

ივ. ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი
მედიცინის ფაკულტეტი

კლინიკური და ტრანსლაციური მედიცინის სადოქტორო პროგრამა

ლია ყარალაშვილი

**ღრძილის რეცესიის აღდგენა ძვლის ტვინის ღეროვანი
უჯრედებისა და ადამიანის ამნიონისაგან მიღებული
დეცელულარიზირებული მემბრანის გამოყენებით**

„მედიცინის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად
წარმოდგენილი დისერტაცია“

სამეცნიერო ხელმძღვანელი:
ქეთევან კილურაძე- გოგილაშვილი
მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი, პროფესორი
ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის
სახელმწიფო უნივერსიტეტის თერაპიული
სტომატოლოგიის კათედრის გამგე

თბილისი

2020 წელი

აბსტრაქტი

შესავალი: ღრძილის რეცესიით მსოფლიოს მოსახლეობის 50%-დან 90%-მდე არის დაავადებული. დღესდღეობით იგი სტომატოლოგებისათვის მნიშვნელოვან პრობლემას წარმოადგენს, რადგან ამ დროს ხდება ღრძილის მარგინალური კიდის გადანაცვლება გარდამავალი ნაოჭისაკენ, რის გამოც კბილის ფესვი შიშვლდება. ღრძილის რეცესიის სამკურნალოდ მოწოდებულია სხვადასხვა კონსერვატიული და ქირურგიული მეთოდები. კონსერვატიული მკურნალობა სრულად არ აკმაყოფილებს კლინიკისტების მოთხოვნებს, ხოლო ქირურგიული მეთოდებიდან ძირითადად გამოიყენება ქსოვილის თავისუფალი ან ფეხიანი ნაფლეთის ტრანსპლანტაცია. დადებითი შედეგის მიუხედავად მკურნალობის ზემოთ ხსენებულ მეთოდებს აქვს უარყოფითი მხარეები: დამატებით დონორი მიდამოს არსებობა და ღრძილის რეცესიის გენერალიზებული ფორმის დროს გადასანერგი ქსოვილების არასაკმარისი რაოდენობა. ასევე მნიშვნელოვნად იზრდება გართულებების რისკი და პოსტოპერაციული ტკივილი. აღნიშნული უარყოფითი მხარეების გამო მუდმივად მიმდინარეობს ღრძილის რეცესიის სამკურნალოდ ახალი, უფრო დახვეწილი მეთოდების შემუშავება.

ამ კვლევის მიზანია, ღრძილის რეცესიის სამკურნალოდ შევქმნათ, ახალი ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანა, რომელიც წარმოადგენს ადამიანის დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანისა და ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების კომპოზიტს.

მასალა და მეთოდები: ამნიონური მემბრანის მისაღებად გამოვიყენეთ სამი სრულვადიანი პლაცენტა. პლაცენტის მიღებისთანავე მოხდა მისი პირველადი დამუშავება გამდინარე ონკანის წყლით. ამის შემდეგ პლაცენტა მოთავსდა სპეციალურ ბიქსში და გადაიგზავნა კვლევით ლაბორატორიაში, სადაც პლაცენტის ქორიონული ზედაპირიდან 10 სანტიმეტრზე მოიკვეთა ჭიპლარი და ჭიპლარის ორივე არტერიაში შეყვანილ იქნა პოლიეთილენის კათეტერები, რომლებიც დაფიქსირდა აბრეშუმის ორი ლიგატურით. ანალოგიურად მოხდა

ჭიპლარის ვენის კათეტერიზაცია. პლაცენტის დეცელულარიზაცია მიმდინარეობდა 72 საათის განმავლობაში, რომლის დროსაც გამოვიყენეთ სხვადასხვა პროცენტულობის ნატრიუმის დოდეცილ სულფატის (SDS - SIGMA) ხსნარი, 1%-იანი ტრიტონ X 100 (SIGMA) და ფოსფატ ბუფერის ხსნარი (PBS - SIGMA). პლაცენტის დეცელულარიზაციის დასრულების შემდეგ მოხდა ამნიონური მემბრანის გამოცალკეება და დაჭრა 3x4 სმ ზომის ფირფიტებად. მიღებული მემბრანის ფირფიტები მოვათავსეთ ლიოფილიზაციის აპარატში “Power Dry PL 6000 Freeze Dryers” (Heto Labware). ლიოფილიზაციის შემდეგ მემბრანები მოთავსდა სტერილულ შეფუთვაში, მოხდა მათი მარკირება და შეინახა გამოყენებამდე. ძვლის ტვინის მეზენქიმური ღეროვანი ჯრედების მისაღებად გამოვიყენეთ სიმკვრივის გრადიენტული მეთოდი Ficol-ის გამოყენებით. მიღებული უჯრედების კულტივირება მოვახდინეთ ადამიანის დეცელულარიზირებულ ამნიონურ მემბრანაზე CO₂ ინკუბატორში. შემდეგ კვლავ ჩაუტარდათ ლიოფილიზაცია და შეიფუთა სტერილურად გამოყენებამდე.

ღრძილის რეცესიის მოდელის პირობებში, ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანის ეფექტურობის დასადგენად გამოვიყენეთ 50 Lewis-ის ხაზის ინბრედული თეთრი ლაბორატორიული ვირთაგვა, 8-10 კვირის ასაკის და 200-250გრ მასით. ცხოველები დაიყო 5 ექვივალენტურ ჯგუფად, თითო ჯგუფში 10 ცხოველი. თითოეულ ცხოველს მკურნალობის დაწყებამდე შეექმნათ ღრძილის რეცესიის ლიგატურული მოდელი. ოპერაციის შემდეგ ყველა ცხოველი მოთავსებული იქნა ვივარიუმის სტანდარტულ პირობებში და ცდიდან გამოგვყავდა 1, 3, 5, 7, 14, 18, 25, 30, 60, 90, 120 დღის შემდეგ.

ადამიანის ამნიონური მემბრანა შეწავლილ იქნა მორფოლოგიური მეთოდების გაოყენებით, როგორც ტრანსპლანტაციამდე ასევე ტრანსპლანტაციის შემდგომ.

შედეგები: მორფოლოგიურმა და სკანირებადმა მიკროსკოპიულმა კვლევის მეთოდებმა დაადასტურეს, რომ დეცელულარიზაციის შემდეგ ამნიონურ მემბრანაში არ აღინიშნება უჯრედები და წარმოდგენილია ფოროვანი

სტრუქტურით. აღსანიშნავია, რომ დეცელულარიზირებული ამნიონური მარტიქსი ინარჩუნებს თავის სტრუქტურას რეჰიდრატაციის შემდეგაც. ჩატარებულმა გენის ექსპრესიის ანალიზმა გვიჩვენა, რომ დეცელულარიზაციის შემდეგ ამნიონურ მემბრანაში შენარჩუნებულია ისეთი ზრდის ფაქტორები როგორც არის BMP7, BMP8a, EGF, და VEGF. ღრძილის რეცესიის მკურნალობისას იმ ჯგუფის ცხოველებში, რომელშიც გამოყენებული იყო ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანა მნიშვნელოვნად დაჩქარდა რეცესიული უბნის სრულფასოვანი აღდგენა. რეცესიული უბნის სრულფასოვანი რეგენერაცია განპირობებული იყო ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანის შემადგენლობით. დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის ზემოთხსენებული თვისებების გარდა მას დაემატა ღეროვანი უჯრედებისათვის დამახასიათებელი აქტივობა. ამან განაპირობა ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანის გამოყენების დროს რეცესიულ უბანში ეპითელიზაციის ადრეული დაწყება და შემცირებული პერიოდი სრულ რეგენერაციამდე.

დასკვნა: ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანა, არის უსაფრთხო, პირის ღრუს ქსოვილებთან ბიოშეთავსებადი და აკმაყოფილებს იდიალური კოლაგენური მემბრანისათვის წაყენებულ მოთხოვნებს. იგი შეიძლება ეფექტურად იყოს გამოყენებული ღრძილის რეცესიის მკურნალობისათვის.

Abstract

Intraduction: About 50% to 90% of the world population is affected by the gingival recession. Currently, it is one of the most important challenges of the dentistry since the marginal edge of the gum shifts to the mucogingival junction which exposes the tooth root. The treatment methods include various conservative and surgical methods. Conservative treatment does not fully meet the clinician's requirements, and the most commonly used surgical methods are when they transplant free tissue flaps or the ones with a vascular pedicle. Despite the positive results, the above mentioned methods of treatment have disadvantages: additional donor site, and in the cases of generalized gingival recession, an insufficient amount of tissues required for transplantation. At the same time, the risk of complications and postoperative pain increases considerably. Because of these negative effects, a constant development of new and more refined methods of treatment takes place.

The objective of this study is to develop a new biologically active membrane, created by the composite of decellularized human amniotic membrane and bone marrow stem cells, for the treatment of gingival recession.

Materials and methods: Three mature placentas were used for acquiring the amniotic membrane. Upon the acquisition of the placenta, it was initially processed with the tap water flow. Afterwards, the placenta was placed in a special sterilizing drum and sent to the research laboratory where the umbilical cord was cut off 10 cm from the chorionic surface of the placenta, and polyethylene catheters were introduced in both arteries of the umbilical cord, and fixated with two silk ligatures. The catheterization of the vein of the umbilical cord was similar. The process of decellularization of placenta was performed for 72 hours, when different percentages of sodium dodecyl sulfate (SDS, SIGMA) solution, 1% Triton X100 (SIGMA) and phosphate buffered saline (PBS, SIGMA) were used. After the decellularization, the amniotic membrane was separated and cut into 3x4 cm plates. The acquired plates were placed in the lyophilization device "Power Dry PL

6000 Freeze Dryers” (Heto Labware). Following the lyophilization, the membranes were placed in sterile packs, which were labeled and stored until use. In order to acquire bone marrow mesenchymal stem cells, density gradient method using Ficol was utilized. The acquired cells were cultivated on the surface of the decellularized human amniotic membrane in a CO₂ incubator. Afterwards, it was lyophilized and packed in sterile conditions and stored until its use.

In order to determine the efficiency of the biologically active membrane, the gingival recession model was created in 50 Lewis inbred white laboratory rats, aged 8-10 weeks and weighing 200-250 gr. The animals were divided in 5 equivalent groups of 10 animals in each group. Before the beginning of the treatment, the gingival recession ligature model was created in all animals. Following the surgery, all animals were placed in standard vivarium conditions and were euthanized on 1st, 3rd, 5th, 7th, 14th, 18th, 25th, 30th, 60th, 90th, and 120th days.

The human amniotic membrane was studied using morphological methods both before and after the transplantation.

Results: Morphological and scanning electron microscopy studies have confirmed that following the decellularization, no cells are present in the amniotic membrane and it is represented with porous structure. It is noteworthy, that the decellularized amniotic matrix maintains its structure even after the rehydration. The gene expression analysis has shown that after the decellularization the growth factors such as BMP7, BMP8a, EGF and VEGF are preserved in the amniotic membrane. The full and accelerated recovery of the recessive site was present in the group of animals where the biologically active membrane was used. The complete regeneration of the recessive site was caused by the composition of the biologically active membrane. Besides the above mentioned features of the decellularized amniotic membrane, the activities typical for the stem cells were also added to it. This ensured early epithelization and the decrease of time for achieving complete regeneration in the recessive site when using the biologically active membrane.

Conclusion: Biologically active membrane is safe, biocompatible with the oral cavity tissues, and meets the requirements for an ideal collagen membrane. It can be effectively used for the treatment of gingival recession.

სარჩევი

აბსტრაქტი.....	II
Abstract.....	V
სარჩევი	VIII
ცხრილების, გრაფიკებისა და სხვა ილუსტრაციების ჩამონათვალი.....	XI
თავი 2 ძირითადი ნაწილი	14
2.1 შესავალი	14
2.2 სამეცნიერო ლიტერატურის მიმოხილვა	20
2.2.1 ღრძილის რეცესია. დეფინიცია, ეტიოპათოგენეზი და კლინიკური გამოვლინება.....	20
2.2.2. ღრძილის რეცესიის კლასიფიკაცია.....	20
2.2.3 ღრძილის რეცესიის ეტიოლოგია და პათოგენეზი.....	23
2.2.4 ღრძილის რეცესიის კლინიკა და მკურნალობის თანამედროვე მეთოდები.....	24
2.2.5 რეგენერაციის სტიმულირების აგენტების, ზრდის ფაქტორების გამოყენება ღრძილის რეცესიის მკურნალობისათვის.....	28
2.2.6 ღეროვანი უჯრედების როლი ღრძილის რეცესიის რეგენერაციაში.....	33
2.2.7 ქსოვილების მიზანმიმართული რეგენერაციის ტექნიკა და ბარიერული მემბრანების გამოყენება ღრძილის რეცესიის სამკურნალოდ.....	39
თავი 2.3 კვლევის მეთოდოლოგია, მეთოდიკა, მეთოდები.....	46
2. 3.1 ადამიანის დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანისაგან სამგანზომილებიანი მატრიქსის შექმნის მეთოდი.....	46
2.3.2 ადამიანის დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის ბიოშეთავსებადობის განსაზღვრა.....	48
2. 3. 3 ძვლის ტვინიდან ღეროვანი უჯრედების მიღებისა და ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანის შექმნის მეთოდი.....	49

2.3.4. ადამიანის დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის დნმ-ის განსაზღვრა	51
2.3.5 ბიოლოგიურდ აქტიური მემბრანის გენების ექსპრესიის ანალიზი.....	51
2.3.6 ადამიანის დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის სკანირებული ელექტრო მიკროსკოპია (SEM) და მიკრორეტგენოსპექტრალური ანალიზი.....	51
2. 3. 7 ვირთაგვის პირის ღრუს ანატომიური თავისებურებების შესწავლა.....	52
2.3.8 სისხლძარღვების ტრანსილუმინაციის ტექნიკა.....	52
2.3.9 დეცელულარიზირებული ძვლოვანი გრაფტი Geo-Oss-გან ძვლოვანი ფხვნილის მიღების მეთოდი	53
2. 3. 10 ღრძილის რეცესიის მოდელირება.....	54
2.3.11. მკურნალობის შემდგომ ღრძილის რეცესიის სიმალლის ცვლილების პროცესის მატემატიკური ემპერიული მოდელი.....	57
2. 3. 12 ჰისტოლოგიური და იმუნოჰისტოქიმიური კვლევის მეთოდები.....	57
2.3.13 რენტგენოლოგიური კვლევა.....	58
თავი 2.4 კვლევის შედეგები	59
2.4.1 ნატიური და დეცელულარიზირებული ადამიანის ამნიონური მემბრანის სტრუქტურული და მორფოლოგიური თავისებურებანი.....	59
2.4.2 ანატომიური კვლევის შედეგები.....	64
2.4.3 ღრძილის რეცესიის ლიგატურული მოდელის ანალიზი.....	66
2.4. 4 ღრძილის რეცესიის მკურნალობის შედეგები.....	70
თავი 2.5 კვლევის შედეგების ანალიზი.....	80
თავი 2.6. დასკვნები და პრაქტიკული რეკომენდაციები.....	86

2.6.1. დასკვნები.....	86
2.6.2. პრაქტიკული რეკომენდაციები.....	87
თავი 3. დასკვნითი ნაწილი.....	88
3.1 ბიბლიოგრაფია	88
3.2 პუბლიკაციების ჩამონათვალი.....	95

ცხრილების, გრაფიკებისა და სხვა ილუსტრაციების ჩამონათვალი

ცხრილი 1. ოპერაციული ჩარევის სახეები, საცდელი ცხოველების ჯგუფები და რაოდენობა.....	56
გრაფიკი 1. რეცესიული უბნის რეგენერაცია დინამიკაში	76
სურათი 1. ჰემატოპოეტური ღეროვანი უჯრედები	34
სურათი 2. მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედები.....	35
სურათი 3. ადამიანის პლაცენტის დეცელულარიზაციის პროცესი.....	47
სურათი 4. დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის ლიოფილიზაცია.....	47
სურათი 5. ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების იზოლაცია და დასმა დეცელულარიზირებულ ამნიონურ მემბრანაზე.....	50
სურათი 6. Geo-Oss-ის ძვლოვანი გრაფტისგან მიღებული ძვლის ფხვნილი....	53
სურათი 7. ღრძილის რეცესიის მოდელირება.....	55
სურათი 8. სქემა. ადამიანის ნატიური ამნიონური მემბრანის სტრუქტურა.....	59
სურათი 9. ადამიანის ამნიონური მემბრანა დეცელულარიზაციამდე და დეცელულარიზაციის შემდეგ.	61
სურათი 10. ამნიონური მემბრანის გენის ექსპრესიის ანალიზი.....	61
სურათი. 11. ნატიური ამნიონური მემბრანის ენერგოდისპერსიული მიკრორენტგენული სპექტრი.	62

სურათი 12. ნაჩვენებია დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის ენერგოდისპერსიული მიკრორენტგენული სპექტრი.....	63
სურათი 13. დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის ენერგოდისპერსიული მიკრორენტგენული სპექტრი სრულყოფილი გამორეცხვის შემდეგ.....	63
სურათი 14. ვირთაგვის თავისა და კისრის სისხლძარღვების ანატომიური თავისებურებანი.....	65
სურათი 15. ღრძილის სტრუქტურული აგებულება	66
სურათი. 16 ლიგირებიდან მე-3 დღე. ღრძილის შეშუპება და ჰიპერემია.....	67
სურათი 17. ტრანსილუმინაცია.....	67
სურათი. 18 რეცესიული უბნის მკვეთრად გამოხატული ლეიკოციტური ინფილტრაცია.....	67
სურათი. 19. ლიგირებიდან მე-7 დღე. ღრძილის რეცესია.	68
სურათი. 20. რენტგენოგრაფია. კბილთაშორისი ძგიდის მწვერვალის განლევა.....	68
სურათი 21. ლიგირებიდან 14 დღის შემდეგ ჩამოყალიბებული რეცესია, რომელიც ვრცელდება მუკოგინგივალურ შეერთებამდე.....	69
სურათი. 22. რენტგენოგრაფია. კბილთაშორისი ძგიდისა და ალვეოლური მორჩის განლევა კბილის ფესვის მწვერვალის დონეზე.....	69
სურათი 23. კბილთაშორისი ძვლოვანი ძგიდის განლევა.....	69

სურათი 24. ლიგირების შემდგომი პროცესი საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში.....	70
სურათი 25. პირველი და მეორე მოლარის დონეზე კორტიკალური ძვლის დაზიანება	71
სურათი 26. საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში კორტიკალური ძვლის დაზიანება.....	71
სურათი 27. მეორე ჯგუფის ცხოველები. რეცესიული უბანი დაფარულია ადამიანის დეცელულრიზირებული ამნიონური მემბრანით.....	72
სურათი.28 მემბრანის გარშემო აღინიშნება მრავლობითი სხვადასხვა დიამეტრის სისხლძარღვები.	73
სურათი 29. რბილი ქსოვილების დეფექტი ამოფენილი იყო ერთგვაროვანი ტიპის ეპითელური უჯრედებით.	73
სურათი 30. სრულად აღდგენილი ღრძილის ლორწოვანი.....	73
სურათი 31. მეოთხე ჯგუფის ცხოველები. რეცესიული უბანი დაფარული ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანით.	74
სურათი 32. ღრძილის რეცესიის მკურნალობა ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანით.....	75
სურათი 33. რეცესიული უბნის მიკროცირკულატორული დარღვევა.....	76

სურათი 34 . ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანა. დეცელულარიზირებულ და რეჰიდრირებულ ამნიონურ მემბრანაზე დასმული ღერვანი უჯრედები..	77
სურათი 35. მეხუთე ჯგუფის ცხოველები. ახლად წარმოქმნილი ძვლოვანი ქსოვილი.	78
სურათი 36. რონტგენოგრამა. ახლად წარმოქმნილი ძვალი პირველი და მეორე მოლარს შორის.	79
სურათი 37. სრულად აღდგენილი ძვლოვანი დეფექტი.	79
სურათი 38. პირველ და მეორე მლარებს შორის აღდგენილი ალვეოლური ძვლის კორტიკალური ფირფიტა და კბილთაშორისი ძგიდე.	79

თავი 2. ძირითადი ნაწილი

2.1 შესავალი

პრობლემის აქტუალობა

ღრძილის რეცესიით მსოფლიოს მოსახლეობის 50%-დან 90%-მდე არის დაავადებული. დღესდღეობით იგი სტომატოლოგებისათვის მნიშვნელოვან პრობლემას წარმოადგენს, რადგან ამ დროს ხდება ღრძილის მარგინალური კიდის გადანაცვლება გარდამავალი ნაოჭისაკენ, რის გამოც კბილის ფესვი შიშვლდება. პაციენტებს უჩნდებათ ესთეტიური დისკომფორტი, კბილის ფესვის კარიესი, ჰიპერმგრძნობელობა და აბრაზიები.

