



Комплексная оценка децеллюляризированной пульпы зуба в качестве нового биоматериала для регенерации пульпо-дентинного комплекса

©К.И. Мелконян*, Т.В. Русинова, Е.С. Запорожская-Абрамова, Е.А. Солоп, И.И. Карташевский, С.А. Кнышова, О.Н. Рисованная

Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия

* К.И. Мелконян, *h*-индекс в Scopus 3, Кубанский государственный медицинский университет, 350063, Краснодар, ул. М. Седина, 4, cnil.ksma@yandex.ru

Поступила в редакцию 11 апреля 2024 г. Исправлена 21 мая 2024 г. Принята к печати 14 июня 2024 г.

Резюме

Цель исследования: Разработка детергентно-энзиматического метода получения децеллюляризированного каркаса пульпы зуба и оценка его качества для использования в регенеративной эндодонтии.

Материалы и методы: Основой для создания биоматериала и получения мезенхимальных стволовых клеток (МСК) была пульпа зуба третьих моляров, удаленных по ортодонтическим показаниям у пациентов в возрасте от 14 до 18 лет. Образцы пульпы подвергались детергентно-энзиматической обработке для получения децеллюляризированного каркаса. Оценка пролиферативной активности и жизнеспособности МСК пульпы зуба после культивирования с каркасом пульпы зуба осуществлялась с помощью окрашивания трипановым синим и ХТТ-теста. Для оценки тканевой реакции проводилась подкожная имплантация нативной и децеллюляризированной пульпы зуба крысам линии Вистар, на 7-е и 14-е сут. осуществляли эксплантацию образцов для окрашивания гематоксилин-эозином.

Результаты: Результаты детергентно-энзиматической обработки пульпы зуба показали отсутствие ядерного материала, при этом гистоархитектоника пульпы зуба незначительно нарушалась. Содержание ДНК в образцах децеллюляризированного каркаса составило $22,79 \pm 2,1$ нг/мг ткани, количество ДНК в нативных образцах – $78,5 \pm 5,4$ нг/мг ткани. По результатам ХТТ-теста не было установлено цитотоксичности децеллюляризированного каркаса по отношению к МСК. Биоптаты крыс, которым была имплантирована децеллюляризированная пульпа зуба, характеризовались отсутствием признаков воспаления.

Заключение: Полученные результаты позволят в дальнейшем создать биоматериал, который послужит основой тканеинженерной конструкции пульпы зуба и может быть использован для регенерации пульпо-дентинного комплекса.

Ключевые слова: регенерация пульпы зуба, децеллюляризированная пульпа зуба, регенерация пульпо-дентинного комплекса, регенеративная эндодонтия, регенеративная медицина, децеллюляризация

Цитировать: Мелконян К.И., Русинова Т.В., Запорожская-Абрамова Е.С. и др. Комплексная оценка децеллюляризированной пульпы зуба в качестве нового биоматериала для регенерации пульпо-дентинного комплекса. *Инновационная медицина Кубани*. 2024;9(4):93–100. <https://doi.org/10.35401/2541-9897-2024-9-4-93-100>

Comprehensive Evaluation of Decellularized Dental Pulp as a New Biomaterial for Regeneration of the Pulp-Dentin Complex

©Karina I. Melkonian*, Tatyana V. Rusinova, Ekaterina S. Zaporozhskaya-Abramova, Elizaveta A. Solop, Igor I. Kartashevskiy, Sofiya A. Knyshova, Olga N. Risovannaya

Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

* Karina I. Melkonian, Scopus *h*-index 3, Kuban State Medical University, ulitsa M. Sedina 4, Krasnodar, 350063, Russian Federation, cnil.ksma@yandex.ru

Received: April 11, 2024. Received in revised form: May 21, 2024. Accepted: June 14, 2024.

Abstract

Objective: To develop a detergent-enzymatic method and evaluate the quality of a decellularized pulp scaffold for regenerative endodontics.

Materials and methods: Biomaterial and mesenchymal stem cells (MSCs) were derived from dental pulp that was obtained following third molar extraction indicated for orthodontic reasons in patients aged 14-18 years. The detergent-enzymatic method enabled to obtain a decellularized scaffold from pulp samples. The proliferative activity and viability of dental pulp-derived MSCs were



assessed using trypan blue staining and XTT assay. To assess tissue response, Wistar rats underwent subcutaneous implantation of native and decellularized dental pulp. Explanted samples were stained with hematoxylin-eosin on days 7 and 14.

Results: The detergent-enzymatic treatment of the dental pulp demonstrated the absence of nuclear material, whereas the histoarchitecture of the dental pulp was disturbed. The DNA content in the sample of the decellularized scaffold was 22.79 ± 2.1 ng/mg of tissue; the amount of DNA in the native sample was 78.5 ± 5.4 ng/mg of tissue. According to XTT assay results, no cytotoxicity of the decellularized scaffold against MSCs was found. Biopsy specimens of the rats with implanted decellularized dental pulp were characterized by no signs of inflammation.

Conclusions: The study results will enable to create a biomaterial that can be the base of a tissue-engineered structure of the dental pulp and be used for the regeneration of the pulp-dentin complex.

