ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო
უნივერსიტეტი მედიცინის ფაკულტეტი

დოქტურანტურის საგანმანათლებლო პროგრამა
კლინიკური და ტრანლაციური მედიცინა

ავთანდილ მაჭავარიანი

ღეროვანი უჯრედების და ოსტეოპლასტიური მასალების კომბინირებული გამოყენება, ყბა-სახის ტრავმული დაზიანებების დროს

სამეცნიერო ხელმძღვანელი: გიორგი მენაბდე, მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი, პროფესორი

ა ვ ტ ო რ ე ფ ე რ ა ტ ი

მედიცინის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად
წარმოდგენილი დისერტაცია

თ ბ ი ლ ი ს ი
2019

დღეისათვის ყბა-სახის მიდამოს ტრავმები ზოგადი დაზიანებების 93,3% შეადგენს. მოწოდებულია: (M.Singaram at al. 2016). ქვედა ყბის დეფექტის პლასტიკა ყბა-სახის რეკონ-სტრუქციული ქირურგიის ერთ-ერთ აქტუალურ საკითს წარმოადგენს. მკურნალობის ეფექტურობას განსაზღვრავს ძვლის დეფექტის ზომა, ძვლოვანი ქსოვილის რეპარაციული რეგენერეაციის პროცესი, რომელიც ხშირად ჭრლობის ინფი-ცირების, მიკროცირკულაციური დარღვევებისა და ქსოვი-ლოვანი ჰიპოქსიის ფონზე მიმდინარეობს, გარდა ამისა ყბა-სახის მიდამოს ძვლოვან ქსოვილს გააჩნია ძალზედ დაბალი რეგენერაციული შესაძლებლობები, მასში სისხლმბადი ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების მცირე შემცველობის გამო. აქედან გამომდინარე ძვლოვანი ქსოვილის თუნდაც ნაწილობრივი აღდგენაც კი საკმაოდ რთულ ამოცანას წარმოადგენს.

დღესდღეობით ყბა–სახის ძვლოვანი დეფექტების აღსადგენად მოწოდებულია მრავალი აუტო, ალო, ქსენო, სინთეზური და ბიოსინთეზური ძვლოვანი ტრანსპლანტან–ტები. აუტოლოგიური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტების გამო–ყენება ყბა–სახის ქირურგიაში მიჩნეულია ოქროს სტანდარტად, ვინაიდან მათ გააჩნიათ ოსტეოგენური, ოსტეოინდუქციური და ოსტეოკონდუქტიური თვისებები. თუმცა, აუტოლოგური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტების ძირითად უარყოფით თვისებას წარმოადგენს მისი მიღებისათვის დამატებითი ქირურგიული ოპერაციის ჩატარების აუცილებლობა. გარდა ამისა მათ გააჩნიათ სწრაფი რეზორბციის უნარი. აუტოგენური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტების ალტერნატივას წარმოადგენს ალოგენური და ქსენოგენური ძვლოვანი ტრანსპლანტანტები. ალოგენურ ტრანსპლანტანტებს გააჩნიათ ოსტეოინდუქციური და

ოსტეოკონდუქტიური თვისებები, თუმცა მათი გამოყენებისას მატულობს სხვადასხვა ინფექციის გადაცემის რისკი. რაც შეეხება ქსენოგენურ ტრანსპლანტანტებს მათ გააჩნიათ საკმაოდ მაღალი ზოონოზური ინფექციების გადაცემის რისკი და იმუნური კომფლიქტის განვითარების ალბათობა. ყბა–სახის ძვლოვანი დეფექტების აღსადგენად, ასევე გამოიყენება ალო–პლასტიკური ტრანსპლანტანტები (პოლიმერები, ბიოკერამიკა, ბიოაქტიური შუშა და სხვა.) ამ ტრანსპლანტანტების ძირითად უპირატესობას წარმოადგენს მათი ბიოშეთავსებადობის და ბიორეზორბციის დადებითი თვისებები, თუმცა მათ გააჩნიათ სუსტი ოსტეოკონდუქციის უნარი, დაბალი მექანიკური რეზისტენტულობა და სტაბილურობა.

იდეალური ტრანსპლანტანტი უნდა აკმაყოფილებდეს შემდეგ მოთხოვნებს : ა) სრულად უნდა ავსებდეს დაზიანებულ ძვლოვან ქსოვილს და ხელს უშლიდეს დეფექტის ფართობის ზრდას (ოსტეოინდუქციური ფუნქცია); ბ) მასალას არ უნდა ახასიათებდეს ისეთი ნაკლოვანებები როგორიც არის დამზადების რთული პროცესი დეგრადაციის დაბალი სიჩქარე და ანთების საწინააღმდეგო მოქმედება. მათი გამოყენებისას არ უნდა აღინიშნებოდეს ისეთი გართულებები, როგორიც არის შეხორცებითი პროცესის გახანგრძლივება, ძვლოვანი ქსოვილის დაჩირქება და იმპლანტირებული მასალის მოცილება. იმპლანტირებული მასალა ხელს უნდა უწყობდეს ოსტეოციტების ფორმირების ინიციაციას და ბიოინტეგრაციას. გარდა ამისა იმპლანტს უნდა გააჩნდეს ბიოშეთავსების დამაკმაყოფილებელი მაჩვენებლები და სწრაფი რეზო–რბირების უნარი, ყველა ზემოთ ჩამოთვლილ მოთხოვნას სრულიად აკმაყოფილებს ჩვენს მიერ შემუშავებული ძვლოვანი მინერალის (Geistlich Bio-Oss®) და აუტოლოგიური ძვლის

ტვინის ღეროვანი უჯრედების კომპოზიტი. ძვლოვანი მინერალი (Bio-Oss) წარმოადგენს ნატურალურ ძვლის მინერალს, რომელიც მიიღება მსხვილფეხა რქოსანი პირუტყვის ძვლის ქსოვილებიდან. იგი ოსტეოკონდუქტიური სტრუქტურის მქონე მაღალი ხარისხის სიწმინდის მინერალია, რომელიც მიიღება ნატურალური ძვლისაგან მრავალსაფე–ხურიანი გაწმენდის სტადიის შედეგად. ვინაიდან (Bio-Oss) ბუნებრივი წარმოშობისაა, იგი ქიმიურად და სტრუქტურულად თავსებადია ადამიანის მინერალიზირებულ ძვალთან (ბუნებრივი აპატიტის ნანოკრისტალური სტრუქტურა).

კვლევის მიზანი და ამოცანები

ძვლოვანი მინერალის (BIO-OSS) და ავტოლოგიური ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედებისაგან მიღებული კომპოზიტის შექმნა და მისი გამოყენება ქვედა ყბის ძვლის დეფექტის აღსადგენად ექსპერიმენტში ცხოველებზე .

ამ მიზნის განსახორციელებლად დავისახეთ შემდეგი ამოცანები:

- ქვედა ყბის ძვლის მოდელირება ცხოველებზე;
- ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების მიღება და მათი დასმა ძვლოვანი მინერალის ზედაპირზე;
- ქვედა ყბის ძვლის დეფეტის აღდგენა ძვლოვანი მინერალით.
- ქვედა ყბის ძვლის დეფექტის აღდგენა ძვლოვანი მინერალის და აუტოლოგიური ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედებისაგან მიღებული კომპოზიტით
- ძვლოვანი მინერალის (BIO-OSS) და ავტოლოგიური ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედებისაგან მიღებული კომპოზიტის ეფექტურობის განსაზღვრა ქვედა ყბის ძვლოვანი

დეფექტის რეკონსტრუქციაში მორფოლოგიური, ჰისტოლო-გიური და რენტგენოლოგიური მეთოდების გამოყენებით.

ნაშრომის მეცნიერული სიახლე

- პირველად შეიქმნა ბიოაქტიური ძვლოვანი გრაფტი, რომელიც წარმოადგენს ძვლოვან მინერალს (BIO-OSS) და ავტოლოგიური ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების კომპოზიტს.

- დადგინდა, რომ ძვლოვანი მინერალის (BIO-OSS) და ავტოლოგიური ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების კომპოზიტს გააჩნია ოსტეოგენური, ოსტეოინდუქციური და ოსტეოკონდუქციური თვისებები. რაც ხელს უწყობს სწრაფ ოსტეოინტეგრაციას.

- ძვლოვანი მინერალის (BIO-OSS) და ავტოლოგიური ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების კომპოზიტი შეიძლება ეფექტურად იქნას გამოყენებული ყბა-სახის რეკონსტრუქციულ ქირურგიაში.

დასაცავად გამოტანილი ძირითადი დებულებები:

- ძვლოვანი მინერალი (BIO-OSS) წარმოდგენილია ფოროვანი სტრუქტურით, ახალი ძვლის ფორმირების ტემპის შესაბამისი ბიორეზორბადობის სიჩქარით, ნატურალური ძვლის მსგავსი მექანიკური რეზისტენტობით და სტაბი–ლურობით .

- ძვლოვან მინერალს (BIO-OSS) და აუტოლოგიური ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების კომპოზიტს გააჩნია ბიოშეტავსებადობა ოსტეოკონდუქციის, ოსტეოინდუქციის და ოსტეოინტეგრაციის თვისებები.

- ძვლოვანი მინერალის (BIO-OSS) და ავტოლოგიური ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედებისაგან მიღებული კომპოზიტი წარმოადგენს აუტოლოგური ძვლის გრაფტის კონკურენტუნარიან ანალოგს.

- ძვლოვანი მინერალის (BIO-OSS) და ავტოლოგიური ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედებისაგან მიღებული კომპოზიტი შეიძლება გამოყენებული იქნას ყბა-სახის ქირურგიაში ძვლის დეფექტების რეკონსტრუქციისათვის.

მასალა და მეთოდები

ექსპერიმენტული კვლევებისათვის გამოყენებული იქნა ორივე სქესის ლევისის ხაზის 100 თეთრი ლაბორატორიული ვირთაგვა წონით 200 – 250 გრ. ვირთაგვები მოწოდებული იყო თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის ვივარიუმიდან. ასევე, გამოყენებული იქნა ორივე სქესის, 6 თვის ასაკის C57BL/6 ხაზის სინგენური 10 ლაბორატორული ყავისფერი თაგვი, სხეულის წონით 23-25 გრ. ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების მისაღებად გამოყენებული იქნა 30 ტრანსგენური C57BL/6-GFP თაგვი, სხეულის წონით 20-25 გრ.