ღრძილის რეცესიის სამკურნალოდ მოწოდებულია სხვადასხვა კონსერვატიული და ქირურგიული მეთოდები. კონსერვატიული მკურნალობა სრულად არ აკმაყოფილებს კლინიკისტების მოთხოვნებს, ხოლო ქირურგიული მეთოდებიდან ძირითადად გამოიყენება ქსოვილის თავისუფალი ან ფეხიანი ნაფლეთის ტრანსპლანტაცია, რომლის მიზანიც არის გაშიშვლებული კბილის ფესვის რბილი ქსოვილით დაფარვა და მიმაგრებული ღრძილის ადეკვატური ზომის შექმნა. ქირურგიული ტექნიკის შერჩევა დამოკიდებულია დეფექტის ზომაზე, ესთეტიკურობაზე, ქსოვილის საბოლოო ფერსა და დონორი ქსოვილების შეთავსებადობაზე ტრანსპლანტირებულ მიდამოში. დონორ მიდამოდ უზშირესად გამოიყენება სასა. დადებითი შედეგის მიუხედავად მკურნალობის ზემოთ ხსენებულ მეთოდებს აქვს უარყოფითი მხარეები: დამატებით დონორი მიდამოს არსებობა და ღრძილის რეცესიის გენერალიზებული ფორმის დროს გადასანერგი ქსოვილების არასაკმარისი რაოდენობა. ასევე მნიშვნელოვნად იზრდება გართულებების რისკი და პოსტოპერაციული ტკივილი.

იმისათვის, რომ მოხდეს უჯრედების მაღალი პროლიფერაციული აქტივობა აუცილებელ პირობას წარმოადგენს დეფექტის ზონაში შენარჩუნებული ცოცხალი სტრუქტურების არსებობა და მათი ადეკვატური სისხლმომარაგება. ანთებით-დესტრუქციულ პირობებში, როდესაც ქსოვილების 50% მეტი არის დაკარგული რეგენერაციის დამთრგუნველ ფაქტორს წარმოადგენს ჰემოტაქსიური აგენტებისა

და ზრდის ფაქტორების არასაკმარისი ლოკალური კონცენტრაცია და იმ უჯრედების დეფიციტი, რომელთაც შეუძლიათ რეგენერაციის წარმოება. ყველაზე რთულ პრობლემას წარმოადგენს ზრდის ფაქტორების მიტანა დეფექტის ზონაში ვინაიდან მათ გააჩნიათ მოკლე ნახევარდაშლის პერიოდი. დეფექტში ზრდის ფაქტორების შეტანისას პროტეოლიტური ფერმენტების ზემოქმედებით რამდენიმე საათში ხდება მათი დაშლა, როდესაც თერაპიული ეფექტის მისაღწევად საჭიროა რამდენიმე დღე.

აგრეთვე, აქტუალურ პრობლემას წარმოადგენს დაზიანებულ მიდამოში ზრდის ფაქტორების გადამზიდის შექმნა, რომელიც გაუმკლავდება პროტეოლიტურ ფერმენტების ზემოქმედებას და საშუალებას მისცემს ზრდის ფაქტორებს ხელი შეუწყონ რეგენერაციულ პროცესებს.

დღეისათვის, რეგენერაციის სტიმულირებისათვის უპირატესობა ჰპოვა ღეროვანი უჯრედების გამოყენებამ. ბოლო წლებში ბიოინჟინერიის განვითარებამ სტომატოლოგიაში, კერძოდ პაროდონტის ქსოვილების რეგენერაციაში მნიშვნელოვანი როლი ითამაშა. განსაკუთრებით აღსანიშნავია ქსოვილების მიზანმიმართული რეგენერაციის (GTR) მეთოდი და ბარიერული მემბრანების გამოყენება. შეიძლება ითქვას, რომ ქსოვილების მიზანმიმართული რეგენერაციის მეთოდის გამოყენებაში Tinti et al პიონერები იყვნენ (Tinti et al. 1992). მათ ქსოვილების მიზანმიმართული რეგენერაციის მეთოდის გამოყენებით დაფარეს კბილის გაშიშვლებული ფესვის ზედაპირი და შექმნეს ახალი შემაერთებელქსოვილობანი მიმაგრება. მკვლევრთა გარკვეული ნაწილი კი რეკომენდაციას უწევს ქსოვილების მიზანმიმართული რეგენერაციის ტექნიკის გამოყენებით განხორციელდეს პაროდონტის დაზიანებული ქსოვილების ერთდროული მკურნალობა. ამ ტექნიკის მთავარი დადებითი მახასიათებელი არის ესთეტიურობა, მაღალი პოტენციალი პაროდონტის ქსოვილების დარღვეული მიმაგრების სრულყოფილი რეგენერაციისა. გაშიშვლებული ფესვის დაფარვის მიზნით შემოთავაზებულია სხვადასხვა სახის რეზორბირებადი და არარეზორბირებადი მემბრანები. ყველაზე ხელსაყრელი შედეგები მიღებულ იქნა

ბიორეზორბირებადი მემბრანების გამოყენებით. მემბრანები, რომლებიც შესაძლოა გამოყენებულ იქნას პირის ღრუს ქირურგიაში უნდა აკმაყოფილებდნენ გარკვეულ მოთხოვნებს. პირველ რიგში უნდა იყოს უსაფრთხო და ბიოშეთავსებადი, შექმნას სივრცე, ჰქონდეს მექანიკური სიმტკიცე და სტაბილურობა. არარეზორბირებადი ბარიერული მემბრანების გამოყენებისას საჭირო ხდება მეორე ქირურგიული ოპერაციის ჩატარება მათ ამოსაღებად, რაც ამ მეთოდის უარყოფით მხარეს წარმოადგენს, ამავდროულად იგი საკმაოდ ძვირი პროცედურაა. აღნიშნული უარყოფითი მხარეების გამო მუდმივად მიმდინარეობს ღრძილის რეცესიის სამკუნალოდ ახალი, უფრო დახვეწილი მეთოდების შემუშავება.

კვლევის მიზანი და ამოცანები

სადისერტაციო ნაშრომის მიზანს წარმოადგენს ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანის შემუშავება და მისი გამოყენება ღრძილის რეცესიის მკურნალობისათვის. აღნიშნული მიზნის განსახორციელებლად დავისახეთ შემდეგი ამოცანები:

1. ადამიანის ამნიონისაგან დეცელულარიზირებული მემბრანის მიღების მეთოდის შემუშავება;
2. ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების მიღების მეთოდის ოპტიმიზაცია.
3. ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების მიმაგრება დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის ზედაპირზე.
4. მსხვილფეხა რქოსანი საქონლის ბარძაყის ძვლიდან დეცელულარიზირებული ძვლის ფხვნილის დამზადების მეთოდის შემუშავება;
5. მაქსიმალურად კლინიკურ პირობებთან მიახლოებული ღრძილის რეცესიის მოდელის შექმნა და მისი შესწავლა დინამიკაში;
6. დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანისა და ძვლის ფხვნილის გამოყენების ეფექტურობის შესწავლა ღრძილის რეცესიის ექსპერიმენტული მოდელის პირობებში;

7. ლაბორატორიული, რადიოლოგიური და მორფოლოგიური კვლევის საფუძველზე ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანის ეფექტურობის შესწავლა ღრძილის რეცესიის ექსპერიმენტული მოდელის პირობებში.
8. ღრძილის რეცესიის მკურნალობის ნახევრად ემპირიული მათემატიკური მოდელის შემუშავება.

მეცნიერული სიახლე

- პირველად შემუშავდა ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანა, რომელიც წარმოადგენს ადამიანის დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანისა და ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების კომპოზიტს.
- პირველად იქნა გამოყენებული ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანა ღრძილის რეცესიის მკურნალობისათვის, ექსპერიმენტში ცხოველებზე.
- დადასტურდა, რომ ჩვენს მიერ შემუშავებულ ბიოლოგიურად აქტიურ მემბრანას გააჩნია სამგანზომილებიანი ფოროვანი სტრუქტურა, არის ბიოშეთავსებადი, ბიორეზორბირებადი, აქვს ანთების საწინააღმდეგო და ანტიმიკრობული თვისებები.
- დადგინდა, რომ ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანა, ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების ხარჯზე აძლიერებს ანგიოგენეზს და ხელს უწყობს სწრაფ რეგენერაციას, რომელიც მიმდინარეობს ნაწიბურის განვითარების გარეშე.
- პირველად იქნა გამოყენებული ენერგოდისპერსული მიკრორენტგენოსპექტრალური ანალიზი, როგორც ტესტი დეცელულარიზაციის პროცესში დეტერგენტების სრულყოფილი გამორეცხვის დასადასტურებლად.

პრაქტიკული ღირებულება

ექსპერიმენტალური კვლევების საფუძველზე შემოთავაზებულია ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანა, რომელიც წარმოადგენს ადამიანის

დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანისა და ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების კომპოზიტს. იგი შეიძლება გამოყენებულ იქნას პირის ღრუს რბილი ქსოვილების მოცულობის გაზრდისათვის კბილისა და იმპლანტების ირგვლივ, ალვეოლური მორჩის რეკონსტრუქციისას, ცისტექტომიისა და სინუსლიფტინგების დროს. აგრეთვე მისი გამოყენება შესაძლებელია სასის ნაპრალების რეკონსტრუქციაში და სარძევე კბილების დაგვიანებული ექსტრაქციისა და პოსტექსტრაქციული დეფექტის დასაფარად.

ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანა ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების პოლიპოტენტურობის ხარჯზე ხელს უწყობს დაზიანებული პაროდონტის ქსოვილების უფრო სწრაფ რეგენერაციას ნაწიბურის განვითარების გარეშე. მისი კლინიკურ პრაქტიკაში გამოყენების შემთხვევაში დააკმაყოფილებს პაციენტებისა და კლინიცისტების მოთხოვნებს.

დასაცავად გამოტანილი ძირითადი დებულებები

- ჩვენს მიერ შემუშავებულია ბიოლოგიური ქსოვილების დეცელულარიზაციის პროტოკოლი, რომელიც საშუალებას იძლევა მივიღოთ სამგანზომილებიანი ფოროვანი უჯრედგარეშე მატრიქსი.
- ჩვენს მიერ შემუშავებულია ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანა, რომელიც წარმოადგენს ადამიანის დეცელულარიზირებულ ამნიონს და ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების კომპოზიტს.
- ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანას ახასიათებს ანთების საწინააღმდეგო და ანტიმიკრობული თვისებები, დაბალი ანტიგენური აქტივობა, ბიოშეთავსებადობა და ბიორეზორბირებადობა .
- ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანა, არის ბიოლოგიურად უსაფრთხო, პირის ღრუს ქსოვილებთან ბიოშეთავსებადი და აკმაყოფილებს იდიალური კოლაგენური მემბრანისათვის წაყენებულ მოთხოვნებს.

- ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანა, შეიძლება ეფექტურად იყოს გამოყენებული ღრძილის რეცესიის მკურნალობისათვის.
- პირველად იყო გამოყენებული ერგოდისპერსული მიკრორენტ-გენოსპექტრალური ანალიზის მეთოდი, როგორც ტესტი დეცელულრიზაციის პროცესში დეტერგენტების სრულყოფილი გამორეცხვის დასადასტურებლად.

შრომის აპრობაცია

კვლევის თვითოეულ ეტაპზე მიღებული შედეგები მოხსენებული იყო საქართველოს სტომატოლოგთა IX საერთაშორისო კონგრესზე (ბათუმი, საქართველო, 2013) და საქართველოს სტომატოლოგთა X საერთაშორისო კონგრესზე (ბათუმი, საქართველო 2014). ასევე თურქეთის სტომატოლოგთა ასოციაციის 21-ე საერთაშორისო სტომატოლოგიურ კონგრესზე (სტამბული, თურქეთი 2015), სამხრეთ-აღმოსავლეთ ევროპის სამედიცინო ფორუმის მეშვიდე საერთაშორისო სამედიცინო კონგრესზე (ბათუმი, საქართველო 2016), საერთაშორისო სამეცნიერო კონფერენციაზე მომავლის ტექნოლოგიები და ცხოვრების ხარისხი (ბათუმი, საქართველო 2017), FDI სტომატოლოგთა მსოფლიო კონგრესზე (მადრიდი, ესპანეთი 2017). აგრეთვე, ქსოვილური ინჟინერიის მე-6 და რეგენერაციული ბიოსამედიცინო მასალების მე-3 საერთაშორისო გაერთიანებულ კონფერენციაზე (კრეტა, საბერძნეთი 2017) . საერთაშორისო კლინიკური კონფერენცია „ GI ტრაქტის დარღვევების აქტუალური პრობლემები” (მესტია, საქართველო 2018), ორგანოთა გადანერგვის შუა აღმოსავლეთის საზოგადოების მე-16 კონგრესზე (ანკარა, თურქეთი 2019), მე-5 საერთაშორისო კონფერენცია სტომატოლოგიური მეცნიერება და განათლება & ქირურგია და ქირურგთა მე-5 საერთაშორისო შეხვედრა (ნიუ-იორკი, აშშ 2019).

თავი 2.2 სამეცნიერო ლიტერატურის მიმოხილვა

2.2.1 ღრძილის რეცესია. დეფინიცია, ეტიოპათოგენები,

და კლინიკური გამოვლინება.

ღრძილის რეცესია არის პათოლოგიური პროცესი, რომლის დროსაც ხდება ღრძილის შემოფარგლული ატროფია და მარგინალური კიდის გადანაცვლება მუკოგინგივალური შეერთებისაკენ (Periodontology 2001). ღრძილის რეცესიით საშუალოდ მსოფლიოს მოსახლეობის 50%-დან 90%-მდე არის დაავადებული (Kassab and Cohen 2003) (Seong et al. 2018). POTÂRNICHIE-ის და მისი კოლეგების მიერ 2013 წელს შესწავლილ იქნა ღრძილის რეცესიის გავრცელების სტატისტიკა მოზრდილებში, რომელთა ასაკიც მერყეობდა 20-დან 40 წლამდე. სულ გამოიკვლიეს ორივე სქესის 85 ადამიანი. მათ დააფიქსირეს ღრძილის რეცესიის 603 შემთხვევა, ამათგან ქალების წილი პროცენტულად შეადგენდა 19,56%, ხოლო მამაკაცების 80, 43%. ამ კვლევამ გარდა იმისა, რომ გვაჩვენა სტატისტიკა ღრძილის რეცესიის გავრცელებისა, ასევე გვანახა რომ მამაკაცები ამ დაავადებისადმი უფრო მიდრეკილები არიან ვიდრე ქალები (Potârniche et al., n.d.). ასეთივე მაღალი მაჩვენებელი დაფიქსირდა Sarpangala Mythri et al. მიერ ჩატარებულ კვლევაში. გამოკვლეული იყო ორივე სქესის სხვადასხვა ასაკის 710 პაციენტი და ღრძილის რეცესია დაფიქსირდა 41% , ამათგან 60% იყო მამაკაცი (Mythri et al. 2015).

2.2.2 ღრძილის რეცესიის კლასიფიკაცია

არსებობს ღრძილის რეცესიის რამდენიმე კლასიფიკაცია; Miller 1985, Mahajan 2010 (Miller-ის მოდიფიკაცია); Kumar 2013 (Miller-ის მოდიფიკაცია). ჩამოთვლილთაგან კლინიკურ პრაქტიკაში ყველაზე ხშირად გამოიყენება Miller-ის კლასიფიკაცია, რომელიც აფასებს რბილი და მაგარი ქსოვილების დაკარგვის ხარისხს და კბილის ფესვის დაფარვას თვისუფალი ღრძილის ქსოვილით. იგი მოიცავს ღრძილის რეცესიის 4 კლასს. (Ajay Mahajan et al. 2019)

- კლასი I - მარგინალური ქსოვილების რეცესია არ ვრცელდება მუკოგონგივალური შეერთების ქვემოთ. ამ დროს არ აღინიშნება ალვეოლური ძვლის რეზორბცია და კბილათაშორისი რბილი ქსოვილების დაკარგვა. ფესვი არ არის გაშიშვლებული.
- კლასი II - მარგინალური ქსოვილების რეცესია ვრცელდება მუკოგონგივალური შეერთების ქვემოთ. ამ დროს არ აღინიშნება ალვეოლური ძვლის რეზორბცია და კბილათაშორისი რბილი ქსოვილების დაკარგვა. ფესვი გაშიშვლებულია ნაწილობრივ.
- კლასი III - მარგინალური ქსოვილების რეცესია ვრცელდება მუკოგონგივალურ საზღვრამდე ან მის ქვემოთ. აღინიშნება ალვეოლური ძვლის რეზორბცია, კბილათაშორისი ღრძილის დვრილი განლაგებულია მინანქარ-დუღაბის (ცემენტის) საზღვრის აპიკალურად, მაგრამ რეცესიიდან კორონალურად (გვირგვინოვნად). ფესვის ნაწილობრივი დაფარვის დონე განისაზღვრება ღრძილის დვრილის სიმაღლეზე.
- კლასი IV - მარგინალური ქსოვილების რეცესია ვრცელდება მუკოგონგივალური საზღვრის ქვემოთ. ამ დროს აღინიშნება ალვეოლური ძვლისა და რბილი ქსოვილების თანაბარი რეზორბცია კბილათაშორის სივრცეში, ფესვი არის გაშიშვლებული.