Keywords: dental pulp regeneration, decellularized dental pulp, dentin-pulp complex regeneration, regenerative endodontics, regenerative medicine, decellularization

Cite this article as: Melkonian KI, Rusinova TV, Zaporozhskaya-Abramova ES, et al. Comprehensive evaluation of decellularized dental pulp as a new biomaterial for regeneration of the pulp-dentin complex. *Innovative Medicine of Kuban*. 2024;9(4):93–100. <https://doi.org/10.35401/2541-9897-2024-9-4-93-100>

Введение

Пульпа зуба является составной частью пульпо-дентинного комплекса и выполняет важные функции для поддержания целостности и жизнеспособности зуба, в частности, обеспечивает чувствительность и питание зуба, способствует образованию дентина в случае повреждения, а также является главным источником мезенхимальных стволовых клеток (МСК), благодаря которым и происходит регенерация тканей [1–3]. Около 48% людей в мире имеют эндодонтические патологии, большая часть которых приходится на заболевания пульпы зуба. Распространенными заболеваниями пульпы зуба являются пульпит и некроз пульпы, которые могут быть вызваны травмой, кариесом зуба или ятрогенными причинами [2]. При традиционном лечении данных заболеваний обычно удаляют поврежденную пульпу и осуществляют obturation каналов зуба синтетическими стоматологическими материалами [4, 5]. Данная манипуляция часто приводит к потере большинства биологических функций зуба, который впоследствии становится восприимчивым к инфекциям и повреждениям из-за отсутствия регенерационного потенциала, который ранее обеспечивали МСК пульпы. Несмотря на отсутствие клинической симптоматики, витальность зуба не восстанавливается [6]. В связи с этим идет активный поиск альтернативных методов лечения заболеваний пульпы и развитие регенеративной эндодонтии.

Регенеративная эндодонтия представляет собой одну из самых сложных и передовых тем в регенеративной стоматологии, целью которой является внедрение альтернативных вариантов классических стратегий лечения обратимых форм воспаления пульпы [7–14]. Наиболее перспективным направлением является использование различного рода тканевых каркасов. Идеальный каркас должен быть биосовместимым, нецитотоксичным, оставаться стабильным и обеспечивать клеточную поддержку, васкуляризацию, не должен вызывать воспалительную реакцию [9–15]. Многообещающим является использование биологических каркасов, состоящих из внеклеточного матрикса (ВКМ), полученных в результате

децеллюляризации тканей [2–10]. ВКМ обеспечивает не только механическую поддержку клеток, но также действует как регулирующий фактор во многих биологических процессах, таких как воспаление, ангиогенез, ремоделирование и регенерация. На данный момент существуют исследования, которые посвящены разработке различных подходов к созданиюдецеллюляризованных каркасов пульпы зуба [11–13]. Самыми распространенными методамидецеллюляризации пульпы являются физические, химические и детергентно-энзиматические. Однако они требуют дальнейшей оптимизации, так как при использовании «агрессивной»децеллюляризации полученный каркас обладает цитотоксичностью из-за высокой концентрации остаточных реагентов, а при «мягкой»децеллюляризации наблюдается иммунный ответ на алло- и ксеногенные компоненты имплантируемых материалов [16].

Цель

Разработка детергентно-энзиматического метода получениядецеллюляризованного каркаса пульпы зуба и оценка его качества для использования в регенеративной эндодонтии.

Материалы и методы

Пульпа зуба была получена при удалении третьих моляров у пациентов в возрасте от 14 до 18 лет ($n=37$) по ортодонтическим показаниям после получения информированного согласия пациента или его законного представителя. После удаления зуб промывали фосфатно-солевым буфером и просушивали. Для сохранения структурной целостности пульпы зуба экстирпацию проводили путем раскалывания зуба, после пульпу зуба замораживали и хранили при -80°C не более 6 мес. На рисунке 1 представлен дизайн исследования.

Детергентно-энзиматическаядецеллюляризация проводилась с помощью пошаговой обработки пульпы зуба растворами ферментов и детергентов в соотношении 1:10. Образцы обрабатывали раствором Трипсина-Версена (БиолоТ, Россия) при температуре $+37^{\circ}\text{C}$ на шейкере-инкубаторе Excella E24 (New

Brunswick, Канада) при 150 оборотах в мин в течение 6 ч, со сменой растворов через каждые 2 ч; последовательно двукратно воздействовали на шейкере PSU-10i (Biosan, Латвия) при 100 оборотах в мин растворами 1%-го Тритона X-100 (Sigma-Aldrich, США) в течение 3 ч и 4%-м раствором дезоксихолата натрия (Sigma-Aldrich, США) в течение 3 ч. Далее образцы промывали дистиллированной водой и обрабатывали свиной панкреатической ДНКазой (Sigma-Aldrich, США) в течение 4 ч при температуре +37 °C на шейкере-инкубаторе Excella E24 (New Brunswick, Канада) при 150 оборотах в мин. Общее время обработки образцов пульпы составило 22 ч.

Оценка сохранности гистологической структуры после децеллюляризации проводилась путем окрашивания гематоксилин-эозином нативных и обработанных образцов пульпы зуба.

Количественное определение содержания ДНК в нативном образце пульпы зуба и в разработанном децеллюляризованном каркасе выполняли на спектрофотометре NanoDrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific Inc., США) с использованием набора реагентов «DNeasy Blood & Tissue Kit» (Qiagen, Швеция) по протоколу фирмы-изготовителя.

