

**ყბა–სახის ძვლების დეფექტების აღდგენა სამგანზომილებიანი
ძვლოვანი მატრიქსის და ბარიერული მემბრანის გამოყენებით**

ანა კაკაბაძე

*სადისერტაციო ნაშრომი წარდგენილია ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტის
საბუნებისმეტყველო მეცნიერებებისა და საინჟინრო ფაკულტეტზე მედიცინის
დოქტორის აკადემიური ხარისხის მინიჭების მოთხოვნების შესაბამისად*

მედიცინის სადოქტორო პროგრამა

**სამეცნიერო ხელმძღვანელი: გიორგი მენაბდე, მედიცინის მეცნიერებათა
დოქტორი, პროფესორი**

ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი

თბილისი 2016

განაცხადი

როგორც წარდგენილი სადისერტაციო ნაშრომის ავტორი, ვაცხადებ, რომ ნაშრომი წარმოადგენს ჩემს ორიგინალურ ნამუშევარს და არ შეიცავს სხვა ავტორების მიერ აქამდე გამოქვეყნებულ, გამოსაქვეყნებლად მიღებულ ან დასაცავად წარდგენილ მასალებს, რომლებიც ნაშრომში არ არის მოხსენიებული ან ციტირებული სათანადო წესების შესაბამისად.

ანა კაკაბაძე,

3 ოქტომბერი 2016

აბსტრაქტი

ყბა-სახის ქირურგიაში ერთ-ერთ საკმაოდ აქტუალურ პრობლემას წარმოადგენს სიმსივნის რეზექციის, ტრავმის ან ინფექციის შედეგად წარმოქმნილი ქვედა ყბის ძვლის დეფექტების აღდგენა. ერთ-ერთ ძირითად პირობას, რომელიც განსაზღვრავს ძვლის დეფექტის რეგენერაციის სისწრაფეს, წარმოადგენს ფრაგმენტებს შორის არსებული დაშორება. სამედიცინო ლიტერატურაში ფართოდ გამოიყენება ტერმინი ძვლის დეფექტის კრიტიკული ზომა, რომლის დროსაც ქირურგიული ან რაიმე სხვა ჩარევის გარეშე, ვერ ხორციელდება დაზიანებული ძვლოვანი ქსოვილის სრული რეპარაციული რეგენერაცია. დღეისათვის მოწოდებულია მრავალი აუტო, ალო, ქსენო, სინთეტიკური და ბიოსინთეტიკური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტები, რომლებიც გამოიყენება ყბა-სახის ძვლოვანი დეფექტის აღსადგენად. აუტოლოგური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტი მიჩნეულია ოქროს სტანდარტად. თუმცა დიდი ზომის ძვლის დეფექტების არსებობის დროს აუტოლოგური ტრანსპლანტანტების გამოყენება შეზღუდულია. გარდა ამისა აუტოლოგური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის ძირითად უარყოფით თვისებას წარმოადგენს მისი მიღებისათვის დამატებითი ქირურგიული ოპერაციის ჩატარების აუცილებლობა. ჩვენი კვლევის ძირითად მიზანს წარმოადგენდა ახალი ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის შექმნა და მისი გამოყენება ყბა-სახის ძვლოვანი დეფექტების რეკონსტრუქციაში. ბიოინჟინერიის მეთოდების გამოყენებით მსხვილფეხა რქოსანი საქონლის ბარძაყის ძვლისაგან მიღებული იყო სამგანზომილებიანი დეცელულარიზირებული ძვლოვანი მატრიქსი. პარაკრინული ფაქტორები ლიოფილიზაციის მეთოდების გამოყენებით მიღებულ იქნა ადამიანის ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედებისაგან. კვლევის პრეკლინიკურ ნაწილში

შესრულდა ქვედა ყბის ძვლის დეფექტის მოდელირება და მოხდა შექმნილი დეფექტის რეკონსტრუქცია ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის გამოყენებით. კლინიკურ ნაწილში განხილულია ოთხი პაციენტი, რომელთაც აღენიშნებოდათ ყბა-სახის ძვლების დეფექტები, აქედან სამ პაციენტს კრიტიკული ზომის დეფექტი წარმოექმნა ქვედა ყბის ძვლის სიმსივნის რეზექციის შემდეგ და ერთ პაციენტს ყვრიმალ-ორბიტული მიდამოს დეფექტი ავტოავარიის შედეგად. პირველ ორ შემთხვევაში ქვედა ყბის ძვლის დეფექტის აღდგენა მოხდა აუტოლოგური ძვლის ტრანსპლანტანტით. დანარჩენ ორ შემთხვევაში ყბა-სახის ძვლოვანი დეფექტები აღდგენილ იყო ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის გამოყენებით. ჩატარებულმა კვლევის შედეგმა დაადასტურა ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის ეფექტურობა ყბა-სახის დეფექტების რეკონსტრუქციაში. ბიოლოგიურად აქტიურმა ძვლოვანმა ტრანსპლანტანტმა გამოავლინა ბიოშეთავსებადობის, ოსტეოკონდუქციის, ოსტეოინდუქციის, ოსტეოინტეგრაციის და ძვლის რემოდელირების თვისებები. მას ასევე ახასიათებს ახალი ძვლის ფორმირების ტემპის შესაბამისი ბიორეზორბადობის სიჩქარე, ნატურალური ძვლის მსგავსი მექანიკური რეზისტენტობა და სტაბილურობა.

ძირითადი საძიებო სიტყვები: დეცელულარიზირებული ძვლოვანი ტრანსპლანტანტი; ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედები; ბარიერული მემბრანა. ქვედა ყბის ძვლის დეფექტები.

ABSTRACT

One of the main problems in the maxillofacial surgery is the reconstruction of the defects of mandible that occurred after tumor resection, injury or infection. One of the main conditions that determine the bone defect regeneration speed is the distance between the fragments. The term critical size bone defect is widely being used in the medical literature, and this term applies to the condition when the full reparative regeneration of the damaged bone tissue is not achieved without the surgical or other involvements. Today, various auto, allo and xenografts, synthetic and biosynthetic bone implants are being used for the restoration of maxillofacial bone defects. Autologous bone graft is considered to be the gold standard, but in the cases of large size bone defects its use is limited. Apart from this, autologous bone implants have another main flaw which is the necessity of performing an additional surgery for acquiring it. The main objective of our study was to create a new biologically active bone implant and to use it for the reconstruction of the maxillofacial bone defects. Decellularized three-dimensional matrix, using the methods of bioengineering, was obtained from the cattle femur bone. Paracrine factors were obtained from the human bone marrow stem cells through using the lyophilization methods. In the preclinical part of the study, the mandibular defect modelling was performed, and also, reconstruction of the created defect with the bioactive bone implant. In the clinical part, four patient cases that had the maxillofacial defects are reviewed. Three patients have developed the critical size defect due to the mandible tumor resection, and one patient has developed defect in the zygomatico-orbital area following the car accident. In the first two cases, the mandible defect has been restored with autologous bone graft. In the other two cases, the maxillofacial bone defects have been restored with the bioactive bone implants.

The study results have confirmed the efficiency of the bioactive bone implants for maxillofacial defect reconstruction. The bioactive bone graft has demonstrated biocompatibility, osteoconductive, osteoinductive, osteointegration and bone remodeling features. The bioresorption speed similar to a new bone formation rate is also characteristic to this graft; it also possesses the mechanical resistance and stability that is similar to the natural bone.

Key Words: Decellularized bone transplants; Bone marrow stem cells; Barrier membrane; Bone.

მადლობა

პირველ რიგში მინდა განსაკუთრებული პატივისცემა გამოვხატო და მადლობა გადავუხადო ჩემს სამეცნიერო ხელმძღვანელს, პროფესორ გიორგი მენაბდეს გაწეული სამეცნიერო შრომისთვის, მხარდაჭერისა და თანადგომისათვის.

ასევე მინდა მადლიერების გრძნობა გამოვხატო ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტის მედიცინის სამეცნიერო – კვლევითი ინსტიტუტის და კოტე მარდალეიშვილის სამედიცინო ცენტრის თანამშრომლების მიმართ, რომელთა მხარდაჭერით შესრულდა ნაშრომის ძირითადი ნაწილი.

მადლიერებით მინდა ავღნიშნო თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის კვლევითი ლაბორატორიის თანამშრომლები, რომელთა დახმარებით შესრულდა იმუნოჰისტოქიმიური და სკანირებადი ელექტრონული მიკროსკოპიის კვლევები.

და ბოლოს, განსაკუთრებულ მადლობას ვუხდის ჩემს მშობლებს : ზურაბ კაკაბაძეს და ეკატერინე ლიფონავას თანადგომისათვის.

სარჩევი

სარჩევი	VIII
გრაფიკების ჩამონათვალი	XI
ილუსტრაციების ჩამონათვალი.....	XII
აბრევიატურების ჩამონათვალი	XVIII
შესავალი	19
სამეცნიერო ლიტერატურის მიმოხილვა.....	22
თავი 1. ძვლის ფიზიოლოგიური და რეპარაციული რეგენერაციის პროცესები.....	23
თავი 2. ქვედა ყბის ძვლის დეფექტების კლასიფიკაცია.....	24
თავი 3. ქვედა ყბის ძვლის კრიტიკული ზომის დაფექტების აღდგენა სხვადასხვა სახის ტრანსპლანტანტების გამოყენებით.....	25
3.1. აუტოლოგიური ტრანსპლანტანტები	26
3.2. ალოგენური ტრანსპლანტანტები.....	28
3.3. ქსენოგენური ტრანსპლანტანტები.....	29
3.4. სინთეტიკური და ბიოსინთეტიკური ტრანსპლანტანტები.....	30
თავი 4. ძვლოვანი ქსოვილის ბიოინჟინერია.....	31
თავი 5. ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედები და მათი როლი ძვლოვანი ქსოვილის შექმნაში.....	32

თავი 6. ძვლოვანი ტრანსპლანტანტების ინკორპორაცია ძვლის დეფექტში....	33
თავი 7. ბარიერული მემბრანები.....	34
თავი 8. მეთოდოლოგია.....	35
8.1. კვლევის მეთოდი და მისი რელევანტურობა.....	36
8.1.1. მსხვილფეხა რქოსანი საქონლის ბარძაყის ძვლიდან დეცელულარიზირებული სამგანზომილებიანი ძვლოვანი მატრიქსის მიღების მეთოდი.....	36
8.1.2. ნატიურ და დეცელულარიზებულ ძვლოვან ქსოვილებში დნმ-ის რაოდენობის განსაზღვრა.....	39
8.1.3. ვირთაგვის ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების მიღება და მათი მოთავსება დეცელულარიზირებული სამგანზომილებიანი ძვლოვანი მატრიქსის ზედაპირზე.....	39
8.1.4. ქვედა ყბის ძვლის დეფექტის მოდელირება და მისი აღდგენის მეთოდები ექსპერიმენტში ცხოველებზე.....	40
8.2. კვლევის კლინიკური ნაწილი.....	44
8.2.1. ადამიანის ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების მიღების მეთოდი.....	45
8.2.2. გამდინარე ციტომეტრია.....	45
8.2.3. ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტატის მიღების მეთოდი	46
8.2.4. ჰისტოლოგიური და ფლუორესცენტული იმუნოჰისტოქიმია.....	47
8.2.5. სკანირებადი ელექტრონული მიკროსკოპია.....	48

8.2.6. გენების ექსპრესიის ანალიზი.....	48
თავი 9. შედეგები.....	49
9.1. ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტატის მორფოფუნქციური ანალიზი.....	49
9.2. ექსპერიმენტული კვლევის შედეგები.....	53
9.2.1. ქვედა ყბის ძვლის დეფექტის აღდგენა დეცელულარიზირებული ძვლოვანი ტრანსპლანტატის გამოყენებით.....	56
9.2.2. ქვედა ყბის ძვლის დეფექტის აღდგენა ბიოაქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტატის გამოყენებით.....	59
9.3. კლინიკური კვლევის შედეგები.....	62
დისკუსია/ინტერპრეტაცია	72
დასკვნა და რეკომენდაციები	77
ბიბლიოგრაფია	79

გრაფიკების ჩამონათვალი

გრაფიკი 1. ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსკლანტანტის დამზადება/მიღების მეთოდი.....	45
--	----

ილუსტრაციების ჩამონათვალი

- ილუსტრაცია 1. მსხვილფეხა რქოსანი საქონლის ბარძაყის ძვლის ნატიური (ა) და დეცელულარიზირებული სამგანზომილებიანი ძვლოვანი მატრიქსი (ბ).....37
- ილუსტრაცია 2. ლიოფილიზატორი “Power Dry Pl 6000 Freeze Dryers” (Heto Labware).....38
- ილუსტრაცია 3. დეცელულარიზირებული სამგანზომილებიანი ძვლოვანი მატრიქსის ზედაპირი და მასზე მოთავსებული ძვლის ტვინის დეროვანი უჯრედები.....40
- ილუსტრაცია 4. ქვედა ყბის ძვლის დეფექტის მოდელირება. ა) საღეჭი კუნთის აშრევების და ქვედა ყბის ძვლის ზედაპირის გაშიშვლების პროცესი; ბ) შექმნილია ქვედა ყბის ძვლის დეფექტი.....41
- ილუსტრაცია 5 . ქვედა ყბის ძვლის დეფექტი შევსებულია სამგანზომილებიანი ძვლოვანი მატრიქსით (ა) და დაფარულია ადამიანის დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანით (ბ).....42
- ილუსტრაცია 6. ქვედა ყბის ძვლის დეფექტი აღდგენილია ბიოლოგიურად აქტიური ტრანსპლანტანტით (ა); და დაფარულია (ბ) ადამიანის დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანით43
- ილუსტრაცია 7. მსხვილფეხა რქოსანი საქონლის ნატიური (ა) და დეცელულარიზირებული სამგანზომილებიანი ძვლოვანი მატრიქსი უჯრედების გარეშე (ბ).....49

ილუსტრაცია 8. კომპიუტერული ტომოგრამა. დეცელულარიზირებული ძვლოვანი მატრიქსის ფოროვანი სტრუქტურა.....	50
ილუსტრაცია 9. ფლუორესცენტული იმუნოჰისტოქიმია.....	51
ილუსტრაცია 10. სკანირებადი ელექტრონული მიკროსკოპია. დეცელულარიზირებული ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედები და ძვლოვანი ქსოვილის მატრიქსი.....	51
ილუსტრაცია 11. ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტატის გენების ექსპრესიის ანალიზი.....	52
ილუსტრაცია 12 . ქვედა ყბის ძვლის დეფექტის კიდეებს შორის აღინიშნება ჰემატომა. დაკვირვების ვადა 3 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ - ეოზინით. გადიდება x 200.....	53
ილუსტრაცია 13 . მცირე ზომის ძვლის ფრაგმენტები დეფექტში. დაკვირვების ვადა 5 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ - ეოზინით. გადიდება x 200.....	53
ილუსტრაცია 14 . სისხლძარღვები ახლადწარმოქმნილ ძვლოვან რეგენერატში. დაკვირვების ვადა 9დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ - ეოზინით. გადიდება x 200.....	54
ილუსტრაცია 15. ძვლის დეფექტში აღინიშნება უმწიფარი ოსტეოგენური ფაშარბოჭკოვანი ფიბროზული ქსოვილი . დაკვირვების ვადა 15 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ – ეოზინით.....	54
ილუსტრაცია 16. ახლადწარმოქმნილი ძვლოვანი ქსოვილი. დაკვირვების ვადა 30 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ– ეოზინით. გადიდება x 200.....	55

ილუსტრაცია 17. ძვლოვანი კორძის ჩამოყალიბების პროცესი.
დაკვირვების ვადა 45 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ– ეოზინით.
გადიდება x 400.....55

ილუსტრაცია 18. ახლადწარმოქმნილი ძვლოვანი ქსოვილი.
დაკვირვების ვადა 60 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ– ეოზინით.
გადიდება x 400.....56

ილუსტრაცია 19. ფოტო რენტგენოგრამიდან. საკონტროლო ჯგუფი.
დაკვირვების ვადა 60 დღე. დეფექტი მთლიანად ამოვსებულია
ახლადწარმოქმნილი ძვლოვანი ქსოვილით.....56

ილუსტრაცია 20. დეფექტის კიდები შემოფარგლულია
ვასკულარიზირებული გრანულაციური ქსოვილით. დაკვირვების ვადა
15 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ – ეოზინით. გადიდება x 400.....57

ილუსტრაცია 21. ძვლის დეფექტის კიდებში აღინიშნება
ენდოოსტალური ოსტეოგენეზის აქტივაციის ნიშნები .
დაკვირვების ვადა 15 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ – ეოზინით.
გადიდება x 400.....57

ილუსტრაცია 22. ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის პერიფერიული ნაწილის
რეზორბცია. დაკვირვების ვადა 30 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ –
ეოზინით. გადიდება x 400.....58

ილუსტრაცია 23. ახლადწარმოქმნილი უმწიფარი ოსტეოგენური
ფაშარბოჭკოვანი ფიბროზული ქსოვილი, სისხლძარღვებით.
დაკვირვების ვადა 30 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ – ეოზინით.
გადიდება x 200.....58

ილუსტრაცია 24. ძვლოვანი ტრანსპლანტატის და ძვლოვანი დეფექტის კიდეების მჭიდრო შეხორცება. დაკვირვების ვადა 60 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ – ეოზინით. გადიდება x 400.....	58
ილუსტრაცია 25. ახლადწარმოქმნილი ძვლოვანი ქსოვილი. დაკვირვების ვადა 90 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ – ეოზინით. გადიდება x 400.....	59
ილუსტრაცია 26. ფოტო რენტგენოგრაშიდან. მეორე ჯგუფი. დაკვირვების ვადა 90 დღე. დეფექტი მთლიანად ამოვსებულია ახლადწარმოქმნილი ძვლოვანი ქსოვილით.....	59
ილუსტრაცია 27. ძვლოვანი დეფექტის კიდეების რეზორბცია. დაკვირვების ვადა 15 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ – ეოზინით. გადიდება x 400.....	60
ილუსტრაცია 28. ბიოლოგიურად აქტიური ტრანსპლანტანტის პერიფერიული ნაწილის რეზორბციის პროცესი. დაკვირვების ვადა 15 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ – ეოზინით. გადიდება x 400.....	60
ილუსტრაცია 29. ბიოლოგიურად აქტიური ტრანსპლანტანტის პერიფერიულ ნაწილში შეიმჩნეოდა ოსტეობლასტების ჭარბი რაოდენობა. დაკვირვების ვადა 30 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ – ეოზინით. გადიდება x 200.....	60
ილუსტრაცია 30. ბიოლოგიურად აქტიური ტრანსპლანტანტის და ძვლოვანი დეფექტის კიდეების მჭიდრო შეხორცება. დაკვირვების ვადა 45 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ – ეოზინით. გადიდება x 400 ..	60

ილუსტრაცია 31. ძვლის წითელი ტვინის სტრუქტურების ფორმირების პროცესი. დაკვირვების ვადა 45 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ – ეოზინით. გადიდება x 400.....	61
ილუსტრაცია 32. ახლადწარმოქმნილი ძვლოვანი ქსოვილი. დაკვირვების ვადა 60 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ – ეოზინით. გადიდება x 400.....	61
ილუსტრაცია 33. ფოტო რენტგენოგრაშიდან. მესამე ჯგუფი. მე–60 დღეს დეფექტი მთლიანად ამოვსებულია ახლადწარმოქმნილი ძვლოვანი ქსოვილით.....	62
ილუსტრაცია 34. ქვედა ყბის ოსტეობლასტომა მარჯვნივ.....	63
ილუსტრაცია 35. ოპერაციის ეტაპები. ქვედა ყბის ძვლის ნაწილობრივი რეზექცია სიმსივნური წარმონაქმნის ამოკვეთით (ა, ბ), ერთ-მომენტიანი ქვედა ყბის ძვლოვანი დეფექტის რეკონსტრუქცია მე-6 ნეკნის (გ, დ), ტიტანის იმპლანტის და დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის გამოყენებით (ე, ვ).....	64
ილუსტრაცია 36. ქვედა ყბის ძვლის დეფექტის რეკონსტრუქცია აუტოლოგური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის გამოყენებით.....	65
ილუსტრაცია 37. მარჯვენა ქვედა ყბის სხეულის ოსტეობლასტომა.....	65
ილუსტრაცია 38. მარჯვენა ქვედა ყბის ძვლის ნაწილობრივი რეზექცია (ა), კისრის ლიმფოდისექცია და მარჯვენა ყბისქვეშა ჯირკვლის ექსტირპაცია (ბ).....	66

ილუსტრაცია 39. ერთ-მომენტიანი ქვედა ყბის ძვლოვანი დეფექტის პლასტიკა მე-7 ნევნის, ტანტალის იმპლანტის და დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის გამოყენებით.....67

ილუსტრაცია 40. სახის ასიმეტრია და მარცხენა ქვედა ყბის ნაწილობრივი რეზექცია.....68

ილუსტრაცია 41. ქვედა ყბის ძვლის მთლიანობის აღდგენა ტიტანის იმპლანტის , ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის ბიოლოგიურად აქტიური ტრანსპლანტანტის (ა) და დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის (ბ) გამოყენებით....68

ილუსტრაცია 42. ნიკაპის მიდამოს რბილი ქსოვილების პლასტიკა თორაკოდორზალური ფეხიანი ნაფლეთის გამოყენებით.....69

ილუსტრაცია 43. ოპერაციის შემდგომი პერიოდი.....69

ილუსტრაცია 44. ყვრიმალ-ორბიტული კომპლექსის დეფექტის აღდგენა აუტომპლით.....70

ილუსტრაცია 45. სახის მკვეთრი ასიმეტრია და მარჯვენა ყვრიმალის მიდამოს ძვლოვანი ქსოვილის პოსტრავმული დეფექტი.....71

ილუსტრაცია 46. ყვრიმალ-ორბიტული დეფექტის აღდგენა ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის ბიოლოგიურად აქტიური ტრანსპლანტანტის გამოყენებით.....71

ილუსტრაცია 47. ოპერაციის შემდგომი პერიოდი. ავადმყოფი იმყოფება ამბულატორიულ მკურნალობაზე.....72

აბრევიატურების ჩამონათვალი

BMPs- ძვლის მორფოგენეზული ცილა

FBS-IMDM – საქონლის ფეტალური შრატის - დულბეკოს მოდიფიცირებული გარემო

FGF-ფიბრობლასტების ზრდის ფაქტორი

IGF- ინსულინის მსგავსი ზრდის ფაქტორი

PBS - ფოსფატის ბუფერი

PCR- პოლიმერაზა ჯაჭვური რეაქცია

PDGF- თრომბოციტებში წარმოქმნილი ზრდის ფაქტორი

SDS- ნატრიუმის დოდეცილ სულფატი

TGF- β –ტრანსფორმაციული ზრდის ფაქტორი β

შესავალი

ყბა–სახის ქირურგიაში ერთ–ერთ საკმაოდ აქტუალურ პრობლემას წარმოადგენს სიმსივნის რეზექციის [1-3], ტრავმის [4-6] ან ინფექციის შედეგად წარმოქმნილი ქვედა ყბის ძვლის დეფექტების აღდგენა [7-9]. რეპარაციული ოსტეოგენეზი ყბის პოსტრავმული დეფექტების არეში საკმაოდ ხანგრძლივი პროცესია და საშუალოდ 6–8 თვეს საჭიროებს. ერთ–ერთ ძირითად პირობას, რომელიც განსაზღვრავს ძვლის დეფექტის რეგენერაციის სისწრაფეს, წარმოადგენს ფრაგმენტებს შორის არსებული დაშორება [10-15]. სამედიცინო ლიტერატურაში ფართოდ გამოიყენება ტერმინი ძვლის დეფექტის კრიტიკული ზომა, რომლის დროსაც ქირურგიული ან რაიმე სხვა ჩარევის გარეშე, ვერ ხორციელდება ძვლოვანი ქსოვილის სრული რეგენერაცია. [16-20].

დღეისათვის მოწოდებულია მრავალი აუტო, ალო, ქსენო, სინთეტიკური და ბიოსინთეტიკური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტები, რომლებიც გამოიყენება კრიტიკული ზომის ყბა–სახის ძვლოვანი დეფექტების აღსადგენად.