ზემოთ როგორც აღინიშნეთ არსებობს Miller-ის კლასიფიკაციის მოდიფიკაციები. ერთერთი მათგანია Kumar-ის 2013 წელს შემუშავებული კლასიფიკაცია, რომელიც ითვალისწინებს ზედა ყბის კბილების ვესტიბულურ და ქვედა ყბის კბილების როგორც ვესტიბულურ, ასევე ენისკენა ზედაპირზე ღრძილის რეცესიას და კბილათაშორისი ძვლის განლევას. **kumar**-ის კლასიფიკაცია მოიცავს სამ ძირითად კლასს, რომელიც თავის მხრივ შედგება ქვეკლასებისაგან: (Kumar and Masamatti 2013)

- კლასი I - არ აღინიშნება კბილათაშორისი ძვლისა და რბილი ქსოვილის დაკარგვა. მოიცავს 2 ქვეკლასს:

ა) მარგინალური ღრძილი სასისკენა/ენისკენა ზედაპირზე მდებარეობს მინანქარ-დუღაბის შეერთების აპიკალურად, მაგრამ გვირგვინოვანი (კორონალური) მუკოგინგივალური შეერთება მიმაგრებულ ღრძილთან ერთად წარმოდგენილია მარგინალურ ღრძილსა და მუკოგინგივალურ შეერთებას შორის.

ბ) მარგინალური ღრძილი სასისკენა/ენისკენა ზედაპირზე მდებარეობს მუკოგინგივალური შეერთების აპიკალურად, მიმაგრებული ღრძილის მუკოგინგივალური შეერთება არ აღინიშნება მარგინალურ ღრძილსა და მუკოგინგივალურ შეერთებას შორის.

➤ **კლასი II** - კბილთაშორისი დვრილის მწვერვალი მდებარეობს კბილთაშორის კონტაქტებსა და მინანქარ-დიღაბის შეერთებას შორის. რენტგენოგრამაზე ჩანს ინტერპროქსიმალური ძვლის განლევა. მოიცავს 3 ქვეკლასს:

ა) მარგინალური ქსოვილების რეცესია არ აღინიშნება

ბ) მარგინალური ღრძილი სასისკენა/ენისკენა ზედაპირზე მდებარეობს მინანქარ-დუღაბის შეერთების აპიკალურად, მაგრამ გვირგვინოვანი მუკოგინგივალური შეერთება მიმაგრებულ ღრძილთან ერთად წარმოდგენილია მარგინალურ ღრძილსა და მუკოგინგივალურ შეერთებას შორის.

გ) მარგინალური ღრძილი სასისკენა/ენისკენა მხარეს მუკოგინგივალური შეერთების აპიკალურადაა, მიმაგრებული ღრძილის მუკოგინგივალური შეერთება არ აღინიშნება მარგინალურ ღრძილსა და მუკოგინგივალურ შეერთებას შორის.

➤ **კლასი III** - კბილთაშორისი დვრილის მწვერვალი სასისკენა/ენისკენა ზედაპირზე ლოკალიზებულია მინანქარ-დუღაბის შეერთების შუა დონეზე. რენტგენოლოგიურად ჩანას ინტერპროქსიმალური ძვლის განლევა. მოიცავს 2 ქვეკლასს:

ა) მარგინალური ღრძილი სასისკენა/ენისკენა ზედაპირზე მდებარეობს მინანქარ-დუღაბის შეერთების აპიკალურად, მაგრამ გვირგვინოვანი

მუკოგინგივალური შეერთება მიმაგრებულ ღრძილთან ერთად წარმოდგენილია მარგინალურ ღრძილსა და მუკოგინგივალურ შეერთებას შორის.

ბ) მარგინალური ღრძილი სასისკენა/ ენისკენა ზედაპირზე მუკოგინგივალური შეერთების აპიკალურადაა. მიმაგრებული ღრძილის მუკოგინგივალური შეერთება არ აღინიშნება მარგინალურ ღრძილსა და მუკოგინგივალურ შეერთებას შორის.

2.2.3 ღრძილის რეცესიის ეტიოლოგია და პათოგენეზი

ღრძილის რეცესია პოლიეტოლოგიური დაავადებაა. მიუხედავად იმისა, რომ მისი ეტიოლოგია ბოლომდე არ არის შესწავლილი, დადგენილია მექანიკური და ფიზიკური ფაქტორების გავლენა ღრძილის რეცესიის განვითარებაში (Patel, Nixon, and Chan 2011) (Chrysanthakopoulos 2011). მის ეტიოლოგიაში მნიშვნელოვანი ადგილი უკავია პირის ღრუს ლორწოვანის ანატომიურ თავისებურებებს, მაგალითად ტუჩის მოკლე ლაგამის შემთხვევაში ზედა და ქვედა ყბის ფრონტალური კბილების რეგიონში შესაძლოა განვითარდეს ლოკალური ფორმის ღრძილის რეცესია ან პაროდონტიტი. ასევე ღრძილის თხელი ბიოტიპის შემთხვევაში ხშირად ყალიბდება ფენეტრაციები და დეჰისცენციები, რაც ქმნის ღრძილის რეცესიის ჩამოყალიბების წინაპირობას.

იატროგენული ფაქტორები, მავნე ჩვევები და პირის ღრუს არადამაკმაყოფილებელი ჰიგიენა აესვე ზრდის ღრძილის რეცესიის განვითარების რისკებს. იატროგენული ფაქტორებიდან აღსანიშნავია არასწორი ორთოპედიული ან ორთოდონტიული კონსტრუქცია. ღრძილის რეცესიის განვითარების მიზეზები ასევე შეიძლება იყოს მავნე ჩვევები, ენის და ტუჩის პირსინგები (Sawan et al. 2018a)(Jati, Furquim, and Consolaro 2016)(Slutzkey and Levin 2008). ისინი ახდენენ მუდმივ ზეწოლას პაროდონტის ქსოვილებზე, რის შედეგადაც ღრძილის ქსოვილები განიცდის ატროფიას, მისი სიმაღლე მცირდება და ამის შედეგად

მარგინალური კიდის გადანაცვლება ხდება მუკოგინგივალური შეერთებისაკენ და კბილის ფესვი შიშვლდება.

ღრძილის ატროფიასთან თანადროულად მიმდინარეობს კბილთაშორისი ძვლის თანაბარი განლევა, რის გამოც კბილი იწყებს რყევასა და გადანაცვლებას კბილთა რკალში. ღრძილის რეცესიის განვითარების მაღალ რისკფაქტორს წარმოადგენს თამბაქოს მოწევა, ასაკი და სხვადასხვა სისტემური დაავადებები (Sawan et al. 2018b).

2.2.4 ღრძილის რეცესიის კლინიკა და მკურნალობის თანამედროვე მეთოდები

ღრძილის რეცესია ანთებითი მოვლენების გარეშე მიმდინარეობს. საწყის ეტაპზე ზოგიერთ პაციენტს ჩივილები არ აქვს ან ვერ ამჩნევს ცვლილებებს. ამ დროს პაციენტების უმრავლესობას უჩნდებათ ესთეტიური დისკომფორტი, რადგან ღრძილი დაწეულია მუკოგინგივალური შეერთებისაკენ და გამიშვლებული კბილის ფესვები, განსაკუთრებით ფრონტალური კბილების მიდამოში, იწვევს პაციენტების აღშფოთებას.

ღრძილის რეცესიის კლინიკაში აღსანიშნავია ჰიპერმგრძნობელობა, კბილის ფესვის კარიესი, სოლისებრი დეფექტი, ეროზიები და აბრაზიები, ზოგ შემთხვევებში ღრძილის ქავილიც (Tugnait and Clerehugh 2001) (A. Mahajan, Bharadwaj, and Mahajan 2012). ასეთ დროს პაციენტების უმრავლესობას აქვთ კბილის რბილი და მაგარი ნადები, ღრძილქვეშა და ღრძილზედა ქვები (კალკულოზები). კბილების აგრესიული (არასწორი) წმენდისას ან ფლოსინგის დროს შესაძლოა განვითარდეს სისხლდენა. პირის ღრუში ცუდი ჰიგიენური მდგომარეობის გამო ვითარდება ჰალითოზი. ღრძილის რეცესიის სამკურნალოდ მოწოდებულია სხვადასხვა კონსერვატიული და ქირურგიული მეთოდები.

ღრძილის რეცესიის სამკურნალო კონსერვატიული ანუ არაქირურგიული მეთოდები პირველ რიგში გულისხმობს პირის ღრუს პროფესიულ ჰიგიენას (წმენდას), რაც გულისხმობს კალკულოზების, რბილი და მაგარი ნადების

მოცილებას. ასევე თანკბილვის ანომალიებისა და იატროგენული ფაქტორების კორექციას, საჭიროებისამებრ კომპოზიციური მასალებისა და ღრძილის ხელოვნური ვინირების გამოყენებას (Patel, Nixon, and Chan 2011).

საწყის ეტაპზე როდესაც პაციენტს არ აწუხებს ესთეტიური დისკომფორტი და აღენიშნება მხოლოდ დენტინის ჰიპერმგრძობელობა საჭიროა ისეთი პრეპარატების გამოყენება, რომელიც მოახდენს დენტინის მილაკების დაბლოკვას, რადგან ჰიპერმგრძობელობა გამოწვეულია დენტინის მილაკებში სითხის მოძრაობით. ასეთ პრეპარატებს მიეკუთვნება პერმგრძობელობის დამაქვეითებელი ლაქები, კბილის პასტები ან მინაიონომერული ცემენტები, (Patel, Nixon, and Chan 2011) (A. Mahajan, Bharadwaj, and Mahajan 2012).

პაციენტებს რომელთაც აღენიშნებათ კბილთასორისი ძვლოვანი სტრუქტურის განლევა და შესაბამისად ესთეტიური დისკომფორტი შესაძლოა გამოვიყენოთ კომპოზიციური მასალები. ამ სასალების მეშვეობით ხდება სოლისებრი დეფექტების, კბილთა ეროზიების, აბრაზიებისა და ფესვის კარიესის დაფარვა. კონსერვატიული მეთოდებიდან უკეთესი ესთეტიური ეფექტის მისაღწევად გამოიყენება ვარდისფერი ფაიფური, ღრძილის მოსახსნელი ვინირები ან ღრძილის კომპოზიტები (Gopakumar and Sood 2012). დღეისათვის ღრძილის კომპოზიტები რამდენიმე კომპანიის მიერ მზადდება, როგორცაა Dentsply, Ivoclar Vivadent, Gradia, VOCO, VITA. თვითოეული კომპანია ღრძილის სხვადასხვა ფერთა გამას აწარმოებს. VITA-ს (Germany) კომპანიის მიერ მოწოდებულია ღრძილის ძირითადი 6 ფერი :

- G1 _____ ვარდის ფერი
- G2 _____ მონარინჯისფრო ვარდისფერი (ატმისფერი)
- G3 _____ მოვარდისფრო წითელი
- G4 _____ მოყავისფრო წითელი
- GOL _____ ღია ხორცისფერი

- GOD _____ მსუბუქი ხორცისფერი

ღრძილის მოსახსნელი ვინირების დამზადება შესაძლებელია როგორც სილიკონის ასევე აკრილის მასალისაგან. კვლევებმა დაადგინა რომ აკრილურ მასალებს ფერის უკეთესი მდგრადობა აქვს ვიდრე სილიკონურს, მაგრამ სილიკონური მასალები უფრო რბილი და მოქნილია (Ellis, Sharma, and Harris 2000).

ღრძილის რეცესიის პრევენციის მიზნით ხდება პაციენტებისათვის კბილების სწორად გაწმენდის წესების შესწავლა, მავნე ჩვევების გადაჩვევა და ტუჩის ლაგამის კორექცია მისი არასწორი მიმაგრების შემთხვევაში.

დადებითი ესთეტიური შედეგისდა მიუხედავად ზემოთ ჩამოთვლილი მკურნალობის მეთოდებს აქვთ უარყოფითი მხარეები, მაგალითად კბილისპასტები მხოლოდ ჰიპერმგრძობელობის აღმოფხვრის, ხოლო ვარდისფერი ფაიფური გამოყენება ლოკალური რეცესიის შემთხვევაშია ეფექტური. ამავდროულად მოსახსნელი ღრძილის ვინირებისა და ვადრისფერი ფაიფურის გამოყენებისას რთულია პირის ღრუს ჰიგიენური ნორმების დაცვა. დადებითი შედეგების მიუხედავად ღრძილის რეცესიის კონსერვატიული მკურნალობის მეთოდები სრულად ვერ აკმაყოფილებს კლინიცისტების მოთხოვნებს.

ქირურგიული მეთოდებიდან ღრძილის რეცესიის სამკურნალოდ ძირითადად გამოიყენება ქსოვილის თავისუფალი ან ფეხიანი ნაფლეთის ტრანსპლანტაცია. ამ ტექნიკის მიზანი არის გაშიშვლებული კბილის ფესვის რბილი ქსოვილით დაფარვა და მიმაგრებული ღრძილის ადეკვატური ზომის შექმნა. ქირურგიული ტექნიკის შერჩევა დამოკიდებულია დეფექტის ზომაზე, ესთეტიკურობაზე, ქსოვილის საბოლოო ფერსა და დონორი ქსოვილების შეთავსებადობაზე ტრანსპლანტირებულ მიდამოში (A. Mahajan, Bharadwaj, and Mahajan 2012).

ქირურგიული მეთოდებიდან ყველაზე ხშირად გამოიყენება რბილი ქსოვილის თავისუფალი ტრანსპლანტაციის ტექნიკა, ნაფლეთის გვირგვინოვნად (კორონალურად) გადანაცვლების, ბილამინარული (ორმაგი დვრილოვანი ნაფლეთი) და ტუნელის ტექნიკა. დონორ მიდამოდ უხშირესად გამოიყენება სასა (Shkreta et al. 2018), იშვიათად შესაძლებელია დონორ მიდამოდ არჩეული იყოს რეტრომოლარული რეგიონი.

რბილი ქსოვილის ტრანსპლანტაციის მეთოდი მიჩნეულია ოქროს სტანდარტად (A. Mahajan, Bharadwaj, and Mahajan 2012) და გულისხმობს სუბეპითელური შემაერთებელქსოვილოვანი ნაფლეთის გადანერგვას. ეს ტექნიკა მრავალი წლის წინ პირველად Langer-ის და Calagna-ის მიერ იქნა გამოყენებული. შემაერთებელი ქსოვილის თავისუფალი ტრანსპლანტაცია გამოიყენება დაზიანებული მიდამოს „მოსაპირკეთებლად“. ამ დროს ხდება ღრძილის რეცესიით გამოწვეული გაშიშვლებული კბილის ფესვის დაფარვა, რაც იწვევს ესთეტიური დისკომფორტისა და ჰიპერმგრძნობელობის აღმოფხვრა (Cordioli et al. 2001). ამ მეთოდის გამოყენებისას ტრანსპლანტანტის სისხლმომარაგება შეზღუდულია და მისი კვება ძირითადად ხდება რეციპიენტ რეგიონში არსებული შრატით.

აუცილებელია, რომ რეციპიენტი და დონორი მიდამოს ზომები იყოს თანხვედრაში. სასიდან ჩვენ შეგვიძლია ავიღოთ მხოლოდ დაახლოებით 3-4 სმ ზომის ნაფლეთი, რათა არ დავაზიანოთ სასის სისხლმომარაგება. დონორი რეგიონი დროებითად, სანამ მისი სისხლმომარაგება აღდგება, უნდა დავფაროთ თუნდაც ფოლგით.

რაც შეეხება ტუნელის ტექნიკას მისი გამოყენება შესაძლებელია რამდენიმე კბილის რეგიონში Miller-ის I და II კლასის რეცესიის დროს, ტუნელის ტექნიკის არჩევის დროს გასათვალისწინებელია სასის ლოწოვანის სისქე და მაგარი სასის სიმაღლე. უპირატესობები ამ მეთოდის გამოყენებისა არის: მინიმალური ქირურგიული ტრავმა, არ ზიანდება კბილთაშორისი დვრილი, ესთეტიური შედეგი მიიღწევა მოკლე დროში ნაწიბურის განვითარების გარეშე და

პოსტოპერაციული ტკივილი მინიმუმამდეა დაყვანილი(Khuller 2009)(Fahmy and Taalab 2018). თუმცა აღსანიშნავია მისი უარყოფითი მხარეებიც, როგორცაა დონორი მიდამოს არჩევისა და მომზადების სირთულე, გასათვალისწინებელია რომ არ მოხდეს ნაფლეთის ან კბილთაშორისი დვრილის დაზიანება .

რაც შეეხება ნაფლეთის გვირგვინოვანი გადანაცვლებისა (Zucchelli et al. 2003) და ორმაგ დვრილოვანი ნაფლეთის ტექნიკას, მათი გამოყენება ეფექტურია ასევე რეცესიის I-II კლასის დროს თუ მის ახლოს არსებობს სათანადოდ კერატინიზირებული უბანი. ოპერაციის ტექნიკა შედარებით მარტივია, მთავარია ქირურგიული განაკვეთების ზომები სწორად იქნას შერჩეული. დადებითი ესთეტიური ეფექტი მარტივად მიიღწევა, თუმცა შენარჩუნება დიდხანს ვერ გრძელდება. ამის გამო თვლიან რომ ეფექტის სტაბილიზაციისათვის საჭიროა შემანარჩუნებელი აგენტების დამატება (E.-J. Lee et al. 2002)(Gupta et al. 2015).