Для проведения теста на цитотоксичность были выделены МСК из пульпы зуба. Для этого измельчали нативную пульпу, взятую из зуба с несформированной апикальной частью (n=2) и инкубировали в 0,1%-м растворе коллагеназы I-го типа (STEMCELL, Канада), полученную клеточную суспензию центрифугировали, осадок ресуспендировали в полной питательной среде (ППС) и высевали на клеточные флаконы. Дальнейшее культивирование клеток осуществлялось в CO₂-инкубаторе Galaxy 170S (New Brunswick, Канада) при температуре 37 °C со сменой ППС каждые 3 дня.

Чтобы оценить метаболическую и пролиферативную активность клеток в присутствии разработанного каркаса пульпы *in vitro* использовали ХТТ-тест (Biological Industries, Израиль) – колориметрический метод с использованием соли тетразолия ХТТ (2,3-бис-(2-метокси-4-нитро-5-сульфопенил)-2Н-тетразолий-5-карбоксанид), которая образует стойко окрашенный формазан при взаимодействии с продуктами метаболизма дыхательной цепи. МСК пульпы зуба инкубировали в течение суток с децеллюляризованным каркасом пульпы (10 тыс. клеток на лунку). Положительным контролем служила суспензия МСК пульпы зуба в ППС, отрицательным контролем только ППС. В ячейки 96-луночного планшета вносили по 100 мкл исследуемой суспензии и добавляли 50 мкл реакционного раствора. Инкубировали в течение 4 ч при +37 ° в CO₂-инкубаторе Galaxy 170S (New Brunswick, США). Измерения проводили с помощью многофункционального микропланшетного ридера FilterMax F5 (Molecular Devices, США) на длине волны 450 нм.

Оценка жизнеспособности МСК после культивирования в течение 48 ч в 6-луночном планшете с каркасом пульпы зуба проводилась с помощью окрашивания пробы 0,4%-м трипановым синим (Sigma Aldrich, США) в соотношении 1:1. Контролем служила культура МСК в ППС, подсчет количества живых и мертвых клеток проводили в камере Горяева (Минимед, Россия). Количество живых и мертвых клеток (N) в 1 мл ППС подсчитывали по формуле:

$$N = k \times n \times 10^4,$$

где n – количество живых или мертвых клеток, подсчитанных в 25 больших квадратах; k – коэффициент разведения.

Процент жизнеспособности клеток рассчитывали как отношение количества живых клеток к общему количеству клеток. Пролиферативную активность рассчитывали как отношение количества живых клеток к исходному количеству клеток ($1,0 \times 10^5$).

Для оценки местной токсичности разработанного децеллюляризованного каркаса проводилась подкожная имплантация в межлопаточной зоне крыс породы Вистар (n=10) возрастом 6 мес., массой 250±50 г. Животных разделили на контрольную группу с образцами нативной пульпы и на экспериментальную с образцами децеллюляризованной пульпы зуба. На 7-е и 14-е сут. после подкожной имплантации проводили забор материала с прилежащими тканями для исследования гистоморфологической картины. Гистологический анализ включал в себя рутинное окрашивание гематоксилин-эозином. Исследование проводили на нескольких срезах с использованием микроскопа Olympus CX41 (Olympus, Япония), изображения обрабатывали с помощью программного обеспечения Olympus cellSens Entry (Olympus, Япония).

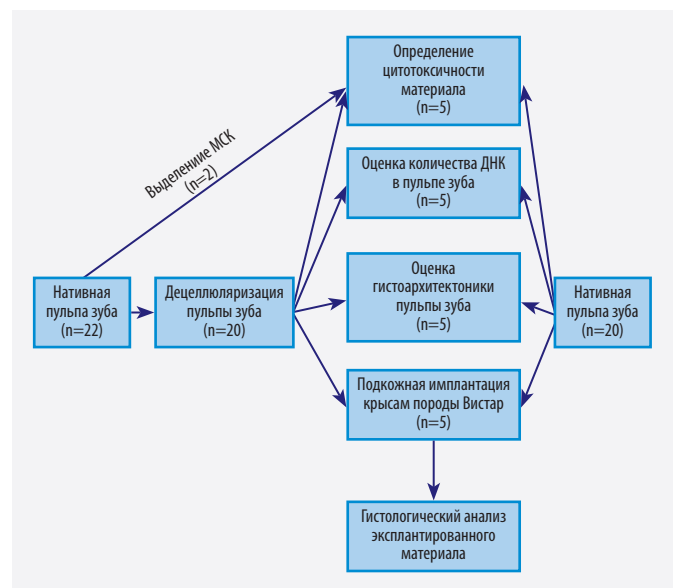


Рисунок 1. Дизайн исследования
Figure 1. Study design

Все манипуляции соответствовали требованиям приказа Минздрава России от 23.08.2010 г. №708н «Об утверждении Правил лабораторной практики» и Федерального закона РФ «О защите животных от жестокого обращения» от 01.12.1999 г.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программ Microsoft Excel 2016 и GraphPad Prism 6.04. Данные представляли в виде $M \pm S$, где M – среднее арифметическое, S – стандартное отклонение. Различия считали значимыми при $p < 0,05$ по критерию Манна-Уитни.

Результаты

Процесс создания каркаса пульпы зуба включал два этапа. На первом этапе производился раскол третьих моляров без кариеса и с различной степенью кариозного повреждения и забор нативной пульпы. Из 50 зубов было получено только 40 образцов, подходящих для дальнейшей обработки, в зубах с сильным кариесом пульпа была гнойной или наблюдалось необратимое воспаление пульпы зуба. В ходе исследования было выявлено, что для получения каркаса пульпы зуба можно

использовать третьи моляры, подвергшиеся слабому кариозному повреждению. Следующим шагом проводили детергентно-энзиматическую децеллюляризацию, в ходе которой были получены каркасы пульпы зуба, при этом специфическая форма сохранялась (рис. 2).