აუტოლოგური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტების გამოყენება ყბა–სახის ქირურგიაში მიჩნეულია ოქროს სტანდარტად. თუმცა დიდი ზომის ძვლის დეფექტების არსებობის დროს აუტოლოგური ტრანსპლანტანტების გამოყენება კლინიკურ პრაქტიკაში შეზღუდულია, ვინაიდან მათი დიდი რაოდენობით მოპოვება ვერ ხერხდება რეციპიენტის ორგანიზმიდან [50, 51]. გარდა ამისა აუტოლოგური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტების ძირითად უარყოფით თვისებას წარმოადგენს მისი მიღებისათვის დამატებითი ქირურგიული ოპერაციის ჩატარების აუცილებლობა, რამაც შეიძლება გამოიწვიოს დონორის ადგილის სხვადასხვა გართულებები [52]. აუტოლოგური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტების ალტერნატივას წარმოადგენს

ალოგენური და ქსენოგენური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტები. ალოგენურ ტრანსპლანტანტებში ნაკლებია სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების შემცველობა და ამიტომ ისინი ხასიათდებიან დაბალი ოსტეონდუქციური პოტენციალით. გარდა ამისა მათი გამოყენებისას მატულობს სხვადასხვა ინფექციის გადაცემის რისკი. ასევე მაღალია იმუნოლოგიური კონფლიქტის განვითარების ალბათობაც, რაც ხელს უშლის ძვლის შეხორცებას და იწვევს ტრანსპლანტანტის მოცილებას [67]. რაც შეეხება ქსენოგენურ ტრანსპლანტანტებს მათ გააჩნიათ საკმაოდ მაღალი ზოონოზური ინფექციების გადაცემის რისკი და იმუნური კომფლიქტის განვითარების ალბათობა [71, 72].

სინთეტიკური და ბიოსინთეტიკური მასალებისგან დამზადებული ტრანსპლანტანტების მთავარ უპირატესობას წარმოადგენს ბიოშეთავსებადობა და ბიორეაბსორბციის კარგი უნარი. მიუხედავად ამისა ისინი ვერ უზრუნველყოფენ ძვლის სრულყოფილ რეგენერაციას. ეს დაკავშირებულია ტრანსპლანტაციის შემდეგ მათ სუსტ ოსტეოკონდუქციის უნართან, ძვლის ფორმირების არაადეკვატურობასთან, დაბალ მექანიკურ რეზისტენტობასა და სტაბილურობასთან [77, 78].

მრავალი ავტორი აღნიშნავს, რომ იდეალურ ძვლოვან ტრანსპლანტანტს უნდა ახასიათებდეს ბიოშეთავსებადობა, ოსტეოკონდუქცია, ოსტეონდუქცია, ოსტეონტეგრაცია, ოსტეოგენეზი და ძვლის რემოდელირება. უნდა გააჩნდეს ფოროვანი სტრუქტურა, ახალი ძვლის ფორმირების ტემპის შესაბამისი ბიორეზორბადობის სიჩქარე, ნატურალური ძვლის მსგავსი მექანიკური რეზისტენტობა და სტაბილურობა, იყოს იაფი და ადვილად ხელმისაწვდომი [21, 22].

ჩვენი ჰიპოთეზის თანახმად მსხვილფეხა რქოსანი საქონლის ბარძაყის ძვლისაგან მიღებული დეცელულარიზირებული ბიოლოგიურად აქტიური

ძვლოვანი მატრიქსი შეძლებს დააკმაყოფილოს იდეალური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტისათვის წაყენებული მოთხოვნები.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ახალი ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის შექმნა და მისი გამოყენება ყბა-სახის ქირურგიაში. ამ მიზნის მისაღწევად დავისახეთ შემდეგი ამოცანები:

- ბიოინჟინერიის მეთოდების გამოყენებით მსხვილფეხა რქოსანი საქონლის ბარძაყის ძვლიდან სამგანზომილებიანი დეცელულარიზირებული ძვლოვანი მატრიქსის მიღება;
- ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების პარაკრინული ფაქტორების მიღების მეთოდის შემუშავება
- დეცელულარიზირებული ძვლოვანი მატრიქსის და ლიოფილიზირებული ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების პარაკრინული ფაქტორებისაგან ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის შექმნა;
- ადამიანის ამნიონ/ქორიონული დეცელულარიზირებული მემბრანის მიღების მეთოდის შემუშავება
- ექსპერიმენტში ცხოველებზე ქვედა ყბის ძვლის დეფექტის მოდელირება და შექმნილი დეფექტის რეკონსტრუქცია ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის გამოყენებით;
- ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის ეფექტურობის შეფასება *in vitro* და *in vivo* რენტგენოლოგიური, ჰისტოლოგიური, იმუნოჰისტოქიმიური და სკანირებადი ელექტრონული მიკროსკოპიის მეთოდების გამოყენებით;

- ყბა-სახის კრიტიკული ზომის დეფექტების რეკონსტრუქცია აუტოლოგური და ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის გამოყენებით ყბა-სახის ქირურგიაში და მათი შედარებითი ანალიზი.

სამეცნიერო ლიტერატურის მიმოხილვა

ძვლოვანი სისტემა ასრულებას მექანიკური საყრდენის როლს და მონაწილეობს მინერალურ ჰომეოსტაზში. ბიოქიმიურად ის წარმოადგენს მინერალური და ორგანული მატრიქსის ერთიანობას. ძვლის მინერალური ნივთიერება წარმოდგენილია ჰიდროქსიაპატიტით, ბეტატრიკალციფოსფატით და კარბონატის აპატიტით. ძვლოვანი ქსოვილი მდიდარია ისეთი მიკროელემენტებით როგორცაა: ქლორი, ალუმინი, ბორი, ფთორი, ტყვია, მანგანუმი, ვერცხლი, სტრონციუმი, ბარიუმი, კადმიუმი, კობალტი, რკინა, თუთია, ტიტანი და სხვა [23].

ორგანული კომპონენტის შემადგენლობაში შედის ძვლის უჯრედები და სამგანზომილებიანი მატრიქსი. ძვლის წარმომქმნელი უჯრედებია: ძვლის წინამორბედი უჯრედები (პლურიპოტენტური მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედები), ოსტეობლასტები და ოსტეოციტები. მათ წარმოქმნას და დიფერენცირებას აკონტროლებს ციტოკინები და ზრდის ფაქტორები: ძვლის მორფოგენეზული ცილები (BMPs- Bone morphogenic proteins), ფიბრობლასტების ზრდის ფაქტორი (FGF-fibroblast growth factor), თრომბოციტებში წარმოქმნილი ზრდის ფაქტორი (PDGF- platelet-derived growth factor), ინსულინის მსგავსი ზრდის ფაქტორი (IGF-insulin-like growth factor), ტრანსფორმაციული ზრდის ფაქტორი β (TGF- β transforming growth factor- β). პლურიპოტენტური მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედები განლაგებულია ყველა ძვლის ზედაპირზე, რომელიც სტიმულირდება ძვლის მორფოგენეზული ცილების ზემოქმედებით და დიფერენცირდება

ოსტეობლასტებად. ამ პროცესს არეგულირებს ტრანსკრიფციის ფაქტორი, ე.წ. ცენტრის დამაკავშირებელი ფაქტორი *al*, რომელიც ააქტიურებს ოსტეობლასტების სპეციფიური გენების ექსპრესიას. ძვლის წინამორბედი უჯრედებიდან ოსტეობლასტების დიფერენცირება ხდება მთელი სიცოცხლის განმავლობაში [23].

თავი 1. ძვლის ფიზიოლოგიური და რეპარაციული რეგენერაციის პროცესები

სამედიცინო ლიტერატურაში გამოყოფენ ძვლის ქსოვილის რეგენერაციის ორ სახეს: ფიზიოლოგიურს და რეპარაციულს. ფიზიოლოგიური რეგენერაცია გამოიხატება ძვლოვანი ქსოვილის განახლებაში რომელიც მუდმივად მიმდინარეობს რეზორბციის და ახალი ძვლოვანი სტრუქტურების ფორმირების პროცესების მონაცვლეობით [24–26]. რეპარაციული რეგენერაცია კი დაზიანებული (მოტეხილი) ძვლოვანი ქსოვილის პირობებში, უზრუნველყოფს ძვლის ანატომიურ და ფუნქციურ აღდგენას [27,28].

ძვლოვანი სტრუქტურის აღდგენა ხდება ძვლის საზრდელას კამბიალური შრის, ენდოსტის, ძვლის ტვინის მცირედ დიფერენცირებული უჯრედების სტრომისა და მეზენქიმური უჯრედების პროლიფერაციის ხარჯზე.

არსებობს სხვადასხვა ჰიპოთეზა, რომლებიც ცდილობს ახსნას რეპარაციული რეგენერაციის ურთულესი პროცესები. ნეოპლასტიური – ანუ კამბიალური ჰიპოთეზის მიხედვით ძვლის რეგენერაციის დროს ვლინდება მეტად მკაცრი სპეციფიურობა და დეტერმინირება [29,30]. მეტაპლასტიკური ჰიპოთეზა კი ამტკიცებს, რომ ძვლის რეგენერატი ფორმირდება სხვა ქსოვილების სპეციალიზირებული ელემენტების არსებობის ხარჯზე [31,32].

მესამე ჰიპოთეზის მომხრეებს მიაჩნიათ, რომ რეგენერაციის წყაროებად შეიძლება ჩაითვალოს როგორც სპეციფიური, ასევე არასპეციფიური

უჯრედები. ამ აზრის ირგვლივ გაერთიანდა კამბიალური და მეტაპლასტიკური ჰიპოთეზები. ოსტეგენეზის მქონე უჯრედებს მიეკუთვნება: ოსტეობლასტები, ფიბრობლასტები, ოსტეოციტები, ჰისტოციტები, ლიმფოციტები, ცხიმოვანი და ენდოთელიური, აგრეთვე მიელოციტური და ერითროციტული რიგის უჯრედები [33,34]. ძვლოვანი ქსოვილის რეგენერაციის პროცესში უდიდესი მნიშვნელობა ენიჭება მიკროცირკულაციას და ვასკულარიზაციას, რაც განაპირობებს ოქსიგენაციის პროცესში ოსტეობლასტების ნორმალურ ფუნქციონირებას [35].

რეპარაციული რეგენერაცია განიხილება როგორც პოლიმორფული პროცესი. სხვადასხვა ავტორის მონაცემებით ძვლის რეგენერაციის მთელი ციკლი პირობითად შეიძლება დაიყოს რამდენიმე ფაზად ან სტადიად [36-40]. პირველი ფაზა – ქსოვილოვანი სტრუქტურების კატაბოლიზმი, უჯრედოვანი ელემენტების დიფერენციაცია და პროლიფერაცია. მეორე ფაზა – ქსოვილოვანი სტრუქტურების წარმოქმნა და დიფერენცირება. ამ დროს ხდება ქსოვილოვანი ორგანიზაცია, რომელიც ხასიათდება მოტეხილობის ადგილას სხვადასხვა სტრუქტურული აგებულების ქსოვილების წარმოქმნით. მესამე ფაზა – ანგიოგენური ძვლოვანი სტრუქტურის წარმოქმნა. ამ ფაზაში ძირითადი პროცესები გამოიხატება ძვლის ფორმირებული რეგენერატის სისხლძარღვოვანი მომარაგების მთლიანი აღდგენითა და ინტენსიფიკაციით, ასევე რეგენერატის ცილოვანი ფუძის მინერალიზაციით. მეოთხე ფაზა – პირველადი რეგენერატის გარდაქმნა და ძვლის რესტიტუცია.

თავი 2. ქვედა ყბის ძვლის დეფექტების კლასიფიკაცია

სხვადასხვა ავტორების მიერ მოწოდებულია ქვედა ყბის ძვლის დეფექტების კლასიფიკაცია რომელიც აღნიშნულ პათოლოგიებს განიხილავს არამარტო დეფექტებისა და დეფორმაციების სირთულის მიხედვით, არამედ ითვალისწინებს ქვედა ყბის ფრაგმენტების შეხორცების ხარისხსაც [41, 42].

ლ.ვ. გორბანევა–ტიმოფეევას [43], კლასიფიკაცია მოიცავს ონკოსტომატო–ლოგიური ოპერაციების დროს ქვედა ყბის ეკზარტიკულაციის ან სრული მოშორების შემდეგ წარმოქმნილ დეფექტებს.

ლ.ვ. გორბანევა–ტიმოფეევას კლასიფიკაცია მოიცავს რამდენიმე კლასს, კერძოდ:

1. ქვედა ყბის ძვლის ფრაგმენტების შეხორცების შემდგომ წარმოქმნილი დეფექტები და დეფორმაციები;

2. ქვედა ყბის ძვლის ფრაგმენტების არასწორი შეხორცების შემდგომ წარმოქმნილი დეფექტები და დეფორმაციები;

3. დეფექტები და დეფორმაციები, რომლებიც წარმოიქმნება ქვედა ყბის ძვლის მთლიანობის აღსადგენად ტრანსპლანტანტის გამოყენების შემთხვევაში.

4. ქვედა ყბის ძვლის ცალკეული უბნების რეზექციის შემთხვევაში წარმოქმნილი დეფექტები და დეფორმაციები.

5. სახის დეფექტი ქვედა ყბის ძვლის რეზექციის შემთხვევაში.

პირველ სამ კლასში შედის ქვედა ყბის ძვლის ის დეფექტები და დეფორმაციები, რომელთა დროსაც ქვედა ყბის ძვლის მთლიანობა აღდგენილია მონატეხ ფრაგმენტთა შეხორცების (1 და 2 კლასი) ან ძვლოვანი ჩანართის ხარჯზე (3 კლასი), ხოლო მე–4–5 კლასის დეფექტების დროს ქვედა ყბის მთლიანობა დარღვეულია.

თავი 3. ქვედა ყბის ძვლის კრიტიკული ზომის დაფექტების აღდგენა სხვადასხვა სახის ტრანსპლანტანტების გამოყენებით

დღესდღეობით კლინიკურ პრაქტიკაში ქვედა ყბის ძვლის კრიტიკული ზომის დეფექტების აღსადგენად გამოიყენება სხვადასხვა აუტო, ალო, ქსენო, სინთეტიკური და ბიოსინთეტიკური მასალებისგან დამზადებული ძვლოვანი ტრანსპლანტანტები [44–45].

3.1. აუტოლოგური ტრანსპლანტანტები

აუტოლოგური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტების გამოყენება ყბა-სახის ქირურგიაში მიჩნეულია ოქროს სტანდარტად [46]. ნატიურ აუტოლოგურ ტრანსპლანტანტს ახასიათებს ოპტიმალური ოსტეოგენური, ოსტეონდუქციური და ოსტეოკონდუქციური თვისებები, რომელიც განპირობებულია მასში მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების, ოსტეოპროგენიტორული უჯრედების და ზრდის ფაქტორების არსებობით [47]. აღნიშნული ძვლოვანი ტრანსპლანტანტი შეიცავს სიცოცხლისუნარიან უჯრედებს და ოსტეონდუქციურ პროტეინებს როგორცაა BMP-2, BMP-7, FGF, IGF, და PDGF [48, 49]. აუტოლოგურ ძვლოვან ტრანსპლანტანტს გააჩნია სრული ბიომეთავსებადობის და სწრაფი რევასკულარიზაციის უნარი ორგანოსპეციფიური ძვლოვანი ქსოვილის ფორმირებით. ისინი ინარჩუნებენ სიცოცხლისუნარიანობას ტრანსპლანტაციის შემდგომ და იმუნოგენურობის არ არსებობა ზრდის დეფექტის ადგილას ტრანსპლანტანტის ინკორპორაციის ალბათობას. თუმცა დიდი ზომის ძვლის დეფექტების არსებობის დროს აუტოლოგური ტრანსპლანტანტების გამოყენება კლინიკურ პრაქტიკაში შეზღუდულია, ვინაიდან მათი დიდი რაოდენობით მოპოვება ვერ ხერხდება რეციპიენტის ორგანიზმიდან [50. 51]. ასევე, ავტორები აღნიშნავენ, რომ აუტოტრანსპლანტანტის აღების და მისი შემდგომი ტრანსპლანტაციის პროცესში ილუპება ოსტეოგენური უჯრედების დიდი რაოდენობა. გარდა ამისა აუტოლოგური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტების ძირითად უარყოფით თვისებას წარმოადგენს მისი მიღებისათვის დამატებითი ქირურგიული

ოპერაციის ჩატარების აუცილებლობა, რამაც შეიძლება გამოიწვიოს დონორის ადგილის სხვადასხვა გართულებები [52-55]. აუტოლოგური ტრანსპლანტანტის მიღება ხდება რეციპიენტის სხეულის ისეთი უბნებიდან როგორც არის წვივის ძვალი, თემოს ძვლის ქედი, ბეჭის ძვალი, ნეკნი და წვივის ძვლის მიდამო [56-58],

ძვლის სტრუქტურის მიხედვით გამოყოფენ აუტოლოგურ ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის სამ სახეობას : ღრუბლოვანი, კორტიკალური და ღრუბლოვან-კორტიკალური. ხშირად რეკონსტრუქციისთვის საჭირო ძვლის ტრანსპლანტატის სახეობას დეფექტის მდებარეობა განსაზღვრავს.

ღრუბლოვანი ძვლიდან მიღებული ტრანსპლანტანტი [59. 60] შეიცავს ძვლის მატრიქსს და ძვლის ტვინის ღეროვან უჯრედებს რომლებიც წარმოდგენილია სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების ყველაზე მაღალი კონცენტრაციით და აქედან გამომდინარე მათ გააჩნიათ მაღალი ოსტეოგენური პოტენციალი. ასევე, ღრუბლოვან მატრიქსს გააჩნია ზედაპირის დიდი ფართობი, რაც სწრაფი რევასკულარიზაციის საშუალებას იძლევა. მაგრამ, ამ ტრანსპლანტატებს არ გააჩნიათ კორტიკალური კომპონენტი და ამიტომ მოკლებული აქვთ სტრუქტურული რიგიდობა. აუტოლოგური კორტიკალური ტრანსპლანტანტი შედგება ფირფიტისებური ძვლისაგან, რომელშიც ჭარბი რაოდენობით არის წარმოდგენილი ოსტეოციტები. ისინი იძლევიან სტრუქტურულად მყარ ძვალს, რომელიც აუცილებელია იმ უბნების რეკონსტრუქციისთვის, რომლებზეც დიდი დატვირთვა მოდის. მაგრამ, კორტიკალური ტრანსპლანტანტების მჭიდრო სტრუქტურა ხელს არ უწყობს რევასკულარიზაციას. ღრუბლოვან-კორტიკალური აუტოლოგური ძვლის ტრანსპლანტანტები კი შედგება ღრუბლოვანი და კორტიკალური სეგმენტებისგან. მათში იდეალურადაა შერწყმული კორტიკალური ძვლის

სტრუქტურული და ღრუბლოვანი ძვლის სიცოცხლისუნარიანი ოსტეობლასტებისთვის დამახასიათებელი თვისებები. თუმცა, კორტიკალურმა სეგმენტმა შეიძლება გამოიწვიოს ტრანსპლანტატის ინტეგრაციისთვის აუცილებელი რევასკულარიზაციის შეფერხება და რეგენერაციის პროცესების შენელება. ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარე აუტოლოგური ძვლის ტრანსპლანტანტებს შეუძლიათ შეანელონ რევასკულარიზაციის პროცესი და განიცადონ რეზორბცია.

3.2. ალოგენური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტები

აუტოლოგური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტების ალტერნატივას წარმოადგენს ალოგენური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტები. [61-63]. ალოტრანსპლანტანტებს ახასიათებთ ოსტეონდუქცია და ოსტეოკონდუქცია, თუმცა ოსტეოგენეზის უნარი ნაკლებად აქვთ გამოხატული და ამავდროულად დიდია სხვადასხვა ინფექციების გადაცემის რისკი [64] ალოგენური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტი შეიძლება იყოს მიღებული როგორც ტრანსპლანტაციური ასევე კორტიკალური ძვლის სეგმენტებისაგან სხვადასხვა ფორმით: ფხვნილის, ფრაგმენტების ან კუბების სახით. ალოგენური ტრანსპლანტანტები შეიძლება იყოს მინერალიზირებული ან დემინერალიზირებული, ნატიური, ნატიური და გაყინული ან ლიოფილიზირებული [65, 66].

ალოგენური ტრანსპლანტანტების მთავარ უპირატესობას წარმოადგენს ის რომ მათი აღება არ მოითხოვს პაციენტში დამატებით ქირურგიულ ჩარევას. ასევე შესაძლებელია ძვლის ტრანსპლანტანტის ნებისმიერი რაოდენობით, ფორმით და ზომით მიღება.

ალოგენურ ტრანსპლანტანტებში ნაკლებია სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების შემცველობა და ამიტომ ისინი ხასიათდებიან დაბალი ოსტეონდუქციური პოტენციალით. გარდა ამისა მათი გამოყენებისას

მატულობს სხვადასხვა ინფექციის გადაცემის რისკი. ასევე მაღალია იმუნოლოგიური კონფლიქტის განვითარების ალბათობაც, რაც ხელს უშლის ძვლის შეხორცებას და იწვევს ტრანსპლანტანტის მოცილებას [67-69].

ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარე შეიძლება დავასკვნათ რომ ნატიური ალოგენური ტრანსპლანტანტები იშვიათად გამოიყენება კლინიკურ პრაქტიკაში. რაც შეეხება გაყინულ ან ლიოფილიზირებულ ალოტრანსპლანტანტებს, მათი ვასკულარიზაცია და ინკორპორაცია ძვლის დეფექტის მიდამოში უფრო სწრაფად მიმდინარეობს ვიდრე ნატიური ალოტრანსპლანტანტების შემთხვევაში.

დეტერგენტები, რომლებიც გამოიყენება ლიოფილიზირებული ალოგენური ტრანსპლანტანტის მისაღებად ამცირებს ინფექციების და ტრანსმისიული დაავადებების გადაცემის ალბათობას, რადგან აღნიშნული პროცესების შედეგად ხდება ტრანსპლანტანტში არსებული უჯრედული და ვირუსული ნაწილაკების განადგურება. მაგრამ მათი დამუშავების დროს ხდება ოსტეოგენური უჯრედების და მასში არსებული პროტეინების დენატურაცია, რამაც შეიძლება გამოიწვიოს ტრანსპლანტანტის ოსტეოგენური და ოსტეონდუქციური თვისებების შემცირება.

3.3. ქსენოგენური ტრანსპლანტანტები

ქვედა ყბის ძვლის დეფექტის რეკონსტრუქციისათვის ასევე გამოიყენება ქსენოგენური ტრანსპლანტანტები [70]. ქსენოტრანსპლანტანტები მიიღება მსხვილფეხა რქოსანი საქონლის ბარძაყის ძვლისაგან. ამ ტრანსპლანტანტების მთავარ უპირატესობას წარმოადგენს ადვილი ხელმისაწვდომობა, მათი დამუშავების და მიღების საკმაოდ დაბალი ფასი და რაც მთავარია მათი რაოდენობა არ არის შეზღუდული. ქსენოგენურ ტრანსპლანტანტებს ახასიათებთ ოსტეოკონდუქციური და ოსტეონდუქციური თვისებები, თუმცა

ოსტეოგენეზის უნარი ნაკლებად აქვთ გამოხატული. ქსენოგენურ ტრანსპლანტანტების უარყოფით მხარედ შეიძლება ჩათვალოს საკმაოდ მაღალი ზოონოზური ინფექციების გადაცემის რისკი და იმუნური კომფლიქტის განვითარების ალბათობა [71, 72].

1960 წლებში ქსენოგენურ ტრანსპლანტანტს ხშირად გამოიყენებოდა კლინიკურ პრაქტიკაში. თუმცა აუტოიმუნური დაავადების განვითარების გამო, ქსენოგენური ტრანსპლანტანტების გამოყენება შემცირდა [73]. დონორული ქსოვილების და ორგანოების დეფიციტის გამო კლინიცისტების ყურადღება კვლავ მიიპყრო ქსენოგენურმა ძვლის ტრანსპლანტანტებმა. 1990 წლიდან შემუშავდა ქსენოგენური ძვლის მიღების და მისი დამუშავების ინოვაციური მეთოდები [74]. ამ მეთოდების საშუალებით შესაძლებელია ნატიური ქსენოგენური ტრანსპლანტანტიდან ორგანული ელემენტების მოცილება და არაოგრანული მატრიქსის შენარჩუნება. ქვედა ყბის ძვლის დეფექტების რეკონსტრუქციისათვის ქსენოგენურ ტრანსპლანტანტს უნდა გააჩნდეს რეზორბციის უნარი და მისი ჩანაცვლება უნდა მოხდეს რეციპიენტის ძვლის საკუთარი ქსოვილით [75, 76].

3.4. სინთეტიკური და ბიოსინთეტიკური ტრანსპლანტანტები

სინთეტიკური და ბიოსინთეტიკური მასალებისგან დამზადებული ტრანსპლანტანტების მთავარ უპირატესობას წარმოადგენს ბიოშეთავსებადობა და ბიორეაბსორბციის კარგი უნარი. მიუხედავად ამისა ისინი ვერ უზრუნველყოფენ ძვლის სრულყოფილ რეგენერაციას. ეს დაკავშირებულია ტრანსპლანტაციის შემდეგ ამ ტრანსპლანტანტების არასაკმარის ვასკულარიზაციასთან, სუსტ ოსტეოკონდუქციის უნართან, ძვლის ფორმირების არაადეკვატურობასთან, დაბალ მექანიკურ რეზისტენტობასა და სტაბილურობასთან [77, 78].