დადებითი შედეგის მიუხედავად მკურნალობის ზემოთ ხსენებულ მეთოდებს აქვს უარყოფითი მხარეები: დამატებით დონორი მიდამოს არსებობა და ღრძილის რეცესიის გენერალიზებული ფორმის დროს გადასანერგი ქსოვილების არასაკმარისი რაოდენობა. ასევე მნიშვნელოვნად იზრდება გართულებების რისკი და პოსტოპერაციული ტკივილი.

2.2.5 რეგენერაციის სტიმულირების აგენტების, ზრდის ფაქტორების გამოყენება ღრძილის რეცესიის მკურნალობისათვის

იმისათვის, რომ მოხდეს უჯრედების მაღალი პროლიფერაციული აქტივობა აუცილებელ პირობას წარმოადგენს დეფექტის ზონაში შენარჩუნებული ცოცხალი სტრუქტურების არსებობა და მათი ადეკვატური სისხლმომარაგება. ანთებით–დესტრუქციულ პირობებში, როდესაც ქსოვილების 50% მეტი არის დაკარგული რეგენერაციის დამთრგუნველ ფაქტორს წარმოადგენს ჰემოტაქსიური აგენტებისა და ზრდის ფაქტორების არასაკმარისი ლოკალური

კონცენტრაცია და იმ უჯრედების დეფიციტი, რომელთაც შეუძლიათ რეგენერაციის წარმოება.

ყველაზე რთულ პრობლემას წარმოადგენს ზრდის ფაქტორების მიტანა დეფექტის ზონაში ვინაიდან მათ გააჩნიათ მოკლე ნახევარდაშლის პერიოდი. დეფექტში ზრდის ფაქტორების შეტანისას პროტეოლიტური ფერმენტების ზემოქმედებით რამდენიმე საათში ხდება მათი დაშლა, როდესაც თერაპიული ეფექტის მისაღწევად საჭიროა 10–15 დღე.

მეორე პრობლემას წარმოადგენს დაზიანებულ მიდამოში ზრდის ფაქტორების გადამზიდის შექმნა, რომელიც გაუმკლავდება პროტეოლიტურ ფერმენტების ზემოქმედებას და საშუალებას მისცემს ზრდის ფაქტორებს ხელი შეუწყონ რეგენერაციულ პროცესებს.

დღეისათვის ზრდის ფაქტორების გადამზიდის როლს, დეფექტის მიდამოში, ასრულებენ დეცელულარიზირებული ხარის კანისაგან დამზადებული გელი (COLLOS GEL), PLASMODENT-ი, SILICA GEL-ი, SOL-GEL-ი და მრავალი სხვა.

ბოლო წლებში მეცნიერების ყურადღება მიიპყრო პოლიპეპტიდურმა ზრდის ფაქტორებმა, რომლებიც ანხორციელებენ რეზიდენტული უჯრედების პრეკურსორების სტიმულაციას და არიან ბიოლოგიური შუამავლები დაზიანებული პაროდონტის ქსოვილების რეგენერაციაში. მათ აქვთ უნარი დაარეგულიროს ისეთი ბიოლოგიური პროცედურები როგორცაა ადგეზია, მიგრაცია, გავრცელება და დიფერენციაცია (R. H. Lee et al. 2004)(Chaudhary, Hofmeister, and Hruska 2004).

ცნობილია ძვლის მორფოგენეტიკური ცილის მატრანსფორმირებელი ზრდის ფაქტორ-ბეტას გარდამქმნელი (TGF- β), რომელიც არის სტრუქტურულად მონათესავე უჯრედების მარეგულირებელი პროტეინების დიდი ოჯახი და მას გააჩნია უნიკალური თვისება ექტოპიურ ზონაში წარმოქმნას ძვლის ინდუქცია. ექსპერიმენტში ცხოველებზე შესწავლილია ძვლის მორფოგენეტიკური ცილის

ზემოქმედება პერიოდონტული იოგის, დუღაბის და ალვეოლური ძვლის რეგენერაციაზე (Jones et al. 2006).

დღეისათვის კომერციულად მიღებულია მინანქრის ელემენტებისაგან (ამელოგენინი) წარმოქმნილი მატრიქსი Emdogain (USA). Emdogain წარმოადგენს გელს, რომელიც დეფექტში ცილების გროვების ჩამოყალიბებით და უჯრედებისა და მატრიქსის ურთიერთქმედების სტიმულირებით ხელს უწყობს რეგენერაციას (Cochran et al. 2003)(Sculean et al. 2006). ვინაიდან Emdogain წარმოადგენს გელს, მას არ შეუძლია უზრუნველყოს ადეკვატური ფორმა. ამისათვის იყენებენ სამგანზომილებიან მატრიქსს, რომელსაც ათავსებენ დეფექტში და ჟღინთავენ მას ზემოთ აღნიშნული გელით.

დღეისათვის, რეგენერაციის სტიმულირებისათვის უპირატესობა ჰპოვა ღეროვანი უჯრედების გამოყენებამ. ასევე აღსანიშნავია ღრძილის რეცესიის დროს თრომბოციტებით მდიდარი პლაზმის (PRP) გამოყენება. ჰომოლოგიური სისხლის კომპონენტების გადასხმის თავიდან ასარიდებლად თრომბოციტებით მდიდარი პლაზმის ტრანსფუზია პირველად 1987 წელს გამოიყენა M. Ferrari გულის ღია ოპერაციის შემდეგ. ამჟამად PRP ეფექტურად გამოიყენება არამარტო კარდიოლოგიაში, არამედ სტომატოლოგიაში, ყბა-სახის ქირურგიაში, ოფთალმოლოგიაში, კოსმეტოლოგიაში, ნეიროქირურგიასა და მედიცინის სხვა დარგებში. მისი პოპულარობა განპირობებულია იმით, რომ არის უსაფრთხო ქირურგიული მანიპულაცია, მისი დახმარებით საშუალება გვეძლევა სამკურნალოდ გამოვიყენოთ საკუთარი ზრდის ფაქტორები (Naik et al. 2013).

ბოლო წლებში ჩატარებულმა კვლევებმა დაამტკიცეს, რომ თრომბოციტებით მდიდარი პლაზმა შეიცავს დიდი რაოდენობით ზრდის ფაქტორებსა და ციტოკინებს. თრომბოციტებით მდიდარი პლაზმის შემადგენლობაში შემავალი ზრდის ფაქტორებიდან აღსანიშნავია მატრანსფორმირებელ ზრდის ფაქტორი-β (TGF-β), რომელიც ასტიმულირებს არადიფერენცირებული მეზენქიმური უჯრედების პროლიფერაციის, არეგულირებს ენდოთელური, ფიბრობლასტების და ოსტეობლასტების მიტოგენეზის, კოლაგენის სინთეზს და კოლაგენაზს

სეკრეციას. აგრეთვე ასტიმულირებს ენდოთელური ქემოტაქსისის და ანგიოგენეზს, აფერხებს მაკროფაგების და ლიმფოციტების პროლიფერაციას.

ფიბრობლასტების ზრდის ფაქტორები (FGF) ხელს უწყობენ ქონდროციტებისა და ოსტეობლასტების ზრდასა და დიფერენცირებას. თრომბოციტებიდან წარმოებული ზრდის ფაქტორი a და b (PDGF) ასტიმულირებს მეზენქიმური უჯრედებისა და ოსტეობლასტების მიტოგენეზს, არეგულირებს კოლაგენის სინთეზს, ასტიმულირებს მაკროფაგების და ნეიტროფილების ქემოტაქსისის. გარდა ამისა თრომბოციტებით მდიდარი პლაზმა შეიცავს: ეპიდერმულ ზრდის ფაქტორს (EGF), სისხლძარღვთა ენდოთელიალურ ზრდის ფაქტორს (VEGF), შემაერთებელი ქსოვილის ზრდის ფაქტორს (CTGF), ინსულინის დამოკიდებულ ზრდის ფაქტორ 1 და 2 (ILGF 1 and 2), თრომბოციტარულ ფაქტორს (PF-4), კერატინოციტების ზრდის ფაქტორსა (KGF) და ინტერლეიკინ 8 (IL-8), რომლებიც ხელს უწყობენ ანგიოგენეზისა და ფიბრობლასტების განვითარებას. აგრეთვე ასტიმულირებენ მიტოგენეზს და ხელს უწყობენ რეგენერაციას (Everts et al. 2006)(Eppley, Woodell, and Higgins 2004). თრომბოციტებით მდიდარ პლაზმას თავისი განსაკუთრებული შემადგენლობა საშუალებას აძლევს იმოქმედოს ანთებაზე, ინფექციაზე, ოსტეოგენეზზე და მოახდინოს რბილი და მაგარი ქსოვილების სწრაფი შეხორცება.

უახლესი კვლევებით დადგენილია რომ თრომბოციტები ანთავისუფლებენ ბიოაქტიურ ცილებს, რომლებიც პასუხისმგებლები არიან მოიზიდონ მაკროფაგები, ოსტეობლასტები და მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედები, რაც საშუალებას იძლევა, დაზიანების კერიდან არა მარტო მოცილებული იქნას გადაგვარებული და ნეკროზული ქსოვილები, არამედ დააჩქაროს რეგენერაციის პროცესი.

სამწუხაროდ არ გვაქვს უფლება თომბოციტებით მდიდარი პლაზმა გამოვიყენოთ ყველა შემთხვევაში, რადგან მას აქვს სრული და ნაწილობრივი უკუჩვენებები.

სრულ უკუჩვენებას მიეკუთვნება:

- თრომბოციტების ფუნქციის დარღვევის სინდრომი და კრიტიკული თრომბოციტოპენია;
- სეპტიცემია და ჰემოდინამიკური არასტაბილურობა;
- პროცედურის რეგიონში ლოკალური ინფექცია.

ნაწილობრივ უკუჩვენებებს მიეკუთვნება:

- 48 საათის განმავლობაში არასტეროიდების თანმიმდევრული გამოყენება;
- კორტიკოსტეროიდების სისტემურად 2 კვირის განმავლობაში ან ადგილობრივად, სამკურნალო რეგიონში 1 თვის განმავლობაში გამოყენება;
- თამბაქოს მოხმარება;
- კობო-განსაკუთრებით ჰემატოპოეტური ან ძვლოვანი სიმნივნეები;
- Hgb <10 გ / დლ;
- თრომბოციტების რაოდენობა <105 / ul .

თრომბოციტებით მდიდარი პლაზმის გამოყენება ღრძილის რეცესიის მკურნალობისას ეფექტურია მხოლოდ Miller-ის I და II კლასის დროს. ღრძილის რეცესიის მკურნალობის დადებითი შედეგების მისაღწევად ხშირად ხდება ქირურგიული მეთოდებისა და რეგენერაციის მასტიმულირებელი, ზრდის ფაქტორების შერწყმა. მაგალითად ნაფლეთის გვირგვინოვნად გადანაცვლების ტექნიკითა და თრომბოციტებით მდიდარი პლაზმის ერთდროული გამოყენებით 93% დადებითი შედეგი იქნა მიღებული (Jovii et al. 2013).

2.2.6 ღეროვანი უჯრედების როლი ღრძილის რეცესიის რეგენერაციაში

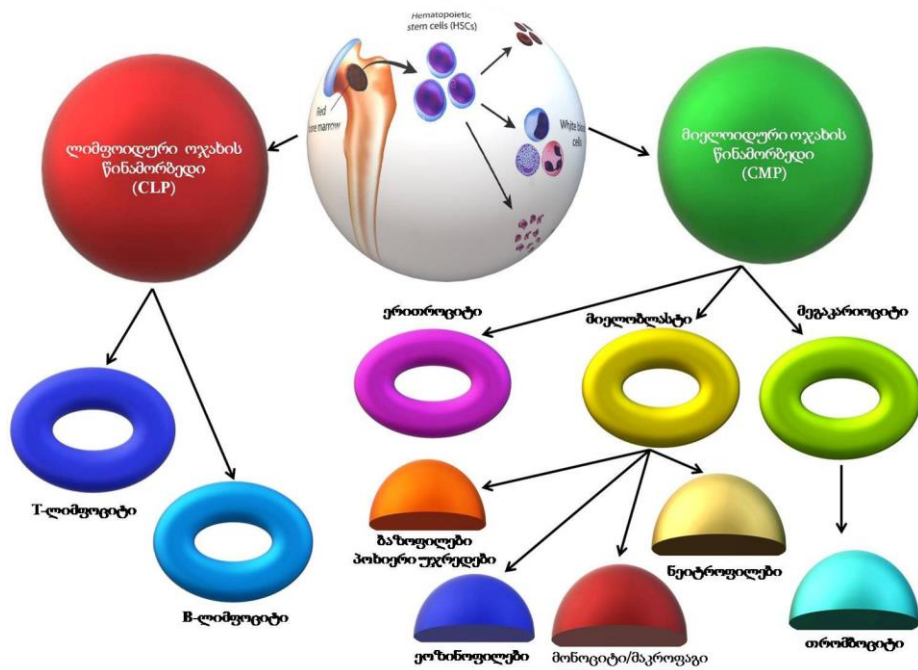
მსოფლიოს წამყვანი მეცნიერების მიერ, უჯრეული თერაპია აღიარებულია ერთ-ერთ ყველაზე პერსპექტიულ მიმართულებად თანამედროვე მედიცინაში.

ღეროვანი უჯრედების შესახებ ლიტერატურული ცნობები 19 საუკუნიდან არსებობს, თუმცა მედიცინის განმვითარებამ საშუალება მოგვცა უკეთ შეგვესწავლა მათი მოქმედების მექანიზმი (Lin, Gronthos, and Bartold 2008). ღეროვანი უჯრედები ეს არის მრავალუჯრედიან ორგანიზმის არადიფერენცირებული უჯრედები, რომელთაც განუწყვეტელი დროით შეუძლიან აწარმოონ სხვადასხვა ტიპის მრავლობითი უჯრედები. არსებობს ორი ძირითადი ტიპის ღეროვანი უჯრედი: ემბრიონული და ზრდასრული ღეროვანი უჯრედი. ემბრიონული ღეროვანი უჯრედი იზოლირებულია ბლასტოციტის შიდა უჯრედოვან მასაში, ხოლო ზრდასრული ღეროვანი უჯრედი გვხვდება სხვადასხვა ქსოვილებში.

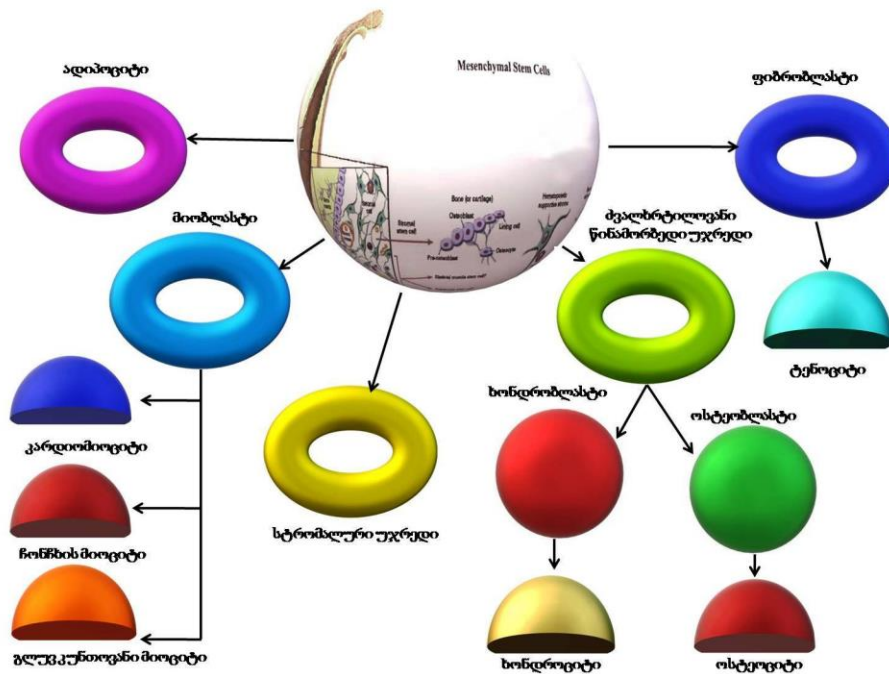
არსებობს ჰემოპოეტური და მეზენქიმური წარმოშობის ღეროვანი უჯრედები. ჰემოპოეტურ ღეროვან უჯრედებს აქვთ თვითგანახლების უნარი, შეუძლიათ გარდაიქმნან სხვადასხვა ტიპის სპეციალიზირებულ უჯრედებად. თვის მხრივ ჰემატოპოეტური ღეროვანი უჯრედები დიფერენცირდებიან ორ მნიშვნელოვან ფრაქციად: ლიმფოიდური ოჯახის უჯრედების წინამორბად და მიელოიდური ოჯახის უჯრედების წინამორბედებად (სურ 1). მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედებს კი შეუძლიათ დიფერენცირება ოსტეოციტებად, ძვლის ტვინის სტრომულ ფიბრობლასტებად, ქონდროციტებად, ადიპოციტებად, მიოციტებად და მრავალ სხვა უჯრედებად (Ghaneialvar et al. 2018) სურ 2. კვლევებმა დაამტკიცა, რომ მეზენქიმურ ღეროვან უჯრედებს აქვთ დიდი პოტენციური რეგენერაციული მედიცინაში, რადგან მათ შეუძლიათ გარდაიქმნან სხვადასხვა უჯრედებად (Sudo et al. 2007). ისინი პოტენციის მიხედვით შეილება დიფერენცირდეს: ტოტიპოტენტურ, პლურიპოტენტურ, მულტიპოტენტურ, ოლიგოპოტენტურ და უნიპოტენტურ უჯრედებად.