Гистологическая оценка после детергентно-энзиматической обработки пульпы зуба показала отсутствие ядерного материала, при этом гистоархитектоника пульпы зуба значительно нарушалась, но ее тканеспецифическая структура сохранялась (рис. 3).

Количество ДНК в нативных образцах пульпы зуба составило $78,5 \pm 5,4$ нг/мг ткани, содержание ДНК в исследуемых образцах децеллюляризованного каркаса пульпы составило $22,79 \pm 2,1$ нг/мг ткани ($p < 0,05$ по отношению к нативным образцам), что соответствовало требованиям к качеству имплантируемых биологических материалов в отношении количества ДНК – менее 50 нг/мг ткани, по данным Р.М. Старо и соавт. (2011) [17].

Гистологический анализ образцов тканей после подкожной имплантации нативной пульпы и децеллюляризованного каркаса показал, что в образцах

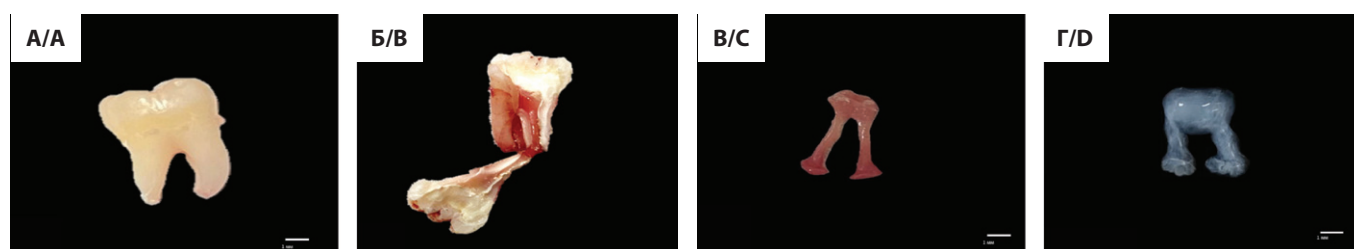


Рисунок 2. Этапы создания децеллюляризованного каркаса пульпы зуба: А – несформированный третий моляр; Б – распил третьего моляра; В – нативная пульпа третьего моляра; Г – пульпа после детергентно-энзиматической децеллюляризации

Figure 2. Making of a decellularized dental pulp scaffold: A, unformed third molar; B, third molar cutting; C, native pulp of the third molar; D, pulp after detergent-enzymatic decellularization

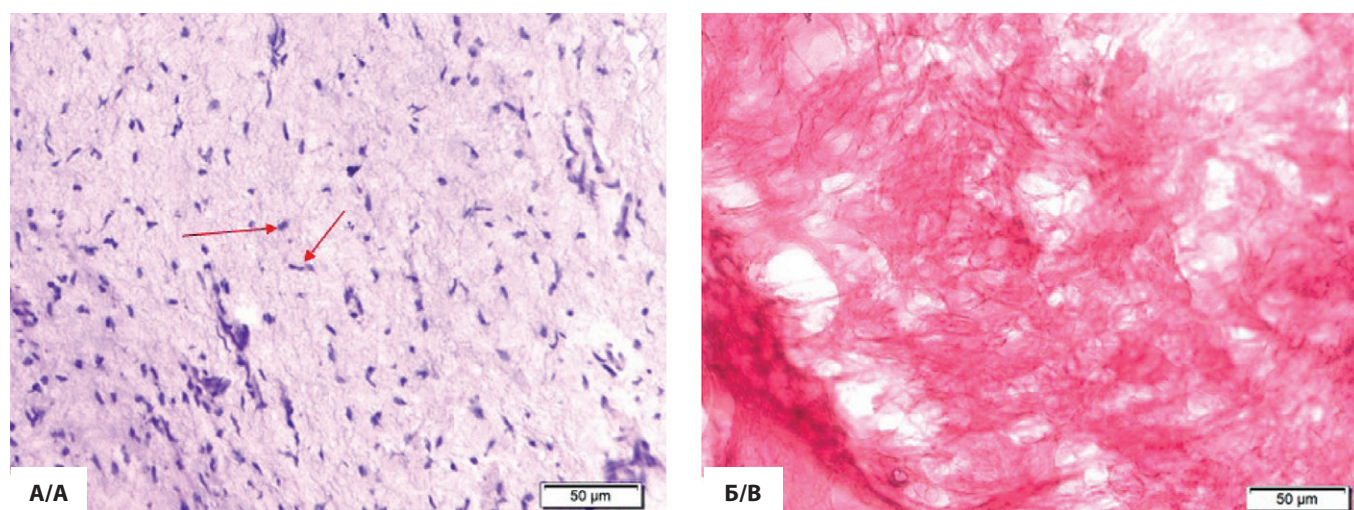


Рисунок 3. Гистологическая структура пульпы зуба: А – нативный образец, стрелками указаны клеточные ядра; Б – пульпа зуба после детергентно-энзиматической децеллюляризации. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

Figure 3. Histological structure of the dental pulp: A, native specimen, arrows indicate cell nuclei; B, dental pulp after detergent-enzymatic decellularization. Hematoxylin-eosin, magnification $\times 200$