თავი 4. ძვლის ქსოვილის ბიოინჟინერია

უკანასკნელი 15 წლის განმავლობაში აღინიშნება ქსოვილოვანი ბიოინჟინერიის, როგორც მეცნიერების სწრაფი განვითარება [79]. მრავალ ავტორის მიერ მოწოდებულია ძვლის, ხრტილის, იოგოვანი აპარატის, კუნთის, კანის და სისხლძარღვების in vitro-ში შექმნის მეთოდები [80-83]. სამედიცინო ლიტერატურაში მოწოდებულია ისეთი ორგანოების გაზრდის პროტოკოლები როგორცაა: გული, გულის სარქველი, თირკმელი და ფილტვი [84-89].

სრულყოფილი ძვლოვანი ქსოვილის შესაქმნელად საჭიროა ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედები, სამგანზომილებიანი ძვლის მატრიქსი და ბიორეაქტორი, რომელშიდაც თავსდება ძვლის მატრიქსი უჯრედებთან ერთად. ბიორეაქტორში იქმნება სპეციფიური საკვები გარემო, სხვადასხვა ზრდის ფაქტორების და ციტოკინების დამატებით. ძვლოვანი ქსოვილის ბიოინჟინერია მიმართულია ისეთი ტრანსპლანტანტის შექმნისაკენ, რომელსაც ექნება უნარი ტრანსპლანტაციის შემდეგ დააჩქაროს ოსტეოგენეზის პროცესი ძვლის დეფექტის მიდამოში [90 - 98]. ამისათვის, ბიორეაქტორში ათავსებენ სამგანზომილებიან დეცელულარიზირებულ ნატურალურ ძვლოვან მატრიქსს, რომელიც იჟღინთება ოსტეოგენური პოტენციალის მქონე უჯრედებით. ლიტერატურაში მოცემულია ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის გაზრდის სხვადასხვა პროტოკოლი. ღეროვანი უჯრედების მიღების ტექნოლოგიების განვითარებამ, სამგანზომილებიანი ბიომასალების შექმნის ტექნოლოგიამ და ბიორეაქტორების სისტემების ოპტიმიზაციამ შესაძლებელად გაზარდა სინჯარაში შექმნილი ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის ხარისხი [99, 100]. უნდა აღინიშნოს, რომ ჯერ კიდევ ბოლომდე არ არის შემუშავებული ბიორეაქტორში შექმნილი ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის შეფასების კრიტერიუმი, რომლის მიხედვით მოხდება მისი ეფექტურობის განსაზღვრა სტანდარტულ კლინიკური მოდელებში. ასევე, პრობლემას

წარმოადგენს ბიორეაქტორში შექმნილი ძვლოვანი კომპოზიტის ვასკულარიზაცია ტრანსპლანტაციის შემდეგ [101, 102].

თავი 5. ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედები და მათი როლი ძვლოვანი ქსოვილის შექმნაში

ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის სინჯარაში შესაქმნელად პირველ რიგში საჭიროა სხვადასხვა ფენოტიპის მქონე უჯრედების დიდი რაოდენობა. მთავარ უჯრედულ წყაროს ამ შემთხვევაში წარმოადგენენ ძვლის ტვინის მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედები, რომელთაც გააჩნიათ დიფერენციაციის და ძვლოვანი ქსოვილის წარმოქმნის უნარი. როგორც აღნიშნავენ ავტორები მეზენქიმურ ღეროვან უჯრედებს კულტურაში გააჩნიათ ადჰეზიის და ზრდის ძლიერი პოტენციალი [103-105]. ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედები ხშირ შემთხვევაში მიიღება თემოს ძვლის ქედიდან ასპირაციის გზით. უნდა აღინიშნოს რომ ღეროვანი უჯრედების რაოდენობა მცირდება პაციენტის ასაკთან ერთად. მრავალი ავტორი აღნიშნავს რომ ძვლის ტვინის მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედები ხელს უწყობენ ძვლის რეგენერაციას და რემოდელირებას [106-108]. ოსტეოგენური უჯრედების უხვ წყაროს შეიძლება წარმოადგენდეს აუტოლოგური ცხიმოვანი ქსოვილი. ცხიმოვანი ქსოვილიდან გამოყოფილ ღეროვან უჯრედებს გააჩნიათ ოსტეოგენურ, ქონდროგენულ და ენდოთელიალურ უჯრედებად დიფერენცირების უნარი [109]. უჯრედების მიღების წყაროდ ასევე შესაძლოა გამოყენებულ იქნას პერიოსტეუმი, ჭიპლარის სისხლი და პლაცენტის ქსოვილი [110, 111]. მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების დიფერენცირების პოტენციალის გაძლიერებისათვის ავტორები გვთავაზობენ სხვადასხვა ზრდის ფაქტორების დამატებას უჯრედულ კულტურულ გარემოში [112, 113].

თავი 6. ძვლის ტრანსპლანტანტების ინკორპორაცია ძვლოვან დეფექტში

რეციპიენტის ძვალში არავასკულარიზირებული ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის ინკორპორაცია დამოკიდებულია დეფექტის ადგილის ადეკვატურ ვასკულარულ მომარაგებაზე, ტრანსპლანტანტის სტრუქტურაზე და მის უნარზე მოახდინოს სწრაფი რევასკულარიზაცია [114, 115]. არავასკულარიზირებული ტრანსპლანტანტების შეხორცების პროცესი რეციპიენტის ძვალთან გახანგრძლივებულია [116, 117]. ტრანსპლანტანტის ინკორპორაცია დამოკიდებულია მის მახასიათებლებზე, რომლებიც შეიძლება განსხვავდებოდეს სტრუქტურის (კორტიკალური ან ტრაბეკულური) და ტრანსპლანტანტის მიღების წყაროს მიხედვით (აუტო, ალო, ქსენო და სხვა).

როგორც აღნიშნავს მრავალი ავტორი, ძვლოვან დეფექტში მოთავსების შემდეგ ტრანსპლანტანტი გადის 5 ფაზას : ანთების, რევასკულარიზაციის, ოსტეოინდუქციის, ოსტეოკონდუქციის და რემოდელირების [115, 118]. თითოეული ფაზის ხანგრძლივობა ვარირებს და დამოკიდებულია ტრანსპლანტანტის თვისებებზე. არასაკმარისი ვასკულარიზაცია, ინფექცია და ტრანსპლანტანტის სუსტი ფიქსაცია რეკონსტრუქციულ ნაწილში ახანგრძლივებს ინკორპორაციის პროცესს [119, 120]. კორტიკალურ ძვლოვან ტრანსპლანტატში ვასკულარიზაცია უფრო ნელა მიმდინარეობს და გამოვლინდება ჰავერსის არხებს შორის, როცა უკვე ეს პროცესი ჩამოყალიბებულია ღრუბლოვან ტრანსპლანტანტში [119]. ავტორები აღნიშნავენ, რომ ტრანსპლანტაციის შემდეგ ღრუბლოვან ძვალში ოსტეოკლასტების მიერ ძვლის რეზორბციის პარალელურად მიმდინარეობს ოსტეობლასტების მიერ ახალი ძვლის წარმოქმნის პროცესი. ხოლო კორტიკალურ ძვლის ტრანსპლანტანტში ძვლის რეზორბციის პროცესი წინ უძღვის ახალი ძვლოვანი ქსოვილის ფორმირების პროცესს [121].

თავი 7. ბარიერული მემბრანები

ბოლო წლებში ყბა-სახის ქირურგიაში ფართო გამოყენება პოვა ქსოვილების მიზანმიმართული რეგენერაციის (**Guided Tissue Regeneration - GTR**) მეთოდებმა [122–125] ბარიერული მემბრანების გამოყენებით. ბარიერული მემბრანების გამოყენების მიზანს ძვლის რეგენერაციის პირობებში წარმოადგენს მექანიკური ბარიერის შექმნა, რომელიც ხელს შეუშლის შემაერთებელი ქსოვილის მიგრაციას ძვლის დეფექტში და ხელს შეუწყობს ოსტეონტეგრაციას. გარდა ამისა მემბრანა, რომელიც ფარავს ძვლის დეფექტს ერთდროულად თამაშობს როგორც ბიოლოგიური მედიატორის როლს ასევე აძლიერებს ოსტეონტეგრაციას და ძვლის შეხორცების პროცესებს [126 – 130].

სამეცნიერო ლიტერატურის ანალიზის საფუძველზე შეიძლება დავასკვნათ, რომ აუტოლოგური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტების გამოყენება ყბა-სახის ქირურგიაში მიჩნეულია ოქროს სტანდარტად. თუმცა დიდი ზომის ძვლის დეფექტების არსებობის დროს აუტოლოგური ტრანსპლანტანტების გამოყენება კლინიკურ პრაქტიკაში შეზღუდულია, ვინაიდან მათი დიდი რაოდენობით მოპოვება ვერ ხერხდება რეციპიენტის ორგანიზმიდან. გარდა ამისა აუტოლოგური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტების ძირითად უარყოფით თვისებას წარმოადგენს მისი მიღებისათვის დამატებითი ქირურგიული ოპერაციის ჩატარების აუცილებლობა, რამაც შეიძლება გამოიწვიოს დონორის ადგილის სხვადასხვა გართულებები. აუტოლოგური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტების ალტერნატივას წარმოადგენს ალოგენური და ქსენოგენური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტები. ალოგენურ ტრანსპლანტანტებში ნაკლებია სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების შემცველობა და ამიტომ ისინი ხასიათდებიან დაბალი ოსტეონდუქციური პოტენციალით. გარდა ამისა მათი გამოყენებისას მატულობს სხვადასხვა ინფექციის გადაცემის რისკი. ასევე

მაღალია იმუნოლოგიური კონფლიქტის განვითარების ალბათობაც, რაც ხელს უშლის ძვლის შეხორცებას და იწვევს ტრანსპლანტანტის მოცილებას. რაც შეეხება ქსენოგენურ ტრანსპლანტანტებს მათ გააჩნიათ საკმაოდ მაღალი ზოონოზური ინფექციების გადაცემის რისკი და იმუნური კონფლიქტის განვითარების ალბათობა. სინთეტიკური და ბიოსინთეტიკური მასალებისგან დამზადებული ტრანსპლანტანტების მთავარ უპირატესობას წარმოადგენს ბიომეთავსებადობა და ბიორეაბსორბციის კარგი უნარი. მიუხედავად ამისა ისინი ვერ უზრუნველყოფენ ძვლის სრულყოფილ რეგენერაციას. ეს დაკავშირებულია ტრანსპლანტაციის შემდეგ ამ ტრანსპლანტანტების არასაკმარის ვასკულარიზაციასთან, სუსტ ოსტეოკონდუქციის უნართან, ძვლის ფორმირების არაადეკვატურობასთან, დაბალ მექანიკურ რეზისტენტობასა და სტაბილურობასთან.

აქედან გამომდინარე იდეალურ ძვლოვან ტრანსპლანტანტს უნდა ახასიათებდეს ბიომეთავსებადობა, ოსტეოკონდუქცია, ოსტეონდუქცია, ოსტეონტეგრაცია, ოსტეოგენუზი და ძვლის რემოდელირება, უნდა გააჩნდეს ფოროვანი სტრუქტურა, ახალი ძვლის ფორმირების ტემპის შესაბამისი ბიორეზორბადობის სიჩქარე, ნატურალური ძვლის მსგავსი მექანიკური რეზისტენტობა და სტაბილურობა, იყოს იაფი და ადვილად ხელმისაწვდომი.

თავი 8. მეთოდოლოგია

ნაშრომი თავისი მიზნის და ამოცანების მიხედვით დაიყო ორ ნაწილად: ექსპერიმენტული და კლინიკური. ექსპერიმენტულ ნაწილში შემუშავდა პროტოკოლი რომლის მეშვეობით მოხდა მსხვილფეხა რქოსანი საქონლის ბარძაყის დრუბლოვანი ძვლისაგან დეცელულარიზირებული, ლიოფილიზირებული ძვლის ტრანსპლანტანტის მიღება/დამზადება. ასევე შემუშავდა ბიოლოგიურად აქტიური ძვლის ტრანსპლანტანტის მიღება/დამზადების პროტოკოლი.

ექსპერიმენტული კვლევის ნაწილში ცხოველებზე შემუშავდა ქვედა ყბის ძვლის დეფექტების მოდელი. შესწავლილ იქნა ბიოაქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის შესაძლებლობა და მისი ეფექტურობა ქვედა ყბის ძვლის დეფექტის აღსადგენად. კლინიკურ ნაწილში განხილულია 4 პაციენტი, რომელთაც აღენიშნებოდათ ყბა-სახის ძვლების დეფექტები. აქედან სამ პაციენტს კრიტიკული ზომის დეფექტი წარმოექმნა ქვედა ყბის ძვლის სიმსივნის რეზექციის შემდეგ და ერთ პაციენტს ყვრიმალ-ორბიტული მიდამოს დეფექტი განუვითარდა ავტოავარიის შედეგად.

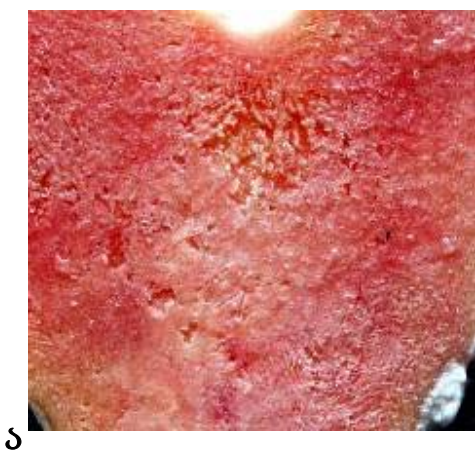
8.1. კვლევის მეთოდი და მისი რელევანტურობა.

8.1.1. მსხვილფეხა რქოსანი საქონლის ბარძაყის ძვლიდან დეცელულარიზირებული სამგანზომილებიანი ძვლოვანი მატრიქსის მიღების მეთოდი

მსხვილფეხა რქოსანი საქონლის ბარძაყის ძვლები შესყიდულ იქნა საქონლის სასაკლაოზე მხოლოდ და მხოლოდ ცხოველის ჯანმრთელობის დამადასტურებელი სერთიფიკატის საფუძველზე. მსხვილფეხა რქოსანი პირუტყვის ბარძაყის ძვლები მოთავსებულ იქნა კონტეინერში და მათი ტრანსპორტირება ლაბორატორიამდე განხორციელდა უსაფრთხოების სტანდარტების შესაბამისად. ლაბორატორიაში მსხვილფეხა რქოსანი პირუტყვის ძვლები დამუშავდა მექანიკურად, გამდინარე წყლით და დაჭრილ იქნა 10X2X2 სმ ზომის ფრაგმენტებად. სისხლის კომპონენტების მოსაცილებლად ფრაგმენტები 4 საათის განმავლობაში მოთავსებულ იქნა ჰეპარინის შემცველ დეიონიზირებულ წყალში. შემდგომ ძვლის ფრაგმენტები გაირეცხა 200მლ 0.9% ფიზიოლოგიურ ხსნარში და გაყინულ იქნა -80°C ტემპერატურაზე 12 საათის განმავლობაში. ძვლის გაყინული ფრაგმენტების გაღობა მოხდა +4°C ტემპერატურაზე და გაირეცხა PBS-ით. შემდგომ ძვლის ფრაგმენტები მოთავსდა შეიკერში და 72 საათის განმავლობაში გაირეცხა SDS-

ით (Sigma) დისტილირებულ H₂O-ში. გარეცხვა დაიწყო 0.01% SDS-ით 24 საათის განმავლობაში, შემდგომი 24 საათის განმავლობაში 0.1% SDS-ით და ბოლო 24 საათის განმავლობაში 1% SDS-ით. ამის შემდეგ ნარჩენი SDS-ის მოსაცილებლად, ძვლის ფრაგმენტები გაირეცხა დისტილირებულ H₂O-ში 15 წუთის განმავლობაში და 1 % Triton X-100 (Sigma) 30 წუთის განმავლობაში. ამის შემდეგ, დეცელულარიზირებული ძვლის ფრაგმენტები (ილუსტრაცია 1) 4 საათის განმავლობაში გაირეცხა PBS-ით. ძვლის ფრაგმენტები მოთავსდა შეიკერში და 24 საათის განმავლობაში გაირეცხა ხსნარით, რომელიც შეიცავდა ქლოროფორმს და მეთანოლს (1:1 მოცულობითი შეფარდებით). გამხსნელის მოსაცილებლად დამატებულ იქნა დეიონიზირებული წყალი 50:1 შეფარდებით, შემდგომ კი მოხდა 12 საათის განმავლობაში ხსნარის 120 ბრუნი/წთ სიხშირით შენჯღრევა, საბოლოოდ ძვლის ფრაგმენტებში დარჩენილი გამხსნელი მოცილებულ იქნა. ამავდროულად, რეცხვის ეფექტურობის გასაზრდელად, 2 საათიანი ინტერვალებით ხდებოდა დეიონიზირებული წყლის შეცვლა ახალი წყლით. ძვლის გარეცხილი ფრაგმენტების გაშრობა მოხდა თერმოსტატში 60° C ტემპერატურაზე.

ილუსტრაცია 1. მსხვილფეხა რქოსანი საქონლის ბარძაყის ძვლის ნატიური (ა) და დეცელულარიზირებული სამგანზომილებიანი ძვლოვანი მატრიქსი (ბ)



ძვალში შემცველი ცილის მოსაცილებლად და პროინის ინაქტივირებისათვის (რომელიც იწვევს მსხვილფეხა რქოსანი პირუტყვის ღრუბლისებრ ენცეფალოპათიას), ძვლის ფრაგმენტები კვლავ თავსდება შეიკერში და 4% ნატრიუმის ჰიპოქლორიდის ხსნარში ირეცხება 120 ბრუნი/წთ სიხშირით 24 საათის განმავლობაში. დეპროტეინიზირებულ ძვლის ფრაგმენტებში დარჩენილი გამხსნელის მოცილებისათვის, დამატებულ იქნა დეიონიზირებული წყალი და შენჯღრეულ იქნა 120 ბრუნი/წთ სიხშირით 72 საათის განმავლობაში, რაც ასევე იწვევს ნატრიუმის ჰიპოქლორიდისგან გასუფთავებას. ამავდროულად, დეიონიზირებული წყალი პირველი 12 საათის განმავლობაში შეიცვალა 2 საათიანი ინტერვალებით, ხოლო შემდგომ 12 საათიანი ინტერვალებით.

დეპროტეინიზაციის პროცესის შემდეგ ძვლის ფრაგმენტები 16 საათის განმავლობაში მოთავსებულ იქნა ლიოფილიზაციის აპარატში (ილუსტრაცია 2). ლიოფილიზაციის შემდეგ დეცელულარიზირებული სამგანზომილებიანი ძვლოვანი მატრიქსი თავსდება სტერილურ ბოქსებში.

ილუსტრაცია 2. ლიოფილიზატორი “Power Dry PI 6000 Freeze Dryers” (Heto Labware)



8.1.2. ნატიურ და დეცელულარიზებულ ძვლოვან ქსოვილებში

დნმ-ის რაოდენობის განსაზღვრა

დნმ გამოყოფილ იქნა ნატიური და დეცელულარიზებული სამგანზომილებიანი ძვლოვანი ქსოვილისაგან სტანდარტული მეთოდის გამოყენებით (G-spin Kit; iNtRON Biotechnology, Inc., Seongnam, Korea). ტოტალური დნმ განისაზღვრა სპექტროფოტომეტრის (NanoDrop 1000; Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA) ტალღის 260 ნმ მაჩვენებელზე.

8.1.3. ვირთაგვის ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების მიღება და მათი

მოთავსება დეცელულარიზებული სამგანზომილებიანი

ძვლოვანი მატრიქსის ზედაპირზე

ღეროვანი უჯრედების გამოყოფისათვის გამოყენებულ იქნა იმბრედული Lewis-ის ხაზის 30 ვირთაგვა. ზოგადი გაუტკივარების პირობებში ვაწარმოებდით ქვედა კიდურის ამპუტაციას და ბარძაყის ძვალს ვათავისუფლებდით მის გარშემო არსებული ქსოვილებისაგან. ეპიფიზისა და დიაფიზის რეზექციის შემდეგ ბარძაყის ძვლის არხში შეგვყავდა 16G ზომის ნემსი და ვახორციელებდით ძვლის ტვინის გამორეცხვას ციტრატით. ძვლის ტვინის ასპირაციის შემდეგ, მრავალჯერადი ინსპირაცია-ასპირაციის გზით 18 G ნემსით ხდებოდა მისი დისოციაცია.

მიღებული უჯრედული მასის ცენტრიფუგირება მიმდინარეობდა 10 წუთის განმავლობაში 300 x g სიჩქარით, 4°C. მიღებული სუსპენზიის სისხლის წითელი უჯრედების მალიზირებელ ბუფერში რესუსპენდირების და 9 წუთიანი ინკუბაციის შემდეგ ხორციელდებოდა მათი განმეორებითი ცენტრიფუგირება. საბოლოოდ უჯრედები რესუსპენდირდებოდა 5% FBS-IMDM-ის ხსნარში (2მლ/თაგვზე). უჯრედების ერთი ნაწილი განზავდა 1მლ PBS-ში (Phosphate Buffered Saline) და მოხდა მათი სიცოცხლისუნარიანობის

განსაზღვრა ტრიპან ლურჯის მეშვეობით. უჯრედების მეორე ნახევარს კი ვათავსებდით დეცელულარიზირებული სამგანზომილებიანი ძვლოვანი მატრიქსის ზედაპირზე. ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების დასმის შემდეგ (ილუსტრაცია 3) ბიოკომპოზიტი თავსდება CO₂ ინკუბატორში ოთხი დღის განმავლობაში. აღნიშნული ეტაპების ჩატარების შემდეგ სამგანზომილებიანი ძვლოვანი მატრიქსს გაჯერებული ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედებით ჩაუტარდა განმეორებითი ლიოფილიზაცია.

მიღებული ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტი, რომელიც შეიცავდა სამგანზომილებიან ძვლოვან მატრიქსს და ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების პარაკრინულ ფაქტორებს თავსდება სტერილურ ბოქსებში ტრანსპლანტაციამდე.

ილუსტრაცია 3. დეცელულარიზირებული სამგანზომილებიანი ძვლოვანი მატრიქსის ზედაპირი და მასზე მოთავსებული ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედები.



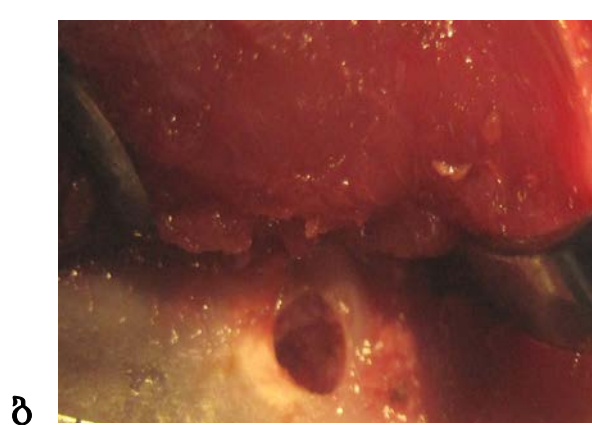
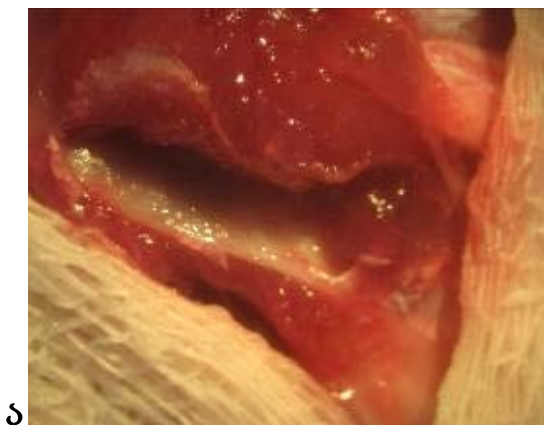
8.1.4. ქვედა ყბის ძვლის დეფექტის მოდელირება და მისი აღდგენის მეთოდები ექსპერიმენტში ცხოველებზე

ექსპერიმენტული კვლევებისათვის გამოყენებულ იქნა ორივე სქესის, 6 თვის ასაკის იმბრედული, ლევისის ხაზის 90 თეთრი ლაბორატორიული

ვირთაგვა, სხეულის მასით 200–250 გრ. ყველა ქირურგიული მანიპულაცია ჩატარდა ზოგადი გაუტკივარების პირობებში (ნატრიუმის ეტამინალის ინტრაპერიტონეული ინექციით 0,5 მგ/ კგ–ზე). ექსპერიმენტულ ცხოველებთან მოპყრობისა და მათი გამოყენების გაიდლაინების შესაბამისად ცხოველები დაყოფილ იქნა სამ ექვივალენტურ ჯგუფად. ყველა ცხოველს წინასწარ ექმნებოდა ქვედა ყბის ძვლის დეფექტის მოდელი.