აუტოგენური ზრდასრული ღეროვანი უჯრედების მიღების სამი მნიშვნელოვანი წყარო არსებობს:

- ძვლის ტვინი (ძირითადად მიღება ხდება ზარძაყის ძვლიდან)
- ადიპოზური ქსოვილი (ლიპიდური უჯრედები)
- სისხლი



სურათი 1. ჰემატოპოეტური ღეროვანი უჯრედები



სურათი 2. მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედები

ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების მისაღებად და კულტივაციისათვის ლიტერატურაში ცნობილია რამდენიმე მეთოდი. ძვლის ტვინის მიღება ხდება ბარძაყის ან თეძოს ძვლიდან. ვირთხებში შესაძლებელია გამოყენებულ იქნას დიდი წვივის ძვალზე Qinglin Z. et al-ის მიერ გამოყენებული იქნა შემდეგი მეთოდი. პირველ რიგში მოახდინეს საოპერაციო ველი მომზადება და ძვლის ტვინის გამორეცხვა ბარძაყისა და წვივის ძვიდან ფოსფატ ბუფერის ხსნარით (PBS). ძვლის ტვინის მიღების შემდგომ თანაბრად გაყვეს სამ სუბფრაქციად და მოათავსეს 15მლ ტუბებში. თითოეული ტუბი შეიცავდა 2მლ დულბეკოს მოდოფიცირებულ ხსნარს (DMEM); საკვებ ნიადაგ F-12 (DMEM/F-12; Life Technologies, Inc., Gaithersburg, MD, USA), რომელსაც უმატებდნენ 10% აუტოგენურ შრატს (AuSM), ალოგენურ შრატს (AlSM), ან FBS (HyClone, Australia; FSM) და მისი ცენტრიფუგირებას ახდენდნენ 1,500 გ 5წუთის განმავლობაში. მიღებული უჯრედები ხელახლა რესუსპენდირდებოდა საკულტივაციო 6-უჯრიან ფინჯანში (Corning, USA), რომელიც შეიცავდა სხვადასხვა მედიუმს და ხდებოდა ინკუბაცია

37°C, 95% ატმოსფერული ჰაირისა და 5% ნახშიროჟანგის შემცველობის ინკუბატორში (Zhang et al. 2015)(Sun et al. 2003). გარდა ამისა, ძვლის ტვინიდან ღეროვანი უჯრედების მისაღებად არსებობს გრადიენტული მეთოდიც (Juopperi et al. 2007). ზემოთ როგორც ავლნიშნეთ, ღეროვანი უჯრედების მიღება შესაძლებელია ადიპოზური ქსოვილიდან. ადიპოზური (ცხომოვანი) ქსოვილის მიღების შემდეგ საჭიროა მათი გარეცხვა და დაბინძურებული ჰემოპოეზური უჯრედების ამოღება. ამის შემდეგ უნდა მოხდეს ინკუბაცია კოლაგენაზაში და ცენტრიფუგირება, რათა მოხდეს გამოყოფა ადიპოციტების, ლიპიდებისა და სითხისა, რომელთაც დატოვებს სტრომალური სისხლძარღვოვანი ფრაქციის ნალექი (SVF) (Bunnell et al. 2008). ადიპოზური ქსოვილიდან ღეროვანი უჯრედების მისაღებად სტანდარტული მეთოდის მიხედვით, ამის შემდეგ უნდა მოხდეს სტრომალური სისხლძარღვოვანი ფრაქციის რესუსპენდირება 160mM NH₄Cl, ინკუბაცია გრძელდება 10 წუთის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე და შემდეგ უნდა მოხდეს კვლავ ცენტრიფუგირება 400 ბრუნზე 10 წთ. მიღებული უჯრედული ფენის გადატანა ხდება პერკოლზე ან სხვა უჯრედების საიზოლაციო მედიუმში და ცენტრიფუგირდება 1000 ბრუნზე 30წთ. შემდეგ უჯრედები ირეცხება ფოსფატ ბუფერის ხსნარში (PBS), ცენტრიფუგირდება 400 ბრუნზე 10 წუთი და კვლავ ირეცხება PBS-ში. ამის შემდეგ უჯრედები იფილტრება 100μM და 400 μM ნეილონის ბადეზე, ხოლო შემდეგ კვლავ ცენტრიფუგირდება 400 ბრუნზე 10 წუთი. ცენტრიფუგირების შემდეგ საბოლოოდ ხდება უჯრედული ნალექის რესუსპენდირება 40% FBS/DMEM-ში და ინკუბაცია. ამ პროცედურას საშუალოდ სჭირდება 8 საათი და სპეციალური აღჭურვილობა (Francis et al. 2010).

დღეისათვის ქსოვილების აღდგენის მიზნით ძვლის ტვინის მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების გამოყენებას მრავალი კვლევა ეძღვნება (Bianco and Robey 2001)(Bianco et al. 2001) . მრავალჯერადი რეცესიის დროს მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედები ტრანსპლანტირებული იყო ბიორეზორბირებად მემბრანასთან ერთად და შედარება მოხდა სუბეპითელურ შემაერთებელ ქსოვილოვან ტრანსპლანტაციასთან. დამტკიცდა, რომ ღეროვანი უჯრედების გამოყენების შემთხვევაში დადებითი შედეგი შედარებით მაღალი იყო (Zanwar et al. 2014). ასევე

დაზიანებული პაროდონტის ქსოვილების რეგენერაციის მიზნით მოახდინეს თერმო შექცევად პოლიმერულ ჟელატინში მოთავსებული ძვლის ტვინის მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ტრანსპლანტაცია. რადიოლოგიური შესწავლით 6 თვის შემდეგ აღინიშნებოდა კლინიკური პარამეტრების მნიშვნელოვანი გაუმჯობესება (Sankaranarayanan et al. 2013). გარდა ამისა, ბოლო წლებში დადასტურდა ღეროვანი უჯრედების არსებობა კბილის პულპასა და პერიოდონტულ იოგში. არსებობს მოსაზრება, რომ ამ უჯრედების გამოყოფისა და კულტივაციის პროცესებში გაზრდით, მათ საკმაოდ დიდი პოტენციალი ექნებათ დაზიანებული პირის ღრუს ქსოვილების რეგენერაციისათვის (Diomedea et al. 2019)(Tóth et al. 2020).

ასევე აღსანიშნავია, რომ ჰემოპოეტური უჯრედების უმრავლესობა სისხლის მომწიფებული წითელი უჯრედების გარდა, CD45 ზედაპირული ანტიგენის მატარებელია. აგრეთვე ჰემოპოეტური ფრაქციის პროგენიტორული უჯრედების სუბპოპულაცია CD34 პოზიტიურია.

რაც შეეხება ძვლის ტვინის მეზენქიმურ ღეროვან უჯრედებს, მათ მიერ CD45 და CD34 ზედაპირული ანტიგენი არ ექსპრესირდება. მათი იდენტიფიცირება ხდება STRO-1 ზედაპირული ანტიგენის მეშვეობით. STRO-1 ასევე წარმოადგენს პრეოსტეოგენური, პრექონდროგენური ან პრეადიპოგენური პოპულაციის მარკერს. ამასთანავე აღსანიშნავია, რომ STRO-1 ექსპრესია პროგრესულად კლებულობს უჯრედების პროლიფერირებისა და მომწიფებულ ოსტეობლასტებად დიფერენცირების შემდეგ. მისი ამ თვისებიდან გამომდინარე STRO-1 წარმოადგენს ძვლის ტვინის მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების მაიდენტიფიცირებელ ადრეულ მარკერს. მიღებული უჯრედული პოპულაციის იდენტიფიცირება ხდება გამდინარე ციტომეტრიის მეშვეობით, CD 34, CD 45, CD 133, STRO-1 ანტისხეულების გამოყენებით.

ერთ-ერთ კვლევაში, ძვლის ტვინის მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედები შეყვანილ იქნა იმუნოდეფიციტურ თაგვებში (NOD/SCID), შედეგად მიღებული იქნა ძვლოვანი ქსოვილი (Bartold et al. 2000). ექსპერიმენტში ცხოველებზე

სახვადასხვა მოდელის პირობებში, მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ტრანსპლანტაციის შედეგად აღდგენილი იქნა ძვლოვანი დეფექტები (Baum and Mooney 2000). osteogenesis imperfecta-თი დაავადებულ ბავშვებში, ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების ტრანსპლანტაციის შემდეგ მიღწეულ იქნა ოსტეობლასტების რაოდენობისა და საერთო მინერალების დონის მკვეთრი მატება, ასევე დაფიქსირდა ახალი ლამელარული ძვლის ფორმირება (Batouli et al. 2003).

ცნობილია, რომ ძვლის რეზორბციასა და ფორმირებას შორის ბალანსს ოსტეოკლასტები და ოსტეობლასტები ინარჩუნებენ (Bianco and Robey 2001). პაროდონტის ქსოვილების დაავადებების დროს კი ალვეოლური ძვლის რეზორბციას ოსტეოკლასტები იწვევენ. ოსტეოკლასტოგენეზის ინდუქტორი არის ბირთვული ფაქტორის - jB ლიგანდის რეცეპტორის აქტივატორი (RANKL). RANKL-ის სინთეზი ხორციელდება ოსტეობლასტებისა და ძვლის ტვინის სტრომული უჯრედების მიერ. ხოლო მისი სიგნალი გადაიცემა სპეციფიური რეცეპტორით - ბირთვული ფაქტორის-jB რეცეპტორის აქტივატორით (RANK), რომელიც თავის მხრივ ექსპრესირებულია ოსტეოკლასტების პროგენიტორების უჯრედულ ზედაპირზე (Cao 2018)(Wada et al. 2006). ოსტეობლასტების მიერ პროდუცირდება ოსტეოპროტეგერინი, რომელიც ახორციელებს ოსტეოკლასტოგენეზის ინჰიბირებას, რათა ჩართულია RANKL და RANK-ის კონკურირებად შებოჭვაში. კვლევებით ასევე დადასტურებული იქნა, რომ მაკროფაგების მიერ სინთეზირებული ინტერლეიკინ - 1b ოსტეობლასტების მიერ RANKL-ის ექსპრესიის სტიმულირებით, ოსტეოკლასტოგენეზზე ახდენს არაპირდაპირ, ხოლო ოსტეოკლასტების მომწიფების სტიმულირებით კი პირდაპირ ზემოქმედებას. კვლევებით დადასტურებულ იქნა, რომ მაკროფაგების მიერ პროდუცირდება ოსტეოინდუქტიური სიგნალები, მათ შორის ძვლის მორფოგენური პროტეინი-2. ექსპერიმენტში ოსტეოართრიტის მოდელის პირობებში ნაჩვენებია იქნა, რომ მაკროფაგები ახორციელებენ სხვადასხვა ზრდის ფაქტორების სინთეზს, მათ შორის: TGF - β, ძვლის მორფოგენური პროტეინი-2 და

ძვლის მორფოგენური პროტეინი-4 (Vander Ark, Cao, and Li 2018) (Tong et al. 2019). ამავდროულად, აქტიურად მონაწილეობას იღებდნენ ოსტეოციტების ფორმირების პროცესში. ამგვარად უდავოა, რომ მაკროფაგების მიერ სინტეზირებული ზრდის ფაქტორები ასტიმულირებენ ღრილობის შეხორცებასა და ძვლის ფორმირებას. დაზიანებული ქსოვილების რეგენერაციისათვის ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების გამოყენების პოტენცილას ზრდის დიდი რაოდენობით სხვადასხვა ზრდის ფაქტორებისა და ციტოკინების შემცველობა. ამათგან აღსანიშნავია სისხლძარღვთა ენდოთელიალური ზრდის ფაქტორი (VEGF), თრომბოციტებიდან წარმოებული ზრდის ფაქტორები (PDGF), მატრანსფორმირებელ ზრდის ფაქტორი-β1 (TGF- β1), TGF- β3, TGF ალფა და ძვლის მორფოგენეტიკულ ცილა BMP 1 და BMP 2.

2.2.7 ქსოვილების მიზანმიმართული რეგენერაციის ტექნიკა

და ბარიერული მემბრანების გამოყენება ღრძილის

რეცესიის სამკურნალოდ

ბოლო წლებში ბიოინჟინერიის განვითარებამ სტომატოლოგიაში, კეძოდ პაროდონტის ქსოვილების რეგენერაციაში მნიშვნელოვანი როლი ითამაშა. განსაკუთრებით აღსანიშნავია ქსოვილების მიზანმიმართული რეგენერაციის (GTR) მეთოდი და ბარიერული მემბრანების გამოყენება.

შეიძლება ითქვას, რომ ქსოვილების მიზანმიმართული რეგენერაციის მეთოდის გამოყენებაში Tinti et al (1992) პიონერები იყვნენ. მათ ქსოვილების მიზანმიმართული რეგენერაციის მეთოდის გამოყენებით დაფარეს კბილის გაშიშვლებული ფესვის ზედაპირი და შექმნეს ახალი შემაერთებელქსოვილობანი მიმაგრება.

თუმცა ქსოვილების მიზანმიმართული რეგენერაციის ტექნიკის განვითარებამ შესაძლებელი გახადა ერთდროულად განხორციელდეს

მკურნალობა როგორც ძვლის, ასევე გაშიშვლებული ფესვისა და მუკოგინგივალური პრობლემებისა. ამ ტექნიკის მთავარი დადებითი მახასიათებელი არის ესთეტიურობა, მაღალი პოტენციალი პაროდონტის ქსოვილების დარღვეული მიმაგრების სრულყოფილი რეგენერაციისა და ამავდროულად არ არის საჭირო მეორე დონორი მიდამო .

ღრმის რეცესიის აღსადგენად, ქსოვილების მიზანმიმართული რეგენერაციის მეთოდის ეფექტურობისათვის მნიშვნელოვანი როლი ენიჭება ბარიერული მემბრანების გამოყენებას. გაშიშვლებული ფესვის დაფარვის მიზნით შემოთავაზებულია სხვადასხვა სახის რეზორბირებადი და არარეზორბირებადი მემბრანები. აღსანიშნავია, რომ ყველაზე ხელსაყრელი შედეგები მიღებულ იქნა ბიორეზორბირებადი მემბრანების გამოყენებით.

არარეზორბირებადი ბარიერული მემბრანების ძირითადი შემადგენლობა არის გაფართოებული ან მაღალი სიმკვრივის პოლიტეტრაფლუოროეთილენი (PTFE) და რკინა ტიტანი. მათ მიეკუთვნება :

- Cytoplast GBR-200, Cytoplast Ti-250, Cytoplast TXT-200 (Osteogenics Biomedical, Inc.),
- Gor- Tex , Gor- Tex –TI,(W.L. Gore აშშ.),
- Tocksystem Mesh (Tocksystem Italy),
- Frios Boneshields (Densplay Friadent, Germany).

რაც შეეხება რეზორბირებად მემბრანებს ისინი თავის მხრივ იყოფა სინთეზურ და ბიოლოგიურ რეზორბირებად მემბრანებად.

სინთეზური რეზორბირებადი მემბრანები ძირითადად შედგება პოლიესთერების (პოლი (გლიკოლის მჟავა PGA), პოლი(რძემჟავა PLA))და მათი კო-პილიმერებისაგან. მათ მიეკუთვნება:

- OsseoQuest (W. L. Gore & Associates, Inc., USA),
- Vicryl (Johnson & Johnson, USA),
- EpiGuide (Kensey Nash corporation, USA).

ბიოლოგიური რეზორბირებადი მემბრანები შეიძლება იყოს ალოგენური ან ქსენოგენური და მის შემადგენლობაში შედის კოლაგენი. მათ მიეკუთვნება:

- Bio-Gide (Osteohealth Company, SUI),
- Bio-mend (Zimmer, USA)
- Biosorb membrane (3M ESPE, USA).

ასევე ბიოლოგიურ რეზორბირებად მემბრანებში განსაკუთრებით აღსანიშნავია ადამიანის ამნიონური მემბრანები, მაგალითად AmbioDisk Ambio 2 და Ambio 5(IOP Ophthalmics USA), ისინი ბოლო წლებში განსაკუთრებული პოპულარულობით გამოირჩევიან მედიცინის სხვადასხვა დარგში, განსაკუთრებით ოფთალმოლოგიასა და სტომატოლოგიურ პრაქტიკაში.

დაზიანებული კანის აღსადგენად ამნიონური მემბრანის წარმატებით გამოყენების პირველი მონაცემები ჯერ კიდევ 1910 წელს იყო აღწერილი. ამ მემბრანების მიღება ხდება ადამიანის პლაცენტისაგან. პლაცენტა შედგება დედისეული და ნაყოფისეული ნაწილისაგან. თავის მხრივ ნაყოფისეული ნაწილი შედგება ამნიონური და ქორიონული ნაწილისგან, სწორედ მათგან მზადდება ადამიანის ამნიონური მემბრანა.

ნაყოფისეული ამნიონური მემბრანა თავის მხრივ შედგება ერთშრიანი ეპითელიუმის, სქელი ბაზალური მემბრანის და არა ვასკულარიზებული სტრომისაგან. ამნიონური მემბრანა არ შეიცავს სისხლძარღვებს და ნერვებს. ბაზალური მემბრანა ერთადერთი შრეა რომელშიც შეგვიძლია ვნახოთ ადამიანისათვის დამახასიათებელი ყველა უჯრედი, მათ შორის III, IV, V ტიპის კოლაგენი, ლამინინი და ფიბრონექტინი. ასევე ქვედა შრეებშიც გვხვდება სხვადასხვა ტიპის კოლაგენი(Z. Kakabadze et al. 2016). ამნიონური მემბრანის ბაზალური შრე შემადგენლობით ძალიან გავს ადამიანის სხეულის სხვა ნაწილების ბაზალურ შრეს, მაგალითად როგორცაა კონიუქტივა და ღრძილი(Karalashvili et al. 2015). ბაზალური შრე ასევე შეიცავს დიდი რაოდენობით

პროტეოგლიკანებს, მაგალითად როგორცაა ჰეპარინ სულფატი, რომელიც ღრძილის ქსოვილებში ერთ ერთი ძირითადი პროტეოგლიკანია.

ამნიონის ეპითელიუმს აქვს სპეციალიზირებული მოწყობილობა უჯრედშიდა ციტოსკელეტარული ძაფებისა, როგორებიცაა აქტინი, სპექტრინი, ციტოკერატინი, ვიმენტინი, დესმოპლაკინი და α -აქტინინი. დაზიანებული ქსოვილების აღდგენის პროცესში მათ მნიშვნეოვანი როლი აქვთ სტრუქტურული მთლიანობისა და უჯრედების ფორმის მოდულაციაში.

ადამიანის ამნიონურ მემბრანას ეს ყველაფერი ხდის იდეალურ გადამზიდად *ex vivo* უჯრედების კულტივაციისათვის. საკმაოდ მნიშვნელოვანია ადამიანის ამნიონური მემბრანის განსაკუთრებული თვისებების შენარჩუნებული იყოს დეცელულარიზაციის შემდეგაც.

ლიტერატურული მონაცემებით არსებობს კოლაგენური ბარიერული მემბრანის მიღების სხვადასხვა მეთოდები. დღეისათვის ადამიანის ამნიონისაგან კოლაგენური ბარიერული მემბრანის მისაღებად ყველაზე ეფექტურ პროცედურას წარმოადგენს დეცელულარიზაციის მეთოდი.