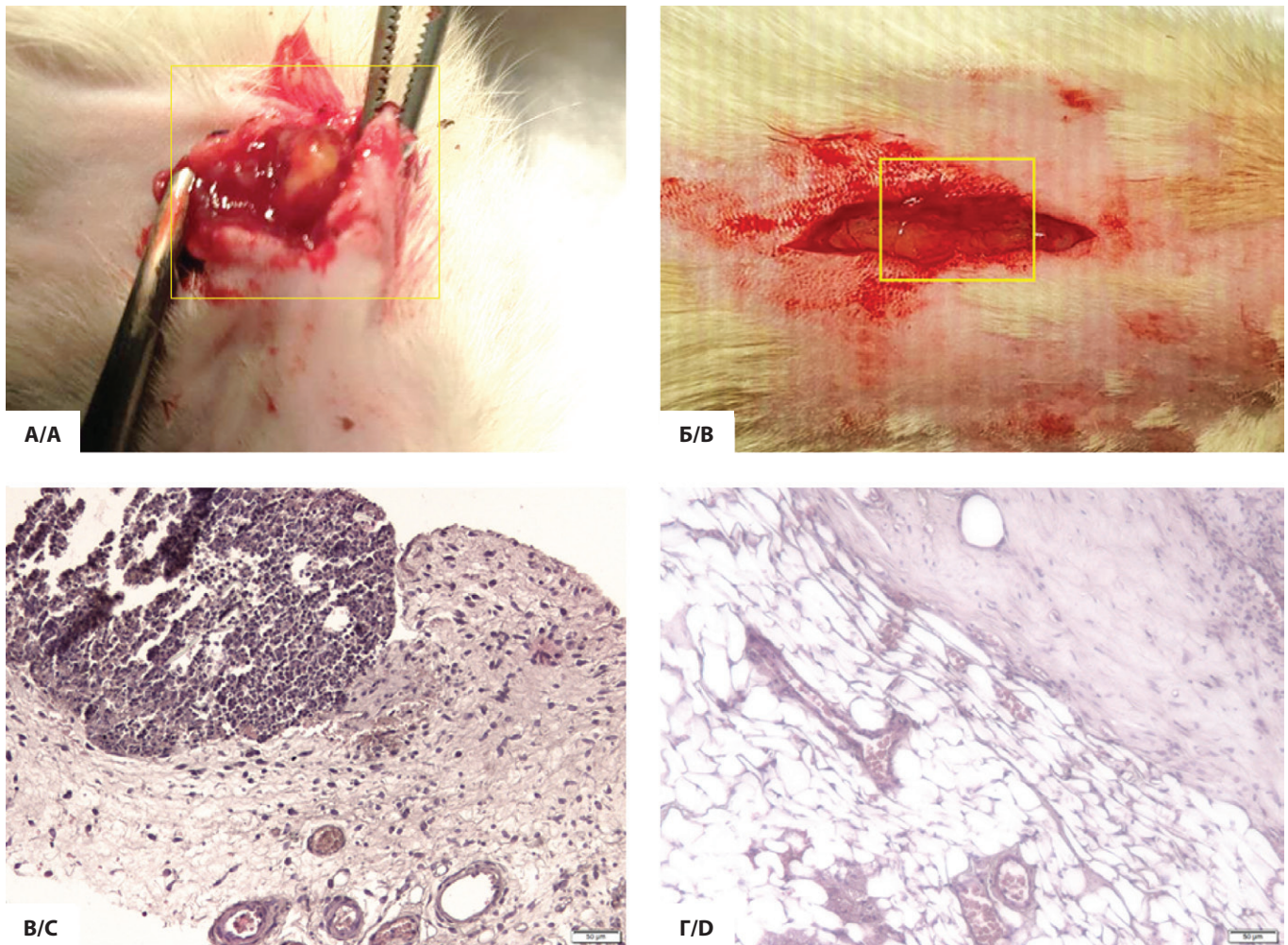


Рисунок 4. Результаты подкожной имплантации на 7-е сут.: А – эксплантация нативной пульпы; Б – эксплантация децеллюляризированной пульпы; В, Г – гистологическая картина эксплантированных образцов нативной и децеллюляризированной пульпы соответственно, окрашивание гематоксилин-эозином, ув. $\times 200$

Figure 4. Subcutaneous implantation results on day 7: A, native pulp explantation; B, decellularized pulp explantation; C-D, histological pattern of explanted samples of the native and decellularized pulp, respectively. Hematoxylin-eosin, magnification $\times 200$

с нативной пульпой на 7-е сут. присутствовали заметные признаки воспалительной инфильтрации в месте прилежащих тканей и инкапсуляции материала, в частности, образование экссудата вокруг имплантированного материала (рис. 4 А, В). Биоптаты крыс, получивших в качестве имплантата децеллюляризированную пульпу зуба, характеризовались отсутствием признаков воспаления и миграцией клеток в имплантированный каркас (рис. 4 Б, Г).

На 14-е сут. в образцах с нативной пульпой гистологическая картина характеризовалась слабой воспалительной реакцией. Анализ биоптатов с децеллюляризированной пульпой показал достаточную интеграцию образцов в окружающие ткани и отсутствие воспалительной реакции. Таким образом, морфологический анализ полученных данных подтвердил безопасность и биосовместимость разработанного каркаса пульпы зуба.