კანის თმიანი საფარველისაგან განთავისუფლებისა და მისი ანტისეპტიკური ხსნარებით დამუშავების შემდეგ, ქვედა ყბის ძვლის ქვედა კიდის გასწვრივ ტარდებოდა 2 სმ სიგრძის განაკვეთი. საღეჭი კუნთის აშრევა და ქვედა ყბის ძვლის ზედაპირის გაშიშვლება ხორციელდებოდა ბლაგი წესით, რასპატორის გამოყენებით. საღეჭი კუნთის აშრევის და ქვედა ყბის ძვლის ზედაპირის გაშიშვლების შემდეგ ქვედა ყბის ძვლის სხეულის მიდამოში იქმნებოდა მრგვალი ღრუ დიამეტრით 8 მმ, რომელიც უკავშირდებოდა პირის ღრუს (ილუსტრაცია 4). ძვლის დეფექტის შესაქმნელად გამოყენებული იყო სტომატოლოგიური ბორი ბრუნვების გარკვეული სიხშირის დაცვით. ძვლის ქსოვილების გადახურვის პროფილაქტიკისათვის ვაწარმოებდით მათ გაგრილებას წყლით.

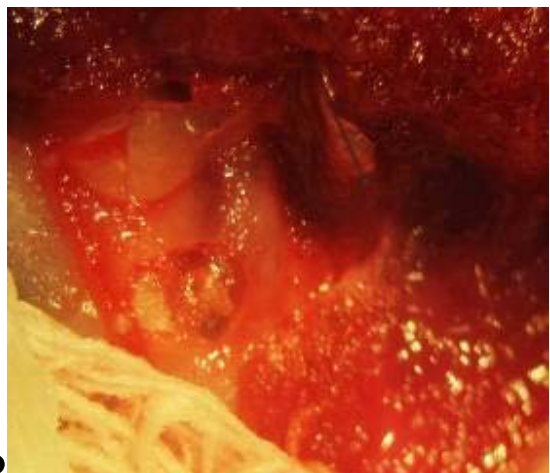
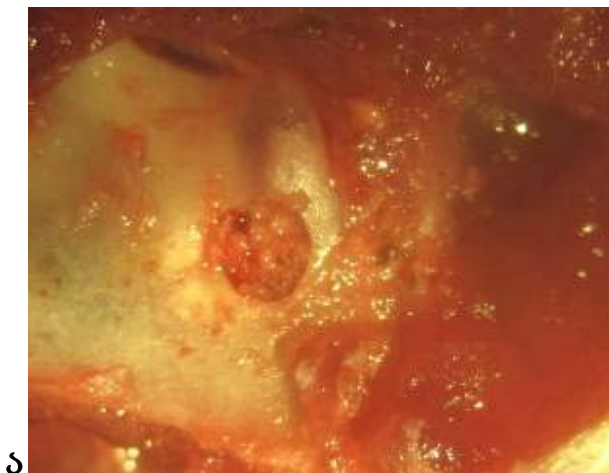
ილუსტრაცია 4. ქვედა ყბის ძვლის დეფექტის მოდელირება. ა) საღეჭი კუნთის აშრევის და ქვედა ყბის ძვლის ზედაპირის გაშიშვლების პროცესი; ბ) ქვედა ყბის ძვლის დეფექტი.



პირველი ჯგუფის ცხოველებში (n=30), რომლებიც წარმოადგენდნენ საკონტროლო ჯგუფს, ძვლოვანი დეფექტი იფარებოდა საკუთარი საღეჭი კუნთით და ჭრილობა იკერებოდა უწყვეტი ნაკერებით, ვიკრილის ძაფის გამოყენებით.

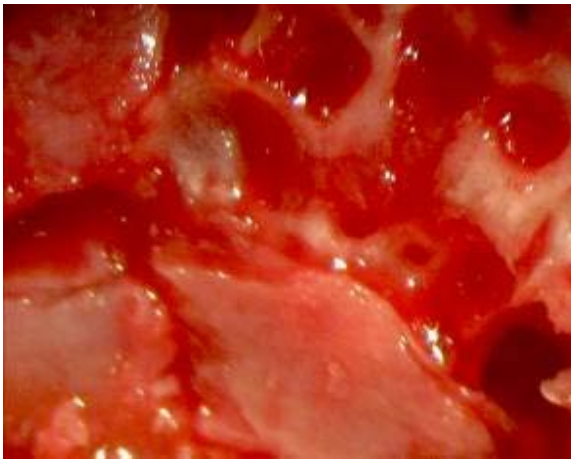
მეორე ჯგუფის ცხოველებში (n=30), შექმნილი ქვედა ყბის ძვლის დეფექტის რეკონსტრუქცია ხორციელდებოდა დეცელულარიზირებული სამგანზომილებიანი ძვლოვანი ტრანსპლანტატით და ამის შემდეგ დეფექტი იფარებოდა ადამიანის დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის გამოყენებით (ილუსტრაცია 5). ჭრილობა იხურებოდა ყრუთ, ვიკრილის ძაფის გამოყენებით. მესამე ჯგუფის ცხოველებში (n=30), ქვედა ყბის ძვლის დეფექტის რეკონსტრუქცია ხორციელდებოდა ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტით. ისევე როგორც მეორე ჯგუფის ცხოველებში დეფექტი და ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტი იფარებოდა ადამიანის დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანით (ილუსტრაცია 6). ჭრილობა იხურებოდა ყრუთ, ვიკრილის ძაფის გამოყენებით.

ილუსტრაცია 5 . ქვედა ყბის ძვლის დეფექტი შევსებულია სამგანზომილებიან ძვლოვანი მატრიქსით (ა) და დაფარულია ადამიანის დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანით (ბ)

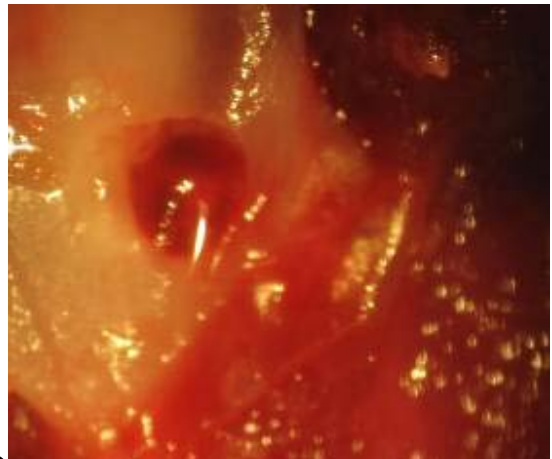


ოპერაციის შემდეგ ყველა ცხოველი იმყოფებოდა დაკვირვების ქვეშ ვივარიუმის სტანდარტულ პირობებში. რენტგენოლოგიურ კვლევებს ვაწარმოებდით დინამიკაში Diox portable X-ray აპარატის გამოყენებით. ექსპერიმენტული ცხოველების ცდებიდან გამოყვანა ხორციელდებოდა ოპერაციიდან 3, 6, 15, 30, 90 და 180 დღეს. პოსტოპერაციული კვლების ობიექტს წარმოადგენდა ქვედა ყბის ძვლის ქსოვილი. აუტოფსიაზე ვაწარმოებდით ქვედა ყბის ძვლის რეზექციას.

ილუსტრაცია 6. ქვედა ყბის ძვლის დეფექტი აღდგენილია ბიოლოგიურად აქტიური ტრანსპლანტანტი (ა); და დაფარულია (ბ) ადამიანის დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანით



ა



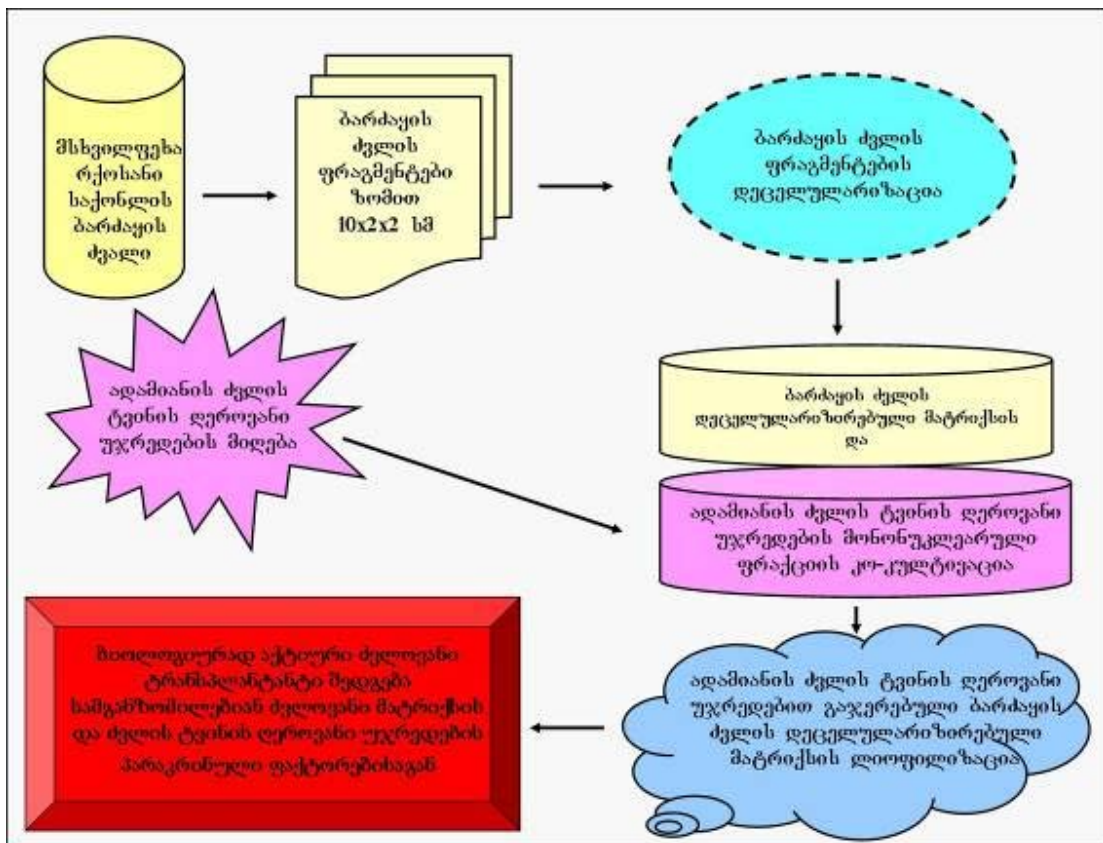
ბ

ძვლის ფრაგმენტების ნაწილს ვაფიქსირებდით პარაფორმალდეჰიდის 4% ხსნარში (pH 7,4) 24 საათის განმავლობაში. ფიქსაციის შემდეგ ვახორციელებდით ძვლის ფრაგმენტების დემინერალიზაციას 24 საათის განმავლობაში. დეკალცინირებული ძვლის დეჰიდრატაციის შემდეგ პრეპარატებს ვაყალიბებდით პარაფინში. 5–7 მკმ სისქის ანათლები იღებებოდა ჰემატოქსილინ – ეოზინით და მასონ ტრიქრომით.

8.2. კვლევის კლინიკური ნაწილი

კლინიკურ კვლევას წინ უძღოდა ადამიანის ძვლის ტვინის დეროვანი უჯრედების მიღების და მათი სიცოცხლისუნარიანობის განსაზღვრის პროტოკოლის შემუშავება. ასევე შემუშავდა ადამიანის ძვლის ტვინის დეროვანი უჯრედებისა და დეცელულარიზირებული სამგანზომილებიანი ძვლოვანი მატრიქსის კო-კულტივაციის მეთოდი (გრაფიკი1).

გრაფიკი1. ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის დამზადება/მიღების მეთოდი



8.2.1. ადამიანის ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების

მიღების მეთოდი

ქვედაყბის ძვლის დეფექტის რეკონსტრუქციამდე ოთხი დღით ადრე, ადგილობრივი ანესთეზიის გამოყენებით, პაციენტის თეძოს წინა ქედიდან ასპირირებულ იქნა 120 მლ ძვლის ტვინი და მოთავსებულ იქნა სტერილურ, ჰეპარინის შემცველ სინჯარაში. ასპირატები განზავებულ იქნა PBS-ში 1:2 მოცულობითი შეფარდებით. მონონუკლეარული ფრაქცია გამოყოფილ იქნა სიმკვრივის გრადიენტის ცენტრიფუგირების მეშვეობით 400 x g მაჩვენებელზე 30 წუთის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე Ficoll Paque Plus ან Ficoll Paque Premium ხსნარების გამოყენებით (GE Healthcare Bio-Sciences, Pittsburgh, PA, USA).

8.2.2. გამდინარე ციტომეტრია

უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის ტესტი ჩატარებულ იქნა 0.4% ტრიპან ლურჯის ხსნარის გამოყენებით სტანდარტული პროტოკოლის მიხედვით. უჯრედის იმუნოფენოტიპირებისათვის, მოხდა უჯრედის სუსპენზიების ინკუბაცია anti-human CD34-ის, CD45-ის, CD271 (Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch Gladbach, Germany) და anti-human STRO-1 ანტისხეულების (Santa Cruz Biotechnology, Inc., Dallas, TX, USA) მეშვეობით ხარის 0.5% შრატის albumin/PBS (Sigma-Aldrich) ბუფერულ ხსნარში მწარმოებლის ინსტრუქციების მიხედვით. გამდინარე ციტომეტრიის ანალიზი ჩატარებულ იქნა BD FACSCalibur flow cytometer (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, USA) აპარატზე. მონონუკლეარული CD45-/CD34-/CD271+/STRO-1+ უჯრედები განისაზღვრა როგორც ძვლის ტვინის მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედები და აღრიცხულ იქნა მათი პროცენტულობა და რაოდენობა. ძვლის ტვინის ჰემატოპოეტური ღეროვანი უჯრედები განისაზღვრა როგორც CD45+/CD34+ მონონუკლეარული უჯრედული პოპულაცია.

8.2.3. ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტატის მიღების მეთოდი

დეცელულარიზებული სამგანზომილებიანი ძვლოვანი მატრიქსი ირეცხებოდა სტერილურ PBS-ის ხსნარში 30 წუთის განმავლობაში და თავსდებოდა RPMI-1640 (Sigma-Aldrich) გარემოში ისე, რომ იფარებოდა მატრიქსის მხოლოდ ქვედა ნახევარი. 1.2×10^8 ძვლის ტვინის მონონუკლეარული უჯრედები, რომელიც განზავებულ იყო 10 მლ ფიზიოლოგიურ ხსნარში, მოთავსდა მატრიქსის ზედა ზედაპირზე.

თხუთმეტი წუთის შემდგომ, მატრიქსი იქნა გადმობრუნებული და უჯრედების იგივე რაოდენობა იქნა მოთავსებული მატრიქსის საპირისპირო ზედაპირზე. უჯრედების თანაბარი გადანაწილებისათვის, ეს პროცედურა გამეორებულ იქნა ყოველ 15 წუთში ერთხელ 1 საათის განმავლობაში. ამის შემდეგ ძვლოვანი მატრიქსი და მასზე მოთავსებული ძვლის ტვინის მონონუკლეარული უჯრედები თავსდებოდა კულტივაციისათვის ნოტიო ინკუბატორში (37°C , 5% CO_2) 4 დღის განმავლობაში.

უჯრედების ოსტეოგენური გარემო შეიცავდა: DMEM-low გლუკოზას დამატებულ 10%-ან fetal bovine შრატს, 1 μM დექსამეტაზონს (Sigma-Aldrich), 50 $\mu\text{g/ml}$ ascorbic acid (Sigma-Aldrich), 10 mM sodium β -glycerophosphate (Sigma-Aldrich) და 1% პენიცილინ/სტრეპტომიცინს (Sigma-Aldrich).

ინკუბაციის შემდეგ ძვლოვანი მატრიქსი, გაჯერებული ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედებით თავსდებოდა ლიოფილიზატორში. ლიოფილიზატორის ტემპერატურა დაყენებული იყო -40°C -ზე, ხოლო ვაკუუმი მერყეობდა 10-15 პა-ის ფარგლებში. ლღობის პროცედურა მიმდინარეობდა 18-24 საათის განმავლობაში. კამერის გათბობა ხდებოდა თანდათან, $+0.2^{\circ}\text{C}/\text{წთ}$ -ის სისწრაფით $+15-20^{\circ}\text{C}$ -მდე, რომელიც საბოლოოდ შენარჩუნებულ იქნა 6-8 საათამდე.

ლიოფილიზაციის შემდგომ, მიღებული ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტი თავსდებოდა პოლიეთილენის ერთჯერად პარკებში (Wipak Medical), რომლის შემდგომაც ტარდებოდა სტერილიზაცია გამა-სხივების მეშვეობით 15 კ/გრეის დოზით. პროდუქტი გამოყენებამდე ინახებოდა ოთახის ტემპერატურაზე სტერილურ პირობებში.

8.2.4. ჰისტოლოგიური და ფლუორესცენტული იმუნოჰისტოქიმია

ჰისტოლოგიური კვლევა. მსხვილფეხა რქოსანი საქონლის ძვლოვანი ქსოვილი აღებულ იქნა დეცელულარიზაციამდე და მის შემდეგ. ქსოვილები დაფიქსირდა ფორმალინის ნეიტრალურ ბუფერულ ხსნარში. პარაფინში ჩაყალიბებული ნატიური და დეცელულარიზირებული ძვლოვანი ქსოვილი იჭრებოდა 5-მკმ სისქის ანათლებად და იღებებოდა ჰემატოქსილინ - ეოზინისა და მასონ ტრიქრომის მეთოდის გამოყენებით.

ფლუორესცენტული იმუნოჰისტოქიმიური კვლევა. ნატიური და დეცელულარიზირებული ქსოვილის 5-მკმ სისქის ანათლები თავსდებოდა თერმოსტატში (+50°C) 12 საათის განმავლობაში. დეპარაფინაციის და რეჰიდრატაციის შემდეგ ანტიგენის მოპოვება ხდებოდა ორთქლში proteinase K ფერმენტაციის მეთოდის გამოყენებით. გენის ექსტრაქციის შემდეგ ანათლები ირეცხებოდა სამჯერ PBS-ის ხსნარში თითო ეტაპზე 5 წუთის განმავლობაში. ბლოკირებისათვის გამოვიყენეთ 3% H₂O₂ ხსნარი. ანათლების ინკუბაცია ხდებოდა პირველადი ანტისხეულების (CD105/ენდოგლინი 1:100, BMP-2 1:100, კოლაგენ Iα1 1:100 და ფიბრონექტინი 1:200) გამოყენებით. PBS-ის ხსნარში გარეცხვის შემდეგ ანათლების ინკუბაციას ვახორციელებდით biotin-ის მეორად ანტისხეულთან 30 წუთის განმავლობაში. PBS-ის ხსნარში გარეცხვის შემდეგ ანათლების ინკუბაცია ხდებოდა horseradish peroxidase-streptavidin-ის გამოყენებით 30 წუთის განმავლობაში. ანათლები დამუშავდა 3.3'-

diaminobenzidine chromogen - ის სუბსტრატში, გაირეცხა PBS-ის ხსნარში და შეიღება კონტრასტული მაიერის ჰემატოქსილინით.

8.2.5. სკანირებადი ელექტრონული მიკროსკოპია

დეცელულარიზებული სამგანზომილებიანი ძვლოვანი მატრიქსის დეჰიდრატაცია ხდებოდა ეთანოლის ხსნარით და სპეციალური საშრობის დანადგარით “ Tousimis Samdri-780 critical point dryer” (Tousimis Research Corporation, Rockville, MD, USA) კრიტიკული ზღვრის გაშრობამდე,

გაშრობის შემდგომ, დეცელულარიზებული სამგანზომილებიანი ძვლოვანი მატრიქსი და ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედები შეღებილი იქნა ოქროთი sputter coating-ის მეთოდის გამოყენებით. ამის შემდეგ მასალა მოთავსდა Hitachi-ის (Hitachi, Ltd., Tokyo Japan) სკანირებად ელექტრონულ მიკროსკოპში.

8.2.6. გენების ექსპრესიის ანალიზი

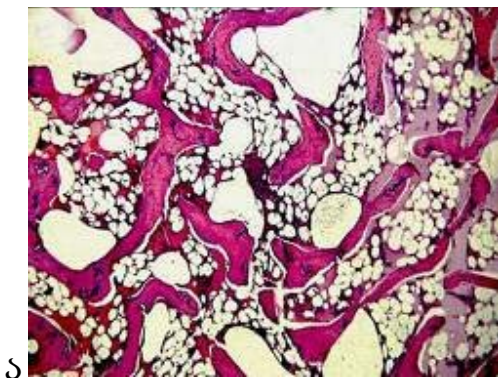
რნმ-ის ექსტრაქცია ნატიური და დეცელულარიზირებული მსხვილფეხა რქოსანი საქონლის ძვლის ქსოვილიდან მოხდა miRNeasy mini kit-ის მეშვეობით, მწარმოებლის ინსტრუქციის მიხედვით (Qiagen GmbH, Hilden, Germany). დნმ-ის სინთეზირება მოხდა iScript cDNA synthesis kit-ის მეშვეობით (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, USA). რაოდენობრივი PCR (qPCR) ჩატარდა iTaq universal SYBR green supermix-ის (Bio-Rad Laboratories, Inc.) მეშვეობითა და 7500 Fast Real-Time PCR-ის სისტემის (Thermo Fisher Scientific, Inc.) გამოყენებით. **18S** rRNA გამოყენებულ იქნა გენების ექსპრესიის კონტროლისათვის.

თავი 9. შედეგები

9.1. ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტატის მორფოფუნქციური ანალიზი

ჩატარებულმა ჰისტოლოგიურმა და იმუნოჰისტოქიმიურმა კვლევებმა გვიჩვენა რომ, რქოსანი საქონლის ბარძაყის ძვლის ფრაგმენტების დეცელულარიზაციის პროცესის შემდეგ მიღებული სამგანზომილებიანი ძვლოვანი მატრიქსი ინარჩუნებს ნატიური ძვლისათვის დამახასიათებელ სტრუქტურას ძვლოვანი უჯრედების გარეშე (ილუსტრაცია 7). დეცელულარიზირებული ძვლოვანი მატრიქსი შედგება I A ტიპის კოლაგენის, ლამინინის და ფიბრონექტინის ბოჭკოებისაგან, რომლებიც ქმნიან სხვადასხვა ზომის (0.1მმ – 1.1მმ) ფორებს (ილუსტრაცია 8).

ილუსტრაცია 7. მსხვილფეხა რქოსანი საქონლის ნატიური (ა) და დეცელულარიზირებული სამგანზომილებიანი ძვლოვანი მატრიქსი უჯრედების გარეშე (ბ)

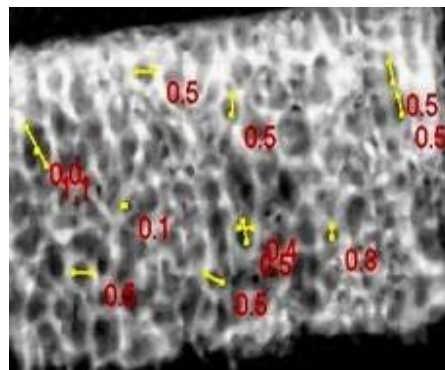
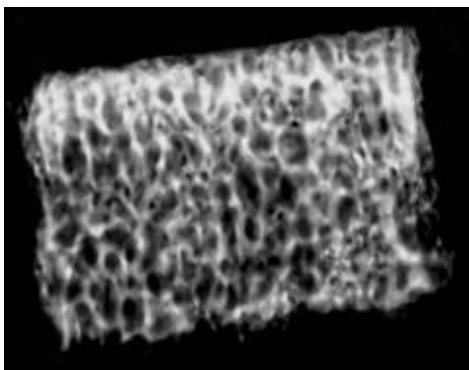


დნმ-ის რაოდენობრივმა ანალიზმა გვიჩვენა რომ, დეცელულარიზებულ სამგანზომილებიან ძვლოვან ქსოვილში დნმ-ის ნარჩენი შეადგენდა <1.4%-ს. მაშინ როდესაც ნატიურ ძვლოვან ქსოვილში დნმ-ის შემცველობა წარმოადგენდა 482 $\mu\text{g}/\text{mg}$ -ს. აქედან გამომდინარე შეიძლება დავასკვნათ, რომ

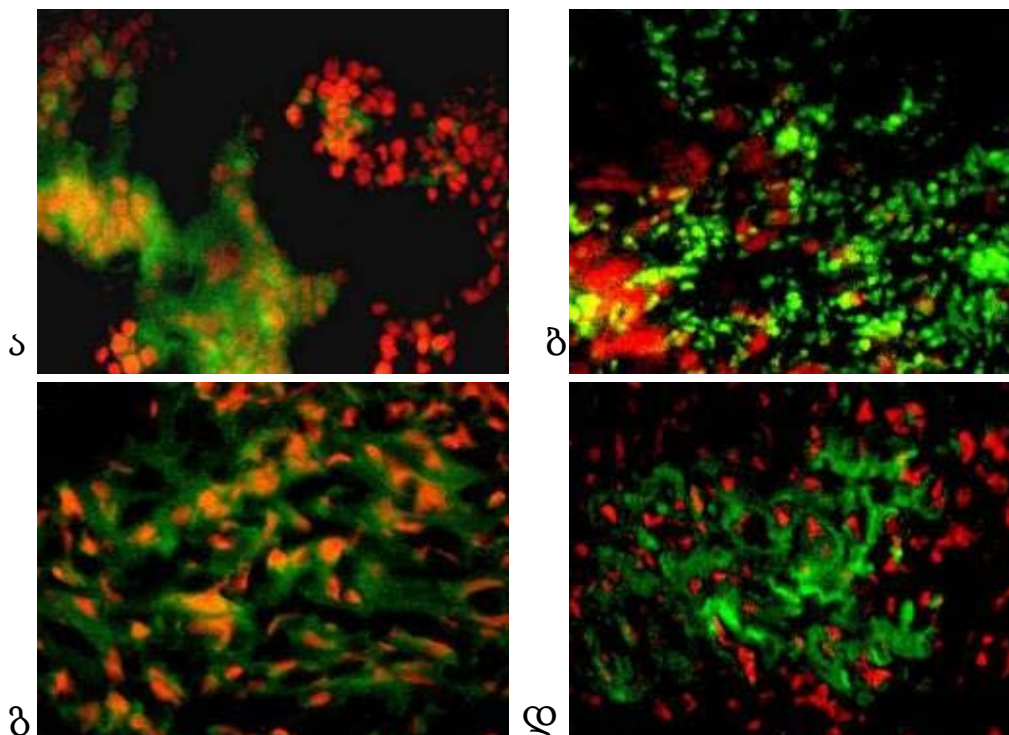
დეცელულარიზაციისათვის გამოყენებული, ისეთი დეტერგენტები როგორცაა 1%-ანი SDS და Triton X 100 სრულად ათავისუფლებს ძვლოვან მატრიქს უჯრედებისაგან და არ აზიანებს მის სტრუქტურას (ილუსტრაცია 9 და 10). 4%-ანი ნატრიუმის ჰიპოქლორიდის ხსნარის გამოყენება კი ახდენს ტრანსპლანტატში პრიონის ინაქტივირებას (რომელიც იწვევს მსხვილფეხა რქოსანი საქონლის ღრუბლისებრ ენცეფალოპათიას) და ამცირებს ზოონოზური დაავადების გადაცემის რისკს ტრანსპლანტაციის შემდეგ.