ქსოვილების დეცელულარიზაციისათვის გამოიყენება სხვადასხვა დეტერგენტები. მაგალითად, WILSHAW ET AL მიერ ადამიანის ამნიონური მემბრანის დეცელულარიზაციისათვის მოწოდებული იქნა შემდეგ პროტოკოლი: 4 °C -ზე 16 საათის განმავლობაში ამნიონური მემბრანას ათავსებდნენ ჰიპოტონურ tris ბუფერში (10mM Tris; pH 8.0; Sigma-Aldrich, Poole, UK), რომელიც შეიცავდა პროტეაზას ინჰიბიტორებს ეთამინ-დიამინ-ტეტრა ძმარმჟავას (EDTA; 0.1% w/v; Sigma-Aldrich) და აპროტინინს (10 KIU/mL; NHS Pharmacy, Leeds, UK). ამის შემდეგ ამნიონური მემბრანა გადაჰქონდათ 0,03% ნატრიუმის დოდეცილ სულფატში (SDS; Sigma-Aldrich), რომელიც განზავებული იყო ეთამინ-დიამინ-ტეტრა ძმარმჟავას (EDTA; 0.1% w/v; Sigma-Aldrich) და აპროტინინს (10 KIU/mL; NHS Pharmacy, Leeds, UK) შემცველ tris ბუფერში (TBS) და ათავსებდნენ შეიკერზე, 25 °C 24 საათის

განმავლობაში. ამის შემდეგ კვლავ თავსდება SDS-ში და სამჯერ ირეცხებოდა TBS (pH 7.6) რომელიც ამ შემთხვევაში აღარ შეიცავდა პროტეაზას ინჰიბიტორებს.

TBS გარეცხვის შემდეგ 37°C 3 საათის განმავლობაში ხდებოდა ამნიონური მემბრანის ინკუბაცია DNase (50 U/mL; Sigma-Aldrich) და RNase (1 U/mL; Sigma-Aldrich) Tris-HCl ბუფერში (50mM Tris-HCl [Sigma-Aldrich], რომელიც შეიცავდა 10mM მაგნიუმის ქლორიდს [Sigma-Aldrich], და 50 mg/mL მსხვილფეხა რქოსანი საქონლის ალბუმინს [BSA, Sigma-Aldrich]).

კვლავ სამჯერ ხდებოდა ქსოვილების გარეცხვა TBS და საბოლოო სტერილიზაციისათვის მათ თავსდებდნენ წყალბადის ზეჟანგის 0,1% ხსნარში, რომელიც განზავებული იყო PBS-ში (PBS არ შეიცავდა მაგნიუმსა და კალიუმს; pH 7.2–7.4) 25°C 3 საათის განმავლობაში. სტერილიზაციის შემდეგ ამნიონური მემბრანა საბოლოოდ სამჯერადად ირეცხებოდა TBS (Wilshaw et al. 2008)(Z. Kakabadze et al. 2016).

Khorrampirouz R ET AL მიერ აორტის დეცელულარიზაციისათვის შერჩეული იყო სამი სხვადასხვა მეთოდი და მოახდინეს მათი შედარებითი ანალიზი. პირველი მეთოდი იყო დეტერგენტებზე დაფუძნებული (1% SDS+1% SDC), მეორე მეთოდი მსგავსად ზემოთ აღწერილისა დაფუძნებული იყო დეტერგენტებზე და ენზიმებზე (Triton+EDTA+RNase and DNase) და მესამე მეთოდი, მხოლოდ ენზიმებზე (Trypsin+RNase and DNase) (Khorrampirouz et al. 2014).

გამოკვებებმა აჩვენა, რომ სამივე მეთოდით მიღწეული იქნა დადებითი შედეგები, თუმცა ამათგან საუკეთესო შედეგით გამოირჩეოდა მეთოდი, რომელიც დაფუძნებული იყო დეტერგენტებზე. ამ დროს მოხდა აორტის სრული განთავისუფლება უჯრედებისაგან და დარჩა მხოლოდ ექსტრაცელულარული მატრიქსი, რომელიც შეიცავდა კოლაგენს.

დღეისათვის ყბა-სახის ქირურგიაში ბარიერული ემბრანების ეფექტური გამოყენებისათვის, ისინი უნდა აკმაყოფილებდნენ იდეალური ბარიერული მემბრანებისათვის წაყენებულ გარკვეულ მოთხოვნებს: იყოს ბიოლოგიურად

უსაფრთხო და ბიოშეთავსებადი, შექმნას სივრცე, ჰქონდეს მექანიკური სიმტკიცე და სტაბილურობა (Oa et al. 2014).

მრავალი კვლევებით დამტკიცდა, რომ დეცელულარიზირებული ადამიანის ამნიონური მემბრანა გარდა იმისა, რომ წარმოადგენს ექსტრაცელულურ კოლაგენურ მატრიქსს, ასევე აკლმაყოფილებს იდეალური ბარიერული მემბრანისთვის წაყენებულ ყველა ზემოთ აღნიშნულ მოთხოვნებს და ეფექტურად შეილება იქნას გამოყენებული სტომატოლოგიურ პრაქტიკაში.

ამ მოთხოვნებიდან გამომდინარე შეგვიძლია ვისაუბროთ რეზორბირებადი და არარეზორბირებადი ბარიერული მემბრანების დადებით და უარყოფით მხარეებზე.

არარეზორბირებადი ბარიერული მემბრანების დადებითი თვისებებია:

- ბიოლოგიური შეთავსებადობა,
- სიმტკიცე
- ხანგრძლივი პერიოდის განმავლობაში შეუძლია შექმნას სივრცე,
- ასევე კლინიკურ პრაქტიკაში მარტივად მოსახმარია [88].

თუ მკურნალობისათვის გამოვიყენებთ არარეზორბირებად ბარიერულ მემბრანებს საჭირო გახდება მეორე ქირურგიული ოპერაციის ჩატარება მათ ამოსაღებად, რაც ამ მეთოდის უარყოფით მხარეს წარმოადგენს, ამავდროულად იგი საკმაოდ ძვირი პროცედურაა (Gentile et al. 2011).

რაც შეეხება რეზორბირებადი მემბრანების დადებით მხარეებს ისინი სრულად აკლმაყოფილებენ ბარიერული მემბრანებისათვის წაყენებულ მოთხოვნებს. რეზორბირებადი მემბრანების ნაკლად შეიძლება ჩაითვალოს ჩვენს მიერ არამართვადი რეზორბციის პროცესი. თუმცა მათი ეს განსაკუთრებული თვისება თავიდან გვარიდებს განმეორებით ქირურგიულ ჩარევას.

აღნიშნული უარყოფითი მხარეების გამო მუდმივად მიმდინარეობს ღრძილის რეცესიის სამკუნალოდ ახალი, უფრო დახვეწილი მეთოდების შემუშავება რასაც ხელს უწყობს ბიოინჟინერიის განვითარება.

ჩატარებულმა ლიტერატურულმა ანალიზმა გვიჩვენა, რომ ღრძილის რეცესია საკმაოდ გავრეცეხული დაავადებაა. 20 წელზე ზემოთ მყოფი პირების საშუალოდ 30% აღნიშნება ღრძილის რეცესიის ერთ-ერთი კლასი მაინც. თანამედროვე მკურნალობის, როგორც კონსერვატიული ასევე ქირურგიული მეთოდებით მიღწეული დადებითი შედეგები გარკვეულ შემთხვევებში არასტაბილურია. შესაბამისად ეს მეთოდები ვერ აკმაყოფილებს, როგორც კლინიცისტების ასევე პაციენტების მოთხოვნებს. ამიტომ საჭიროა ახალი უფრო ეფექტური მკურნალობის მეთოდის შემუშავება.

კვლევებით დადგინდა, რომ ვირთაგვის პირის ღრუს რბილი და მაგარი ქსოვილების მორფოლოგიური თავისებურება საშუალებას გვაძლევს შეიქმნას კლინიკურ პირობებთან მაქსიმალურად მიახლოებული ღრძილის რეცესიის მოდელი. რაც საშუალებას გვაძლევს შევიმუშავოთ ღრძილის რეცესიის მკურნალობის ახალი მეთოდები და შევისწავლოთ მათი ეფექტურობა ექსპერიმენტში ცხოველებზე.

ვიმედოვნებთ, რომ ჩვენს მიერ ადამიანის ამნიონიდან მიღებული დეცელულარიზირებული მემბრანა სრულად დააკმაყოფილებს კოლაგენური მემბრანებისათვის წაყენებუ მოთხოვნებს. მისი გამოყენება კლინიკურ პრაქტიკაში ძვლის ტვინის ღეროვან უჯრედებთან ერთად ეფექტური იქნება ღრძილის რეცესიის აღსადგენად.

თავი 2.3 კვლევის მეთოდოლოგია, მეთოდიკა, მეთოდები

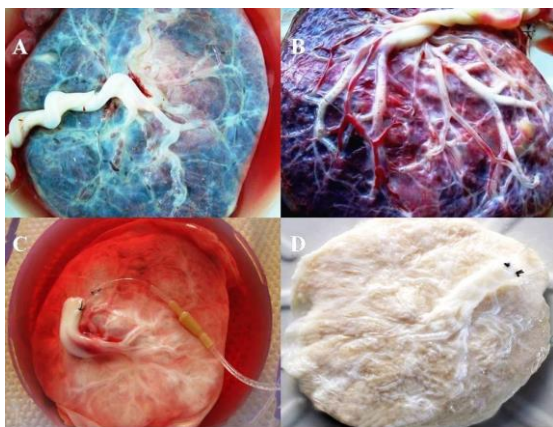
კვლევის პირველ ეტაპზე მიზნად დავისახეთ ადამიანის ამნიონური მემბრანისაგან სამგანზომილებიანი მატრიქსის შექმნა.

2. 3.1 ადამიანის დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანისაგან სამგანზომილებიანი მატრიქსის შექმნის მეთოდი

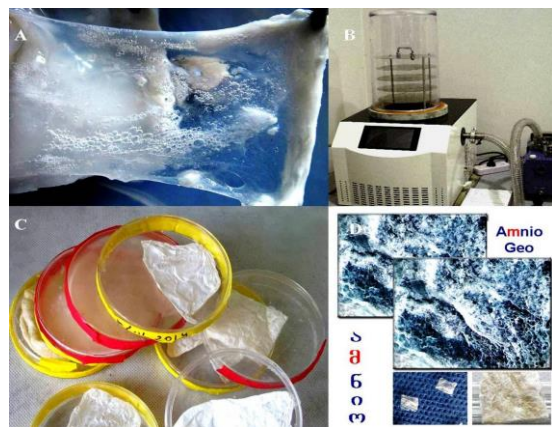
ამნიონური მემბრანის მისაღებად გამოყენებული იყო 3 სრულვადიანი პლაცენტა. დონორები იყვნენ ჯანმრთელი ორსული ქალები რომელთაც ხელი მოაწერეს ინფორმირებულ თანხმობის ფორმას და შეეძინათ ჯანმრთელი ახალშობილები წონით 2300-3900გრ. კვლევა დამტკიცებული იყო საქართველოს ეროვნული ინსტიტუტის სამედიცინო კვლევის ეთიკური კომიტეტის მიერ. პლაცენტის მიღებისთანავე მოხდა მისი პირველადი დამუშავება გამდინარე ონკანის წყლით (სურ.3A). ამის შემდეგ პლაცენტა მოთავსდა სპეციალურ ბიქსში და გადაიგზავნა კვლევით ლაბორატორიაში, სადაც პლაცენტის ქორიონული ზედაპირიდან 10 სანტიმეტრზე მოიკვეთა ჭიპლარი და ჭიპლარის ორივე არტერიაში შეყვანილ იქნა პოლიეთილენის კათეტერები, რომლებიც დაფიქსირდა აბრეშუმის ორი ლიგატურით. ანალოგიურად მოხდა ჭიპლარის ვენის კათეტერიზაცია. პლაცენტის სისხლისა და მისი ელემენტებისაგან განთავისუფლებისათვის ხორციელდებოდა ჰეპარინიზირებული 0,9%-იანი ფიზიოლოგიური ხსნარის პერფუზია, 30 წუთის განმავლობაში, ჭიპლარის არტერიებში შეყვანილი კათეტერებიდან (სურ.3B). შემდეგ პლაცენტა თავსდებოდა მაცივარში -80°C , 12 საათის განმავლობაში. კვლავ 12 საათის განმავლობაში $+4^{\circ}\text{C}$ მოხდა პლაცენტის გამოღობა და ამის შემდეგ პლაცენტის პერფუზია განხორციელდა ნატრიუმის დოდეცილ სულფატის (SDS - SIGMA) ხსნარით 72 საათის განმავლობაში. პირველი 24 საათის განმავლობაში გამოიყენებოდა 0,01 %-იანი SDS . ამის შემდეგ გამოიყენებულ იქნა 0,1% და 1%-იანი SDS -ის ხსნარი (24-24 საათი) (სურ. 3C). SDS-ის ხსნარით პერფუზიის შემდეგ პლაცენტა ირეცხებოდა 1%-იანი ტრიტონ X 100-

ით (SIGMA) 3 საათის განმავლობაში და ამის შემდეგ ფოსფატ ბუფერის ხსნარით (PBS - SIGMA) (სურ. 3D).

დეცელულარიზაციის პროცესის დასრულების შემდეგ ხდებოდა ამნიონური მემბრანის პლაცენტისაგან გამოცალკევება (სურ. 4A) და დაჭრა 3x4 სმ ზომის ფირფიტებად. მიღებული მემბრანის ფირფიტები თავსდებოდა ლიოფილიზაციის აპარატში “Power Dry PL 6000 Freeze Dryers” (Heto Labware) (სურ. 4B). ლიოფილიზაციის შემდეგ მემბრანები თავსდებოდა სტერილულ შეფუთვაში, ხდებოდა მათი მარკირება და ინახებოდა გამოყენებამდე (სურ. 4 C, D).



სურათი 3. ადამიანის პლაცენტის დეცელულარიზაციის პროცესი. A- ნატიური პლაცენტა, B-პლაცენტის სისხლისა და მისი ელემენტებისაგან განთავისუფლება, C-პლაცენტის დეცელულარიზაცია SDS გამოყენებით 48 სთ შემდეგ, D- დეცელულარიზირებული პლაცენტა.



სურათი 4. დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის ლიოფილიზაცია. A-დეცელუ-ლარიზირებული ამნიონური მემბრანა, B- დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანა მოთავსებულია ლიოფილიზაციის აპარატში, C, D ლიოფილიზირებული ამნიონური მემბრანა სტერილულარ შეფუთული და მარკირებული.

2.3.2 ადამიანის დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის ბიოშეთავსებადობის განსაზღვრა

ადამიანის დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის ბიოშეთავსებადობის განსაზღვრას ვანხორციელებდით ექსპერეს მეთოდით, რომელიც აპრობირებული და ადაპტირებულია სამედიცინო მასალისათვის, რათა განისაზღვროს ბიოშეთავსებადობა და ტოქსიკურობა. ძირითადი ყურადღება მიმართულია ორგანიზმში არსებულ ლიმფოიდურ ქსოვილზე და მის რეაქციაზე ბიოლოგიური იმპლანტების ორგანიზმში მოთავსების შემდეგ.

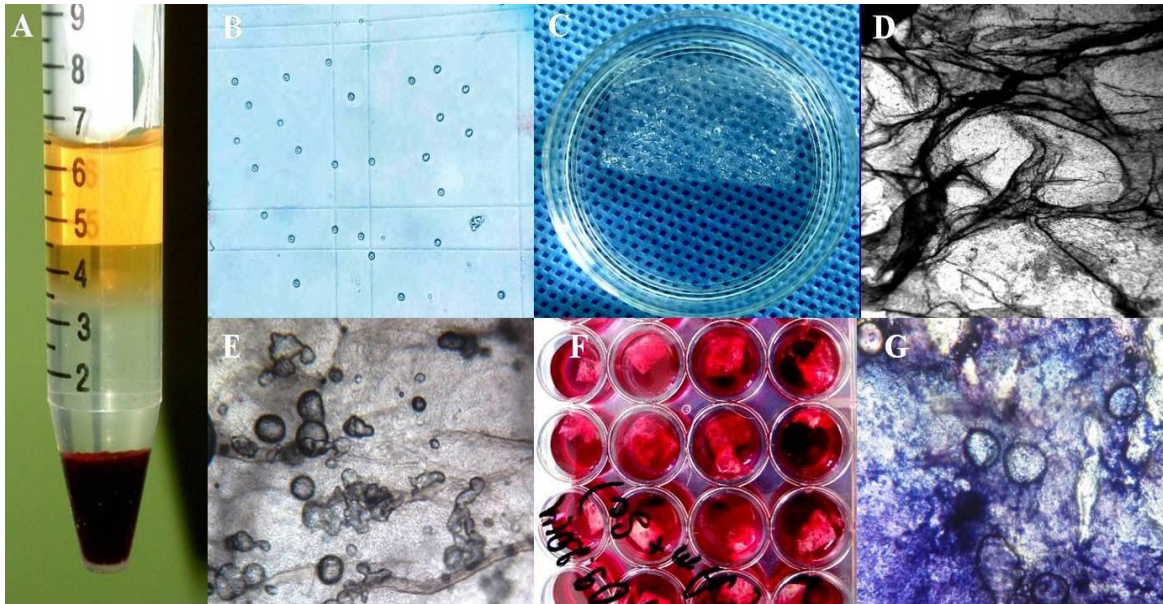
ამისათვის გამოყენებული იყო ლევისის ხაზის ორივე სქესის 8 თეთრი ლაბორატორიული ვირთაგვა, რომლებიც დაიყო ორ ჯგუფად. ყველა ცხოველს ზოგადი გაუტკივარების პირობებში მუცლის წინა გვერდით კედელზე ექმნებოდა 3 სმ ზომის ჭრილობა. იკვეთებოდა შრეობრივად კანი და კანქვეშა ცხიმოვანი ქსოვილი. მუცის წინა გვერდითი კედლის კუნთების გაშრევების შემდეგ პირველი ჯგუფის ცხოველებში (n=4) ჭრილობა იხურებოდა ყრუდ და წაროდგენდნენ საკონტროლო ჯგუფს. მეორე ჯგუფის ცხოველებში (n=4) კუნთოვან მასაში შექმნილ ჯიბეში თავსდებოდა დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანა ზომით 1x1სმ. ჭრილობა იხურებოდა ყრუდ. ყველა ცხოველი იმყოფებოდა დაკვირვების ქვეს ვივარიუმის სტანდარტულ პირობებში და გამოგვყავდა ცდიდან ოპერაციიდან 14 და 30 დღის შემდეგ.