C57BL/6-GFP ხაზის თაგვების გამოყენება განპირობებული იყო იმით, რომ მათ გააჩნიათ მწვანე ფლუორესცენტული პროტეინი, რამაც ძვლოვანი მინერალის (BIO-OSS) ზედაპირზე ტრანსპლანტირებული ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების იდენტიფიცირებისა და მათი დიფერენცირების დასაბუთების განხორციელების საშუალება მოგვცა.

C57BL/6 და C57BL/6-GFP ხაზის თაგვები გამოწერილი იყო JACKSON-ის ლაბორატორიიდან (JAX-MICE , USA)

ექსპერიმენტები ცხოველებზე ჩატარდა ცხოველთა დაცვის კომიტეტის მიერ დამტკიცებული პროტოკოლით. ქირუგიული მანიპულაცია ჩატარებულ იქნა ზოგადი

გაუტკივარების პირობებში, (ნატრიუმის ეტამინალის ინტრაპერიტონული ინექციით, 0,5 მლ/კგ-ზე) ასეპტიკისა და ანტისეპტიკის ყველა წესის სრული დაცვით.

ყველა ცხოველს, (გარდა C57BL/6-GFP ხაზისა რომლებიც წარმოადგენენ დონორებს) შეექმნათ ქვედა ყბის ძვლის დეფექტი და ცხოველები დაიყო II სერიად:

I) სერიის ცხოველები (თეთრი ლაბორატორიული ვირთაგვები) დაიყო III ჯგუფად:

I) ჯგუფის ცხოველები (n=30) წარმოადგენდნენ საკონტროლო ჯგუფს, დეფექტის შექმნის შემდეგ იმყოფებოდნენ დაკვირვების ქვეშ მკურნალობის გარეშე;

II) ჯგუფის ცხოველები (n=30) ქვედა ყბის დეფექტის შექმნის შემდეგ მოხდა მისი რეკონსტრუქცია ძვლოვანი მინერალის (BIO-OSS) გამოყენებით;

III) ჯგუფის ცხოველები (n=30) ქვედა ყბის დეფექტის შექმნის შემდეგ მოხდა მისი რეკონსტრუქცია ძვლოვანი მინერალის (BIO-OSS) და ავტოლოგიური ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედებისაგან მიღებული კომპოზიტით;

დარჩენილი 10 თეთრი ლაბორატორიული ვირთაგვა გამოყენებული იყო, როგორც ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების დონორი.

II) სერიის ცხოველები დაიყო ორ ჯგუფად. პირველი ჯგუფის ცხოველები (n=30) წარმოადგენდნენ C57BL/6-GFP ხაზის თაგვებს და გამოყენებული იყვნენ, როგორც დონორები ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების მისაღებად. მეორე ჯგუფის ცხოველებს (n=10), რომლებიც წარმოადგენდნენ C57BL/6 ხაზის თაგვებს, ქვედა ყბის დეფექტის მოდელირების შემდეგ მოხდა მათი რეკონტრუქცია ძვლოვანი მინერალის

(BIO-OSS) და C57BL/6-GFP ხაზის თაგვებიდან მიღებული აუტოლოგიური ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედებით.

ღეროვანი უჯრედების მიღებას ვახორციელებდით სტერილურ პირობებში, ლამინარულ კარადაში. ამ ჯგუფის ცხოველებში შეგვყავდა საანესთეზიო საშუალების ლეტალური დოზა. სუნთქვის გაჩერებისთანავე ვახორციელებდით მთლი–ანი ცხოველის სპიტრით დამუშავებას და უკანა კიდურების ამპუტაციას. ამპუტირებული კიდურები თავსდებოდა სპირიტის 70%-იან ხსნარში შემდგომ დამუშავებამდე. ამის შემდეგ ვახორციელებდით კიდურების განთავისუფლებას კუნთებისაგან სკალპელის მეშვეობით და წვივისა და ბარძაყის ძვლის სეპარაციას. განცალკევებული ძვლების გამორეცხვა ხორციელდებოდა 5% FBS-IMDM- ის ხსნარით 5 მლ-იანი შპრიცით . ძვლის ტვინის ასპირაციის შემდეგ მის დისოციაციას ვახორციელებდით 18გ ნემსით მრავალჯერადი ინსპირაცია-ასპირაციის გზით. მიღებული უჯრედული მასის ცენტრი–ფუგირება მიმდინარეობდა 10 წუთის განმავლობაში 300გ სიჩქარით. მიღებული უჯრედების სისხლის წითელი უჯრედების მალიზირებელ ბუფერში რესუსპენდირებისა და 9 წუთიანი ინკუბაციის შემდეგ ვახორციელებდით მათ განმეორებითი ცენტრიფუგირებას. საბოლოოდ უჯრედები რესუსპენზირდებოდა 5% FBS-IMDM- ის ხსნარში (2 მლ/თაგვზე). მიღებული უჯრედები დაიყო ორ ნაწილად, პირველი ნაწილი გამოვიყენეთ სიცოცხლის უნარიანობის განსასაზღვრად ტრიპანის ლურჯის მეშვეობით. ინვერტირებული მიკროსკოპის ქვეშ ნეუბაუერის კამერაში დათვლის გზით, ვახორციელებდით უჯრედული გასავალის განსაზღვრას. ხოლო მიღებული ღეროვანი უჯრედების მეორე ნაწილი დასმული იქნა (BIO-OSS)

ძვლოვან მინერალზე, უჯრედების რაოდენობა შეადგენდა 2,5 X 10^6

ყველა ჯგუფის ცხოველებში, ზოგადი გაუტკივარების პირობებში, ასეპტიკისა და ანტისეპტიკის წესების სრული დაცვით, ცხოველს ვათავსებდით საოპერაციო მაგიდაზე. კანის თმიანი საფარველისაგან განთავისუფლებისა და მისი სპირტით დამუშავების შემდეგ, ქვედა ყბის ქვედა კიდის გასწვრივ ტარდებოდა 1,5-2 სმ სიგრძის განაკვეთი. საღეჭი კუნთის აშრევებას და ქვედა ყბის ძვლის ზედაპირის გაშიშვლებას ვახორციელებდით ბლაგვი წესით, რასპატორის გამოყენებით. ამის შემდგომ ქვედა ყბის ძვალზე ქირურგიული ბორის გამოყენებით და სათანადო გაგრილებით, იქმნებოდა 6 მმ დიამეტრის მრგვალი ფორმის ძვლოვანი დეფექტი, რომელიც არ უკავშირდებოდა პირის ღრუს.

აღნიშნული მიდამოს შერჩევა განაპირობა ქვედა ყბის ძვლის მნიშვნელოვანმა სიმტკიცემ და მისი ზედაპირის ფართობმა, აგრეთვე მასთან მიდგომა გაცილებით მარტივია და ექსპერიმენულ ცხოველს არ შეუძლია ნაკერების თვითნებურად მოცილება.

შექმნილი ძვლოვანი დეფექტი პირველი სერიის პირველი ჯგუფის ცხოველებში რჩებოდა მკურნალობის გარეშე, რადგან წარმოადგენდა საკონტროლო ჯგუფს.

მეორე ჯგუფის ცხოველებში დეფექტი შეივსო (BIO-OSS)-ის ძვლოვანი მინერალის გამოყენებით. ხოლო მესამე ჯგუფის ცხოველებში (BIO-OSS)-ის ძვლოვანი მინერალის და აუტოლოგიური ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედებისაგან მიღებული კომპოზიტით. მეორე სერიის ცხოველებში ჩვენს მიერ შექმნილი ქვედა ყბის ძვლოვანი დეფექტის რეკონსტრუქცია მოხდა (BIO-OSS)-ის ძვლოვანი მინერალის და

C57BL/6-GFP ხაზის თაგვებიდან მიღებული აუტოლოგიური ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედებით შექმნილი კომპოზიტით. ყველა ჯგუფის ცხოველებში ჭრილობა იკერებოდა უწყვეტი ნაკერებით, ვიკრილის ძაფით. ოპერაციის შემდეგ ცხოველები იმყოფებოდნენ დაკვირვების ქვეშ, ვივარიუმის სტანდარტულ პირობებში. ექსპერიმენტული ცხოველების ცდებიდან გამოყვანა ხორციელდებოდა ოპერაციიდან 3, 14, 20, 30, 60, 90, 120, 150 და 180 დღეს.

პოსტოპერაციული კვლევების ობიექტს წარმოადგენდა ქვედა ყბის ძვლის ქსოვილი ხელოვნურად შექმნილი დეფექტით. ქვედა ყბის ძვლის ფრაგმენტებს ვაფიქსირებდით პარაფორმალდეჰიდის 4%-იან ხსნარში (pH 7,4) 24 საათის განმავლობაში. ფიქსაციის შემდეგ ძვალს ვათავისუ–ფლებდით კანისა და კუნთებისაგან და ვახორციელებდით მის დემინერალიზაციას 24 საათის განმავლობაში. დეკალცინი–რებული ძვლის დეჰიდრატაციის შემდეგ პრეპარატის ჩაყალიბება ხორციელდებოდა პარაფინში. 5-7 მკმ სისქის ანათლები იღებებოდა ჰემატოქსილინ ეოზინით. შესწავლა ხდებოდა სინათლის მიკროსკოპის გამოყენებით. ასევე მასალები შესწავლილი იყო ფლუორესცენტიური მიკროსკოპის გამოყენებით. ყველა ჯგუფის ცხოველებში, ქვედა ყბაზე შექმნილი ძვლოვანი დეფექტის რეგენერაციის პროცესი, დინამიკაში მოწმდებოდა რენტგენოლოგიური კვლევების მეშვეობით, გამოყენებული იყო Vatech-ის ფირმის აპარატი.