გენების ექსპრესიის ანალიზმა გვიჩვენა რომ, ჩვენს მიერ შემუშავებული ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტატი შეიცავს სხვადასვა ზრდის ფაქტორებს, მათ შორის ოსტეოკალცინს, ოსტეოპონტინს და სიალოპროტეინს (ილუსტრაცია 11).

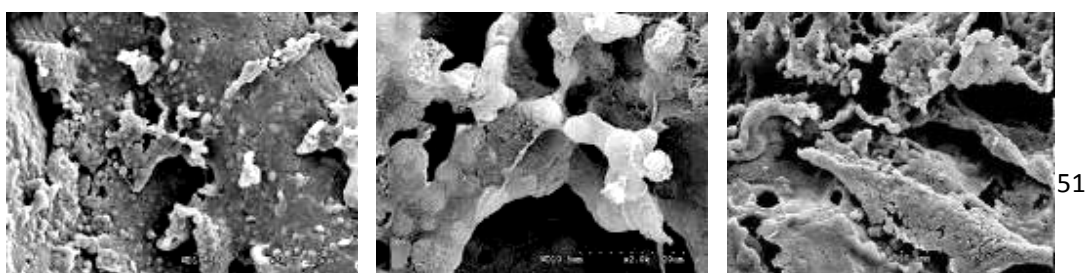
ილუსტრაცია 8. კომპიუტერული ტომოგრამა. დეცელულარიზირებული ძვლოვანი მატრიქსის ფოროვანი სტრუქტურა

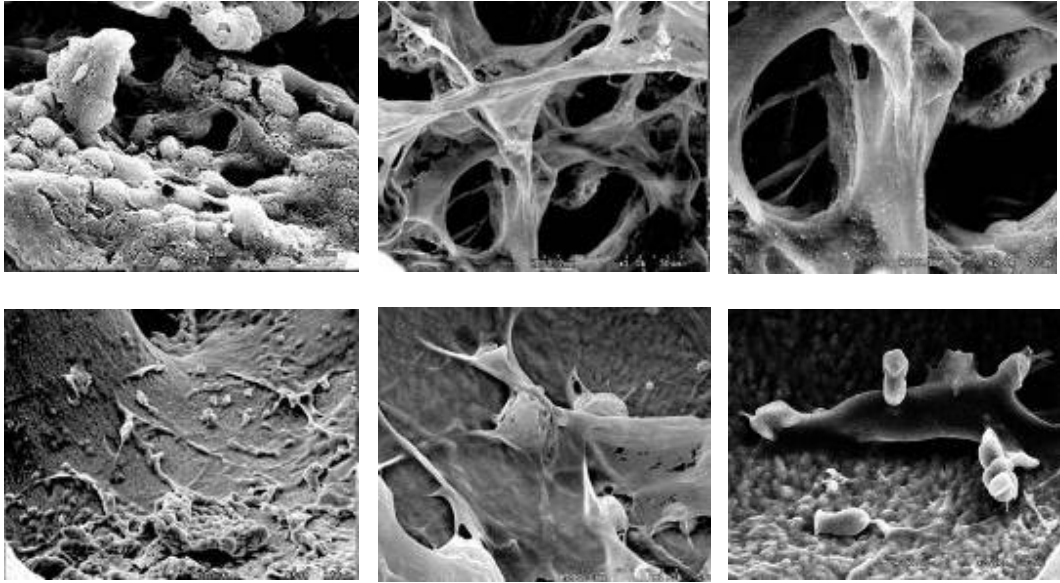


ილუსტრაცია 9. ფლუორესცენტული იმუნოჰისტოქიმია. CD105/endothelin-ი (ა); Bone morphogenetic protein-2- რი (ბ); Collagen-ს ტიპი I α 1 (გ); Fibronectin-ი (დ)

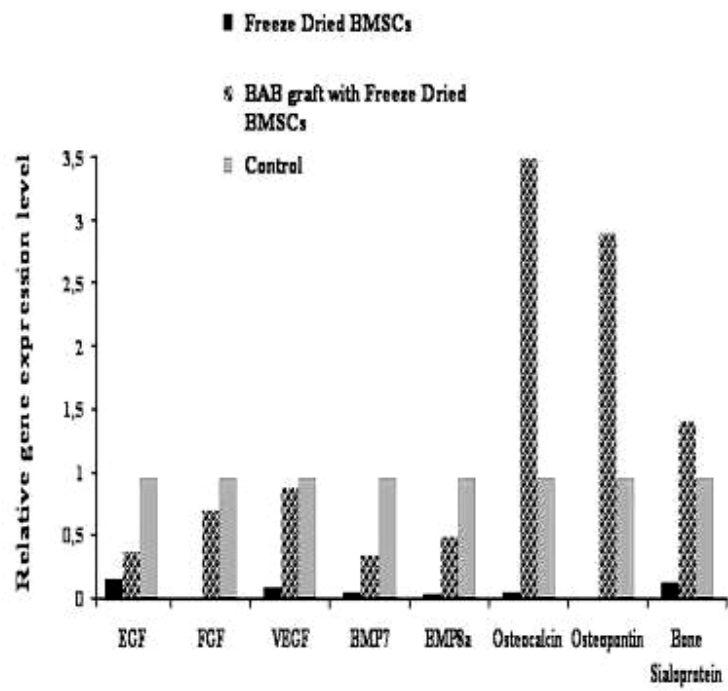


ილუსტრაცია 10. სკანირებადი ელექტრონული მიკროსკოპია. დეცელულარიზირებული ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედები და ძვლოვანი ქსოვილის მატრიქსი





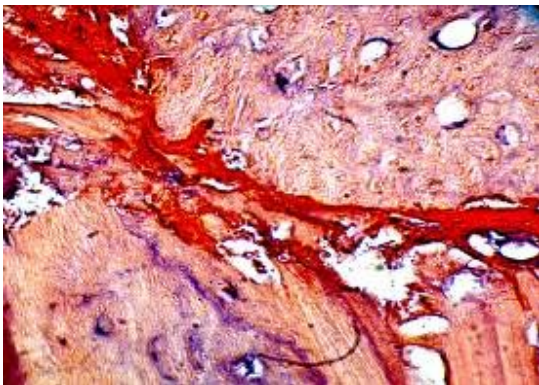
ილუსტრაცია 11. ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის გენების ექსპრესიის ანალიზი



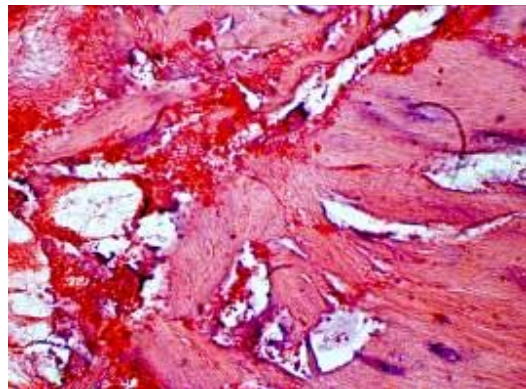
9.2. ექსპერიმენტული კვლევის შედეგები

სამივე ჯგუფის ცხოველებმა კარგად გადაიტანეს ოპერაცია და ოპერაციის შემდგომი პერიოდი. საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში ქვედა ყბის ძვლის დეფექტის მოდელირების შემდეგ ძვლის რეპარაციული რეგენერაციის პროცესი წარიმართა რამდენიმე თანმიმდევრული ფაზით. პირველი სამი დღის განმავლობაში ცხოველებს აღენიშნებოდათ ჭრილობის მიდამოში არსებული რბილი ქსოვილების შეშუპება და ჰიპერემია. დაზიანებულ ქსოვილებში აღინიშნებოდა მკვეთრად გამოხატული ანთებითი რეაქცია ლიმფოციტარული ინფილტრაციით. ძვლის დეფექტი მთლიანად ამოვსებული იყო სისხლის კოლტით (ილუსტრაცია 12). ძვლოვან დეფექტში ნაპოვნი იყო მცირე ზომის ძვლის ფრაგმენტები რომელიც მოხვდნენ ჭრილობაში დეფექტის მოდელირების დროს (ილუსტრაცია 13). ამ ფრაგმენტების ირგვლივ განლაგებული იყო ლიმფოციტები, მაკროფაგები, ნეიტროფილები და გიგანტური უჯრედები.

ილუსტრაცია 12 . ქვედა ყბის ძვლის დეფექტის კიდებს შორის აღინიშნება ჰემატომა. დაკვირვების ვადა 3 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ – ეოზინით. გადიდება x 200

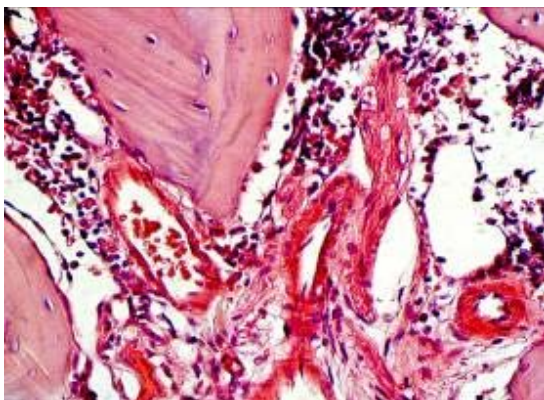


ილუსტრაცია 13 . მცირე ზომის ძვლის ფრაგმენტები დეფექტში. დაკვირვების ვადა 5 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ – ეოზინით. გადიდება x 200

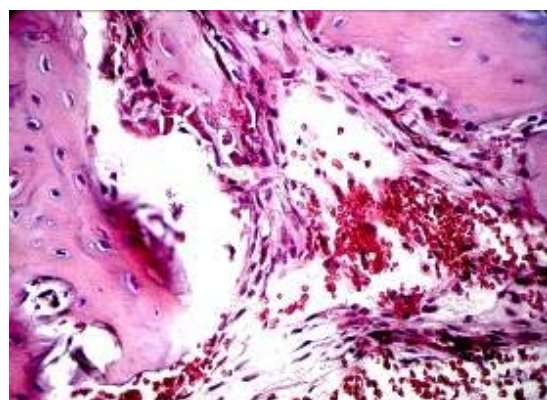


მოდელირებიდან მე-7-9 დღეს ძვლოვანი დეფექტის ზონაში შენარჩუნებული იყო ანთებითი რეაქციის ნარჩენი მოვლენები. დეფექტის კიდეებზე კი აღინიშნებოდა ახლადწარმოქმნილი ქონდროციტების თხელი შრე. ქონდროგენეზის და ენდოქონდრალური ძვლის ფორმირების პროცესი ხელს უწყობდა ქონდროციტების პროლიფერაციას და რეგენერატის წარმოქმნას. ამავე ვადებში აღინიშნებოდა პერიოსტის უჯრედების პროლიფერაცია. ამ პროცესების პარალელურად მიმდინარეობდა სისხლძარღვების ჩაზრდა ახლადწარმოქმნილ რეგენერატში (ილუსტრაცია 14). ოსტეოგენური უჯრედები, რომლებიც განლაგებული იყვნენ პერიოსტის სისხლძარღვოვანი ქსელის მახლობლად დიფერენცირდებოდნენ ოსტეობლასტებად. მოდელირებიდან მე-15 დღეს ძვლის დეფექტის მთელ პერიმეტრზე აღინიშნებოდა უმწიფარი ოსტეოგენური ფაშარბოჭკოვანი ფიბროზული ქსოვილი (ილუსტრაცია 15).

ილუსტრაცია 14 . სისხლძარღვები ახლადწარმოქმნილ ძვლოვან რეგენერატში. დაკვირვების ვადა 9დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ – ეოზინით. გადიდება x 200



ილუსტრაცია 15. ძვლის დეფექტში აღინიშნებოდა უმწიფარი ოსტეოგენური ფაშარბოჭკოვანი ფიბროზული ქსოვილი . დაკვირვების ვადა 15 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ– ეოზინით.

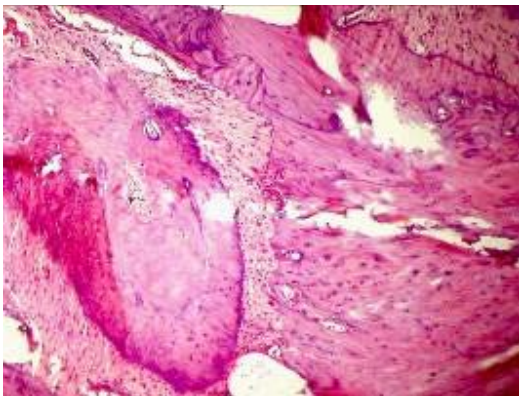


ძვლის დეფექტის კიდეები ნაწილობრივ შემოფარგლული იყო ვასკულარიზირებული გრანულაციური ქსოვილით. უნდა აღინიშნოს, რომ ხრტილოვანი ქსოვილით შევსებული ზონები თანდათან ვიწროვდებოდნენ.

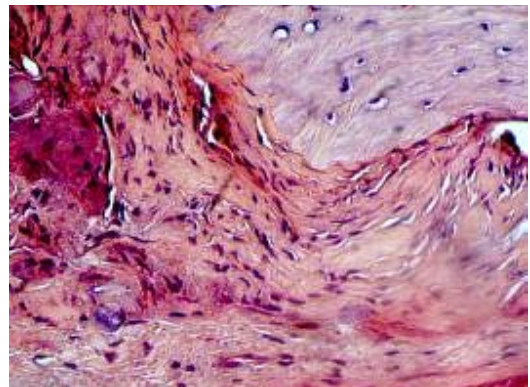
30 დღის შემდეგ ძვლის რეგენერატის პერიოსტალური ნაწილი შედგებოდა ძვლოვანი რეტიკულო-ფიბროზული ქსოვილისაგან. ძვლის დეფექტის კიდეები შემოფარგლული იყო ოსტეოგენური ქსოვილით, რომელშიც გრძელდებოდა აქტიური ოსტეოგენეზის პროცესი.

ძვლის ტიხრებთან მოსაზღვრე ხრტილოვანი ქსოვილის უბნები განიცდიდნენ რეზორბციას და მის ადგილს იკავებდა ახლად წარმოქმნილი ძვლოვანი ქსოვილი (ილუსტრაცია 16). მოდელირებიდან 45-ე დღეს აღინიშნებოდა ძვლოვანი კორძის ჩამოყალიბება (ილუსტრაცია 17).

ილუსტრაცია 16. ახლად წარმოქმნილი ძვლოვანი ქსოვილი. დაკვირვების ვადა 30 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ-ეოზინით. გადიდება x 200



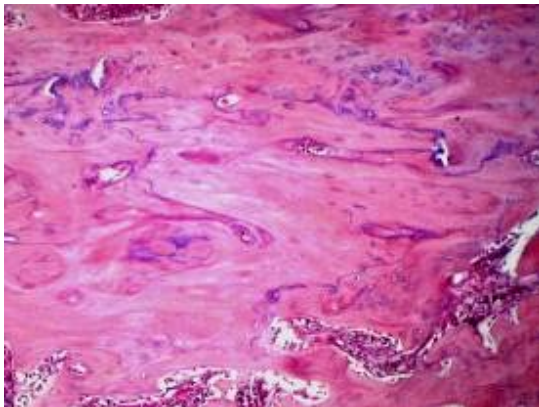
ილუსტრაცია 17. ძვლოვანი კორძის ჩამოყალიბების პროცესი. დაკვირვების ვადა 45 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ-ეოზინით. გადიდება x 400



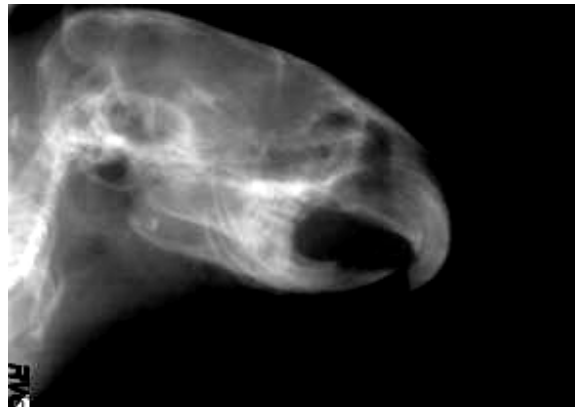
60 დღის შემდეგ ძვლის დეფექტი ვიზუალურად სრულად იყო აღდგენილი (ილუსტრაცია 18) , თუმცა რენტგენოგრამაზე დეფექტი მთლიანად ამოვსებული იყო ახლადწარმოქმნილი ძვლოვანი ქსოვილით,

რომელიც დეფექტის პერიფერიაზე, მეორადი გარდაქმნის ხარჯზე განიცდიდა კომპაქტიზაციას და სტრუქტურულად უახლოვდებოდა დეფექტის ირგვლივმდებარე ძვლოვან ქსოვილს. (ილუსტრაცია 19)

ილუსტრაცია 18 ახლადწარმოქმნილი ძვლოვანი ქსოვილი. დაკვირვების ვადა 60 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილ-ეოზინით. გადიდება x 400



ილუსტრაცია 19 ფოტო რენტგენოგრამიდან. საკონტროლო ჯგუფი. დაკვირვების ვადა 60 დღე. დეფექტი მთლიანად ამოვსებულია ახლადწარმოქმნილი ძვლოვანი ქსოვილით.

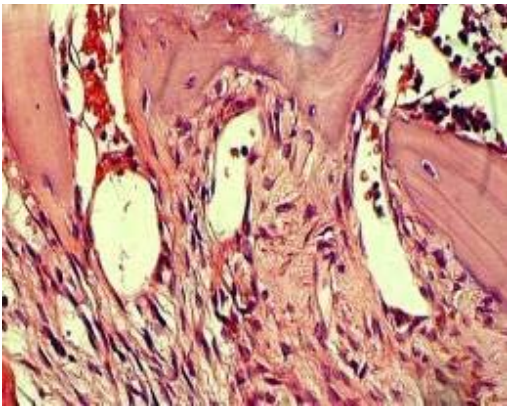


9.2.1. ქვედა ყბის ძვლის დეფექტის აღდგენა დეცელულარიზირებული ძვლის ტრანსპლანტატის გამოყენებით

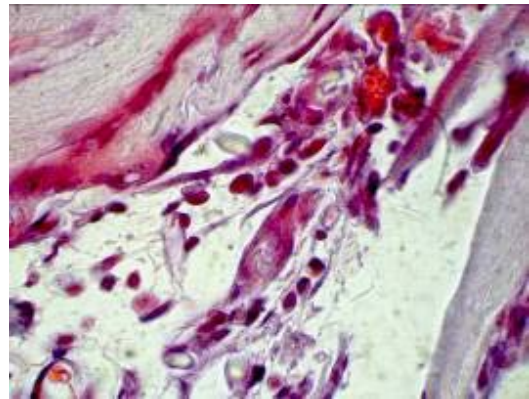
მეორე და მესამე ჯგუფის ცხოველებში დაზიანებული ძვლის რეგენერაციის პროცესი მკვეთრად განსხვავდებოდა პირველი ჯგუფის ცხოველებისაგან. ტრანსპლანტაციიდან 15 დღის შემდეგ მეორე ჯგუფის ცხოველებში ძვლოვანი დეფექტის კიდეები მთლიანად შემოფარგლული იყო ვასკულარიზირებული გრანულაციური ქსოვილით (ილუსტრაცია 20). მესამე ჯგუფის ცხოველებში კი, ამავე ვადებში ძვლის დეფექტის კიდეებში აღინიშნებოდა ენდოოსტალური ოსტეოგენეზის აქტივაციის ნიშნები, რაც

გამოიხატა პერიოსტისა და ენდოსტის მხრიდან ოსტეობლასტების პროლიფერაციით (ილუსტრაცია 21).

ილუსტრაცია 20. დეფექტის კიდეები შემოფარგლულია ვასკულარიზირებული გრანულაციური ქსოვილით. დაკვირვების ვადა 15 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ-ეოზინით. გადიდება x 40



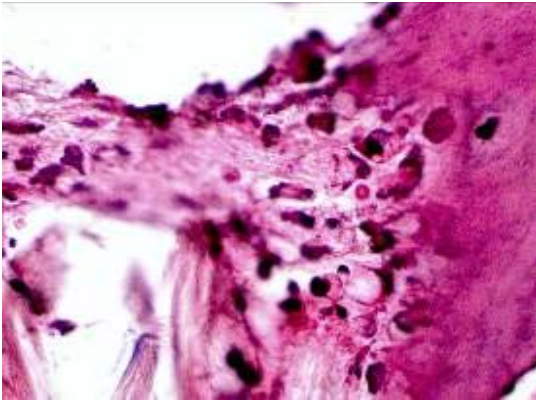
ილუსტრაცია 21. ძვლის დეფექტის კიდეებში აღინიშნება ენდოსტალური ოსტეოგენეზის აქტივაციის ნიშნები. დაკვირვების ვადა 15 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ-ეოზინით. გადიდება x 400



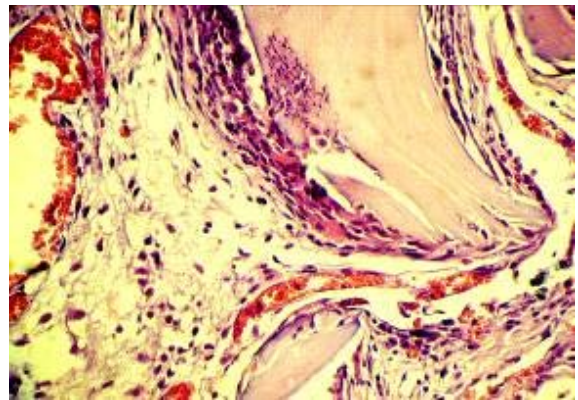
მეორე ჯგუფის ცხოველებში ტრანსპლანტაციიდან 30-ე დღეს ძვლის ტრანსპლანტატის პერიფერიული ნაწილი განიცდიდა რეზორბციას (ილუსტრაცია 22) და მის ადგილს იკავებდა ახლადწარმოქმნილი უმწიფარი ოსტეოგენური ფაშარბოჭკოვანი ფიბროზული ქსოვილი, რომელიც დიდი რაოდენობით შეიცავდა თხელკედლიან სისხლძარღვებს (ილუსტრაცია 23).

ჩანაცვლებითი პროცესი იწყებოდა პერიფერიიდან და თანდათანობით გადადიოდა ძვლის ტრანსპლანტატის ცენტრალურ ნაწილზე. სახეზე იყო გიგანტური უჯრედების მკვეთრი მატება.

