cyberleninka.ru/article/n/dermalnye-fibroblasty-dlya-lecheniya-defektov-6>. Shevchenko RV, et al. A review of tissue-engineered skin bioconstructs available for skin reconstruction. Journal of the royal Society Interface.2010;7:229-258.
7. Vinnik Yu.S., Salmina A.B., Drobusheskaya A.I., et al. Cellular technologies and tissue engineering in the treatment of long-term non-healing wounds. Bulletin of Experimental and Clinical Surgery.2011;4:2:392-397. [Vinnik YuS, Salmina AB, Drobusheskaya AI, et al. The cell technologies and the tissue engineering are for healing chronicwounds. Vestnik of experimental and clinical surgery 2011;4:2:392-397. (InRuss.)].
8. Hansbrough JF. The promises of excisional therapy of burn wounds: have they been achieved? J Intensive Care Med. 1994 Jan;9(1):1-3.<https://dermagraft.com/why-choose-dermagraft/#living-fibroblasts-to-build-granulation-tissue>
9. Meleshina A.V., Bystrova A.S., Rogovaya O.S., Vorotelak E.A., Vasiliev A.V., Zagainova E.V. Tissue-engineered skin constructs and the use of stem cells to create skin equivalents (review) <http://www.stm-journal.ru/> Volume 9, number 1 (2017)
10. Bochev I., Elmadjian G., Kyurkchiev D. et al. Mesenchymal stem cells from human bone marrow or adipose tissue differently modulate mitogen-

stimulated B-cell immunoglobulin production in vitro // Cell Biol. Int. –2008. – V. 32, N4. – P. 384–393.

11. Costela-Ruiz VJ, Melguizo-Rodríguez L, Bellotti C, Illescas-Montes R, Stanco D, Arciola CR, Lucarelli E. Different Sources of Mesenchymal Stem Cells for Tissue Regeneration: A Guide to Identifying the Most Favorable One in Orthopedics and Dentistry Applications. *Int J Mol Sci.* 2022 Jun 6;23(11):6356. doi: 10.3390/ijms23116356. PMID: 35683035; PMCID: PMC9181542.

12. Gugliandolo A, Fonticoli L, Trubiani O, Rajan TS, Marconi GD, Bramanti P, Mazzon E, Pizzicannella J, Diomedede F. Oral Bone Tissue Regeneration: Mesenchymal Stem Cells, Secretome, and Biomaterials. *Int J Mol Sci.* 2021 May 15;22(10):5236. doi: 10.3390/ijms22105236. PMID: 34063438; PMCID: PMC8156243.

13. Di Rocco G, Iachininoto M.G., Tritarelli A. et al. Myogenic potential of adipose tissue-derived cells // *Journal of Cell Science* 2006.-V.119:2 - P. 945-2952.

14. Katz A. J., Tholpady A., Tholpady S. S. et al. Cell surface and transcriptional characterization of human adipose-derived adherent stromal cells // *Stem cells.* – 2005. – V. 23. –P. 412-423.

15. Roato I, Chinigò G, Genova T, Munaron L, Mussano F. Oral Cavity as a Source of Mesenchymal Stem Cells Useful for Regenerative Medicine in Dentistry. *Biomedicines.* 2021 Aug 25;9(9):1085. doi: 10.3390/biomedicines9091085. PMID: 34572271; PMCID: PMC8469189.

16. Samiei M, Alipour M, Khezri K, Saadat YR, Forouhandeh H, Abdolahinia ED, Vahed SZ, Sharifi S, Dizaj SM. Application of Collagen and Mesenchymal Stem Cells in Regenerative Dentistry. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2022;17(7):606-620. doi: 10.2174/1574888X17666211220100521. PMID: 34931969.

17. Tatullo M, Marrelli M, Paduano F. The regenerative medicine in oral and maxillofacial surgery: the most important innovations in the clinical application of mesenchymal stem cells. *Int J Med Sci.* 2015 Jan 1;12(1):72-7. doi: 10.7150/ijms.10706. PMID: 25552921; PMCID: PMC4278878.