კვლევის შედეგები

თავი 1. ქვედა ყბის ძვლის დეფექტის მოდელირების შედეგები ცხოველების საკონტროლო ჯგუფში რომლებიც იმყოფებოდნენ მკურნალობის გარეშე.

პირველ ჯგუფში ქვედა ყბის დეფექტის მოდელირებიდან პირველ დღეებში აღინიშნებოდა ჭრილობის პოსტოპერა–ციული შეშუპება, ჰიპერემია და რბილი ქსოვილების ინფილტრაცია. ოპერაციიდან მესამე დღეს, ქსოვილების პირდაპირი დაზიანების შედეგად განვითარდა მკვეთრი ანთებითი რეაქცია. ანთებითი რეაქციის შემცირება და დაზიანებული ქსოვილების აღდგენის პროცესის ინიცირება აღინიშნებოდა ოპერაციიდან მე-7 დღეს. ერთ ცხოველს ჭრილობის ირგვლივ ქსოვილებში განვითარდა ფლეგმონა. დანარჩენ ცხოველებს ოპერაციიდან მე-14 დღეს ღრძილის ლორწოვანზე განუვითარდა ნაწიბური. ამავე ვადებში დეფექტის ღრუ შეიცავდა ნეკროზულ მასებს, ძვლის ფრაგმენტებისა და მწვავე ანთების უჯრედებს. დეფექტის ძვლოვანი კიდე ნაწილობრივ შემოფარგლული იყო ვასკულარიზებული შემაერთებელი ქსოვილით. ოპერაციიდან მე-16 დღეს, დეფექტის კედლის ღრმა შრეებში, ძვლოვანი ქსოვილის სისქეში აღინიშნებოდა ენდოოსტალური ოსტეოგენეზის ზომიერი აქტივაცია, ოსტეობლასტების პროლიფერაციის სახით. მე-20 დღეს ძვლოვანი დეფექტის ზომები შემცირებული იყო ახალგაზრდა ძვლოვანი ქსოვილის ფორმირების ხარჯზე. ოპერაციიდან 30-ე დღეს დეფექტის მთელ პერიმეტრზე აღინიშნებოდა უმწიფარი ოსტეოგენური ფაშარბოჭკოვანი ფიბროზული ქსოვილის ფორმირება, რომელშიც ჩაზრდილი იყო პრიმიტიული ძვლოვანი ქსოვილი ქვედა ყბის მხრიდან. ფაშარბოჭკოვანი შემაერთებელი ქსოვილის კიდეები ზომიერად ინფილტრირებული ლიმფოციტებით, მაკროფაგებითა და ნეიტროფილებით, ხოლო უფრო ღრმა შრეები წარმოდგენილი იყო მომწიფებული ფიბროზული ქსოვილით. დეფექტის კიდეებზე ძვლოვანი

ქსოვილის ფორმირებას თან ახლდა მეორადი ოსტეოლიზისის პროცესები, რომლებიც განვითარდა ანთების საპასუხოდ ძვლის ტრავმირებისა და რეგენერაციის ზონაში და გამოვლინდა ყბის ძვლოვანი ქსოვილის რემოდელირებით, თანმხლები ოსტეოლიზისითა და ოსტეოსინთეზით.

ოპერაციიდან 90-ე დღეს დეფექტის კიდეები შემოფარგლული იყო ოსტეოგენური ქსოვილით, რომელშიც გრძელდებოდა აქტიური ოსტეოგენეზის პროცესი, ახალგაზრდა ძვლოვანი ფირფიტების დიდი რაოდენობით ფორმირებისა და ახლადწარმოქმნილი ძვლის ზონის გაფართოებით. ამავე ვადებში აღინიშნებოდა ძვლოვანი ქსოვილის ფორმირების ზონალურობა, რომელიც გამოიხატებოდა ყველაზე ახალგაზრდა სტრუქტურების ზედაპირული განლაგებით, ხოლო მომწიფებულის კი უფრო ღრმა შრეებში. ძვლოვანი ქსოვილის ფორმირების პროცესი დასრულებული იყო ოპერაციიდან მე-6 თვეს, დეფექტის ღრუ შევსებული იყო ძვლოვანი ქსოვილით, აღინიშნებოდა ძვლოვანი კორძის ჩამოყალიბება.

ოპერციიდან მე-6 თვეს რენტგენოლოგიურმა კვლევებმა გამოავლინა დეფექტის არასწორი კონტურები და პერი–ფოკალური ანთება. ძვლოვანი ქსოვილი იყო არაჰომოგენური, გამკვრივებული, აისახა დაცხრილული სურათი. ძვლოვანი ქსოვილის დეფექტის ზომები იყო შემცირებული, მისი ღრუ კი ამოვსებული რენტგენოლოგიურად ძვლოვან ქსოვილზე ნაკლებად მკვრივი ქსოვილით. ყოველივე ზემოთაღნიშნული მიუთითებს ძვლოვანი რეგენერატის უმწიფრობაზე და მის არასაკმარის მინერალიზაციაზე.

ამგვარად, შეიძლება დავასკვნათ, რომ ძვლოვანი ქსოვილის პოსტტრავმული დეფექტის რეპარაციული

რეგენერაცია ამ ჯგუფის ცხოველებში მიმდინარეობს აპოზიციურად უშუალოდ დეფექტის კიდეებიდან დესმო–გენური ოსტეოგენეზის სახით. დეფექტის მოდელირებიდან მე-60 დღეს მის კიდეებში აღინიშნება უმწიფარი ძვლის ფორმირება, რაც ქვედა ყბის ძვლოვანი ქსოვილის რეპარაციული რეგენერაციის დაბალ ტემპებზე მიუთითებს. ქვედა ყბის ძვლოვანი დეფექტის რეპარაციული რეგენერაციის პროცესი მიმდინარეობს პოსტტრავმული ქრონიკული პროდუქციული ანთების ფონზე, რომლის გამოხატულება და მასშტაბები განსაზღვრავენ ოსტეორეპარაციისა და მეორადი ოსტეოლიზისის პროცესების სინქრონიზაციის შეფარდებას, რაც თავის მხრივ განსაზღვრავს ძვლოვანი დეფექტის რეგენერაციის სიჩქარესა და ხარისხს.

თავი 2. მეორე ჯგუფის ცხოველებში (BIO – OSS) -ის ტრანსპლანტაციის შემდეგ პირველი სამი დღის გამნავლობაში აღინიშნებოდა ჭრილობის პოსტოპერაციული შეშუპება, ჰიპერემია და რბილი ქსოვილების ინფილტრაციის ნიშნები. პირველი ჯგუფის ცხოველებისაგან განსხვავებით, ამ ჯგუფის ცხოველებს აღენიშნებოდათ რბილი ქსოვილების მზარდი ინფილტრაცია 10 დღის განმავლობაში.

ამ ჯგუფის 30 საცდელი ცხოველიდან 2-ს განუვითარდა ქვედა ყბის რბილი ქსოვილების ფლეგმონოზური ანთება, რომელიც ვრცელდებოდა კანზეც. დანარჩენ 28 ცხოველში ანთების ნიშნები ნელ-ნელა მცირდებოდა და სრულიად ქრებოდა ოპერაციიდან მე-15 დღისთვის. ლორწოვანზე ჭრილობის არეში აღინიშნებოდა უხეში და ვარდისფერი ნაწიბური. ამ ჯგუფის ყველა ცხოველში შეხორცებით პროცესს თან ახლდა რბილი ქსოვილების მკვეთრად გამოხატული ქრონიკული ანთება, მაკროფაგალური გრანულომების

განვითარებით. (BIO – OSS) -ის ტრანსპლანტაციიდან ერთი თვის შემდეგ ძვლოვანი დეფექტის ღრუ ამოვსებული იყო წვრილი ძვლოვანი ფრაგმენტების ნეკროტიზებული მასებით, (BIO – OSS) -ის მატრიქსის ბოჭკოებით და ანთებითი უჯრედებით. ძვლოვანი დეფექტის კიდეებზე აღინიშნებოდა მწვავე ანთება, ნეიტროფილური ინფილტრაცია, ძვლოვანი ქსოვილის ნეკროზი და ოსტეოლიზისი. (BIO – OSS)-ის მატრიქსის ბოჭკოების რაოდენობა თანდათან კლებულობდა, მაგრამ მათი ვიზუალიზაცია შესაძლებელი იყო დაკვირვებიდან მე-60 დღეს. (BIO–OSS)-ის ტრანსპლანტაციიდან ორი თვის შემდეგ დეფექტის კიდე მთლიანად შემოფარგლული იყო ინტენსიურად ვასკულარიზირებული გრანულაციური ქსოვილით. ამასთან ერთად რიგ ადგილებში გრანულაციური ქსოვილი ინფილტრირებული იყო მაკროფაგებით, ნეიტრო–ფილებითა და ლიმფოციტებით. დეფექტის ღრუს ღრმა შრეში აღინიშნებოდა ენდოოსტალური ოსტეოგენეზის აქტივაციის ნიშნები, რაც გამოიხატებოდა ოსტეობლასტების პროლიფე–რაციით. დეფექტის შიგნითა ზედაპირიდან იწყებოდა უმწიფარი ოსტეოგენური ფაშარბოჭკოვანი ფიბროზული ქსოვილის ფორმირება, რომელიც ვრცელდებოდა დეფექტის მთელს პერიმეტრზე.

ქვედა ყბის მხრიდან აღინიშნებოდა პრიმიტიული ძვლოვანი ქსოვილის ჩაზრდა. ფაშარბოჭკოვანი შემაერთებელი ქსოვილი დეფექტის კიდეებთან ინფილტრირებული იყო ლიმფოციტებით, მაკროფაგებით და ერთეული ნეიტრო–ფილებით, უფრო ღრმად კი გადადიოდა მომწიფებულ ფიბროზულ ქსოვილში.