ილუსტრაცია 22. ძვლის ტრანსპლანტანტის პერიფერიული ნაწილის რეზორბცია. დაკვირვების ვადა 30 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ-ეოზინით. გადიდება x 400

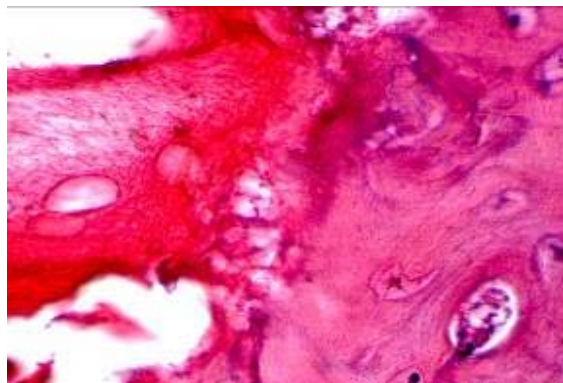


ილუსტრაცია 23. ახლადწარმოქმნილი უმწიფარი ოსტეოგენური ფაშარბოჭკოვანი ფიბროზული ქსოვილი, სისხლძარღვებით. დაკვირვების ვადა 30 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ-ეოზინით. გადიდება x 200



ტრანსპლანტაციიდან 60 დღის შემდეგ ვლინდებოდა ძვლის ტრანსპლანტატის და ძვლოვანი დეფექტის კიდეების მჭიდრო შეხორცება (ილუსტრაცია 24). ტრანსპლანტანტის პერიფერიული ზონა წარმოდგენილი იყო ახლადწარმოქმნილი ძვლოვანი ქსოვილით. 90 დღის შემდეგ ძვლის დეფექტი იყო სრულად აღდგენილი (ილუსტრაცია 25).

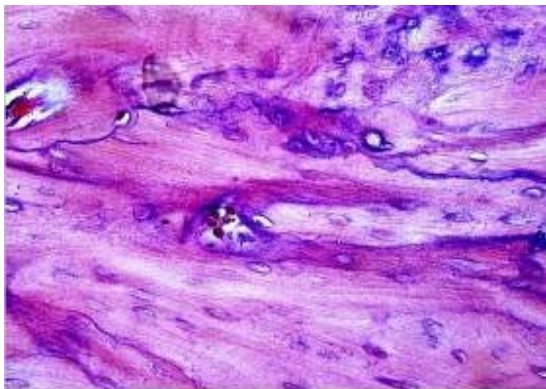
ილუსტრაცია 24. ძვლის ტრანსპლანტატის და ძვლოვანი დეფექტის კიდეების მჭიდრო შეხორცება. დაკვირვების ვადა 60 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ-ეოზინით. გადიდება x 400



თუმცა ძვლოვანი დაფექტის ცენტრალურ ნაწილში ჯერ კიდევ აღინიშნებოდა ძვლის ტრანსპლანტატის ქსოვილის კუნძულები და უმწიფარი ოსტეოგენური ფაშარბოჭკოვანი ფიბროზული ქსოვილი. რენტგენოგრამაზე საზღვარი ტრანსპლანტანტსა და ძვლოვანი დაფექტის კიდეებს შორის ჯერ კიდევ შესამჩნევი იყო (ილუსტრაცია 26).

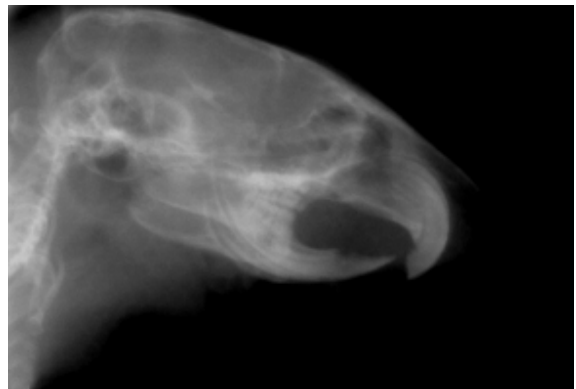
ილუსტრაცია 25.

ახლადწარმოქმნილი ძვლოვანი ქსოვილი. დაკვირვების ვადა 90 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ-ეოზინით. გადიდება x 400



ილუსტრაცია 26. ფოტო

რენტგენოგრამიდან. ცხოველების მეორე ჯგუფი. დაკვირვების ვადა 90 დღე. დაფექტი მთლიანად ამოვსებულია ახლადწარმოქმნილი ძვლოვანი ქსოვილით.

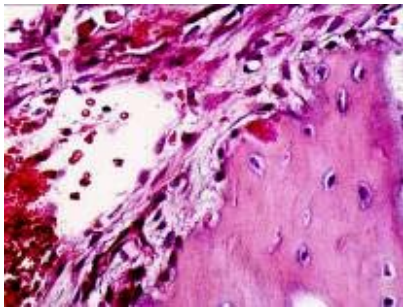


9.2.2. ქვედა ყბის ძვლის დაფექტის აღდგენა ბიოაქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტატის გამოყენებით

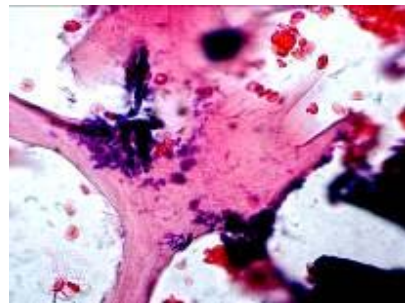
მესამე ჯგუფის ცხოველებში ძვლოვანი დაფექტის კიდეების და ბიოლოგიურად აქტიური ტრანსპლანტანტის პერიფერიული ნაწილის რეზორბციის პროცესი და მისი ჩანაცვლება ოსტეოგენური ქსოვილით მეორე ჯგუფის ცხოველებისაგან განსხვავებით იწყებოდა უფრო ადრე, ტრანსპლანტაციიდან მე-15 დღეს (ილუსტრაცია 27, 28). ეს პროცესი ისევე როგორც მეორე ჯგუფის ცხოველებში, იწყებოდა ბიოლოგიურად აქტიური

ტრანსპლანტანტის პერიფერიიდან და თანდათანობით გადადიოდა მის ცენტრალურ ნაწილზე. ტრანსპლანტაციიდან 30 დღის შემდეგ ბიოლოგიურად აქტიური ტრანსპლანტანტის პერიფერიულ ზონაში შეიმჩნეოდა ოსტეობლასტების ჭარბი რაოდენობა როგორც ტრანსპლანტანტის ზედაპირზე, ასევე მის სისქეში (ილუსტრაცია 29). ტრანსპლანტაციიდან 45 დღის შემდეგ ვლინდებოდა ბიოლოგიურად აქტიური ტრანსპლანტანტის და ძვლოვანი დეფექტის კიდეების მჭიდრო შეხორცება (ილუსტრაცია 30).

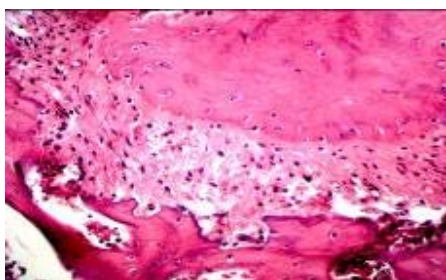
ილუსტრაცია 27. ძვლოვანი დეფექტის კიდეების რეზორბცია და კვირვების ვადა 15 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ-ეოზინით. გადიდება x 400



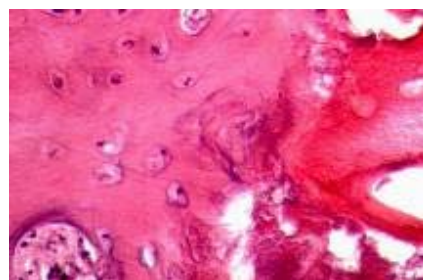
ილუსტრაცია 28. ბიოლოგიურად აქტიური ტრანსპლანტანტის პერიფერიული ნაწილის რეზორბციის პროცესი. დაკვირვების ვადა 15 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ-ეოზინით.



ილუსტრაცია 29. ბიოლოგიურად აქტიური ტრანსპლანტანტის პერიფერიულ ნაწილში შეიმჩნეოდა ოსტეობლასტების ჭარბი რაოდენობა. დაკვირვების ვადა 30 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ-



ილუსტრაცია 30. ბიოლოგიურად აქტიური ტრანსპლანტანტის და ძვლოვანი დეფექტის კიდეების მჭიდრო შეხორცება. დაკვირვების ვადა 45 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ-ეოზინით.

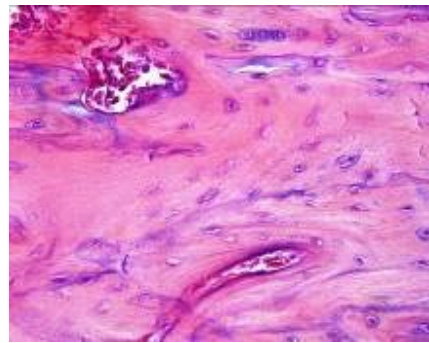
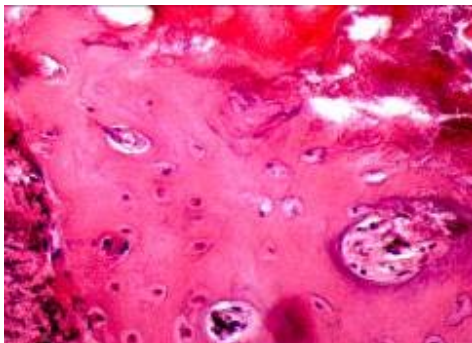


ტრანსპლანტანტის პერიფერიული ზონა წარმოდგენილი იყო ახლადწარმოქმნილი ძვლოვანი ქსოვილით. ძვლოვანი დეფექტის ცენტრალურ ნაწილში აღინიშნებოდა ბიოლოგიურად აქტიური ტრანსპლანტანტის ქსოვილის კუნძულები და უმწიფარი ოსტეოგენური ფაშარბოჭკოვანი ფიბროზული ქსოვილი. ამავე ვადებში ალაგ-ალაგ აღინიშნებოდა შემაერთებელქსოვილოვანი კუნძულები მსხვილი სისხლძარღვებით და მეგაკარიოციტების ჭარბი რაოდენობით, რაც მიუთითებდა ძვლის წითელი ტვინის სტრუქტურების ფორმირებაზე (ილუსტრაცია 31).

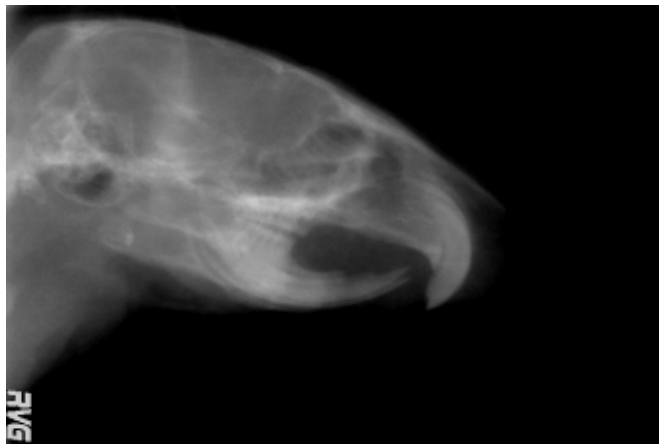
ტრანსპლანტაციიდან 60 დღის შემდეგ ძვლის დეფექტი იყო სრულად აღდგენილი და ახლადშექმნილი ძვალი ფერით და სტრუქტურით არ განსხვავდებოდა ნორმალური ძვლისაგან (ილუსტრაცია 32). რენტგენოგრამაზე საზღვარი ტრანსპლანტანტსა და ძვლოვანი დეფექტის კიდეებს შორის იყო შეუმჩნეველი (ილუსტრაცია 33).

ილუსტრაცია 31. ძვლის წითელი ტვინის სტრუქტურების ფორმირების პროცესი. დაკვირვების ვადა 45 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ- ეოზინით. გადიდება x 400

ილუსტრაცია 32. ახლადწარმოქმნილი ძვლოვანი ქსოვილი. დაკვირვების ვადა 60 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ- ეოზინით. გადიდება x 400



ილუსტრაცია 33.. ფოტო რენტგენოგრაშიდან. ცხოველების მესამე ჯგუფი.
დაკვირვების ვადა 60 დღე. დეფექტი მთლიანად ამოვსებულია ახლადწარმოქმნილი
ძვლოვანი ქსოვილით



9.3. კლინიკური კვლევის შედეგები

კლინიკურ ნაწილში განხილულია 4 პაციენტი, რომელთაც აღენიშნებოდათ ყბა-სახის ძვლების დეფექტები, აქედან სამ პაციენტს კრიტიკული ზომის დეფექტი წარმოექმნა ქვედა ყბის სიმსივნის რეზექციის შემდეგ და ერთ პაციენტს ყვრიმალ-ორბიტალური მიდამოს დეფექტი ავტოავარიის შედეგად. პირველ ორ შემთხვევაში ქვედა ყბის ძვლის დეფექტის აღდგენა მოხდა აუტოლოგური ძვლის ტრანსპლანტანტით. დანარჩენ ორ შემთხვევაში ყბა-სახის ძვლოვანი დეფექტები აღდგენილი იყო ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის გამოყენებით.

პაციენტი ნ.წ. 24.07.2013წ მშობლებმა მიიყვანეს კ.მარდალეიშვილის სამედიცინო ცენტრში 12 წლის გოგონა, რომელიც უჩიოდა სახის ასიმეტრიას, სიმსივნური წარმონაქმნის არსებობას ქვედა ყბის კუთხის არეში მარჯვნივ, ქვედა ტუჩის დაბუყებას დაზიანების მხარეს. მშობლების გადმოცემით პაციენტს ჟვანიას კლინიკაში 46-ე კბილის არეში 11.05.2013წ ჩატარდა ოპერაცია - ცისტექტომია. მორფოლოგიური კვლევით ნანახი იქნა: #782ქ: პერიფერიული გიგანტურუჯრედოვანი გრანულომა, რის შემდგომაც პაციენტი იმყოფებოდა დინამიური დაკვირვების ქვეშ, ჩატარებული აქვს რამდენჯერმე ორთოპანტომოგრაფია, სადაც აღინიშნა დაავადების რეციდივი და ზომამი მატება.

კ.მარდალეიშვილის სამედიცინო ცენტრში პაციენტს ჩატარდა ქვედა ყბის კომპიუტრული ტომოგრაფია და დაუდგინდა ქვედა ყბის ადამანტინომა მარჯვნივ (ილუსტრაცია 34) რაც საჭიროებდა ქირურგიულ მკურნალობას.

ილუსტრაცია 34. მარჯვნივ ქვედა ყბის ოსტეობლასტომა.



25.07.2013 წელს პაციენტს ჩატარდა ოპერაცია: ქვედა ყბის ძვლის ნაწილობრივი რეზექცია სიმსივნური წარმონაქმნის ამოკვეთით, ერთ-მომენტიანი ქვედა ყბის ძვლოვანი დეფექტის პლასტიკა მე-6 ნეკნის, ტიტანის იმპლანტის და დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის გამოყენებით (ილუსტრაცია 35). ამნიონური ბარიერული მემბრანა ხელს უწყობდა ძვლის

და ტრანსპლანტირებული ფრაგმენტის რეპარაციულ რეგენერაციას და ასრულებდა ბარიერულ ფუნქციას, რათა არ მომხდარიყო შემაერთებელი

ქსოვილის ჩაზრდა ძვლის და ტრანსპლანტირებულ ფრაგმენტებს შორის არსებულ სივრცეში. ოპერაციის მსვლელობის დროს ამოკვეთილი ძვლოვანი ქსოვილი გაიგზავნა პათ.ანატომიური კვლევებისათვის, რომელმაც გვანახა რომ საქმე გვექონდა ქვედა ყბის ოსტეობლასტოკლასტომასთან (გიგანტურუჯრედოვანი სიმსივნე). ამჟამად ავადმყოფი იმყოფება ამბულატორიულ მკურნალობაზე დაკვირვების ქვეშ (ილუსტრაცია 36).

ილუსტრაცია 35.. ოპერაციის ეტაპები. ქვედა ყბის ნაწილობრივი რეზექცია სიმსივნური წარმონაქმნის ამოკვეთით (ა, ბ), ერთ-მომენტიანი ქვედა ყბის ძვლოვანი დეფექტის რეკონსტრუქცია მე-6 ნეკნის (გ, დ), ტიტანის იმპლანტის და დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის გამოყენებით (ე, ვ).



ა



ბ



გ



დ



ე



ვ

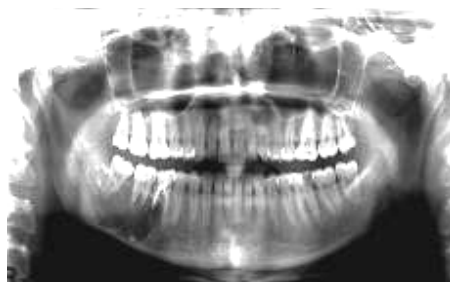
ილუსტრაცია 36. ქვედა ყბის ძვლის დეფექტის რეკონსტრუქცია აუტოლოგური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის გამოყენებით .



პაციენტი ა.გ.

06.10.2013 წ კ.მარდალეიშვილის სამედიცინო ცენტრს მიმართა 23 წლის ქალიშვილმა, რომელიც უჩიოდა ტკივილს და დისკომფორტს ქვედა ყბის საპროექციოდ მარჯვნივ. პაციენტის გადმოცემით 2010 წ მიმართა ექიმს ჩივილებით ტკივილზე, ქვედა ყბის მიდამოში მარჯვნივ. ჩატარებულმა კვლევამ გამოავლინა მარჯვენა ქვედა ყბის სხეულის კისტა (ილუსტრაცია 37) რის გამოც 2011 წელს პაციენტს ჩაუტარდა ქირურგიული მკურნალობა.

ილუსტრაცია 37. მარჯვენა ქვედა ყბის ძვლის სხეულის მოცულობითი წარმონაქმნი



2013 წელს პაციენტი კვლავ უჩიოდა ტკივილს და დისკომფორტის შეგრძნებას მარჯვენა ქვედა ყბის მიდამოში, განმეორებით მიმართა ექიმს საცხოვრებელი ადგილის მიხედვით და გამოკვლევების შედეგად გამოვლინდა მარჯვენა ქვედა ყბის სხეულის მოცულობითი წარმონაქმნი, ძვლის ასიმეტრიით და დესტრუქციის კერებით. 2013 წლის ივნისში ჩაუტარდა ქირურგიული მკურნალობა, რომელიც მოიცავდა მოცულობითი წარმონაქმნის ამოკვეთას და ამ მიდამოს ქირურგიულ დამუშავებას. აღებულ იქნა მასალა ჰისტომორფოლოგიური კვლევისათვის და დადგინდა: ამელობლასტური ფიბროსარკომა.

07.10.2013წ კ.მარდალეიშვილის სამედიცინო ცენტრში პაციენტს ჩაუტარდა ოპერაცია: მარჯვენა ქვედა ყბის ნაწილობრივი რეზექცია, კისრის ლიმფოდისექცია (ზედა ვარიანტი), მარჯვენა ყბისქვეშა ჯირკვლის ექსტირპაცია და ერთ-მომენტანი ქვედა ყბის ძვლოვანი დეფექტის პლასტიკა მე-7 ნევნის, ტანტალის იმპლანტის და დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის გამოყენებით (ილუსტრაცია 38,39).

ილუსტრაცია 38. მარჯვენა ქვედა ყბის ნაწილობრივი რეზექცია (ა), კისრის ლიმფოდისექცია და მარჯვენა ყბისქვეშა ჯირკვლის ექსტირპაცია (ბ).



ილუსტრაცია 39. ერთ-მომენტური ქვედა ყბის ძვლოვანი დეფექტის პლასტიკა მე-7 ნეკნის, ტანტალის იმპლანტის და დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის გამოყენებით



ამჟამად ავადმყოფი იმყოფება ამბულატორიულ მკურნალობაზე, მას პერიოდულად უტარდება სხვადასხვა სახის გამოკვლევები, მათ შორის კომპიუტერული ტომოგრაფია.

პაციენტი ა.ჭ.

20.11.2013 კ.მარდალეიშვილის სამედიცინო ცენტრს მიმართა 28 წლის მამაკაცმა რომელიც უჩიოდა სახის ასიმეტრიას, მეტყველების და ლექვის ფუნქციის დარღვევას . პაციენტის გადმოცემით 2008 წ 22 აპრილს ქვედა ყბის ძვლის ქონდროსარკომის დიაგნოზით ჩაუტარდა ოპერაცია ქვედა ყბის ნაწილობრივი რეზექცია (ილუსტრაცია 40) , ლიმფოდისექცია ზედა ვარიანტი. მორფოლოგიური კვლევით დადგინდა ქონდროსარკომა. რის შემდგომაც პაციენტი იმყოფებოდა ამბულატორულად დინამიური დაკვირვების ქვეშ. აღინიშნებოდა დაავადების რემისია. სახის ასიმეტრიის, მეტყველების და ლექვის ფუნქციის დარღვევის გამო მიმართა კ.მარდალეიშვილის სამედიცინო ცენტრს ქირურგიული რეაბილიტაციისათვის.

ილუსტრაცია 40. სახის ასიმეტრია და მარცხენა ქვედა ყბის ნაწილობრივი რეზექცია



21.11.2013 წ. პაციენტს ჩატარდა ოპერაცია: ქვედა ყბის მთლიანობის აღდგენა ტიტანის იმპლანტის , ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის ბიოლოგიურად აქტიური ტრანსპლანტანტის და დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის გამოყენებით (ილუსტრაცია 41).

ილუსტრაცია 41. ქვედა ყბის მთლიანობის აღდგენა ტიტანის იმპლანტის , ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის ბიოლოგიურად აქტიური ტრანსპლანტანტის (ა) და დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის (ბ) გამოყენებით



ნიკაპის მიდამოს რბილი ქსოვილების პლასტიკა ჩატარდა თორაკოდორზალური ფეხიანი ნაფლეთის გამოყენებით (ილუსტრაცია 42).

ილუსტრაცია 42. ნიკაპის მიდამოს რბილი ქსოვილების პლასტიკა თორაკოდორზალური ფეხიანი ნაფლეთის გამოყენებით



ამჟამად ავადმყოფი იმყოფება ამბულატორიულ მკურნალობაზე (ილუსტრაცია 43), ავადმყოფს პერიოდულად უტარდება სხვადასხვა სახის გამოკვლევები, მათ შორის კომპიუტერული ტომოგრაფია.

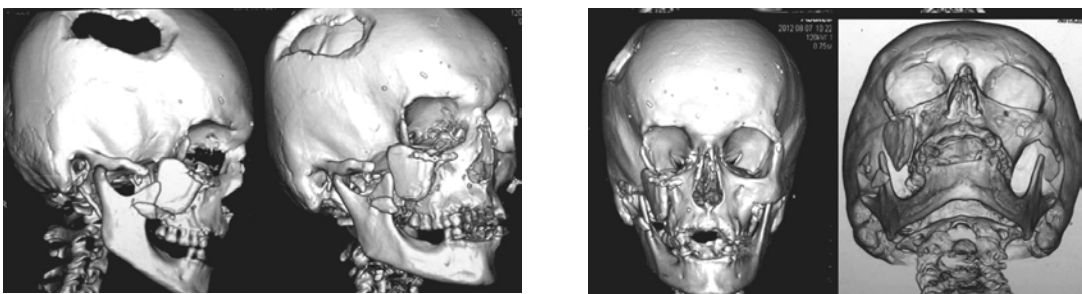
ილუსტრაცია 43. ოპერაციის შემდგომი პერიოდი.



პაციენტი: ს.ქ.

27.06.2013 წელს ს.ხეჩინაშვილის სახელობის საუნივერსიტეტო კლინიკის ყბა-სახის ქირურგიისა და სტომატოლოგიის განყოფილებას მიმართა 44 წლის ქალბატონმა, რომელიც უჩიოდა სახის მკვეთრ ასიმეტრიას, მარჯვენა ყვრიმალის მიდამოს ძვლოვანი ქსოვილის პოსტრავმული დეფექტის არსებობის გამო. ავადმყოფის გადმოცემით 2009 წლის მაისში თურქეთში, ავტოკატასტროფის შედეგად მიიღო ტრავმა თავისა და კიდურების არეებში, რასაც მოყვა მარცხენა კიდურის ტრავმული ამპუტაცია მხრის დონეზე და პირველი თითის ტრავმული ამპუტაცია მარჯვენა მტევნის არეში. ამასთან პაციენტმა მიიღო მარჯვენა ყვრიმალ-ორბიტული კომპლექსის კომპრესიული, ფრაგმენტირებული მოტეხილობა. 2010 წელს თურქეთის კლინიკაში პაციენტს ჩაუტარდა ყვრიმალ-ორბიტული კომპლექსის დეფექტის აღდგენა აუტოდვლით, რომლის აღება მოხდა პაციენტის თხემის ძვლიდან (ილუსტრაცია 44).

ილუსტრაცია 44. ყვრიმალ-ორბიტული კომპლექსის დეფექტის აღდგენა აუტოდვლით.



27.06.2013 წელს ს.ხეჩინაშვილის სახელობის საუნივერსიტეტო კლინიკაში ავადმყოფს ჩაუტარდა სრულყოფილი გამოკვლევები და დადგინდა ყვრიმალ-ორბიტულ მიდამოში არსებული აუტოლოგური ძვლოვანი

ტრანსპლანტანტის სრული რეზორბცია. ასევე პაციენტს აღენიშნებოდა ქვედა ქუთუთოს ფტოზი და მარჯვენამხრივი ლაგოფთალმი (ილუსტრაცია 45).