По результатам ХТТ-теста, значения которого представлены на рисунке 5, децеллюляризированный каркас не проявлял цитотоксичность по отношению

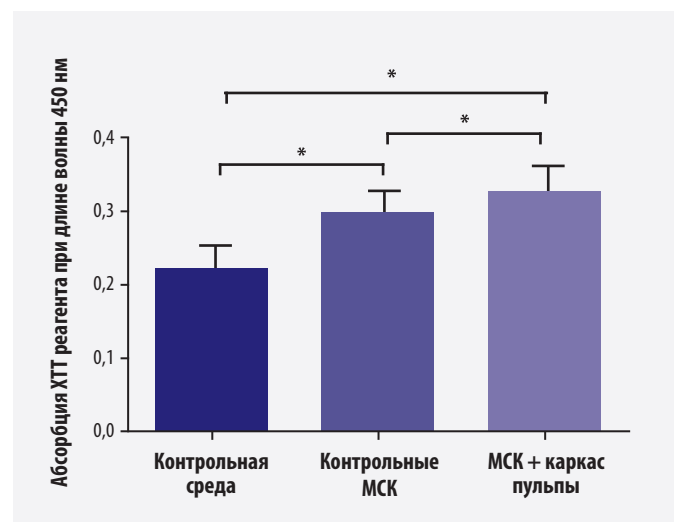


Рисунок 5. Результаты колориметрического метода с использованием соли тетразолия ХТТ. МСК – мезенхимальные стволовые клетки, * – $p < 0,05$

Figure 5. Results of the colorimetric method using tetrazolium salt XTT. MСК, mesenchymal stem cells; *, $P < .05$

к МСК. При этом МСК при совместном культивировании с каркасом пульпы зуба продемонстрировали значимо более высокие значения ХТТ-теста, чем контрольные образцы ($p < 0,05$), что может косвенно свидетельствовать о положительном влиянии децеллюляризованного каркаса на метаболическую активность клеток.

Оценка жизнеспособности МСК после 48 ч культивирования с каркасом пульпы показала, что в 1 мл исследуемой суспензии было $82 \pm 3\%$ живых клеток, тогда как в контрольном образце было $78 \pm 3\%$ живых клеток в 1 мл. В ходе анализа пролиферативной активности клеток индекс пролиферации исследуемого образца составлял 1,91, а индекс пролиферации контроля – 0,86. Таким образом можно сделать вывод о том, что разработанный материал способствовал лучшей пролиферативной активности по сравнению с контрольным образцом, а также не обладал цитотоксичностью. Полученные данные показали, что разработанный каркас пульпы является безопасным для дальнейшей имплантации.

Обсуждение

Методика регенеративной эндодонтии, которая в мировой литературе именуется как «реваскуляризация» или «ревитализация» пульпы, основывается на принципах тканевой инженерии и определяется как комплекс биологических мероприятий, направленных на замещение пульпо-дентинного комплекса тканью, предпочтительно имеющей сходное происхождение, которая обеспечивала бы дальнейший физиологический рост корня и функционирование зуба. Однако недавно опубликованный систематический обзор и метаанализ показали, что имеющиеся на данный момент результаты не могут дать окончательных выводов об успешности и предсказуемости этого метода [18]. Одна из причин, по-видимому, заключается в том, что современные методы не всегда соответствуют критериям «золотого стандарта» биоинженерии – комплекса пульпа-дентин, причем одним из решающих факторов является выбор подходящего каркаса для успешной регенерации тканей. Разработка децеллюляризованного каркаса с полной элиминацией донорских клеток и антигенов при сохранении структуры ВКМ может стать отличной платформой для регенерации тканей [10]. Так, L. Hu и соавт. (2017) провели ряд экспериментов, которые показали, что децеллюляризованную пульпу зуба свиньи можно использовать в качестве ксеногенного биокаркаса для регенерации пульпы зуба человека. Исследователи для децеллюляризации использовали 1%-й раствор додецилсульфата натрия (SDS) в течение 24 ч и 1%-й раствор Тритон X-100 в течение 24 ч. Однако такой метод обработки пульпы зуба негативно влияет на гистоархитектонику и структуру каркаса пульпы

зуба, что будет отрицательно сказываться на дальнейшей имплантации и регенерации [2]. I.N. Kim и соавт. (2021) разработали методику для децеллюляризации пульпы зуба человека, главной особенностью которой было промывание образцов 10%-й этилендиаминтетрауксусной кислотой после каждого цикла обработки раствором SDS и 1%-м Тритон X-100. В ходе работы исследователи не обнаружили иммуногенной реакции при трансплантации такого материала, так как при децеллюляризации были удалены клеточные компоненты и количество ДНК не превышало 50 нг на 1 мг сухого веса [15]. Однако главным недостатком раннее проведенных исследований в области децеллюляризации тканей для каркасов является применение агрессивных детергентов, в частности SDS, которые могут оставаться в разрабатываемом каркасе в виде потенциальных токсинов [19]. В результате нашего исследования был разработан и протестирован алгоритм обработки пульпы, основанный на пошаговом воздействии ферментами и детергентами (растворы Трипсин-Версена, 1%-й Тритон X-100, 4%-й дезоксихолат натрия и панкреатическая ДНКаза), в ходе которого был получен биобезопасный материал для регенерации пульпо-дентинного комплекса, обладающий необходимыми свойствами для дальнейшего применения в качестве хирургического имплантата.