(BIO–OSS)-ის ტრანსპლანტაციიდან სამი თვის შემდეგ აღინიშნებოდა დემარკაციული კაფსულის ინტენსიური

ინფილტრაცია. ზოგიერთ უბანში მაკროფაგების გროვები ქმნიდნენ ერთეული გიგანტური მრავალბირთვიანი უჯრედების შემცველ გრანულომებს. ყოველივე ეს მიანიშნებდა ორგანიზმის პასუხს (BIO – OSS) - ის ხანგძლივად დეგრადირებადი ნაწილაკების მიმართ. შემაერთებელი ქსოვილის ანთებითი ინფილტრაციის გამო, ოსტეოგენეზის პროცესის მიმდინარეობას გააჩნდა არაერთგვაროვანი ხასიათი.

ოპერაციიდან 4 თვის შემდეგ (BIO–OSS)-ისა და რბილი ქსოვილების ურთერთშეხების უბანი დაფარული იყო ანთებითი გრანულაციური ქსოვილით. გრანულაციური ქსოვილის ფორებში ვიზუალიზირდებოდა ფიბრობლასტების დიდი რაოდენობა. (BIO–OSS)-ის პერიფერიაზე, რბილ ქსოვილებთან ახლოს ვიზუალიზირდებოდა გიგანტური უჯრედები. (BIO – OSS)-ის ცენტრალურ ნაწილში აღინიშნებოდა ფიბრინის გროვები და ერითროციტები და შემაერთებელ–ქსოვილოვანი უჯრედები. ოპერაციიდან 6 თვის შემდეგ სახეზე იყო გიგანტური უჯრედების რაოდენობის მკვეთრი მატება. შემაერთებელი ქსოვილის ჩანაცვლებითი პროცესი იწყებოდა პერიფერიიდან და თანდათანობით გადადიოდა (BIO –OSS)-ის ცენტრალურ ნაწილზე.

ძვლოვანი ქსოვილის დეფექტი კვლავ შენარჩუნებული იყო, მაგრამ აღინიშნებოდა მისი დიამეტრის შემცირება ახალგაზრდა ძვლოვანი ქსოვილის ფორმირების ხარჯზე რომელიც სარტყლისებურად მიემართებოდა დეფექტის კიდის პერიმეტრზე. ოპერციიდან მე-6 თვეს რენტგენოლოგიურმა კვლევებმა გამოავლინა დეფექტის არასწორი კონტურები და პერიფოკალური ანთება. ძვლოვანი ქსოვილი არის ჰომოგენური და გამკვრივებული, ისახება დაცხრილული სურათი. ძვლოვანი ქსოვილის დეფექტის ზომები საგრძნობლად შემცირებული,

მისი ღრუ კი ამოვსებული რენტგენოლოგიურად ძვლოვან ქსოვილზე ნაკლებად მკვრივი ქსოვილით.

თავი 3. მესამე ჯგუფში ჩატარებული კვლევებით დადგინდა, რომ ოპერაციული ჭრილობის არეში პირის ღრუს ლორწოვანზე (BIO - OSS) - ისა და ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების კომპოზიტის ტრანსპლანტაციის შემდეგ პირველ დღეს აღინიშნებოდა პოსტოპერაციული შეშუპების, ჰიპერემიისა და რბილი ქსოვილების ინფილტრაციის ნიშნები, I და II სერიის ცხოველების მსგავსად.

წინა სერიების ცხოველებისაგან განსხვავებით, ამ სერიის ცხოველებში რბილი ქსოვილების ინფილტრაციას ადგილი ჰქონდა მხოლოდ პირველი 5 დღის განმავლობაში. ანთების ნიშნები ნელ-ნელა მცირდებოდა და სრულიად ქრებოდა ოპერაციიდან მე-10 დღისათვის. ამ ჯგუფის არცერთ ცხოველში არ განვითარებულა ქვედა ყბის რბილი ქსოვილების ფლეგმონა. ლორწოვანის დანაწიბურება დასრულებული იყო მე-17 დღისათვის. თვით ნაწიბური იყო ნაზი და ვარდისფერი.

დეფექტის კიდე მთელს პერიმეტრზე შემოფარგლული იყო ინტენსიურად ვასკულარიზირებული გრანულაციური ქსოვილით. ძვლოვანი დეფექტის (BIO – OSS) - ისა და ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების კომპოზიტით ამოვსების შემდეგ აღინიშნებოდა დეფექტის კიდის ერთეული უბნების ინფილ–ტრაცია მაკროფაგებით, ლიმფოციტებითა და ნეიტროფი–ლებით. მე-20 დღისათვის ძვლოვანი დეფექტის შიგნითა ზედაპირიდან იწყებოდა უმწიფარი ოსტეოგენური ფაშარბო–ჭკოვანი ფიბროზული ქსოვილის ფორმირება, რომელიც ვრცელდებოდა დეფექტის მთელს პერიმეტრზე. ქვედა ყბის მხრიდან აღინიშნებოდა პრიმიტიული ძვლოვანი ქსოვილის ჩაზრდა. ფაშარბოჭკოვანი შემაერთებელი ქსოვილი დეფექტის

კიდეებთან ინფილტრირებული იყო, უფრო ღრმად კი გადადიოდა მომწიფებულ ფიბროზულ ქსოვილში. ამავე ვადებში შესაძლებელი იყო კუბური ოსტეობლასტოცისტების ახალი ძვლოვანი ქსოვილის ფორმირების ვიზუალიზაცია. ტრანსპლანტაციიდან ერთი თვის შემდეგ ძვლოვანი ღრუ ამოვსებული იყო წვრილი ძვლოვანი ფრაგმენტების ნეკროტიზებული მასებით, (BIO – OSS) -ის ნაწილაკებით და ანთებითი უჯრედებით.

ოპერაციიდან 60-ე დღეს იმპლანტის ზედაპირის ზოგიერთი უბანი დაფარული იყო ახლადგანვითარებული ძვლოვანი ქსოვილით. შესაძლებელი იყო ასევე ბაზოფილური შრის ვიზუალიზირება (BIO – OSS) - ის ზედაპირზე. (BIO – OSS) -ის პერიფერიაზე, რბილ ქსოვილებთან ახლოს ვიზუალი–ზირდებოდა გიგანტური უჯრედები. (BIO–OSS) -ის ცენტრალურ ნაწილში აღინიშნებოდა ფიბრინის გროვები და ერითრო–ციტები, ასევე შემაერთებელქსოვილოვანი უჯრედების მცირე რაოდენობა.

ოპერაციიდან მე-3 თვეს სახეზე იყო გიგანტური უჯრედების რაოდენობის მკვეთრი მატება. შემაერთებელი ქსოვილის ჩანაცვლებითი პროცესი იწყებოდა პერიფერიიდან და თანდათანობით გადადიოდა (BIO–OSS) -ის ცენტრალურ ნაწილზე . უკანასკნელის ზომები საგრძნობლად შემცირებით. იმპლანტაციიდან 120-ე დღეს ვიზუალიზირდებოდა ძვლოვანი ქსოვილის ფირფიტები, რომელიც შეიცავდა ძვლის ტვინს. ყოველივე ზემოთაღნიშნული მიუთითებს ახლადწარმოქმნილი ქსოვილის რეკონსტრუქციაზე. ოპერაციიდან 120-ე დღეს იმპლანტის მნიშვნელოვანი ნაწილი ჩანაცვლებული იყო ძვლოვანი ქსოვილით.

ოპერციიდან 4 თვის შემდეგ რენტგენოლოგიურმა კვლევებმა გამოავლინა დეფექტის სრული აღდგენა ახლად წარმოქმნილი ძვლოვანი ქსოვილით, რომელიც არის ჰომოგენური და გამკვრივებული.

თავი 4. ძვლოვანი დეფექტის რეკონტრუქციის შედეგები (BIO-OSS) -სა და C57BL/6-GFP ხაზის თაგვებიდან მიღებული ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების გამოყენებით, ჩვენს განსაკუთრებულ ინტერესს წარმოადგენდა ქვედა ყბის ძვლოვან დეფექტში იმპლანტირებული ძვლოვანი მინერალის კომბინაცია C57BL/6-GFP თაგვებიდან მიღებული ძვლის ტვინის ღეროვან უჯრედებთან. კვლევებით დადგინდა დონორული უჯრედების პერიოსტალური, ენდოოსტალური და სტრომული ლოკალიზაცია. ტრანსპლანტაციიდან მე-18 დღეს ძვლოვან დეფექტში აღმოჩენილი იქნა დადებითი ოსტეოციტები. ამავე ვადებში ძვლოვანი დეფექტის კიდეების გასწვრივ ვიზუა–ლიზირდებოდა მწვანე ფლუორესცენტული პროტეინის მასინთეზირებელი სხვადასხვა ფორმისა და ექსცენტრულად განლაგებული ბირთვის მქონე უჯრედები. მორფო-ტოპოგრაფიული მახასიათებლების შესაბამისად ისინი ჩვენს მიერ იქნა იდენტიფიცირებული,როგორც პროტეობლასტები და ოსტეობლასტები. უდავოა, რომ აღნიშნული უჯრედები ღებულობდნენ უშუალო მონაწილეობას რეპარაციული ოსტეოჰისტოსინთეზის პროცესში. ტრანსპლანტაციიდან ოთხი თვის შემდეგ აღინიშნებოდა ერთიანი ძვლოვანი კორძის ჩამოყალიბება. სახეზე იყო ასევე ჰიალინური ხრტილოვანი ქსოვილის ფორმირებაც. რეგენერატის ტრაბეკულებს გააჩნდათ ოსტეოქონდროგენული შენება, რომელშიც აქტიურად ერთვებოდნენ ე.წ. “მწვანე უჯრედები”.

ამგვარად, ტრანსპლანტირებული ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების მიერ ხორციელდებოდა ძვლოვანი დეფექტის კოლონიზაცია და რეციპიენტის კამბიუმის ელემენტების შევსება. გარდა ამისა, აღნიშნული უჯრედები პროგრესულად დიფერენცირდებოდნენ ძვლოვანი მატრიქსის პროდუცენტ უჯრედბად. ჩვენს მიერ წარმოებულმა კვლევამ ცხადყო, რომ სწორედ ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედები განიცდიდნენ პროლიფერაციასა და დიფერენცირებას. ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების პოლიპოტენტურობის ხარჯზე, მიკროგარემოს პირობებთან შესაბამისობაში აღნიშნულ უჯრედებს შეუძლიათ დიფერენცირდნენ ოსტეოგენური მიმართულებით. ამგვარად ზემოთაღნიშნულიდან გამომდი–ნარე შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ (BIO – OSS) -ისა და ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების კომპოზიტის გამოყენება ხელს უწყობს ძვლოვან კორძში ძვლის ტვინის სწრაფ ფორმირებას.