ილუსტრაცია 45. სახის მკვეთრი ასიმეტრია და მარჯვენა ყვრიმალის მიდამოს ძვლოვანი ქსოვილის პოსტრავმული დეფექტი



28.06.2013 წელს პაციენტს ჩაუტარდა ოპერაცია: ყვრიმალ-ორბიტული დეფექტის აღდგენა ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის ბიოლოგიურად აქტიური ტრანსპლანტანტის გამოყენებით (ილუსტრაცია 46). ამჟამად ავადმყოფი იმყოფება ამბულატორიულ მკურნალობაზე (ილუსტრაცია 47)

ილუსტრაცია 46. ყვრიმალ-ორბიტული დეფექტის აღდგენა ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის ბიოლოგიურად აქტიური ტრანსპლანტანტის გამოყენებით



ილუსტრაცია 47. ოპერაციის შემდგომი პერიოდი. ავადმყოფი იმყოფება
ამბულატორიულ მკურნალობაზე



დისკუსია/ინტერპრეტაცია

ძვალს გააჩნია რეპარაციული რეგენერაციის შესანიშნავი უნარი[54].
თუმცა, ეს პროცესი ძვლის სიმსივნის რეზექციის შემდეგ, შესაძლებელია იყოს
შენელებული ან არაადექვატურად მიმდინარეობდეს [14].

ჩატარებულმა კლინიკურმა კვლევებმა გვაჩვენა, რომ ნეკნის
აუტოლოგური ტრანსპლანტანტი ნამდვილად შეიძლება ჩაითვალოს ოქროს
სტანდარტად ყბა-სახის ქირურგიაში, რადგანაც აუტოლოგურ ძვლოვან
ქსოვილს გააჩნია ოსტეოკონდუქციის, ოსტეინდუქციისა და ოსტეოგენეზის
თვისებები [131-136].

თუმცა დიდი ზომის ძვლის დეფექტების არსებობის დროს აუტოლოგური ტრანსპლანტანტების გამოყენება კლინიკურ პრაქტიკაში შეზღუდულია, ვინაიდან მათი დიდი რაოდენობით მოპოვება ვერ ხერხდება რეციპიენტის ორგანიზმიდან. გარდა ამისა აუტოლოგური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტების ძირითად უარყოფით თვისებას წარმოადგენს მისი მიღებისათვის დამატებითი ქირურგიული ოპერაციის ჩატარების აუცილებლობა, რამაც შეიძლება გამოიწვიოს დონორის ადგილის სხვადასხვა გართულებები [137].

Pogrel - ის (1997) მონაცემებით აუტოლოგური ძვლოვანი ტრანსპლანტატის გამოყენების დროს თუ კი ძვლის დეფექტის ზომა აღწევდა 6 სმ-ს, უარყოფითი შედეგი მიღებულ იქნა მხოლოდ 17% შემთხვევაში. თუ ძვლის დეფექტის ზომა აღემატებოდა 6 სმ-ს, უარყოფითი შედეგი მატულობდა და აღწევდა 75% [138].

დღესდღეობით დეცელულარიზებული სამგანზომილებიანი ძვლოვანი მატრიქსი მიჩნეულია აუტოლოგური ტრანსპლანტანტების ალტერნატივად [139-141]. მიუხედავად იმისა, რომ მათ გააჩნიათ ოსტეონდუქციური და ოსტეოკონდუქციური მახასიათებლები, ძირითადი უარყოფითი მხარე ამ მასალებისათვის არის ის, რომ მათ არ გააჩნიათ ოსტეოგენური თვისებები, რომლებიც ახასიათებს აუტოლოგურ ტრანსპლანტანტებს [142].

ჩატარებულმა კვლევებმა გამოავლინა, რომ მსხვილფეხა რქოსანი საქონლის ბარძაყის ძვლისაგან მიღებული დეცელულარიზირებული ძვლოვანი მატრიქსი შედგება I A ტიპის კოლაგენის, ლამინინის და ფიბრონექტინის ბოჭკოებისაგან რომლებიც ქმნიან სხვადასხვა ზომის (0.1მმ – 1.1მმ) ფორებს. დეცელულარიზაციისათვის გამოყენებული, ისეთი დეტერგენტები როგორცაა 1%-ანი SDS და Triton X 100 სრულად ანთავისუფლებს ძვლოვან მატრიქს უჯრედებისაგან და არ აზიანებენ მის

სტრუქტურას. 4%-ანი ნატრიუმის ჰიპოქლორიდის ხსნარის გამოყენება კი ახდენს ტრანსპლანტატში პრონის ინაქტივირებას (რომელიც იწვევს მსხვილფეხა რქოსანი საქონლის ღრუბლისებრ ენცეფალოპათიას) და ამცირებს ზოონოზური დაავადების გადაცემის რისკს ტრანსპლანტაციის შემდეგ.

დნმ-ის რაოდენობრივმა ანალიზმა გვიჩვენა რომ, დეცელულარიზებულ სამგანზომილებიან ძვლოვან ქსოვილში დნმ-ის ნარჩენი შეადგენდა <1.4%-ს. მაშინ როდესაც ნატიურ ძვლოვან ქსოვილში დნმ-ის შემცველობა წარმოადგენდა 482 მგ/მლ-ს. აქედან გამომდინარე შეიძლება დავასკვნათ, რომ ასეთი ძვლოვანი ტრანსპლანტანტი არის ბიოშეთავსებადი და არ ახდენს ანტიგენ-ანტისხეულის რეაქციის ინდუცირებას.

კვლევებმა დაადასტურა, რომ მსხვილფეხა რქოსანი საქონლის ბარძაყის ძვლისაგან მიღებულ დეცელულარიზირებულ ძვლოვან მატრიქსს გააჩნია ოსტეინდუქციური და ოსტეოკონდუქციური თვისებები. ლიოფილიზირებული ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების პარაკრინული ფაქტორების მოთავსების შემდგომ, ძვლოვანი ტრანსპლანტანტი დამატებით იძენს ოსტეოგენურ მახასიათებლებსაც.

ცნობილია რომ, ღეროვან უჯრედებს შეუძლიათ რადიკალურად შეცვალოს მრავალი დაავადების მკურნალობის მეთოდიკა ვინაიდან მათ სხვა დასხვა უჯრედებად დიფერენციაციის პოტენტირობა ახასიათებთ [143, 144]. თუმცა, უჯრედების დიფერენციაციის მექანიზმი დღეისათვის გაურკვეველია.

ამჟამად, ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების პარაკრინული ფაქტორები და მათი როლი დაზიანებული ქსოვილებისა და ორგანოების აღდგენაში იძენს მეტ ინტერესს [145, 147].

ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედები დიდი რაოდენობით შეიცავენ სხვადასხვა პარაკრინულ ფაქტორებს და ციტოკინებს, ისეთს როგორცაა

PDGF-ს (platelet-derived growth factor), VEGF α -ს (vascular endothelial growth factor), VEGF β -ს, TGF-ებს (transforming growth factors), TGF α -ს, TGF β 1-ს, TGF β 3-ს, BMP 1-ს, 3-ს, 7-ს, 8B-ს, R1A-ს და PR2-ს [148].

ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების პარაკრინული ფაქტორები აქტიურად მონაწილეობენ იმუნოსუპრესიის, უჯრედების დიფერენციაციის და ანგიოგენეზის რეგულირების პროცესში. ასევე ისინი ჩართულები არიან ქსოვილების რეპარაციული რეგენერაციის სტიმულირებაში [149].

ჩვენმა ჩატარებულმა კვლევებმა გვიჩვენა, რომ ლიოფილიზაციის შემდეგ, ძვლის ტვინის ღეროვანმა უჯრედებმა შეინარჩუნეს პარაკრინული ფაქტორების >72%. ანალოგიური შედეგები მიღებული აქვთ სხვა ავტორებსაც. Peng - ის (2015) მონაცემებით, ლიოფილიზაციის შემდეგ ძვლის ტვინის ღეროვანმა უჯრედებმა შეინარჩუნეს პარაკრინული ფაქტორების >80% [150].

გენების ექსპრესიის ანალიზმა გვიჩვენა რომ, ჩვენს მიერ შემუშავებული ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტატი შეიცავს სხვადასვა ზრდის ფაქტორებს, მათ შორის ოსტეოკალცინს, ოსტეოპონტინს და სიალოპროტეინს.

ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარე შეიძლება დავასკნათ, რომ მსხვილფეხა რქოსანი საქონლის ბარდაყის ძვლისაგან მიღებული დეცელულარიზირებული ძვლოვანი მატრიქსი და ლიოფილიზირებული ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების პარაკრინული ფაქტორებით დატვირთული კომპოზიტი წარმოადგენს ბიოლოგიურად აქტიურ ტრანსპლანტატს რომელიც შეძლებს დააკმაყოფილოს იდეალური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტისათვის წაყენებული მოთხოვნები.

ქვედა ყბის ძვლის დეფექტის რეკონსტრუქციის პირობებში რეციპიენტის ძვალსა და ძვლის ტრანსპლანტანს შორის მიკრო მოძრაობა და

ფიბროზული ქსოვილის შეღწევა ხელს უშლის დაზიანებული ძვლის რეპარაციულ რეგენერაციას [151, 152]. ჩვენს კვლევაში წარმოიქმნა ანალოგიური პრობლემა, რომელიც უკავშირდებოდა ტრანსპლანტატის ინკორპორირების დროს რეციპიენტის ძვლის ფრაგმენტებსა და ტრანსპლანტანტს შორის ფიბროზული ქსოვილის ჩაზრდას. პრევენციის მიზნით გამოყენებულ იქნა ადამიანის დეცელულარიზებული ამნიონ/ქორიონი, როგორც ბარიერული მემბრანა. კვლევებმა გვაჩვენა, რომ ადამიანის დეცელულარიზებული ამნიონ/ქორიონული მემბრანა უზრუნველყოფს მტკიცე დაცვას ძვლის ტრანსპლანტანტსა და რეციპიენტის ძვლის ფრაგმენტებს შორის ფიბროზული ქსოვილის შეღწევისაგან. ასევე აძლიერებს ოსტეოინტეგრაციას. ანალოგიური შედეგები წარმოდგენილი აქვთ სხვა ავტორებსაც [153 – 157].

ადრეულ პუბლიკაციაში [158], ჩვენ დავამტკიცეთ, რომ ადამიანის დეცელულარიზებული ამნიონ/ქორიონული მემბრანა შეიცავდა III ტიპის კოლაგენს, გლიკოპროტეინებსა და მრავალ ზრდის ფაქტორებს, როგორებიცაა EGF (epidermal growth factor), basic FGF (fibroblast growth factor), KGF (keratinocyte growth factor), VEGF, TGF α , TGF β , PDGF, HGF (hepatocyte growth factor) და NGF (nerve growth factor). ადამიანის ამნიონური/ქორიონული მემბრანის დეცელულარიზაციის შემდგომ, შენარჩუნებულია ზრდის ფაქტორებისა და ციტოკინების უმრავლესობა, ასევე სტრუქტურული და მექანიკური მახასიათებლები. დამატებით, ადამიანის ამნიონური/ქორიონული მემბრანის მიღება, მომზადება და შენახვა არის ადვილი [159, 160].

2014 წელს, ამერიკის შეერთებული შტატების პატენტისა და სასაქონლო ნიშნის ოფისში, ჩვენს მიერ დაპატენტებული იყო ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტი სათაურით “Creating three-dimensional bone scaffold, seeding it with any organ and tissue cells and lyophilizing this composite:

bioactive bone graft- new compositions and methods of manufacturing“ (პატენტის # 62/097,148). 2015 წელს, საქპატენტის მიერ ბიოლოგიურად აქტიურ ძვლოვან ტრანსპლანტანტს მიენიჭა სასაქონლო ნიშანი 'Geo-Oss'.

დასკვნა და რეკომენდაციები

1. ბიოინჟინერიის მეთოდების და სპეციფიური დეტერგენტების გამოყენებით მსხვილფეხა რქოსანი საქონლის ბარძაყის ძვლისაგან მიღებულია სამგანზომილებიანი დეცელულარიზირებული და ლიოფილიზირებული ძვლოვანი მატრიქსი.
2. ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტს გააჩნია ფოროვანი სტრუქტურა, ახალი ძვლის ფორმირების ტემპის შესაბამისი ბიორეზორბადობის სიჩქარე , ნატურალური ძვლის მსგავსი მექანიკური რეზისტენტობა და სტაბილურობა.
3. ქვედა ყბის ძვლის დეფექტის რეკონსტრუქციამ, ექსპერიმენტში ცხოველებზე დაადასტურა ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის ბიოშეთავსებადობის, ოსტეოკონდუქციის, ოსტეოინდუქციის, ოსტეოინტეგრაციის, ოსტეოგენეზის და ძვლის რემოდელირების უნარი.
4. აუტოლოგური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტების ძირითად უარყოფით თვისებას წარმოადგენს მისი მიღებისათვის დამატებითი ქირურგიული ოპერაციის ჩატარების აუცილებლობა. გარდა ამისა კრიტიკული ზომის დეფექტების არსებობის დროს რეცეპიენტის ორგანიზმში აუტოლოგური ტრანსპლანტანტების დიდი რაოდენობით მოპოვება ხშირ შემთხვევაში ვერ ხერხდება

5. ბიოლოგიურად აქტიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტი შეიძლება გამოყენებულ იქნას ყბა-სახის ქირურგიაში ძვლის კრიტიკული ზომის დეფექტების რეკონსტრუქციისათვის.
6. შეერთების ადგილას ძვლოვანი ტრანსპლანტანტის და რეციპიენტის ძვლის ფრაგმენტების დაფარვა ადამიანის დეცელულარიზებული ამნიონ/ქორიონული მემბრანით ხელს უშლის ფიბროზული ქსოვილის ჩაზრდას და ხელს უწყობს სწრაფ ოსტეონტეგრაციას.

ბიბლიოგრაფია

1. Yang B, Su M, Li H, Li J, Ouyang J, Han Z. Use of submandibular gland flap for repairing defects after tumor resection in the infratemporal region. *J Craniomaxillofac Surg.* 2015 Jan;43(1):87-91.
2. Yu H1, Wang X, Zhang S, Zhang L, Xin P, Shen SG. Navigation-guided en bloc resection and defect reconstruction of craniomaxillary bony tumours. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2013 Nov;42(11):1409-13.
3. Salentijn EG1, Peerdeman SM2, Boffano P3, van den Bergh B3, Forouzanfar T3. A ten-year analysis of the traumatic maxillofacial and brain injury patient in Amsterdam: incidence and aetiology. *J Craniomaxillofac Surg.* 2014 Sep;42(6):705-10.
4. Oberman B, Setabutr D, Goldenberg D. Traumatic dislocation of intact mandibular condyle into middle cranial fossa. *Am J Otolaryngol.* 2014 Mar-Apr;35(2):251-3.
5. Schiel H, Hammer B, Ehrenfeld M, Prein J. Therapy of infected mandibular fractures. *Fortschr Kiefer Gesichtschir.* 1996;41:170-3.
6. Dennis SC, Berkland CJ, Bonewald LF, Detamore MS. Endochondral Ossification for Enhancing Bone Regeneration: Converging Native Extracellular Matrix Biomaterials and Developmental Engineering In Vivo. *Tissue Eng Part B Rev.* 2014 Oct 22.
7. Pavlova TV, Nesterov AV, Pavlova LA. [Bone tissue regeneration in the use of nanoimplants]. *Arkh Patol.* 2013 Nov-Dec;75(6):22-6.
8. Sverzut CE, Faria PE, Magdalena CM, Trivellato AE, Mello-Filho FV, Paccola CA, Gogolewski S, Salata LA. Reconstruction of mandibular segmental defects using the

guided-bone regeneration technique with polylactide membranes and/or autogenous bone graft: a preliminary study on the influence of membrane permeability. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008 Apr;66(4):647-56.

9. Sun Z, Kennedy KS, Tee BC, Damron JB, Allen MJ. Establishing a critical-size mandibular defect model in growing pigs: characterization of spontaneous healing. *J Oral Maxillofac Surg.* 2014 Sep;72(9):1852-68

10. Chin VK, Shinagawa A, Naclério-Homem Mda G. Bone healing of mandibular critical-size defects in spontaneously hypertensive rats. *Braz Oral Res.* 2013 Sep-Oct;27(5):423-30.

11. Decker JF, Lee J, Cortella CA, Polimeni G, Rohrer MD, Wozney JM, Hall J, Susin C, Wikesjö UM. Evaluation of implants coated with recombinant human bone morphogenetic protein-2 and vacuum-dried using the critical-size supraalveolar peri-implant defect model in dogs. *J Periodontol.* 2010 Dec;81(12):1839-49

12. Lee J, Decker JF, Polimeni G, Cortella CA, Rohrer MD, Wozney JM, Hall J, Susin C, Wikesjö UM. Evaluation of implants coated with rhBMP-2 using two different coating strategies: a critical-size supraalveolar peri-implant defect study in dogs. *J Clin Periodontol.* 2010 Jun;37(6):582-90.

13. Zhang JC, Lu HY, Lv GY, Mo AC, Yan YG, Huang C. The repair of critical-size defects with porous hydroxyapatite/polyamide nanocomposite: an experimental study in rabbit mandibles. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2010 May;39(5):469-77.

14. Zou W, Chen X. Osteogenesis and ototoxicity of a novel preparation of autogenous bone cement: implications for mastoid obliteration. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2014 Dec;151(6):1020-7.

15. Tera Tde M, Prado RF, De Marco AC, Santamaria MP, Jardini MA The RANK/RANKL/ OPG interaction in the repair of autogenous bone grafts in female rats with estrogen deficiency. *Braz Oral Res.* 2014 Jan-Feb;28(1).
16. Bastos AS, Spin-Neto R, Conte-Neto N, Galina K, Boeck-Neto RJ, Marcantonio C, Marcantonio E, Marcantonio E Jr. Calvarial autogenous bone graft for maxillary ridge and sinus reconstruction for rehabilitation with dental implants. *J Oral Implantol.* 2014 Aug;40(4):469-78.
17. Al-Nawas B, Schiegnitz E. Augmentation procedures using bone substitute materials or autogenous bone - a systematic review and meta-analysis. *Eur J Oral Implantol.* 2014 Summer;7 Suppl 2:S219-34.
18. Kaláb M, Karkoška J, Kamínek M, Šantavý P. Successful three-year outcome in a patient with allogeneous sternal bone graft in the treatment of massive post-sternotomy defects. *Int J Surg Case Rep.* 2014 Dec 24;7C:6-9.
19. Schleicher I, Lips KS, Sommer U, Schappat I, Martin AP, Szalay G, Schnettler R. Allogeneous bone with collagen for repair of deep osteochondral defects. *J Surg Res.* 2013 Dec;185(2):667-75.
20. Gomes KU, Carlini JL, Biron C, Rapoport A, Dedivitis RA. Use of allogeneic bone graft in maxillary reconstruction for installation of dental implants. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008 Nov;66(11):2335-8.
21. Ahmad Oryan, Soodeh Alidadi, Ali Moshiri and Nicola Maffulli Bone regenerative medicine: classic options, novel strategies, and future directions. *J Orthop Surg Res.* 2014; 9: 18.
22. Mohammed E. Elsalanty, M.D., Ph.D and David G. Genecov, M.D. Bone Grafts in Craniofacial Surgery. *Craniofacial Trauma Reconstr.* Oct 2009; 2(3): 125–134.

23. Burkadze G, Turashvili G. Pathology of organ systems. 1st edition. Tbilisi, 2006
24. Fernández-Tresguerres-Hernández-Gil I, Alobera-Gracia MA, del-Canto-Pingarrón M, Blanco-Jerez L. Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2006 Jan 1;11(1):E47-51.
25. Fogelman S. et al. Radionuclide and Hybrid Bone Imaging, 29 DOI 10.1007/978-3-642-02400-9_2, © Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2012
26. Dimitriou R, Jones E, McGonagle D, Giannoudis PV. Bone regeneration: current concepts and future directions. *BMC Med*. 2011 May 31;9:66. doi: 10.1186/1741-7015-9-66.
27. Parfitt AM. Bone remodeling, normal and abnormal: a biological basis for the understanding of cancer-related bone disease and its treatment. *Can J Oncol*. 1995 Dec;5 Suppl 1:1-10
28. Liu J, Kerns DG. Mechanisms of guided bone regeneration: a review. *Open Dent J*. 2014 May 16;8:56-65.
29. Squier CA, Ghoneim S, Kremenak CR. Ultrastructure of the periosteum from membrane bone. *J Anat*. 1990;171:233-239.
30. Allen MR, Hock JM, Burr DB. Periosteum: biology, regulation, and response to osteoporosis therapies. *Bone*. 2004;35(5):1003-1012
31. Zacks SI, Sheff MF. Periosteal and metaplastic bone formation in mouse minced muscle regeneration. *Lab Invest*. 1982 Apr;46(4):405-12.
32. Ohtsuki Y, Mori K, Ohnishi H, Enzan H, Iguchi M, Lee GH, Furihata M. Investigation of aluminum and iron deposition on metaplastic bones in three patients

with diffuse pulmonary ossification. *Med Mol Morphol*. 2015 Dec;48(4):235-8. doi: 10.1007/s00795-015-0096-1. Epub 2015 Jan 29.

33. Parfitt AM. The cellular basis of bone remodeling: the quantum concept reexamined in light of recent advances in the cell biology of bone. *Calcif Tissue Int*. 1984;36 Suppl 1:S37-45.

34. Doktorov AA, Denisov-Nikol'skiĭ IuI. Morpho-functional correlations of the structure of bone cells and adjoining bone matrix in the developing bone. *Arkh Anat Gistol Embriol*. 1991 Jan; 100(1):68-74.

35. Bell WH, Levy BM. Revascularization and bone healing after posterior maxillary osteotomy. *J Oral Surg*. 1971 May;29(5):313-20

36. Axhausen W. The osteogenetic phases of regeneration of bone; a historial and experimental study. *J Bone Joint Surg Am*. 1956 Jun;38-A(3):593-600.

37. Schmidt-Bleek K et al. Inflammatory phase of bone healing initiates the regenerative healing cascade. *Cell Tissue Res*. 2012 Mar;347(3):567-73. doi: 10.1007/s00441-011-1205-7. Epub 2011 Jul 26.

38. Amor N, Geris L, Vander Sloten J, Van Oosterwyck H. Modelling the early phases of bone regeneration around an endosseous oral implant. *Comput Methods Biomech Biomed Engin*. 2009 Aug;12(4):459-68.

39. Ai-Aql ZS, Alagl AS, Graves DT, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Molecular mechanisms controlling bone formation during fracture healing and distraction osteogenesis. *J Dent Res*. 2008 Feb;87(2):107-18.

40. Miron RJ, Zhang YF. Osteoinduction: a review of old concepts with new standards. *J Dent Res*. 2012 Aug;91(8):736-44.

41. Boyd JB, Gullane PJ, Rotstein LE, Brown DH, Irish JC. Classification of mandibular defects. *Plast Reconstr Surg.* 1993 Dec;92(7):1266-75.
42. Schultz BD, Sosin M, Nam A, Mohan R, Zhang P, Khalifian S, Vranis N, Manson PN, Bojovic B, Rodriguez ED. Classification of mandible defects and algorithm for microvascular reconstruction. *Plast Reconstr Surg.* 2015 Apr;135(4):743e-54e.
43. Горбанева-Тимофеева Л. В. Особенности протезирования детей с врожденной расщелиной неба / Л. В. Горбанева-Тимофеева // *Стоматология.* -1955.-№4.-с. 48-52.
44. Nandi SK, Roy S, Mukherjee P, Kundu B, De DK, Basu D. Orthopaedic applications of bone graft and graft substitutes: a review. *Indian J Med Res.* 2010;132:15–30.
45. Athanasiou VT, Papachristou DJ, Panagopoulos A, Saridis A, Scopa CD, Megas P: Histological comparison of autograft, allograft-DBM, xenograft, and synthetic grafts in a trabecular bone defect: an experimental study in rabbits. *Med Sci Monit* 2010, 16:BR24–BR31.
46. Misch CM. Autogenous bone: is it still the gold standard? *Implant Dent.* 2010 Oct; 19(5):361.
47. Oryan A, Alidadi S, Moshiri A1, Maffulli N. Bone regenerative medicine: classic options, novel strategies, and future directions. *J Orthop Surg Res.* 2014 Mar 17;9(1):18.
48. Brydone AS, Meek D, Maclaine S. Bone grafting, orthopaedic biomaterials, and the clinical need for bone engineering. *Proc Inst Mech Eng H.* 2010; 224:1329–1343.
49. Parikh SN. Bone graft substitutes: past, present, future. *J Postgrad Med.* 2002; 48:142–148. [

50. Oryan A, Alidadi S, Moshiri A: Current concerns regarding healing of bone defects. *Hard Tissue* 2013, 2:13.
51. Gomes KU, Carlini JL, Biron C, Rapoport A, Dedivitis RA: Use of allogeneic bone graft in maxillary reconstruction for installation of dental implants. *J Oral Maxillofac Surg* 2008, 66:2335–2338.
52. Clokie CM, Sándor GK. Reconstruction of 10 major mandibular defects using bioimplants containing BMP-7. *J Can Dent Assoc.* 2008 Feb; 74(1):67-72.
53. Giudice G, Cutrignelli DA, Leuzzi S, Robusto F, Sportelli P, Nacchiero E. Autologous bone grafting with platelet-rich plasma for alveolar cleft repair in patient with cleft and palate. *Ann Ital Chir.* 2016;87:5-12.
54. Fröhlich M, Grayson WL, Wan LQ, Marolt D, Drobnic M, Vunjak-Novakovic G. Tissue engineered bone grafts: biological requirements, tissue culture and clinical relevance. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2008 Dec; 3(4):254-64.
55. Finkemeier CG. Bone-grafting and bone-graft substitutes. *J Bone Joint Surg Am.* 2002; 84-A: 454–64.
56. Al Harbi H, Al Yamani A. Long-term follow-up of tibial bone graft for correction of alveolar cleft. *Ann Maxillofac Surg.* 2012 Jul;2(2):146-52.
57. Lee YH, Choi JH, Hwang K, Choi JH. Rib Bone Graft Adjusted to Fit the Facial Asymmetry: A Frame Structure Graft. *J Craniofac Surg.* 2015 Oct;26(7):2160-2
58. Delawi D, Jacobs W, van Susante JL, Rillardon L, Prestamburgo D, Specchia N, Gay E, Verschoor N, Garcia-Fernandez C, Guerado E, Quarles van Ufford H, Kruyt MC, Dhert WJ, Oner FC. OP-1 Compared with Iliac Crest Autograft in Instrumented Posterolateral Fusion: A Randomized, Multicenter Non-Inferiority Trial. *J Bone Joint Surg Am.* 2016 Mar 16;98(6):441-8.