აუტოპსიაზე ვაწარმოებდით ლიმფური კვანძის რეზექციას და მათ ციტოლოგიურ ანალიზს. ანაბეჭდები იღებებოდა სტანდარტული ხსნარებით, როგორცაა მაი-გრუნვალდი და აზურ - ეოზინი. გამოყენებული იყო იმერსიული მიკროსკოპია და ითვლებოდა ისეთი იმუნოკომპეტენტური უჯრედები როგორც არის ლიმფოციტები, ბლასტური, რეტიკულური და პლაზმური უჯრედები, ასევე ითვლებოდა მიტოზის რაოდენობა.

2. 3. 3 ძვლის ტვინიდან ღეროვანი უჯრედების მიღებისა და ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანის შექმნის მეთოდი

ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების მისაღებად გამოყენებულ იქნა Inbred Lewis ხაზის ვირთაგვები. ცხოველებში საანესთეზიო საშუალების (ეტამინალ ნატრიუმი) ლეტალური დოზის შეყვანის შემდეგ, ხორციელდებოდა ცხოველის სპირტით დამუშავება და უკანა კიდურების ამპუტაცია. ამპუტირებული კიდურები თავსდებოდა სპირტის 70%-იან ხსნარში შემდგომ დამუშავებამდე. ამის შემდეგ ხორციელდებოდა სკალპელის მეშვეობით კიდურების განთავისუფლება კუნთებისაგან და წვივის და ბარძაყის ძვლის სეპარაცია. გამოცალკევებულ ბარძაყის ძვალს ვაცილებდით ეპიფიზს. დიაფიზში შეგვყავდა ნემსი და ხორციელდებოდა მედულარული არხის გამორეცხვა ციტრატით, EDTA და Dullbeco-ს ხსნარით. ძვლის ტვინის ასპირაციის შემდეგ მისი დისოციაცია ხდებოდა 18 გ ნემსით, მრავალჯერადი ინსპირაცია-ასპირაციის გზით. მიღებული უჯრედული მასა თავსდებოდა ორ ერთნაირ ტუბში და ხდებოდა Dullbeco-ს ხსნარის დამატება, ისე რომ საერთო მოცულობა ყოფილიყო 10,5მლ. ამის შემდეგ ვიღებდით ახალ ტუბს, რომელშიც მოთავსებული იყო 4,5მლ Ficals ხსნარი და მას ემატებოდა Dullbeco-ს ხსნარში განზავებული უჯრედული მასა. ცენტრიფუგირება მიმდინარეობდა 35 წუთის განმავლობაში 400 x g სიჩქარით, 4°C. ამის შემდგომ ყველა პროცედურა მიმდინარეობდა გრადიენტული მეთოდის პროტოკოლის მიხედვით (სურ. 5 A). იზოლირებული ღეროვანი უჯრედების ნაწილი მოთავსდა ნეუბაუერის კამერაში და მიკროსკოპის ქვეშ ხორციელდებოდა უჯრედული გამოსავლისა და მათი სიცოცხლის უნარიანობის განსზღვრა ტრიპან ლურჯის გამოყენებით (სურ. 5 B). უჯრედების მეორე ნაწილი ($2,5 \times 10^6$ უჯრედი) თავსდებოდა რეჰიდრირებულ დეცელულარიზირებულ ამნიონურ მატრიქსზე (სურ.5 C,D,E), რომელიც მოთავსებული იყო 75სმ² სინჯარაში (Orange Scientific, Belgium). უჯრედების კვებისათვის გამოყენებული იყო Dulbecco's მოდიფიცირებული Eagle's მედიუმი (DMEM) და დაემატა 10% ხბოს ფეტალური შრატის (FCS), 50 U/ml პენიცილინი და 0,05მგ/მლ სტრეპტომიცინი და ხდებოდა

ინკუბაცია 5% CO₂ ატმოსფეროთი 37 °C (სურ. 5 F). საკვები ნიადაგი იცვლებოდა ყოველ მესამე დღეს. 6 დღის შემდეგ მიღებული ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანა (სურ. 5 G). მზად იყო ტრანსპლანტაციისათვის.



სურათი 5. ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების იზოლაცია და დასმა დეცელულარიზირებულ ამნიონურ მემბრანაზე. A- ღეროვანი უჯრედების იზოლაცია გრადიენტული მეთოდით, B-ღეროვანი უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობის განსზღვრა ტრიპან ლურჯის გამოყენებით, C-ლიოფილიზირებული დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის რეჰიდრატაციის პროცესი, D-რეჰიდრირებული ამნიონური მემბრანა ინვენტირებული მიკროსკოპის ქვეშ X 200; E- ღეროვანი უჯრედები დასმული ამნიონურ მემბრანაზე ინვენტირებული მიკროსკოპის ქვეშ X400, F-ღეროვანი უჯრედების და ადამიანის დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის კო-კულტივაცია CO₂ ინკუბატორში, G-6 დღის შემდეგ მიღებული ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანა ინვენტირებული მიკროსკოპის ქვეშ X400.

2.3.4. ადამიანის დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის დნმ-ის განსაზღვრა

დნმ ამნიონური მემბრანიდან გამოყოფილი იყო სტანდარტული მეთოდით , რომლისთვისაც გამოყენებული იყო კომერციული მოპოვების ნაკრების გამოყენებით (G-spin Kit; iNtRON Biotechnology). მთლიანი დნმ-ი განისაზღვრა სპექტოფოტომეტრზე (NanoDrop 1000; Thermo Fisher Scientific) (260ნმ ტალღის სიგრძეზე. ყველა ნიმუში ნორმალიზდებოდა ადამიანის ამნიონის მშრალ წონზე.

2.3.5 ბიოლოგიურდ აქტიური მემბრანის გენების ექსპრესიის ანალიზი

ამნიონური მემბრანიდან მთლიანი რნმ გაწმენდილი იყო miRNeasy მინი ნაკრების გამოყენებით, მწარმოებლის ინსტრუქციის სრული დაცვით (Qiagen). cDNA სინთეზირდა iScript cDNA synthesis Kit-ის (BioRad) გამოყენებით. Q-PCR iTaq უნივერსალური SYBR მწვანე სუპერმიქსით (BioRad) 7,500 სწრაფი Real-Time PCR სისტემის (Life Technologies) გამოყენებით. 18S rRNA გამოიყენებოდა როგორც შიდა კონტროლი, გენის ექსპრესიის ნორმალიზაციისათვის.

2.3.6 ადამიანის დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის სკანირებული ელექტრო მიკროსკოპია (SEM) და მიკრორეტგენოსპექტრალური ანალიზი

ელექტრონულ მიკროსკოპული კვლევა მიმდინარეობდა იაპონური კომპანია JEOL-ის მასკანირებელი ელექტრონული მიკროსკოპის JSM-6510LV გამოყენებით, რომელიც აღჭურვილი იყო ინგლისური კომპანია Oxford Instrument -ის X-MaxN 20 ტიპის ენერგოდისპერსიული მიკრორეტგენოსპექტრალური ანალიზატორით. ელექტრონული მიკროფოტოგრაფიების მიღება წარმოებდა 20 კვ ამაჩქარებელ ძაბვაზე, როგორც არეკვლილ (BEC) ასევე მეორად (SEI) ელექტრონებისსაშუალებით. სამუშაო მანძილი 15 მმ ფარგლებში იყო. ელექტრონული მიკროფოტოგრაფიების გადაღება წარმოებდა სხვადასხვა გადიდებებზე. მიკრორენტგენოსპექტრალური ანალიზი ტარდებოდა ნიმუშის როგორც წერტოლოვანი არედან ასევე მისი ზედაპირის გარკვეული ფართიდან.

ვინაიდან საკვლევი ნიმუშები არაგამტარია, ხარისხოვანი სურათების მისაღებად საჭირო იყო მათი ზედაპირების ოქროს თხელი ფენით, ათ ნანომეტრამდე სისქის, დაფარვა. ოქროთი დაფარვა წარმოებდა ვაკუუმური დაფარვის დანადგარის JEC-300FC გამოყენებით. ამიტომაც სპექტრალური ანალიზის დროს ნიმუშის შემადგენელ ელემენტთა პიკებთან ერთად ოქროს პიკებიც დაიმზივრება, რაც ცხადია ანალიზის დროს უნდა გამოირიცხოს. ამის გამო ეს პიკები შესაბამის სპექტრებზე არ არის იდენტიფიცირებული.

2. 3. 7 ვირთაგვის პირის ღრუს ანატომიური თავისებურებების შესწავლა

თაგვებში ღრძილის რეცესიის მოდელის შექმნამდე მოხდა მათი პირის ღრუს ანატომიური თავისებურებების შესწავლა. ამისათვის გამოყენებული იყო ისეთი ანატომიური კვლევის მეთოდები, როგორც არის რბილი ქსოვილების შრეობრივი დისექცია, სისხლძარღვებში ფერადი და რენტგენოკონტრასტული საღებავების ინექცია, სისხლძარღვების ტრანსილუმინაცია კაპილარული ქსელის განსაზღვრის მიზნით. ასევე მოხდა პირის ღრუს რბილი ქსოვილების მორფომეტრიული შესწავლა.

2.3.8 სისხლძარღვების ტრანსილუმინაციის ტექნიკა

ზოგადი გაუტკივარების პრობებში ცხოველებს უტარდებოდათ ლაპარატომია და აორტასა და ქვემო ღრუ ვენაში შეგვყავდა პოლიეთილენის კათეტერები, რომლებსაც ვაფიქსირებდით ლიგატურით. აორტაში შეგვყავდა წითელი ფერის ლატექსი (NAIRIT-L3), ქვემო ღრუ ვენაში კი ლურჯი ფერის. საკონტრასტო მასით ღრძილის სისხლძარღვების გაჯერება კონტროლდებოდა საოპერაციო მიკროსკოპის ქვეშ (ZEISS). მათი ვიზუალიზაციის შემდეგ განხორციელდა ღრძილის დეფექტიდან ქსოვილების ამოკვეთა და განთავსება ორ სასაგნე მინას შორის. მიღებული მასალის ტრანსილუმინაცია განხორციელდა სტერეოსკოპული მიკროსკოპით MBS-9 LOMO (რუსეთი), ჰალოგენური სინათლის წყაროს OS-100 (რუსეთი) ოპტიკურ ბოჭკოვანი განათების გამოყენებით.

2.3.9 დეცელულარიზირებული ძვლოვანი გრაფტი Geo-Oss-გან ძვლოვანი ფხვნილის მიღების მეთოდი

ლიტერატურული კვლევის საფუძველზე ცნობილია, რომ მილერის კლასიფიკაციით ღრძილის რეცესიის კლასი IV დროს ხდება ძვლის რეზორბცია. იმ შემთხვევაში თუ რეცესიის მოდელირებისას ცხოველებს განუვითარდებოდათ კლასი IV მიზანშეწონილად ჩაითვალა ძვლის ფხვნილის **Geo-Oss-ის** გამოყენება. 2017 წელს ჩვემს მიერ ჟურნალ “Oncology Letter” გამოქვეყნდა ნაშრომი “ ქვედა ყბის დეფექტის რეკონსტრუქცია აუტოლოგიური ძვლისა და დეცელულარიზირებული მსხვილფეხა რქოსანი საქონლის ძვლოვანი გრაფტით ძვლის ტვინის დეროვანი უჯრედების პარაკრინულ ფაქტორებთან ერთად”, სადაც დეტალურად განხილული არის **Geo-Oss** ძვლოვანი გრაფტის მიღების მეთოდი (A. Kakabadze et al. 2017). **Geo-Oss** წარმოადგენს ნატურალური ძვლის მინერალს, რომელიც მიიღება მსხვილფეხა რქოსანი პირუტყვის ძვლის ქსოვილებიდან. იგი ოსტეოკონდუქტიური სტრუქტურის მქონე მაღალი ხარისხის სიწმინდის მინერალია, რომელიც მიიღება ნატურალური ძვლისაგან მრავალსაფეხურიანი გაწმენდის სტადიის შედეგად. ძვლის ფხვნილის მისაღებად გამოვიყენეთ ზემოთ აღნიშნული ძვლოვანი გრაფტი (სურ. 6).



სურათი 6. Geo-Oss-ის ძვლოვანი გრაფტისგან მიღებული ძვლის ფხვნილი

2. 3. 10 ღრძილის რეცესიის მოდელირება

კვლევის მეორე ეტაპზე მიზნად დავისახეთ ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანის ეფექტურობის დადგენა ღრძილის რეცესიის მოდელის პირობებში.

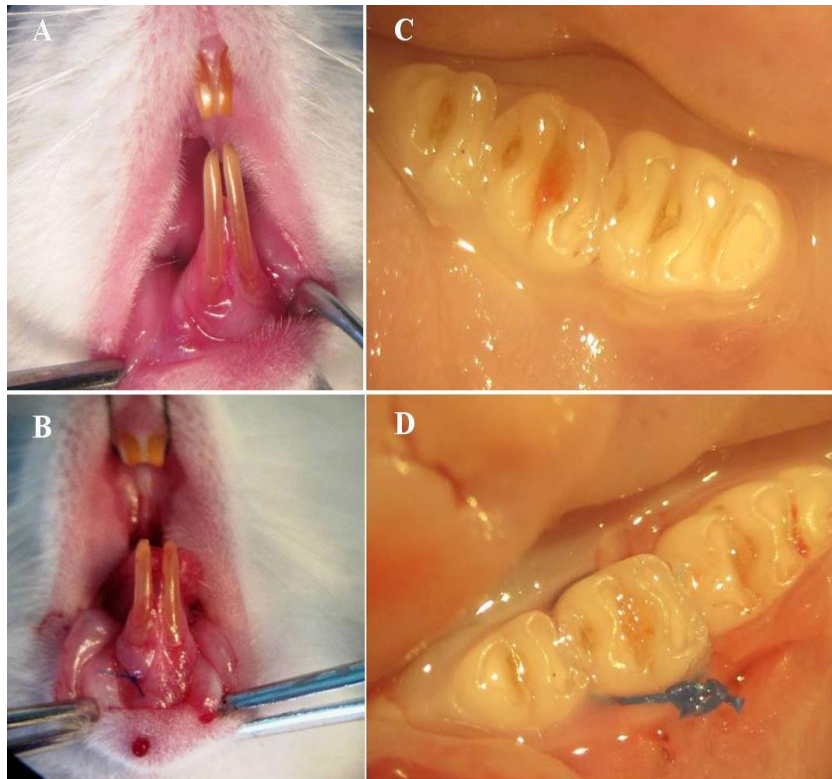
ანატომიური კვლევის საფუძველზე ღრძილის რეცესიის მოდელირებისათვის შერჩეულ იქნა ორივე სქესის Lewis-ის ხაზის 50 თეთრი ლაბორატორიული ვირთაგვა, 8-10 კვირის ასაკის და 200-250გრ მასით. ცხოველები მიღებული იყო თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის ცხოველთა დაწესებულებიდან და გამოყენებულ იქნა როგორც დონორებად, ისე რეციპიენტებად.

ექსპერიმენტის ოქმები და ცხოველთა გამოყენება დამტკიცებული იყო ცხოველთა დაცვის ინსტიტუტის კომიტეტის მიერ. ყველა ოპერაცია მიმდინარეობდა ინტრააბდომინალური ანესთეზიის ქვეშ, ეტამინალ-ნატრიუმის გამოყენებით (30მგ/კგ), ასეპტიკისა და ანტისეპტიკის დაცვის პირობებში.

ცხოველები დაიყო 5 ექვივალენტურ ჯგუფად, თითო ჯგუფში 10 ცხოველი. ღრძილის რეცესიის შესაქმნელად ყველა ჯგუფის ცხოველებს წინასწარ ედებოდათ ლიგატურა (5.0 Ethicon) ქვედა ყბის მეორე მოლარისა და საჭრელების ღრძილის სუბმარგინალურ პროექციაში (სურ.7). ღრძილის რეცესიის კლინიკური ნიშნების გამოვლენის შემდეგ ვახდენდით ლიგატურის მოშორებას.

ყველა ცხოველს ლიგირების შემდგომ ჩამოუყალიბდათ მილერის კლასიფიკაციით ღრძილის რეცესიის კლასი IV. პირველი ჯგუფის ცხოველები (n=10) წარმოადგენდნენ საკონტროლო ჯგუფს და იმყოფებოდნენ დაკვირვების ქვეშ მკურნალობის გარეშე, მეორე ჯგუფის ცხოველებში (n=10) რეცესიული უბანი იფარებოდა ჩვენს მიერ შექმნილი ადამინის დეცელულარიზირებული ამნიონური სამგანზომილებიანი მემბრანით. მესამე ჯგუფის ცხოველებში (n=10) რეცესიული უბანი ივსბოდა Geo-Oss-ის ძვლოვანი ფხვნილით და იფარებოდა დეცელულარიზირებული ამნიონური სამგანზომილებიანი მემბრანით. მეოთხე ჯგუფის ცხოველებში (n=10) რეცესიული უბანი იფარებოდა ჩვენს მიერ შექმნილი

ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანით, მეხუთე ჯგუფის ცხოველებში (n=10) რეცესიული უბანი ივსებოდა Geo-Oss-ის ძვლის ფხვნილით და იფარებოდა ჩვენს მიერ შექმნილი ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანით (ცხრილი 1).



სურათი 7. ღრძილის რეცესიის მოდელირება. A-ქვედა ყბის საჭრელი კბილი და ღრძილი ნორმაში; B- ლიგირების შემდეგ; C- ქვედა ყბის მეორე მოლარი და მისი რბლი ქოვიები ნორმაში; D- ლიგირების შემდგომ.

ცხრილი 1. ოპერაქციული ჩარევის სახეები, საცდელი ცხოველების ჯგუფები და რაოდენობა

საცდელი ცხოველების ჯგუფები	საცდელი ცხოველების რაოდენობა	ოპერაქციული ჩარევის სახეები
I	10	ღრძილის რეცესიის მოდელირება. საკონტროლო ჯგუფი მკურნალობის გარეშე
II	10	ღრძილის რეცესიის მოდელირება. რეცესიული უბანი იფარებოდა ადამინის დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანით.
III	10	ღრძილის რეცესიის მოდელირება. რეცესიული უბანი იფარებოდა მოლარების რეგიონში Geo-Oss-ის ძვლოვანი ფხვნილით და იფარებოდა დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანით.
IV	10	ღრძილის რეცესიის მოდელირება. რეცესიული უბანი იფარებოდა ჩვენს მიერ შექმნილი ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანით,
V	10	ღრძილის რეცესიის მოდელირება. რეცესიული უბანი მოლარების რეგიონში იფარებოდა Geo-Oss-ის ძვლის ფხვნილით და იფარებოდა ჩვენს მიერ შექმნილი ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანით

ოპერაციის შემდეგ ყველა ცხოველი მოთავსებული იქნა ვივარიუმის სტანდარტულ პირობებში და ცდიდან გამოგვყავდა 1, 3, 5, 7, 14, 18, 25, 30 , 60, 90, 120 დღის შემდეგ.