ჩატარებული გამოკვლევის შედეგების ანალიზმა აჩვენა, რომ როგორც საკონტროლო, ისე ძირითადი ჯგუფის ცხოველებში ძვლოვანი ქსოვილის რეპარაციული რეგენერაცია მიმდინარეობს პერიოსტალური და ინტერმედიალური რეგენერატის წარმოქმნით. ამავე დროს, ძვლოვანი დეფექტის კონსოლიდაცია 3 ჯგუფში უფრო სწრაფად მიდის, ვიდრე საკონტროლო ჯგუფში. აღნიშნული განპირობებულია იმით, რომ ამ ჯგუფებში ადრეულ პოსტტრავმულ ცვლილებების ფაზაში, ნაკლებად გამოხატულია ანთებითი რეაქცია, რაც ღეროვანი უჯრედების მიერ ანთებითი რეაქციის ინჰიბირების ხარჯზე ხორციელდება. ამავე დროს, რეგენერაციის ფაზაში, ღეროვანი უჯრედების დიფერენცირების ხარჯზე ხდება ძვლოვანი ქსოვილის კამბიალური უჯრედების ინტენსიური

პროლიფერაცია და მათი ოსტეობლასტებად სწრაფი დიფერენციაცია.

რეგენერაციული პროცესების და რეგენერატის შემდგომი ფუნქციონალური ადაპტაციის დაჩქარებაში არსებით როლს თამაშობს (BIO–OSS)-ი რომლის სტრუქტურა ასრულებენ მატრიქსის როლს ახალი ძვლოვანი ქსოვილის წარმოქმნაში. გარდა ამისა, (BIO–OSS)–ის არაორგანულ ძვლოვან მატრიქსს გააჩნია მაკრო და მიკრო ფოროვანი სტრუქტურა, რაც ანალოგიურია ადამიანის ღრუბლოვანი ძვლის მინერალური სტრუქტურის. ტრანსპლანტაციიდან მე-2 თვეს იწყება (BIO–OSS)–ის ნაწილობრივი რემოდელირება ოსტეოკლასტებითა და ოსტეობლასტებით.

ამგვარად, ჩვენი გამოკვლევების შედეგები მიუთითებენ იმაზე, რომ ძვლოვანი დეფექტების აღდგენის დროს ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების გამოყენება, რომელიც ხასიათდება ოსტეოინდუქციური, ოსტეოკონდუქციური და ოსტეოინტეგრაციული თვისებებით, ხელს უწყობენ ქვედა ყბის ძვლის აღდგენის პროცესის დაჩქარებას.

მიღებული შედეგების განხილვა

როგორც უკვე ავღნიშნეთ, სხვადასხვა ეტიოლოგიის ყბა-სახის დეფექტების აღდგენა, თანმხლები ანატომიური, ფუნქციური, კოსმეტიკური და მძიმე ფსიქიკური დარღვე–ვებით, თანამედროვე მედიცინის ერთ-ერთი აქტუალური საკითხია. ქვედა ყბის ძვლოვანი და რბილი ქსოვილების დეფექტის განვითარების უხშირეს მიზეზს, ტრავმული დაზიანებები და სისმსივნეების ამოკვეთა წარმოადგენს.

ქვედა ყბის დეფექტების კლინიკური სურათი დამოკიდებულია მის ლოკალიზაციაზე, ფართობზე, მონატეხ ფრაგმენტებს შორის ნაწიბუროვანი კონტრაქტურის

არსებობაზე, ძვლის მონატეხ ფრაგმენტზე კბილების არსებობაზე და მიმდებარე უბნების კანის საფარველის დაზიანების ხარისხზე. ატროფიის, ტრავმის, სიმსივნის, თანდაყოლილი დეფორმაციების, პაროდონტის დაავადებებისა და ყბის პარანევრალური კისტების მიზეზით განვითარებული ყბა-სახის დეფექტების ქირურგიული მკურნალობის ეფექტურობა დამოკიდებულია ძვლოვანი ქსოვილის რეგენერაციის უნარზე, რომელიც ხშირად ინფიცირებული ჭრილობის პირობებში, მიკროცირკულაციის დარღვევისა და ქსოვილების ჰიპოქსიის ფონზე მიმდინარეობს. გამოყოფენ ძვლოვანი პლასტიკის ხუთ ძირითად მიმართულებას: აუტოპლასტიკა, ალოპლასტიკა, ქსენოპლასტიკა, იმპლანტაცია და კომბინირებული ტრანსპლანების გამოყენება.

ყბის ალვეოლარული ქედის მნიშვნელოვანი ატროფიის დროს შეუძლებელია ინტრაოსტალური იმპლანტაციის შესრულება, გარდა ამისა ძალზედ გართულებულია ორთო–პედიული მკურნალობა მოსახსნელი და ფიქსირებული პროთეზების გამოყენებით. ძვლოვანი ქსოვილის პროგრესი–რებადი ატროფიით გამოწვეული ალვეოლური ქედის მოცულობის შემცირება, ძვალშიდა იმპლანტაციის გამოყენების შესაძლებლობას ამცირებს, ქვედა ყბის ნერვის დაზიანების მაღალი რისკის, პირის ღრუს პერფორაციისა და ზედა ყბის სინუსის ლორწოვანის გაგლეჯვის გამო.

ალვეოლური ქედის (ძვლის სიმაღლის) აღდგენა შესაძლებელია ისეთი მეთოდების გამოყენებით, როგორც არის სინუსლიფტინგი, პლასტიკა აუტოძვლით, ალვეოლარული მორჩის დისტრაქციული ოსტეოგენეზი და ა.შ. ალვეოლური ქედის აღდგენის დროს გათვალისწინებული უნდა იყოს დეფექტის ტოპოგრაფიული თავისებურებები.

(Bio-Oss) –ის არაორგანულ ძვლოვან მატრიქსს გააჩნია მაკრო ან მიკრო ფოროვანი სტრუქტურა, რაც ანალოგიურია ადამიანის ღრუბლოვანი ძვლის მინერალური სტრუქტურის. ახლად წარმოქმნილი ძვლის ქსოვილის, გადანერგილ მიდამოში (იმპლანტირების ადგილას), წარმოქმნა და ჩაზრდა სტიმულირდება ერთმანეთთან დაკავშირებული ფოროვანი სტრუქტურული მოცულობისა და მინერალების ბუნებრივი შემადგენლობის მეშვეობით. დროთა განმავლობაში ხდება (Bio-Oss) –ის ნაწილობრივი რემოდელირება ოსტეოკლასტებითა და ოსტეობლასტებით (ფიზიოლოგიური რემოდელირება). თავისი თვისებების გამო, ძვლოვანი დეფექტების აღდგენის სფეროში, (Bio-Oss) წარმოადგენს აუტოლოგური ძვლის გადანერგვის კონკურენტუნარიან ანალოგს. აუტოლოგიური ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების დამატებამ ძვლოვან მინერალზე, საშუ–ალება მოგვცა დაგვეჩქარებინა ძვლის რეგენერაციის პროცესი. ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედები მათი პოლიპო–ტენტურობის ხარჯზე განიცდიდნენ პროლიეფრაციასა და დიფერენცირებას. მიკროგარემოს პირობებთნ შესაბამისობაში აღნიშნული უჯრედები დიფერენცირდნენ ოსტეოგენური მიმართულებით.

ჩატარებულმა კვლევებმა ასევე გვიჩვენა, რომ ძვლოვანი მინერალის (BIO-OSS) ტრანსპლანტაციის მეორე თვიდან იწყება მისი ნაწილობრივი რემოდელირება ოსტეოკლასტებითა და ოსტეობლასტებით.

აღსანიშნავია , რომ ქვედა ყბის დეფექტის რეპარაციული რეგენერაცია მიმდინარეობს დესმოგენური ოსტეოგენური გზით, რომელსაც თან ახლავს ქრონიკული პროდუქციული ანთება. ეს უკანასკნელი იწვევს ოსტეოგენეზისა და ოსტეოლიზისის პროცესების პარალელურ ინიცირებას,

რომლის თანაფარდობაც განსაზღვრავს ძვლოვანი ქსოვილის რეგენერაციის სისწრაფესა და ხარისხს. გარდა ოსტეოგენური დიფერენცირებისა ძვლოვან უჯრედებს ახასითებთ ანთების საწინააღმდეგო მოქმედება, რაც შესაბამისად ამცირებს მეორად ოსტეოლიზისს.

აღნიშნულიდან გამომდინარე შეიძლება დავასკვნათ, რომ ძვლოვანი მინერალის (BIO-OSS) და ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების კომპოზიტის გამოყენება ძვლოვანი დეფექტების რეკონსტრუქციაში ხელს უწყობს ძვლოვან კორძში ძვლის ტვინის სწრაფ ფორმირებას.

ჩატარებული კვლევის შედეგების ანალიზმა აჩვენა, რომ საკვლევი უჯრედების მსგავსად საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებშიც ძვლოვანი ქსოვილის რეპარაციული რეგენე–რაცია მიმდინარეობს პერიოსტალური და ინტერმედიალური რეგენერატის წარმოქმნით. ძვლოვანი დეფექტის კონსო–ლიდაცია ძირითად ჯგუფში უფრო სწრაფად მიმდინარეობდა, ვიდრე საკონტროლო ჯგუფში, აღნიშნული განპირობებულია იმით, რომ ძირითადი ჯგუფის ცხოველებში ადრეულ პოსტტრავმული ცვლილებების ფაზაში პრაქტიკულად არ არის ანთებითი რეაქცია, რაც ღეროვანი უჯრედების მიერ ანთებითი რეაქციის ინჰიბირების ხარჯზე ხორციელდება.