59. Enneking WF, Burchardt H, Puhl J, et al. Physical and Biologic Aspects of Repair in Dog Cortical Bone Transplants. *J Bone Joint Surg.* 1975; 57-A: 237 - 252
60. Burchardt H, Glowczewskie FP, Enneking WF. Allogenic Segmental Fibular Transplants in Azathioprine-immunosuppressed Dogs. *J Bone Joint Surg.* 1977; 59- A: 881-894.
61. Ehrler DM, Vaccaro AR: The use of allograft bone in lumbar spine surgery. *Clin Orthop Relat Res* 2000, 1:38–45.
- 62 . Yazar S: Onlay bone grafts in head and neck reconstruction. *Semin Plast Surg* 2010, 24:255–261.
63. Moshiri A, Oryan A: Role of tissue engineering in tendon reconstructive surgery and regenerative medicine: current concepts, approaches and concerns. *Hard Tissue* 2012, 1:11.
64. Gomes KU, Carlini JL, Biron C, Rapoport A, Dedivitis RA: Use of allogeneic bone graft in maxillary reconstruction for installation of dental implants. *J Oral Maxillofac Surg* 2008, 66:2335–2338.
65. Bostrom MP, Seigerman DA: The clinical use of allografts, demineralized bone matrices, synthetic bone graft substitutes and osteoinductive growth factors: a survey study. *HSS J* 2005, 1:9–18.
66. Zimmermann G, Moghaddam A: Allograft bone matrix versus synthetic bone graft substitutes. *Injury* 2011, 42:S16–S21.
67. Kaláb M, Karkoška J, Kamínek M, Šantavý P. Successful three-year outcome in a patient with allogeneous sternal bone graft in the treatment of massive post-sternotomy defects. *Int J Surg Case Rep.* 2014 Dec 24;7C:6-9.

68. Schleicher I, Lips KS, Sommer U, Schappat I, Martin AP, Szalay G, Schnettler R. Allogeneous bone with collagen for repair of deep osteochondral defects. *J Surg Res*. 2013 Dec;185(2):667-75.
69. Gomes KU, Carlini JL, Biron C, Rapoport A, Dedivitis RA. Use of allogeneic bone graft in maxillary reconstruction for installation of dental implants. *J Oral Maxillofac Surg*. 2008 Nov;66(11):2335-8.
70. Kubosch EJ, Bernstein A, Wolf L, Fretwurst T, Nelson K, Schmal H. Erratum to: Clinical trial and in-vitro study comparing the efficacy of treating bony lesions with allografts versus synthetic or highly-processed xenogeneic bone grafts. *BMC Musculoskelet Disord*. 2016 Mar 9;17(1):118.
71. Mueller YM, Davenport C, Ildstad ST. Xenotransplantation: application of disease resistance. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 1999 Dec;26(12):1009-12.
72. Taschieri S, Del Fabbro M, Testori T, Weinstein R. Efficacy of xenogeneic bone grafting with guided tissue regeneration in the management of bone defects after surgical endodontics. *J Oral Maxillofac Surg*. 2007 Jun;65(6):1121-7
73. Harvanová D, Hornák S, Amrichová J, Spaková T, Mikes J, Plsíková J, Ledecký V, Rosocha J. Isolation, cultivation and characterisation of pigeon osteoblasts seeded on xenogeneic demineralised cancellous bone scaffold for bone grafting. *Vet Res Commun*. 2014 Sep;38(3):221-8.
74. Wolff J, Pyysalo M, Antalainen AK, Sándor GK, Helminen M. Removal Rates of Dental Implants Placed in Conjunction With Autologous Bone and Xenogeneic and Synthetic Alloplastic Materials in Finland Between 1994 and 2012. *Implant Dent*. 2015 Oct;24(5):552-6.

75. Kubosch EJ, Bernstein A, Wolf L, Fretwurst T, Nelson K, Schmal H. Clinical trial and in-vitro study comparing the efficacy of treating bony lesions with allografts versus synthetic or highly-processed xenogeneic bone grafts. *BMC Musculoskelet Disord.* 2016 Feb 13;17(1):77.
76. Li X, Lin Z, Duan Y, Shu X, Jin A, Min S, Yi W. Repair of large segmental bone defects in rabbits using BMP and FGF composite xenogeneic bone. *Genet Mol Res.* 2015 Jun 11;14(2):6395-400.
77. Oryan A, Alidadi S, Moshiri A, Maffulli N. Bone regenerative medicine: classic options, novel strategies, and future directions. *J Orthop Surg Res.* 2014 Mar 17;9(1):18.
78. Friesenbichler J, Maurer-Ertl W, Sadoghi P, Pirker-Fruehauf U, Bodo K, Leithner A. Adverse reactions of artificial bone graft substitutes: lessons learned from using tricalcium phosphate geneX®. *Clin Orthop Relat Res.* 2014 Mar;472(3):976-82.
79. Gilbert TW, Sellaro TL, Badylak SF. (2006) Decellularization of tissues and organs. *Biomaterials.* Jul; 27(19):3675-83.
80. Han F, Dong Y, Su Z, Yin R, Song A, et al. (2014) Preparation, characteristics and assessment of a novel gelatin-chitosan sponge scaffold as skin tissue engineering material. *Int. J Pharm.* Sep 30; 476(1- 2):124-133.
81. Nöth U, Schupp K, Heymer A, et al. (2005) Anterior cruciate ligament constructs fabricated from human mesenchymal stem cells in a collagen type I hydrogel. *Cytherapy.* 7(5):447-55.
82. Mohan N, Nair PD, Tabata Y. (2009) A 3D biodegradable protein based matrix for cartilage tissue engineering and stem cell differentiation to cartilage. *J Mater Sci Mater Med.* Dec;20 Suppl 1:S49-60.

83. Dahl SL, Koh J, Prabhakar V, Niklason LE. (2003) Decellularized native and engineering arterial scaffolds for transplantation. *Cell Transplant*; 12:659–66.
84. Sabetkish S, Kajbafzadeh AM, Sabetkish N, Khorramirouz R, et al. (2014) Whole-organ tissue engineering: Decellularization and recellularization of three-dimensional matrix liver scaffolds. *J Biomed Mater Res A*. Jul 21.
85. Basak E, Uygun, Alejandro Soto-Gutierrez, Hiroshi Yagi, et al. (2010) Organ reengineering through development of a transplantable recellularized liver graft using decellularized liver matrix. // *Nature Medicine* 16, 814–820.
86. Annabi N, Tsang K, Mithieux SM et al. (2013) Highly Elastic Micropatterned Hydrogel for Engineering Functional Cardiac Tissue. *Adv Funct Mater*. Oct 18; 23(39).
87. Calle EA, Ghaedi M, Sundaram S, Sivarapatna A. et al. (2014) Strategies for whole lung tissue engineering. *IEEE Trans Biomed Eng*. May; 61(5):1482-96.
88. Katari R, Peloso A, Zambon JP. Et al. (2014) Renal bioengineering with scaffolds generated from human kidneys. *Nephron Exp Nephrol*. 126(2):119.
89. Kakabadze A, Kakabadze Z. Prospect of using decellularized human placenta and cow placentome for creation of new organs: targeting the liver (part I: anatomic study). *Transplant Proc*. 2015 May;47(4):1222-7.
90. Fröhlich M, Grayson WL, Marolt D. et al. (2010) Bone grafts engineered from human adipose-derived stem cells in perfusion bioreactor culture. *Tissue Eng Part A*. Jan; 16(1):179-89.
91. Deepthi S, Venkatesan J, Kim SK, Bumgardener JD, Jayakumar R. An overview of chitin or chitosan/nano ceramic composite scaffolds for bone tissue engineering. *Int J Biol Macromol*. 2016 Mar 21. pii: S0141-8130(16)30265-3.

92. Prakasam M, Locs J, Salma-Ancane K, Loca D, Largeteau A, Berzina-Cimdina L. Fabrication, Properties and Applications of Dense Hydroxyapatite: A Review. *J Funct Biomater*. 2015 Dec 21;6(4):1099-140.
93. Konopnicki S, Troulis MJ. Mandibular Tissue Engineering: Past, Present, Future. *J Oral Maxillofac Surg*. 2015 Dec;73(12 Suppl):S136-46.
94. Denry I, Kuhn LT. Design and characterization of calcium phosphate ceramic scaffolds for bone tissue engineering. *Dent Mater*. 2016 Jan;32(1):43-53.
95. Melke J, Midha S, Ghosh S, Ito K, Hofmann S. Silk fibroin as biomaterial for bone tissue engineering. *Acta Biomater*. 2016 Feb;31:1-16.
96. Baydik OD, Titarenko MA, Sysolyatin PG. Tissue engineering in dentistry. *Stomatologiya (Mosk)*. 2015;94(2):65-8.
97. Santos LJ, Reis RL, Gomes ME. Harnessing magnetic-mechano actuation in regenerative medicine and tissue engineering. *Trends Biotechnol*. 2015 Aug;33(8):471-9.
98. Venkatesan J, Kim SK. Nano-hydroxyapatite composite biomaterials for bone tissue engineering--a review. *J Biomed Nanotechnol*. 2014 Oct;10(10):3124-40.
99. Youngstrom DW, Barrett JG. Engineering Tendon: Scaffolds, Bioreactors, and Models of Regeneration. *Stem Cells Int*. 2016;2016:3919030.
100. Dhaliwal K, Kunchur R, Farhadieh R. Review of the cellular and biological principles of distraction osteogenesis: An in vivo bioreactor tissue engineering model. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2016 Feb;69(2):e19-26.

101. Zhang H, Han D. Research progress of in vivo bioreactor as vascularization strategies in bone tissue engineering. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*. 2014 Sep;28(9):1173-6.
102. Costa PF, Martins A, Neves NM, Gomes ME, Reis RL. Automating the processing steps for obtaining bone tissue-engineered substitutes: from imaging tools to bioreactors. *Tissue Eng Part B Rev*. 2014 Dec;20(6):567-77
103. Menabde G, Gogilashvili K, Kakabadze Z, Berishvili E. Bone marrow-derived mesenchymal stem cell plasticity and their application perspectives. *Georgian Med News*. 2009 Feb;(167):71-6
104. Hao ZC, Wang SZ, Zhang XJ, Lu J. Stem cell therapy: a promising biological strategy for tendon-bone healing after anterior cruciate ligament reconstruction. *Cell Prolif*. 2016 Mar 1.
105. Song K, Li L, Wang Y, Liu T. Hematopoietic stem cells: multiparameter regulation. *Hum Cell*. 2016 Apr;29(2):53-7.
106. Yousefi AM, James PF, Akbarzadeh R, Subramanian A, Flavin C, Oudadesse H. Prospect of Stem Cells in Bone Tissue Engineering: A Review. *Stem Cells Int*. 2016;2016:6180487.
107. Noronha-Matos JB, Correia-de-Sá P. Mesenchymal Stem Cells Ageing: Targeting the "Purinome" to Promote Osteogenic Differentiation and Bone Repair. *J Cell Physiol*. 2016 Jan 11.
108. Almubarak S, Nethercott H, Freeberg M, Beaudon C, Jha A, Jackson W, Marcucio R, Miclau T, Healy K, Bahney C. Tissue engineering strategies for promoting vascularized bone regeneration. *Bone*. 2016 Feb;83:197-209.

109. Fisher JN, Peretti GM, Scotti C. Stem Cells for Bone Regeneration: From Cell-Based Therapies to Decellularised Engineered Extracellular Matrices. *Stem Cells Int.* 2016;2016:9352598.
110. Bertolai R, Catelani C, Aversa A, Rossi A, Giannini D, Bani D. Bone graft and mesenchymal stem cells: clinical observations and histological analysis. *Clin Cases Miner Bone Metab.* 2015 May-Aug;12(2):183-7.
111. Morcos MW, Al-Jallad H, Hamdy R. Comprehensive Review of Adipose Stem Cells and Their Implication in Distraction Osteogenesis and Bone Regeneration. *Biomed Res Int.* 2015;2015:842975.
112. Pipino C, Pandolfi A. Osteogenic differentiation of amniotic fluid mesenchymal stromal cells and their bone regeneration potential. *World J Stem Cells.* 2015 May 26;7(4):681-90.
113. Kurt FO, Vatansever HS. Potential clinical use of differentiated cells from embryonic or Mesenchymal stem cells in orthopeadic problems. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2015 Mar 31.
114. Elsalanty ME, Genecov DG: Bone grafts in craniofacial surgery. *Craniofacial Trauma Reconstr* 2009, 2:125–134.
115. Ehrler DM, Vaccaro AR: The use of allograft bone in lumbar spine surgery. *Clin Orthop Relat Res* 2000, 1:38–45.
116. Yazar S: Onlay bone grafts in head and neck reconstruction. *Semin Plast Surg* 2010, 24:255–261.
117. Rizzo M, Moran SL: Vascularized bone grafts and their applications in the treatment of carpal pathology. *Semin Plast Surg* 2008, 22:213–227.

118. Gomes KU, Carlini JL, Biron C, Rapoport A, Dedivitis RA: Use of allogeneic bone graft in maxillary reconstruction for installation of dental implants. *J Oral Maxillofac Surg* 2008, 66:2335–2338.
119. Scaglione M, Fabbri L, Dell’omo D, Gambini F, Guido G: Long bone nonunions treated with autologous concentrated bone marrow-derived cells combined with dried bone allograft. *Musculoskelet Surg* 2013.
120. Moshiri A, Oryan A: Role of tissue engineering in tendon reconstructive surgery and regenerative medicine: current concepts, approaches and concerns. *Hard Tissue* 2012, 1:11.
121. Bostrom MP, Seigerman DA: The clinical use of allografts, demineralized bone matrices, synthetic bone graft substitutes and osteoinductive growth factors: a survey study. *HSS J* 2005, 1:9–18.
122. Gurav AN, Shete AR, Naiktari R. Treatment of a large periradicular defect using guided tissue regeneration: A case report of 2 years follow-up and surgical re-entry. *J Indian Soc Periodontol*. 2015 Nov-Dec;19(6):701-4.
123. Jain D, Deepa D. A comparative evaluation of freeze-dried bone allograft with and without bioabsorbable guided tissue regeneration membrane Healiguide(®) in the treatment of Grade II furcation defects: A clinical study. *J Indian Soc Periodontol*. 2015 Nov-Dec;19(6):645-50.
124. Corbella S, Taschieri S, Elkabbany A, Del Fabbro M, von Arx T. Guided Tissue Regeneration Using a Barrier Membrane in Endodontic Surgery. *Swiss Dent J*. 2016;126(1):13-25

125. Zhang E, Zhu C, Yang J, Sun H, Zhang X, Li S, Wang Y, Sun L, Yao F. Electrospun PDLGA/PLGA composite membranes for potential application in guided tissue regeneration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2016 Jan 1;58:278-85.
126. Li W, Ma G, Brazile B, Li N, Dai W, Butler JR, Claude AA, Wertheim JA, Liao J, Wang B. Investigating the Potential of Amnion-Based Scaffolds as a Barrier Membrane for Guided Bone Regeneration. *Langmuir*. 2015 Aug 11;31(31):8642-53.
127. Kiany F, Moloudi F. Amnion membrane as a novel barrier in the treatment of intrabony defects: a controlled clinical trial. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2015 May-Jun;30(3):639-47.
128. Caballé-Serrano J, Sawada K, Miron RJ, Bosshardt DD, Buser D, Gruber R. Collagen barrier membranes adsorb growth factors liberated from autogenous bone chips. *Clin Oral Implants Res*. 2016 Jan 28.
129. Lee SH, Lim YM, Jeong SI, An SJ, Kang SS, Jeong CM, Huh JB. The effect of bacterial cellulose membrane compared with collagen membrane on guided bone regeneration. *J Adv Prosthodont*. 2015 Dec;7(6):484-95.
130. Machtei EE, Kim DM, Karimbux N, Zigdon-Giladi H. The use of endothelial progenitor cells combined with barrier membrane for the reconstruction of peri-implant osseous defects: an animal experimental study. *J Clin Periodontol*. 2016 Mar;43(3):289-97.
131. Ward MA, Kaneko T, Kusakabe H, Biggers JD, Whittingham DG, Yanagimachi R. Long-term preservation of mouse spermatozoa after freeze-drying and freezing without cryoprotection. *Biol Reprod*. 2003 Dec;69(6):2100-8. Epub 2003 Aug 20.
132. Natan D, Nagler A, Arav A. Freeze-drying of mononuclear cells derived from umbilical cord blood followed by colony formation *PLoS One*. 2009;4(4):e5240.

133. Linero I, Chaparro O. Paracrine effect of mesenchymal stem cells derived from human adipose tissue in bone regeneration. *PLoS One*. 2014 Sep 8;9(9):e107001.
134. Nowotny J, Farack J, Vater C, Johnsen M, Gelinsky M, Tonn T, Kasten P. Translation of cell therapy into clinical practice: validation of an application procedure for bone marrow progenitor cells and platelet rich plasma. *J Appl Biomater Funct Mater*. 2015 Dec 14:0.
135. Tera Tde M, Prado RF, De Marco AC, Santamaria MP, Jardini MA The RANK/RANKL/ OPG interaction in the repair of autogenous bone grafts in female rats with estrogen deficiency. *Braz Oral Res*. 2014 Jan-Feb;28(1).
136. Bastos AS, Spin-Neto R, Conte-Neto N, Galina K, Boeck-Neto RJ, Marcantonio C, Marcantonio E, Marcantonio E Jr. Calvarial autogenous bone graft for maxillary ridge and sinus reconstruction for rehabilitation with dental implants. *J Oral Implantol*. 2014 Aug;40(4):469-78.
137. Koerdt S, Siebers J, Bloch W, Ristow O, Kuebler AC, Reuther T. Immunohistochemical study on the expression of von Willebrand factor (vWF) after onlay autogenous iliac grafts for lateral alveolar ridge augmentation. *Head Face Med*. 2013 Dec 11;9:40..
138. Pogrel MA, Podlesh S, Anthony JP, Alexander J. A comparison of vascularized and nonvascularized bone grafts for reconstruction of mandibular continuity defects. *J Oral Maxillofac Surg*. 1997;55:1200–6.
139. Pennington EC, Dionigi B, Gray FL, Ahmed A, Brazzo J, Dolinko A et al. Limb reconstruction with decellularized, non-demineralized bone in a young leporine model. *Biomed Mater*. 2015 Feb 10;10(1):015021.

140. Gawlitta D, Benders KE, Visser J, van der Sar AS, Kempen DH, Theyse LF, Malda J, Dhert WJ. Decellularized cartilage-derived matrix as substrate for endochondral bone regeneration. *Tissue Eng Part A*. 2015 Feb; 21(3-4):694-703.
141. Hoffman MD, Van Hove AH, Benoit DS. Degradable hydrogels for spatiotemporal control of mesenchymal stem cells localized at decellularized bone allografts. *Acta Biomater*. 2014 Aug;10(8):3431-41.
142. Gardin C, Ricci S, Ferroni L, Guazzo R, Sbricoli L et al. Decellularization and Delipidation Protocols of Bovine Bone and Pericardium for Bone Grafting and Guided Bone Regeneration Procedures. *PLoS One*. 2015 Jul 20;10(7):e0132344.
143. Chatterjea A, Meijer G, van Blitterswijk C, de Boer J (2010) Clinical application of human mesenchymal stromal cells for bone tissue engineering. *Stem Cells Int* 2010: 215625.
144. Salem HK, Thiemermann C (2010) Mesenchymal stromal cells: current understanding and clinical status. *Stem Cells* 28: 585–596.
145. Chen Y, Shao JZ, Xiang LX, Dong XJ, Zhang GR (2008) Mesenchymal stem cells: a promising candidate in regenerative medicine. *Int J Biochem Cell Biol* 40: 815–820.
146. Meirelles Lda S, Fontes AM, Covas DT, Caplan AI (2009) Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells. *Cytokine Growth Factor Rev* 20: 419–427.
147. Hocking AM, Gibran NS (2010) Mesenchymal stem cells: paracrine signaling and differentiation during cutaneous wound repair. *Exp Cell Res* 316: 2213–2219.
148. Smiler DG, Soltan M, Soltan C, Matthews C. Growth factors and gene expression of stem cells: bone marrow compared with peripheral blood. *Implant Dent*. 2010 Jun;19(3):229-40.

149. Burdon TJ, Paul A, Noiseux N, Prakash S, Shum-Tim D. Bone marrow stem cell derived paracrine factors for regenerative medicine: current perspectives and therapeutic potential. *Bone Marrow Res.* 2011;2011:207326.
150. Peng Y, Xuan M, Zou J, Liu H, Zhuo Z, Wan Y, Cheng B. Freeze-dried rat bone marrow mesenchymal stem cell paracrine factors: a simplified novel material for skin wound therapy. *Tissue Eng Part A.* 2015 Mar;21(5-6):1036-46
151. Ducheyne P, De Meester P, Aernoudt E: Influence of a functional dynamic loading on bone ingrowth into surface pores of orthopedic implants. *J Biomed Mater Res* 1977, 11:811-838.
152. Heck D, Nakajima I, Kelly P, Chao E: The effect of load alteration on the biological and biomechanical performance of a titanium fiber-metal segmental prosthesis. *J Bone Joint Surg Am* 1986, 68:118-126.
153. Li W, Ma G, Brazile B, Li N, Dai W et al. Investigating the Potential of Amnion-Based Scaffolds as a Barrier Membrane for Guided Bone Regeneration. *Langmuir.* 2015 Aug 11; 31(31):8642-53.
154. Ducheyne P, De Meester P, Aernoudt E: Influence of a functional dynamic loading on bone ingrowth into surface pores of orthopedic implants. *J Biomed Mater Res* 1977, 11:811-838.
155. Heck D, Nakajima I, Kelly P, Chao E: The effect of load alteration on the biological and biomechanical performance of a titanium fiber-metal segmental prosthesis. *J Bone Joint Surg Am* 1986, 68:118-126.
156. Gutta R, Baker RA, Bartolucci AA, Louis PJ: Barrier membranes used for ridge augmentation: is there an optimal pore size? *J Oral Maxillofac Surg* 2009, 67:1218-1225.

157. Amano Y, Ota M, Sekiguchi K, Shibukawa Y, Yamada S: Evaluation of a poly-l-lactic acid membrane and membrane fixing pin for guided tissue regeneration on bone defects in dogs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004, 97:155-163.
158. Kakabadze Z, Mardaleishvili K, Loladze G, Javakhishvili I, Chakhunashvili K, Karalashvili L, Sukhitashvili N, Chutkerashvili G, Kakabadze A, Chakhunashvili D. Clinical application of decellularized and lyophilized human amnion/chorion membrane grafts for closing post-laryngectomy pharyngocutaneous fistulas. *J Surg Oncol*. 2016, Jan 21.
159. von Arx T, Cochran DL, Hermann JS, Schenk RK, Buser D. Lateral ridge augmentation using different bone fillers and barrier membrane application. A histologic and histomorphometric pilot study in the canine mandible. *Clin Oral Implants Res*. 2001 Jun; 12(3):260-9.
160. Li W, Ma G, Brazile B, Li N, Dai W et al. Investigating the Potential of Amnion-Based Scaffolds as a Barrier Membrane for Guided Bone Regeneration. *Langmuir*. 2015 Aug 11;31(31):8642-53.