Таким образом, на сегодняшний день не существует каркаса пульпы зуба, который бы полностью воспроизводил микроокружение пульпы зуба, индуцируя прямую дифференцировку стволовых клеток. Тем не менее использование децеллюляризованных каркасов является перспективным направлением. Биоматериал на основе децеллюляризованной пульпы зуба позволит преодолеть трудности в эндодонтической регенеративной практике, поскольку каркас будет не только покрывать открытые участки пульпы, но и иметь тканеспецифичную структуру, которая сможет обеспечить пролиферацию клеток и длительное поддержание витальности пульпы зуба.

Заключение

В результате проведенных исследований была доказана биосовместимость разработанного биоматериала. Результаты детергентно-энзиматической обработки пульпы зуба показали отсутствие ядерного материала, при этом гистоархитектоника пульпы зуба нарушалась незначительно. Содержание ДНК в исследуемом образце децеллюляризованного каркаса соответствовало требованиям к качеству имплантируемых биологических материалов. Полученные результаты позволят в дальнейшем разработать биоматериал, который послужит основой тканеинженерной конструкции пульпы зуба и может быть использован для регенерации пульпо-дентинного комплекса.

Вклад авторов

Разработка концепции и дизайна исследования:

К.И. Мелконян, Е.С. Запорожская-Абрамова
Сбор, анализ и интерпретация данных: К.И. Мелконян,
 Т.В. Русинова, Е.А. Солоп, И.И. Карташевский,
 С.А. Кнышова

Проведение статистического анализа: К.И. Мелконян,

Т.В. Русинова, Е.А. Солоп, И.И. Карташевский,

С.А. Кнышова

Подготовка и редактирование текста: Е.С. Запорожская-

Абрамова, Т.В. Русинова, Е.А. Солоп, О.Н. Рисованная

Author contributions

Concept and design: Melkonian, Zaporozhskaya-Abramova

Acquisition, analysis, or interpretation of data: Melkonian,

Rusinova, Solop, Kartashevskiy, Knyshova

Statistical analysis: Melkonian, Rusinova, Solop, Kartashevskiy,
 Knyshova

Manuscript drafting and revising: Zaporozhskaya-Abramova,

Rusinova, Solop, Risovannaya

Литература/References

1. Xie Z, Shen Z, Zhan P, et al. Functional dental pulp regeneration: basic research and clinical translation. *Int J Mol Sci.* 2021;22(16):8991. PMID: 34445703. PMCID: PMC8396610. <https://doi.org/10.3390/ijms22168991>
2. Hu L, Gao Z, Xu J, et al. Decellularized swine dental pulp as a bioscaffold for pulp regeneration. *Biomed Res Int.* 2017;2017:9342714. PMID: 29387727. PMCID: PMC5745671. <https://doi.org/10.1155/2017/9342714>
3. Jakovljevic A, Nikolic N, Jacimovic J, et al. Prevalence of apical periodontitis and conventional nonsurgical root canal treatment in general adult population: an updated systematic review and meta-analysis of cross-sectional studies published between 2012 and 2020. *J Endod.* 2020;46(10):1371–1386.e8. Published correction appears in *J Endod.* 2021;47(2):336. PMID: 32673634. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.07.007>
4. Galler KM, Eidt A, Schmalz G. Cell-free approaches for dental pulp tissue engineering. *J Endod.* 2014;40(4 Suppl):S41–S45. PMID: 24698692. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.01.014>
5. Duncan HF. Present status and future directions-vital pulp treatment and pulp preservation strategies. *Int Endod J.* 2022;55 Suppl 3(Suppl 3):497–511. PMID: 35080024. PMCID: PMC9306596. <https://doi.org/10.1111/iej.13688>
6. Nowwarote N, Petit S, Ferre FC, et al. Extracellular matrix derived from dental pulp stem cells promotes mineralization. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022;9:740712. PMID: 35155398. PMCID: PMC8829122. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.740712>
7. Na S, Zhang H, Huang F, et al. Regeneration of dental pulp/dentine complex with a three-dimensional and scaffold-free stem-cell sheet-derived pellet. *J Tissue Eng Regen Med.* 2016;10(3):261–270. PMID: 23365018. <https://doi.org/10.1002/term.1686>
8. Lopes LB, Neves JA, Botelho J, Machado V, Mendes JJ. Regenerative endodontic procedures: an umbrella review. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(2):754. PMID: 33561086. PMCID: PMC7830213. <https://doi.org/10.3390/ijerph18020754>
9. Hameed MH, Gul M, Ghafoor R, Badar SB. Management of immature necrotic permanent teeth with regenerative endodontic procedures - a review of literature. *J Pak Med Assoc.* 2019;69(10):1514–1520. PMID: 31622308.
10. Matoug-Elwerfelli M, Duggal MS, Nazzal H, Esteves F, Raif E. A biocompatible decellularized pulp scaffold for regenerative endodontics. *Int Endod J.* 2018;51(6):663–673. PMID: 29197101. <https://doi.org/10.1111/iej.12882>

11. Bakhtiar H, Rajabi S, Pezeshki-Modaress M, et al. Optimizing methods for bovine dental pulp decellularization. *J Endod.* 2021;47(1):62–68. PMID: 33049226. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.08.027>

12. Adanir N, Khurshid Z, Ratnayake J. The regenerative potential of decellularized dental pulp extracellular matrix: a systematic review. *Materials (Basel).* 2022;15(18):6386. PMID: 36143698. PMCID: PMC9505725. <https://doi.org/10.3390/ma15186386>