რეგენერაციული პროცესების და რეგენერატის შემდგომი ფუნქციონალური ადაპტაციის დაჩქარებაში არსებით როლს თამაშობს (BIO-OSS)-ი, რომლის გრანულები ასრულებენ მატრიქსის როლს ახალი ქსოვილის წარმოქმნაში და მართავენ მის ზრდას. ამავე დროს რეგენერაციული პროცესები საშულებას იძლევა ამ უკანასკნელის მექანიკური თვისებების გაზრდაში. ამგვარად ჩვენი გამოკვლევის შედეგები მიუთითებენ, რომ ძვლოვანი დეფექტების აღდგენის დროს

ძვლოვან მინერალთან ერთად ძვლის ღეროვანი უჯრედების გამოყენება ხასიათდება ოსტეოინდუქციური, ოსტეოკონ–დუ–ქციური და ოსტეოინტეგრაციის თვისებებით,რომელიც ხელს უწყობს ქვედა ყბის ძვლის აღდგენითი პროცესის დაჩქარებას.

დასკვნა

ქვედა ყბის ძვლის დეფექტის რეკონსტრუქციამ კვლევით ექსპერიმენტში (ცხოველებზე) დაადასტურა ძვლოვანი მინერალ (BIO-OSS) და აუტოლოგიური ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების ბიოშეთავსებადობის, ოსტეოკონ–დუციის, ოსტეოინდუქციის და ოსტეოინტეგრაციის უნარი.

ძვლოვანი მინერალის (BIO-OSS) და აუტოლოგიური ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების კომპოზიტს გააჩნია ფოროვანი სტრუქტურა, ახალი ძვლის ფორმირების ტემპის შესაბამისი რეზორბციის სიჩქარე, ნატურალური ძვლის მსგავსი მექანიკური რეზისტენტობა და სტაბილურობა.

პრაქტიკული რეკომენდაცია

ძვლოვანი მინერალის (BIO-OSS) და ავტოლოგიური ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების კომპოზიტი შესაძლებელია გამოყენებული იქნას ძვლოვანი დეფექტების შესავსებად და ძვლის აუგმენტაციისათვის შემდეგ შემთხვევებში: ალვეოლური მორჩის აუგმენტაცია/რე–კონსტრუქცია; კბილბუდის შევსება კბილის ექსტრაქციის შემდგომ. ასევე შესაძლებელია გამოყენებულ იქნას იმპლანტოლოგიაში: იმპლანტის ჩასანერგად მონაკვეთის მომზადებისათვის, ძვლის ნაპრალების შესავსებად და სინუს ლიფტინგის დროს; პაროდონტოლოგიაში: ძვლოვანი

დეფექტების შევსებისათვის; ყბა–სახის ქირურგიაში: ძვლოვანი დეფექტების რეკონსტრუქციისათვის და ორთოპედიაში დიდი ზომის ძვლოვანი დეფექტების აღსადგენად.

საერთაშორისო ჟურნალებში გამოქვეყნებული შრომები:

1. Mardaleishvili, K., Kakabadze, Z., Machavariani, A., Grdzelidze, T., Kakabadze, A., Sukhitashvili, N., Kurashvili, T., Shonia, N., Menabde, G., Abiatari, I."Benign osteoblastoma of the mandible in a 12-year-old female: A case report". Oncology Letters 8.6 (2014): 2691-2694. https://doi.org/10.3892/ol.2014.2593
2. Karalashvili L, Chichua N, Menabde G, Atskvereli L, Grdzelidze T (2017) Decellularized Bovine Bone Graft for Zygomatic Bone Reconstruction. Med Case Rep Vol.4 No.1:52. https://doi.org/10.21767/2471-8041.100087
3. Use of osteoplastic material to guide bone tissue regeneration deffect. Machavariani A, Mazmishvili K, Grdzelidze T, Menabde G, Amiranashvili I. Georgian Med News. 2011 Dec; (201):70-73. http://www.geomednews.org/shared/issues/med227.pdf
4. Restoration of jaw bone tissue defect using osteoplastic material. Grdzelidze T, Machavariani A, Menabde G, Gvelesiani N, Amiranashvili I. Georgian Med News. 2014 Feb;(227):89-92. http://www.geomednews.org/shared/issues/med227.pdf
5. THE GUIDED REGENERATION OF JAW BONE DEFECTS WITH COMBINATION OF OSTEOPLASTIC MATERIALS AND STEM CELLS Machavariani A; Menabde G; Zurmukhtashvili M; Georgian Med News.2019 June; (291).

Ivane Javakhishvili Tbilisi State University

Faculty of Medicine

Doctoral Program

Clinical and Translational Medicine

Avtandil Machavariani

The use of combination of stem cells and osteoplastic materials for maxillofacial traumatic injuries

Scientific Head: Giorgi Menabde

MD PhD, Professor

A u t o r e f e r a t

Thesis submitted to defend academic degree of Doctor of Philosophy in Medicine

Tbilisi

2019

Background

At present, maxillofacial traumas are 93.3% of total injuries (M.Singaram at all 2016). Plastic of lower jaw defects is one of the actual issues of maxillofacial reconstructive surgery. Effectiveness of treatment is determined by bone defect size and also by reparational regenerative processes in bone, that often occur in infected areas, with tissue hypoxia and microcirculation disturbances going on in the background. In addition, the jaw bone has a very low regenerative ability, because of the low quantity of the hematopoietic bone marrow stem cells inside the bone. Therefore, even partial restoration of bone tissue is a very difficult and challenging goal.

Nowadays, many auto, allo, xeno, synthetic and biosynthetic bone transplants exist to restore the maxillofacial bone defects. The use of autologous bone transplants in maxillofacial surgery is regarded as gold standard, as they have osteogenic, osteoinductve and osteoconductive properties. However, the main negative aspect of autologous bone transplants is the necessity of additional surgical operation on the donor site. It has a rapid resorption ability. Allogenic and xenogeneic bone transplants are the alternative to auto-bone transplants. Allogenic transplants have osteoinductive and osteoconductive properties, however, the risk of transferring various infections increases in case of their use. As for the xenogenic transplants they have quite high risk of transmitting zoonotic infections and the likelihood of developing immune response. Alloplastic transplants (polymers, biochemistry, bioactive glass and other) are also used for restoration of maxillofacial bone defects. The main advantages of these transplants and their positive benefits is

biocompatibility and bio resorption, although they have weak osteoconductive ability, low mechanical resistance and stability.

Ideal transplant must meet the following criteria: a) It must complete the damaged bone tissue and prevent increase bone defect size (osteoinductive function); B) material should not be characterized by such shortcomings as the complex process of production, low degree of degradation and anti-inflammatory action. The use of materials should not cause such complications as prolongation of bone healing, supuration and rejection of implanted materials. Implanted material should promote the formation of osteocytes and biointergration. In addition, implant should have satisfactory biocompatibility and rapid resorption ability. All of the above requirements are completely satisfied by the composition of bone mineral (Bio-Oss®, Geistlich) and autologous bone marrow derived stem cells. Bio-Oss is a natural bone mineral obtained from bovine bone tissues. It is a mineral of high purity with osteoconductive structure, that is obtained from a natural bone with multi-stage purifying process. Since Bio-Oss is of a natural origin, it is chemically and structurally compatible with human mineralized bone (nanocrystal line structure of natural apatite).

The goal and objectives of the research

To create Bio-OSS and autologous bone marrow stem cells composite and to use it for restoration of lower jaw defect in experiments on animals.

To reach this goal, we set the following tasks:

- Modeling of low jaw bone defect in experimental animals;
- To receive the bone marrow stem cells and place them on the surface of the bone mineral;
- Restoration of lower jaw defects with bone mineral;

- Restoration of lower jaw defects with bone mineral and autologous bone marrow derived stem cells composite;

- To determine the effectiveness of the composition of bone mineral (BIO-OSS) with autologous bone marrow derived stem cells in reconstruction of lower jaw bone defects, using morphological, histological and radiography evaluation methods.

Scientific novelty of the Work

- For the first time a bioactive bone graft was created, which is composed of bone mineral (BIO-OSS) and autologous bone marrow stem cells.

- It has been found that bone mineral (BIO-OSS) and autologous bone marrow stem cells composite has osteogenic, osteoinductive and osteoconductive properties, which promote rapid osteointegration.

- Composite of bone marrow (BIO-OSS) and autologous bone marrow stem cells can be effectively used in maxillofacial reconstructive surgery.

Practical values of work

Composite of bone mineral (BIO-OSS) and autologous bone marrow stem cells can be used to fill bone defects for bone augmentation in the following cases: augmentation / reconstruction of alveolar ridge; Filling the socket after the tooth extraction. It can also be used in implantology: preparation of the implant bed, to fill the bone fragments and for sinus lifting; In periodontology: filling bone defects; Maxillofacial surgery: reconstruction of bone defects and restoration of large bone defects in orthopedics.

Key statements to defend:

- Composition of bone mineral (BIO-OSS) and autologous bone marrow stem cells has osteogenic, osteoinductive and osteoconductive properties, which promote rapid osteointegration.

- BIO-OSS and bone marrow stem cells composition can be effectively used in implantology, periodontology, maxillofacial surgery and orthopedics, to restore bone defects of various sizes.

- BIO-OSS and stem cells composite is a competitive analog of autologous bone grafts.

Research methodology

Materials and methods

For experiments were used 100 white laboratory rats of both sexes with body mass between 200 and 250 g. Animals were provided from Tbilisi State Medical University Vivarium. Also, 10 laboratory brown syngenic mice of both sexes, 6 months old C57BL / 6 line, body weight of 23-25 gr was used. 30 transgenic C57BL / 6-GFP mice with body weight of 20-25 gr were used to obtain bone marrow stem cells.

The use of C57BL / 6-GFP line mice was due to the presence of green fluorescence protein that allowed us to identify the transplanted bone marrow stem cells on the surface of the BIO-OSS and to demonstrate their differentiation.

The C57BL / 6 and C57BL / 6-GFP mice were obtained from the Jackson Lab (JAX-MICE, USA).

Experiments on animals were carried out by the Protocol approved by the Animal Protection Committee. Surgical manipulations were carried out under general anesthesia (intraperitoneal injection of sodium etaminal, 0.5 mL / kg) and in full compliance with all rules of aseptic and antiseptic.

All animals (other than the C57BL / 6-GFP line, which are donors) have a lower jaw bone defect and animals are divided into II series:

I series animals (white laboratory rats) were divided into III groups:

I Group animals (n = 30) were represented by the control group and were under observation without treatment;

II Group animals (n = 30) After lower jaw defects were created, they were reconstructed using bone-mineral (BIO-OSS);

III) After the creation of the lower jaw defects of the group animals (n = 30), defect was reconstructed by the composite from bone mineral (BIO-OSS) and bone marrow derived stem cells;

The remaining 10 white laboratory rats were used as donors for bone marrow cells.

II Series animals were divided into two groups. The first group of animals (n = 30) were represented by the C57BL / 6-GFP line mice and were used as donors for bone marrow stem cells. In the second group of animals (n = 10) representing the C57BL / 6 line mice defects were modeled in the lower jaw and were remodelled with the composit of bone mineral (BIO-OSS) and stem cells derived from C57BL / 6-GFP line mice.

Stem cells were made in sterile conditions in laminar flow cabinet. The lethal dose of anesthetics was administrated in animals of this group. As soon as animal stopped breathing, alcohol was applied on the whole body of animal and amputation of the back extremities was done. Mesenchymal stem cells were isolated from the femoral and tibial bone marrow of C57BL/6-GFP mice (n=30) with body mass 20-25gr. After removing muscular tissues, bone marrow was flushed out with 37^0C 5% FBS-IMDM solution with 5 ml syringe. After aspiration bone marrow was dissociated by mean of multiple aspiration-

inspiration procedure with 18G needle. Received cell mass was centrifuged for 10 minutes 300g speed. After cells were resuspended in buffer for red cell lysis and incubated for 9 minutes. Then cells were recentrifuged and finally resuspended in 5% FBS-IMDM solution.

The cells were divided into two parts. The first part was used to define stem cell viabilty with Trypan-Blue. By calculating in the Neubauer camera under an inverted microscope, we determined the cell expenditure. While the second part of the stem cells was placed on BIO-OSS-bone mineral, the number of cells was 2,5 X 106.

In animals of all group, under general anesthesia animal was placed and fixed on surgical board, hair cover was removed and skin was treated with alcohol. 1.5-2 cm long incision was made along the lower edge of mandible. M. Masseter was separated in a blunt manner and the body of mandible was uncovered. With dental bur with controlled certain rotation speed we created rounded cavity with 2mm diameter, which was not connected to oral cavity

Selection of the area is determined by the significant strength of the lower jaw bones and its surface area, as well as the fact that approach is easier and the experimental animal cannot remove the suture by itself.

The bone defect created in the first group of animals in the first series remained without treatment, because this was the control group.

In the second group of animals the defect is filled with BIO-OSS bone mineral. And in the third group defect was filled with the composit of BIO-OSS bone mineral and autologous bone marrow derived stem cells. The reconstruction of the lower jaw defects created by us in the second series was made with composite from BIO-OSS bone mineral and bone marrow stem cells derived from C57BL / 6-GFP line mice. wound was sutured in layers tightly with sterile vicryl sutures, the wound was treated in aseptic manner with 5%

iodine solution. The experimental animals were under surveillance in vivarium with standard diet and life conditions. Animals were sacrificed on 1st., 3rd. 6th, 14th, 20th,25th, 30th, 40th, 50th, 60th, 90th, 120th, 150th and 180th days after surgery.

The object of postoperative research was the lower jaw bonne tissues with artificially created defect. The lower jaw bone fragments were preserved in 4% formaldehyde (pH 7.4) for 24 hours, after skin and muscles were removed and bone was demineralized for 24 hours. After decalcified bone was dehydrated and embedded in Paraffin. 5-7 μm thick paraffin-embedded tissue sections were used for morphological evaluation. For tissue morphological assay Hematoxylin-Eosin staining was utilized. Samples were investigated under light microscope and also fluorocence microscope was used. In all groups bone defect regeneration was monitored with radiographic examinations and Cone-beam computed tomography with Vatech device.

Results

Control group

In the first group in first days after postoperative edema of the wound, hyperemia and soft tissue infiltration. On the third day after surgery, direct tissue damage resulted in a strong inflammatory response. The reduction of inflammatory reaction and damaged tissue repair was initiated on 7th day of operation. In one animal phlegmon was developed in the tissues around the wound. On the 14th day after surgery, in the rest of the animals scars have been developed on the alveolar mucosa. In the same time the cavity of defect contained necrotic masses, bone fragments and acute inflammatory cells. The bone margin of defect was partially demarcated with vascularized connective tissue. On 16th day in the deep layers of bone defect wall, in the bone tissues has been observed moderate activation of endooesseus osteogenesis. The dimensions of

bone defect on the 20th day were reduced due to formation of young bone tissue. On the 30th day after surgery on the periphery of the defect was observed the formation of the immature osteogenic fibrous tissue with ingrowth of the primitive bone tissues from the lower jaw. Connective tissue edges were moderately infiltrated with lymphocytes, macrophages and neutrophils, and more deep layers were presented with mature fibrous tissues. On the edges of the defect formation of bone tissue was accompanied by secondary osteolysis developed in response to inflammation in the bone trauma and regeneration zone. They were presented by remodeling of jaw bone tissue, accompanied by osteolisys and osteosynthesis.

On 90th day defect was demarcated with osteogenic tissues with active process of osteogenesis, high quantity of yang osseous laminas and wide zone of new formed bone was observed.

In the same time the zonal formation of bone tissue was expressed. The youngest structures were located superficially, while the mature ones were located in the deeper layers. The process of bone tissue formation was completed at the 6th month after surgery: the defect cavity is filled with bone tissues.

Six-month X-ray studies revealed the non-clear defect contours and perifocal inflammation. Bone tissues were non homogeneous with cancellous structure. Dimensions of bone defect were decreased and the defect cavity was filled with the tissues whose density was less than the density of adjacent healthy bone. All of these above indicate the immaturity of bone regeneration and its insufficient mineralization. The first diagram is the process of regeneration of the lower jaw defect in the dynamics of animals in the control group.

Thus, we can conclude that the reparative regeneration of posttraumatic defects of bone tissue in this group is in the form of appositionally, directly from the edges of the defect in the form of

desmogenic osteogenesis. On the 60th day, at the edges of defect immature bone is observed, which indicates the lower speed of reparational regeneration of the lower jaw bone. Reparational regeneration of lower jaw bone defects is occurring together with posttraumatic chronic inflammation, the expression and magnitude of which determine the synchronization ratio of osteoreparation and secondary osteolysis, which in turn determines the speed and degree of regeneration of bone defects.

In the second group of animals, in the first three days after transplantation of BIO - OSS was observed postoperative edema of the wound, hyperemia and signs of soft tissue infiltration. In contrast to the first group of animals, animals of this group had a deep infiltration of soft tissue within 10 days.

2 of these 30 species of animals developed the phlegmonic inflammation of the soft tissues that was spread on the skin. In the remaining 28 animals signs of the inflammation slowly decreased and completely faded on 15 days after surgery. The mucous membrane of the wound was marked with a rough and pink scar. All the animals in this group were accompanied by the sharp inflammation of soft tissue with the development of macrophylic granulomas. After a month of BIO-OSS transplantation, the defect cavity was filled with necrotized mass of thin bone fragments, with matrix foils of BIO - OSS and inflammatory cells. Acute inflammation, neutrophilic infiltration, necrosis of bone tissue and osteolysis was observed on the edges of bone defect. The number of BIO-OSS matrix fibers was gradually decreased, but their visualization was still possible on the 60th day of observation. After two months of BIO-OSS transplantation, the defect is completely covered with intensively vascularized granulation tissue. In addition, granulated tissue with

infiltrated with macrophages, neutrophil and lymphocytes in a number of areas. The deep layer of defect was marked with signs of activation of endosostal osteogenesis, which was expressed by proliferation of osteoblasts. From the inner surface of the defect the formation of a thin osteogenic pneumoneic fibrous tissue spread over the perimeter of the defect.

The lower jaw was marked by primitive bone tissue. Connective tissue at the defect edges was infiltrated with lymphocytes, macrophages, and neutrophils.

Three months after the BIO-OSS transplantation, intensive infiltration of demarcation capsule was observed. In some areas macrophages formed granulomas, containing giant multinuclear cells. All this indicated the host response to the long-lasting degradation of BIO - OSS. Due to inflammatory infiltration of connective tissue, the osteogenesis process has a different character.

After four months of operation, the BIO-OSS and soft tissue border area was covered with inflammatory granulation tissue. The large number of fibroblasts was visualized in the pores of granular tissue. On the periphery of the BIO-OSS, giant cells were visualized near the soft tissues. In the central part of the BIO - OSS, fibrin grafts and erythrocytes and connective tissue cells were observed. After six months of operation, there was a sharp increase in the number of giant cells. The replacement process started from the periphery and was gradually moved to the central part of the BIO - OSS.

Bone tissue defect was still observed, but its diameter reduction was due to the formation of young bone tissue which was marginally presented on the perimeter of the defect. Seventh-month X-ray studies after surgery revealed the non-clear contours of the defect and peripheral inflammation. Bone tissue is homogeneous and

dull, with cancellous picture. Bone tissue defect dimensions are significantly reduced and its hollow is filled with less dense bone tissues on the X-ray.

e On the first day after transplantation of (BIO - OSS) and bone marrow stem cells composite, studies have shown signs of inflammation of postoperative edema, hyperemia and soft tissue, like in I and II series animals.

Unlike the previous series of animals, the signs of infections of soft tissues in the series had only occurred in the first 5 days. The signs of inflammation slowly decreased and completely faded on the 10th day after surgery. No animal of this group has developed phlegmon of the soft tissues. The scaring process of mucous membrane was completed on the 17th day. The scars were soft and pink.