13. Lee DJ, Miguez P, Kwon J, et al. Decellularized pulp matrix as scaffold for mesenchymal stem cell mediated bone regeneration. *J. Tissue Eng.* 2020;11:2041731420981672. PMID: 33414903. PMCID: PMC7750895. <https://doi.org/10.1177/2041731420981672>

14. Alqahtani Q, Zaky SH, Patil A, Beniash E, Ray H, Sfeir C. Decellularized swine dental pulp tissue for regenerative root canal therapy. *J Dent Res.* 2018;97(13):1460–1467. PMID: 30067420. <https://doi.org/10.1177/0022034518785124>

15. Kim IH, Jeon M, Cheon K, et al. In vivo evaluation of decellularized human tooth scaffold for dental tissue regeneration. *Appl Sci (Basel).* 2021;11(18):8472. PMID: 36003951. PMCID: PMC9397400. <https://doi.org/10.3390/app11188472>

16. Bakhtiar H, Pezeshki-Modaress M, Kiaipour Z, et al. Pulp ECM-derived macroporous scaffolds for stimulation of dental-pulp regeneration process. *Dent Mater.* 2020;36(1):76–87. PMID: 31735424. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2019.10.011>

17. Crapo PM, Gilbert TW, Badylak SF. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials.* 2011;32(12):3233–3243. PMID: 21296410. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.01.057>

18. Nazzal H, Kenny K, Altimimi A, Kang J, Duggal MS. A prospective clinical study of regenerative endodontic treatment of traumatized immature teeth with necrotic pulps using bi-antibiotic paste. *Int Endod J.* 2018;51 Suppl 3:e204–e215. PMID: 28653761. <https://doi.org/10.1111/iej.12808>

19. Soares DG, Bordini EAF, Swanson WB, de Souza Costa CA, Bottino MC. Platform technologies for regenerative endodontics from multifunctional biomaterials to tooth-on-a-chip strategies. *Clin Oral Investig.* 2021;25(8):4749–4779. PMID: 34181097. PMCID: PMC8546585. <https://doi.org/10.1007/s00784-021-04013-4>

Сведения об авторах

Мелконян Карина Игоревна, к. м. н., доцент, заведующая центральной научно-исследовательской лабораторией, Кубанский государственный медицинский университет (Краснодар, Россия). <https://orcid.org/0000-0003-2451-6813>

Русинова Татьяна Викторовна, к. б. н., научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории, Кубанский государственный медицинский университет (Краснодар, Россия). <https://orcid.org/0000-0003-2962-3212>

Запорожская-Абрамова Екатерина Сергеевна, к. м. н., доцент кафедры терапевтической стоматологии, Кубанский государственный медицинский университет (Краснодар, Россия). <https://orcid.org/0000-0003-0675-6581>

Солоп Елизавета Александровна, лаборант-исследователь центральной научно-исследовательской лаборатории, Кубанский государственный медицинский университет (Краснодар, Россия). <https://orcid.org/0000-0002-5269-6578>

Карташевский Игорь Игоревич, студент 4-го курса стоматологического факультета, Кубанский государственный медицинский университет (Краснодар, Россия). <https://orcid.org/0000-0001-5725-6902>

Кнышова София Александровна, студентка 6-го курса стоматологического факультета, Кубанский государственный медицинский университет (Краснодар, Россия). <https://orcid.org/0009-0001-0108-7537>

Рисованная Ольга Николаевна, д. м. н., доцент, профессор кафедры стоматологии, Кубанский государственный медицинский университет (Краснодар, Россия). <https://orcid.org/0000-0001-9585-4444>

Финансирование

Исследование финансировалось в рамках НИР «Клеточные механизмы регенерации органов и тканей. Разработка тканеинженерных конструкций с использованием биологических и синтетических каркасов» (рег. №124022200013-7).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Авторы статьи выражают благодарность сотрудникам вивария ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, стоматологической клинике Д'этал.

Author credentials

Karina I. Melkonian, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Central Research Laboratory, Kuban State Medical University (Krasnodar, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0003-2451-6813>

Tatyana V. Rusinova, Cand. Sci. (Bio.), Researcher at the Central Research Laboratory, Kuban State Medical University

(Krasnodar, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0003-2962-3212>

Ekaterina S. Zaporozhskaya-Abramova, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor at the Therapeutic Dentistry Department, Kuban State Medical University (Krasnodar, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0003-0675-6581>

Elizaveta A. Solop, Laboratory Research Technician, Central Research Laboratory, Kuban State Medical University (Krasnodar, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0002-5269-6578>

Igor I. Kartashevskiy, 4th Year Student, Faculty of Dentistry, Kuban State Medical University (Krasnodar, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0001-5725-6902>

Sofiya A. Knysheva, 6th Year Student, Faculty of Dentistry, Kuban State Medical University (Krasnodar, Russian Federation). <https://orcid.org/0009-0001-0108-7537>

Olga N. Risovannaya, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Professor at the Dentistry Department, Kuban State Medical University (Krasnodar, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0001-9585-4444>

Funding:

The study was funded as part of the research project “Cellular Mechanisms of Organ and Tissue Regeneration. Development of Tissue-Engineered Structures Using Biological and Synthetic Scaffolds” (Registration No. 124022200013-7).

Conflict of interest: none declared.

Acknowledgments:

We thank staff of the Kuban State Medical University vivarium and D'etal dental clinic.