The defect was circumferenced with extensively vascularized granulation tissues. After Bio-OSS and stem cells composite transplantation, defect margins in some areas were infiltrated with macrophages, lymphocytes and neutrophils. On the 20th day, the formation of the osteogenic fibrous tissues originated from the inner surface of the bone defect and was spread in the perimeter of the defect. The lower jaw was marked by primitive bone tissue. The connective tissue was infiltrated at the edges of the defect. In the same time it was possible to visualize the formation of new bone tissue of the cribriform osteoblasts. A month after transplantation, the bone hollow was filled with necrotized masses of bone fragments, (BIO - OSS) particles and inflammatory cells.

On the 60th day of operation, some parts of the implant surface were covered with a newly developed bone. It was also possible to visualize the basophylic layer on the surface of the «BIO -

OSS». On the periphery of the BIO - OSS, giant cells were visualized near the soft tissues. In the central part of the BIO-OSS, fibrin clusters and erythrocytes and small amounts of tissue cells were observed.

In the 3rd month of operation, there was a sharp increase in the number of giant cells. The tissue replacement process started from the periphery and was gradually transmitted to the central part of the BIO-OSS. The dimensions of the latter are significantly reduced. On the 120th day of implantation, bone tissue plates were observed, which contained the bone marrow. All above mentioned indicate reconstruction of newly formed tissues. A substantial part of the implant was substituted with bone on the 120th day of operation.

Four months after the surgery, X-ray studies have shown complete recovery of defects with newly formed bone, which is homogeneous and dense. The third diagram shows the process of regeneration of lower jaw defects in dynamics - using BIO-OSS and bone marrow stem cells composite.

Our special interest was the combination of implanted bone mineral in the lower jaw defects with the bone marrow cells from the C57BL / 6-GFP mice. Studies have established the periostal, endostal and stromal localization of donor cells. On the 18th day of transplantation, positive osteocytes were detected in bone defects. In the same terms along the edges of bone defects, the cells with various forms of green fluorescence protein. According to morpho-topographical characteristics, we have identified them as proteoblasts and osteoblasts. There is no doubt that these cells took direct part in the reparative osteohistosynthesis. After four months of transplantation, the formation of a single bone colony was observed. There was also a formation of hyaline cartilage tissue. The regenerate

trabeculae had osteo-chondrogenic build, in which were actively involve so-called "Green cells".

Thus, the transplanted bone marrow stem cells produced colonization of bone defects and replenish the recipient's cambium elements. In addition, these cells were progressively differentiated into the product line of bone matrix. Our research has shown that bone marrow stem cells are proliferation and differentiation. At the expense of bone marrow stem cells polyobacteria, cells that are in line with the conditions of the microorganisms can be differentiated in osteogenic direction. Depending on the above mentioned, we can conclude that the use of BIO-OSS and bone marrow stem cells compounds promotes rapid bone formation in the bone marrow.

Analysis of the results of the study has shown, that reparational regeneration of bone tissue in basic group animals and as well as in control group is characterized by formation of periostal and intermedial regenerat. At the same time, consolidation of bone defects in 3rd group is much faster than in the control group. This is due to the fact that in these early posttraumatic changes in these groups, the inflammatory reaction is less pronounced. This is due to the fact that early posttraumatic changes in the primary group of animals are not inflammatory reactions, because they are inhibited by stem cells. At the same time, in the phase of regeneration, differentiation of stem cells causes intensive proliferation of bone tissue cambial cells and their differentiation into osteoblasts.

The BIO-OSS has a substantial role in accelerating the regenerative processes and regenerate's functional adaptation. Its structure acts as matrix in the formation of new bone tissue. In addition, the BIO-OSS's inorganic bone matrix has a macro and micro-porous structure similar to that of a human bone mineral

structure. The second month of transplantation begins with partial remodeling of BIO-OSS with osteoclasts and osteoblasts.

Thus, the findings of our research indicate that the use of bone marrow stem cells, which are characterized by osteoinductive, osteoconductive and osteointergrative properties can help in accelerating the consolidation process of lower jaw bone fragments.

Discussion

As already noted, the restoration of the maxillofacial bone defects of different etiology, accompanied by anatomical, functional, cosmetic and severe mental disorders, is one of the most important issue of modern medicine. The most common reasons for development of the lower jaw bone and soft tissue defects are traumatic injuries and the surgical removal of neoplasia.

The clinical presentation of the lower jaw defects depends on its localization, area, scar contracture between fractured fragments, the presence of teeth on the fractured bone fragment and the damage degree of surrounding skin areas. Effectiveness of surgical treatment of maxillofacial defects caused by atrophy, trauma, tumor, congenital deformities, periodontal diseases and perineural jaw cysts depends on the ability of bone regeneration. There are five main directions of bone plastic: autoplasty, alloplasty, xenoplasty, implantation and combined transplants.

In case of significant atrophy of the jaw alveolar ridge, it is impossible to perform an intraosseous implantation, and it is very difficult to perform prosthetic work with removable and fixed prostheses. Reduction of the alveolar ridge caused by progressive atrophy of bone tissue reduces the possibility of intraosseous implantation due to high risk of lower jaw injuries, oral perforation and maxillary sinus membrane perforation.

Alveolar ridge can be augmented using various methods such as sinus lifting, osteoplasty with autologous bone graft, distractive osteogenesis of alveolar ridge, etc. In the restoration of the alveolar ridge, the topographic characteristics of defect should be considered.

Bio-Oss is a natural bone mineral obtained from bovine bone tissues. It is a mineral of high purity with osteo-conductive structure that is obtained from a natural bone with multi-stage purifying process. Since BIO-OSS is of a natural origin, it is chemically and structurally compatible with the mineralized human bone (nanocrystalline structure of natural apatite).

Bio-Oss's inorganic bone matrix has a macro or micro-porous structure similar to that of a mineral structure of human cancellous bone. Formation and ingrowth of new bone tissue in the area of transplantation (implantation) is stimulated by the natural composition of porous structural volumes and minerals. Over time the partial remodeling of Bio-Oss is performed by osteoclasts and osteoblasts (physiological remodeling). Bio-Oss is a competitive analog of autologous bone transplantation in the field of bone defects regeneration due to its properties. Adding the bone marrow stem cells to the bone mineral, allowed us to speed up the bone regeneration process. Bone marrow stem cells were undergoing proliferation and differentiation due to their pluripotency. In accordance of microenvironment conditions these cells were differentiated in osteogenic direction.

Conducted studies have also shown, that from the second month after transplantation of bone mineral (Bio-Oss), its partial remodeling with osteoclasts and osteoblasts begins.

It is noteworthy, that the reparative regeneration of lower jaw defects is running in a desmogenic osteogenic way, accompanied by

chronic productive inflammation. The latter initiates the parallel processes of osteogenesis and osteolysis, whose ratio determines the speed and quality of bone tissue regeneration. Besides osteogenic differentiation bone cells are characterized by anti-inflammatory action which reduces secondary osteolysis.

Depending on this, we can conclude that, the use of bone mineral (BIO-OSS) and bone marrow stem cells composite in the reconstruction of bone defects promotes rapid formation of the bone marrow in the bone.

Analysis of the results showed, that reparational regeneration of bone tissue in the control group of animals, like study cells, run with the formation of periostal and intermedial regenerate. Consolidation of bone defects in the main group is much faster than in the control group, which is due to the fact that early posttraumatic changes in the primary group of animals are not inflammatory reactions, because they are inhibited by stem cells.

BIO-OSS plays a crucial role in acceleration of regenerative processes and consequent adaptation of regenerate, whose granules play the role of matrix in the formation of new tissue and run its growth. At the same time, increase in regeneration increases the mechanical properties of the latter. Thus the results of our study suggest, that the use of bone marrow stem cells, which have osteoinductive, osteoconductive and osteointegration properties, together with bone mineral in the recovery of bone defects facilitates acceleration of the consolidation process of fractured fragments of lower jaw.

Conclusion

The composite of bone mineral (BIO-OSS) and autologous bone marrow derived stem cells has osteogenic, osteoinductive and

osteoconductive properties, which promote rapid osteointegration. It can be effectively used in implantology, periodontology, maxillo-facial surgery and in orthopedics to restore bone defects. Composite of bone mineral (BIO-OSS) and autologous bone marrow derived stem cells is a competitive analog of autologous bone grafts.

Practical recommendation

Composite of bone mineral (BIO-OSS) and autologous bone marrow derived stem cells can be used to fill bone defects and for bone augmentation in the following cases: augmentation / reconstruction of alveolar ridge. Filling the socket after the tooth extraction. It can also be used in implantology: preparation of the implant bed, to fill the bone fragments and for sinus lifting; In periodontology: filling bone defects; Maxillofacial surgery: reconstruction of bone defects and restoration of large bone defects in orthopedics.

1. Mardaleishvili, K., Kakabadze, Z., Machavariani, A., Grdzelidze, T., Kakabadze, A., Sukhitashvili, N., Kurashvili, T., Shonia, N., Menabde, G., Abiatari, I."Benign osteoblastoma of the mandible in a 12-year-old female: A case report". Oncology Letters 8.6 (2014): 2691-2694. https://doi.org/10.3892/ol.2014.2593
2. Karalashvili L, Chichua N, Menabde G, Atskvereli L, Grdzelidze T (2017) Decellularized Bovine Bone Graft for Zygomatic Bone Reconstruction. Med Case Rep Vol.4 No.1:52. https://doi.org/10.21767/2471-8041.100087
3. Use of osteoplastic material to guide bone tissue regeneration deffect. Machavariani A, Mazmishvili K, Grdzelidze T, Menabde G, Amiranashvili I. Georgian Med News. 2011 Dec; (201):70-73. http://www.geomednews.org/shared/issues/med227.pdf
4. Restoration of jaw bone tissue defect using osteoplastic material. Grdzelidze T, Machavariani A, Menabde G, Gvelesiani N, Amiranashvili I. Georgian Med News. 2014 Feb;(227):89-92. http://www.geomednews.org/shared/issues/med227.pdf
5. THE GUIDED REGENERATION OF JAW BONE DEFECTS WITH COMBINATION OF OSTEOPLASTIC MATERIALS AND STEM CELLS Machavariani A; Menabde G; Zurmukhtashvili M; Georgian Med News.2019 June; (291).