2.3.11. მკურნალობის შემდგომ ღრძილის რეცესიის სიმაღლის ცვლილების პროცესის მათემატიკური ემპირიული მოდელი

დეფექტის შეხორცების დინამიკის შეფასებისათვის შემუშავებულ იქნა მათემატიკური ფუნქცია, რომელიც გამოქვეყნებული იყო ჩვენს მიერ 2015 წელს (Karalashvili et al. 2015). იგი აღწერს ღრძილის რეცესიის სიმაღლის ცვლილებას დროსთან დამოკიდებულებით ოპერაციის შემდეგ. ეს ფუნქცია შემდეგი სახისაა:

$$H(t) = H_0 \exp[-(t-t_0)/T]$$

სადაც $H(t)$ – არის რეცესიის სიმაღლე დროის გარკვეულ მონაკვეთში - t , რომელიც გასული იყო ლიგატურის მოცილებისა და ჭრილობის კიდეების განახლების შემდეგ, H_0 - არის რეცესიის საწყისი სიმაღლე. გარდა ამისა ფორმულაში შეყვანილ იქნა ორი პარამეტრი:

t_0 – დრო რომელიც გასული იყო რეცესიის ფორმირებიდან რეგენერაციის პროცესის დაწყებამდე და T , რომელიც ასახავს რეგენერაციის პროცესის სისწრაფეს (რაც ნაკლებია T მით სწრაფად მიდის რეგენერაციის პროცესი).

2. 3. 12 ჰისტოლოგიური და იმუნოჰისტოქიმიური კვლევის მეთოდები

ადამიანის ამნიონური მემბრანა შეწავლილ იქნა მორფოლოგიური მეთოდების გაოყენებით, როგორც ტრანსპლანტაციამდე ასევე ტრანსპლანტაციის შემდგომ.

რეცესიული უბნიდან აღებული მასალა წარმოადგენდა პაროფონტის ქსოვილების სრულ კომპლექტს. მიღებული მასალა ჰისტოლოგიური კვლევისათვის დაფიქსირდა 10% ნეიტრსლურ ფორმალინში, ჩაყალიბდა პარაფინში და დაიჭრა 5 მიკრონი სისქის ნაჭრებად. დეპარაფინიზაციისა და რეჰიდრატაციის შემდეგ ქსოვილი შეიღება ჰემატოქსილინ ეოზინით და მასონ ტრიქრომით (Bio-Optica იტალია).

იმუნოჰისტოქიმიური შედეგისათვის გამოყენებული იყო პარაფინში დაფიქსირებული 3 მიკრონი სისქის ქსოვილი. მოხდა მათი ქსილოლში

დეპარაფინიზაცია და რეჰიდრატაცია ეთანოლის კონცენტრაციის თანდათანობითი შემცირებით. ანტიგენის მოსაძებნად ხდებოდა სლაიდების ციტრატ ბუფერში (pH 6.0) ხარშვა 15 წუთის განმავლობაში. ამის შემდეგ ხორციელდებოდა ენდოგენური პეროქსიდაზას აქტივობის ბლოკირება, სლაიდების ინკუბაციით მეთანოლის შემცველ 3% წყალბადის ზეჟანგში. არასპეციფიური ბმების ბლოკირებისათვის სლაიდები თავსდებოდა 3% TBS/BSA-ში 45 წუთი და ინკუბაცია ხდებოდა თავის მონონუკლეარული ანტისხეულებით Ki-67 (DAKO Corporation) და აგრეთვე თავის მონონუკლეარული anti-human α -SMA (Abcam plc, Cambridge, UK) და CD133 გამოყენებით 18 საათის განმავლობაში 4⁰C. სლაიდები ირეცხებოდა TBS-T ბუფერში და ინკუბაცია ხდებოდა მეორეული ანტისხეულით (DAKO Corporation) 30 წუთის განმავლობაში, ოთახის ტემპერატურაზე. ამის შემდეგ კვლავ ირეცხებოდა TBS-T ბუფერში და ხდებოდა 100მკლ 3,3 დიამინობენზიდინ-ქრომოგენის (DAKO Corporation) სუბსტრატის ნარევით და ჰემატოქსილინით შეღებვა. სლაიდები ვიზუალიზირებული იყო მიკროსკოპის ქვეშ.

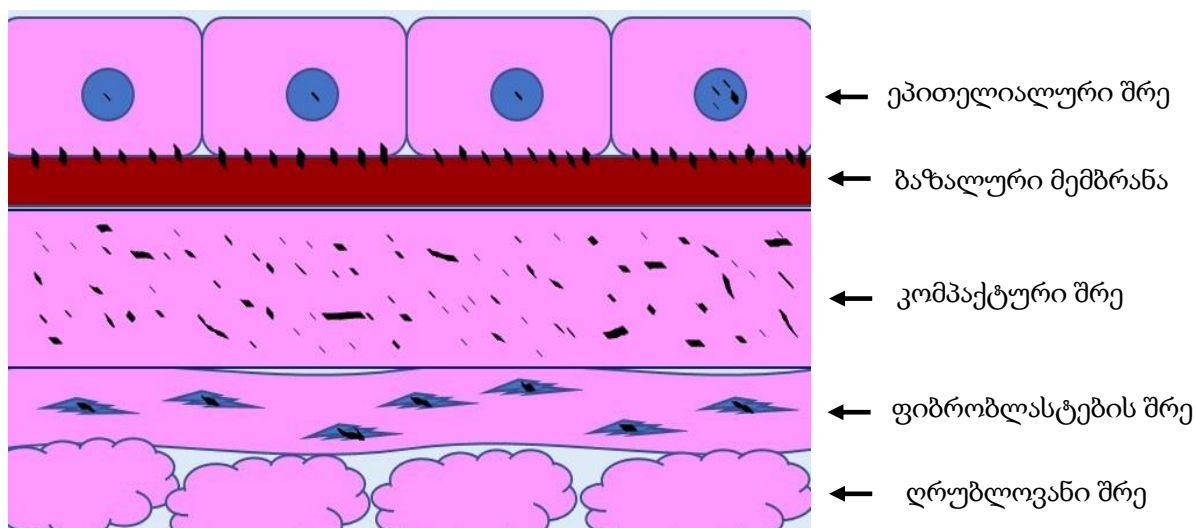
2.3.13 რენტგენოლოგიური კვლევა

ცხოველებში ძვლოვანი ქსოვილის რეზორფციის ხარისხი დინამიკაში დგინდებოდა რენტგენოლოგიური გამოკვლევით, რომლისთვისაც გამოყენებულ იქნა DVS -100 ვიზიოგრაფი და Diox (DigiMed)-ის რენტგენი.

თავი 2. 4 კვლევის შედეგები

2.4.1 ნატიური და დეცელულარიზირებული ადამიანის ამნიონური მემბრანის სტრუქტურული და მორფოლოგიური თავისებურებანი

ჩატარებულმა კვლევებმა გვიჩვენა რომ ამნიონური მემბრანა წარმოდგენილია ხუთი შრით; ამნიონური ეპითელიალური შრე, ბაზალური მემბრანა, კომპაქტური შრე, ფიბრობლასტების შრე და ღრუბლოვანი შრე (სურ. 8).

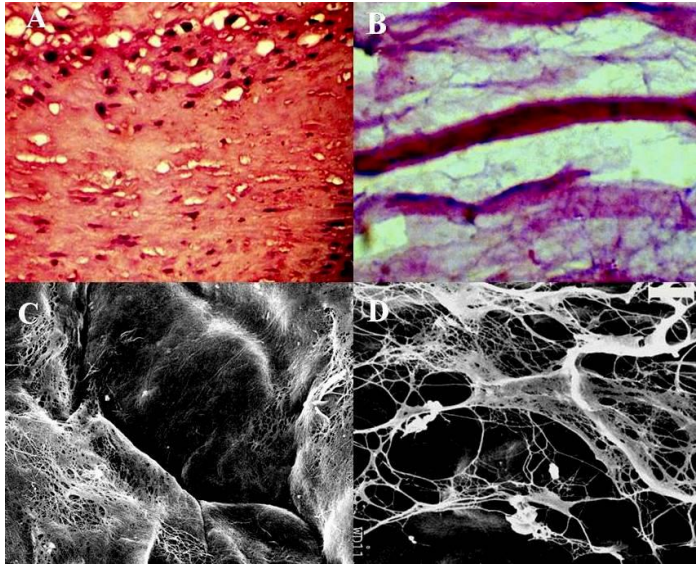


სურათი 8. სქემა. ადამიანის ნატიური ამნიონური მემბრანის სტრუქტურა.

ეპითელიალური შრე ძირითადად წარმოდგენილია ერთბრთვიანი ეპითელური უჯრედებით. მათში აღინიშნება მრავალი მიტოზი, გამოირჩევიან მაღალი სინთეზური აქტივობით და გამოიმუშავენ ისეთ ნივთიერებებს რომელსაც გააჩნიათ იმუნოსუპრესორული აქტივობა; α ფეტოპროტეინი, ლამინინი 6, 7, ინტერლეიკინი, ეპიდერმალური ზრდის ფაქტორი, ტრასფორმირებადი ზრდის ფაქტორი β , ფიბრობლასტების ზრდის ფაქტორი, ენდოთელინები, რომლებიც აძლიერებენ ეპითელიუმის ღეროვანი უჯრედების პროლიფერაციას, მიგრაციასა და დიფერენცირებას. აქვე გვინდა ავღნიშნოთ, რომ ამნიონურ ეპითელიალურ უჯრედებს ზედაპირზე არ გააჩნიათ HLA-A,B,C ანტიგენები. ბაზალური მემბრანა განლაგებულია ეპითელიალური შრის შემდეგ და შედგება რეტიკულური

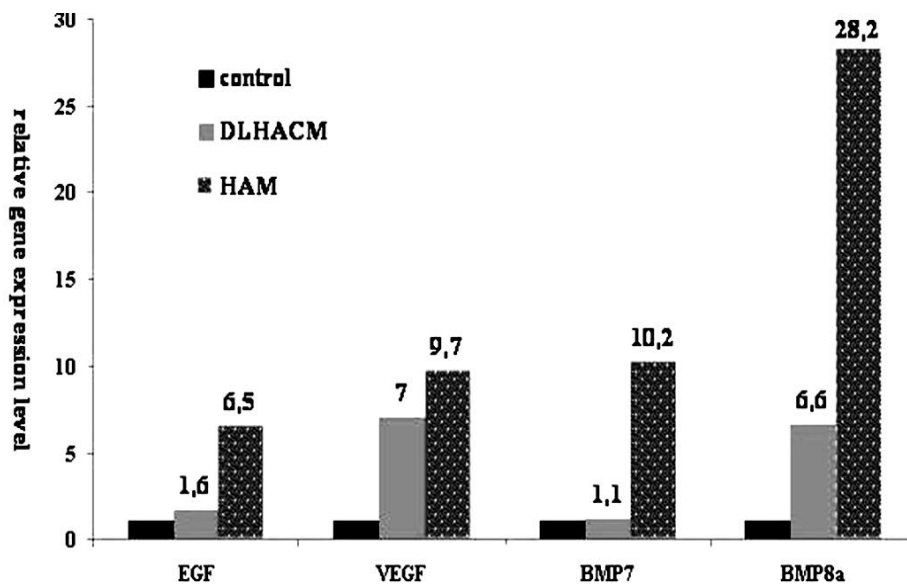
ბოჭკოების თხელი ქსელისაგან. იგი შეიცავს III, IV, V ტიპის კოლაგენს, ფიბრონექტინს, ლამინინს, ნიდოგენს და პროტეოგლიკანებს, რომლებიც თავის მხრივ მდიდარია სულფატ ჰეპარინით და იქვე განლაგებულია სისხლძარღვოვანი ქსელი. მსგავსად ბაზალური მემბრანისა, კომპაქტური შრე შეიცავს რეტიკულურ ბოჭკოებს, თუმცა მასში განლაგებულია I, III, V, VI ტიპის კოლაგენი და ფიბრონექტინი. ფიბრობლასტების შრე შეიცავს ჰისტოციტებს, მოფიბრობლასტებს და მაკროფაგებს რომლებიც განლაგებულები არიან კოლაგენის, რეტიკულური ბოჭკოებისა და უჯრედშორისი ნივთიერებისგან წარმოქმნილ ხშირ ქსელში. ასევე შეიცავს I, III, VI ტიპის კოლაგენს, ლამინინს, ფიბრონექტინს და ნიდოგენს. დრუბლოვანი შრე კი წარმოდგენილია I, III, V ტიპის კოლაგენითა და პროტეოგლიკანებით. იგი შემაერთებული ქსოვილისა და უჯრედშორის ნივთიერებასთან ერთად დაკავშირებულია ქორიონულ მემბრანასთან.

ჩვენს მიერ შემუშავებული ადამიანის ნატიური ამნიონური მემბრანის დეცელულარიზაციის მეთოდმა SDS და Tritin x 100 გამოყენებით, გვიჩვენა რომ ინარჩუნებს თავის ბუნებრივ სტრუქტურას. დნმ ანალიზმა გვიჩვენა, რომ ნატიურ ამნიონურ მემბრანაში, თუ იგი წარმოდგენილი იყო 338 მგ/მლ დეცელულარიზაციის შემდეგ მისი შემცველობა 2% ნაკლებია. ჰისტოლოგიურმა და სკანირებადმა მიკროსკოპიულმა კვლევებმა დაადასტურეს, რომ დეცელულარიზაციის შემდეგ ამნიონურ მემბრანაში არ აღინიშნება უჯრედები და წარმოდგენილია ფოროვანი სტრუქტურით (სურ.9). აღსანიშნავია, რომ დეცელულარიზირებული ამნიონური მარტიქსი ინარჩუნებს თავის სტრუქტურას რეჰიდრატაციის შემდეგაც.



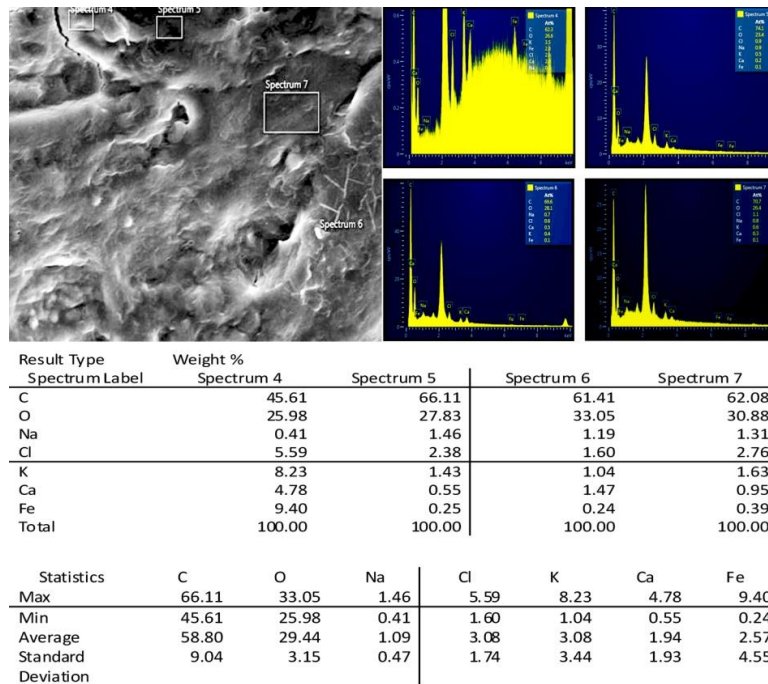
სურათი 9. ადამიანის ამნიონური მემბრანა დეცელულარიზაციამდე და დეცელულარიზაციის შემდეგ. A- ნატიური ამნიონური მემბრანა B- დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანა შერეული H&E. X 200 C- ნატიური ამნიონური მემბრანა SEM მიკროსკოპია, D- დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანა SEM მიკროსკოპია.

ჩატარებულმა გენის ექსპრესიის ანალიზმა გვიჩვენა, რომ დეცელულარიზაციის შემდეგ ამნიონურ მემბრანაში შენარჩუნებულია ისეთი ზრდის ფაქტორები როგორც არის BMP7, BMP8a, EGF, და VEGF (სურ. 10).



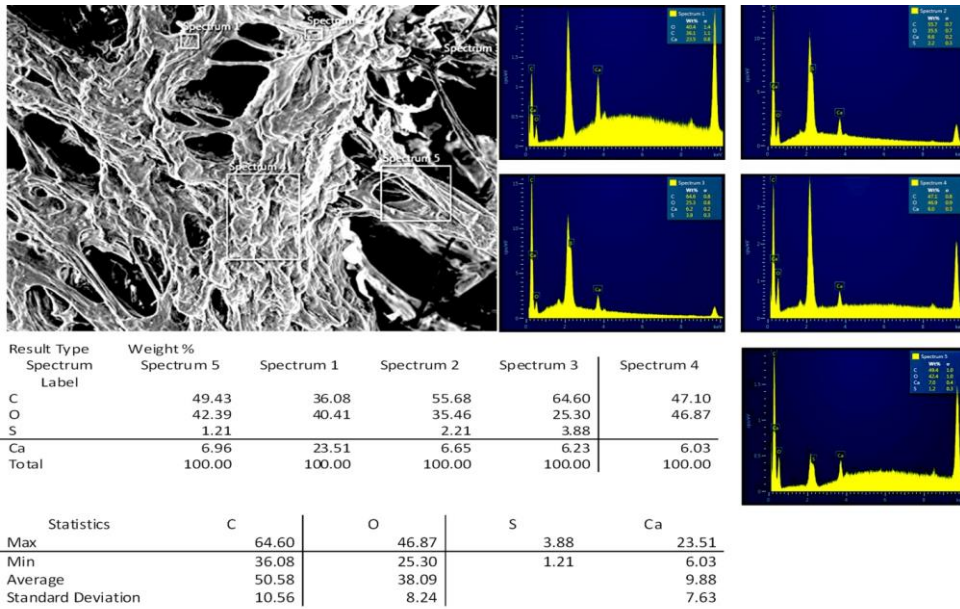
სურათი 10. ამნიონური მემბრანის გენის ექსპრესიის ანალიზი.

ენერგოდისპერსიული მიკრორეტგენოსპექტრალურმა ანალიზმა გვიჩვენა, რომ ნატიური ამნიონური მემბრანა შეიცავს ისეთ არაორგანულ ელემენტებს როგორც არის C, O, Na, Cl, K, Ca, Fe და არ შეიცავს გოგირდს (სურ. 11)

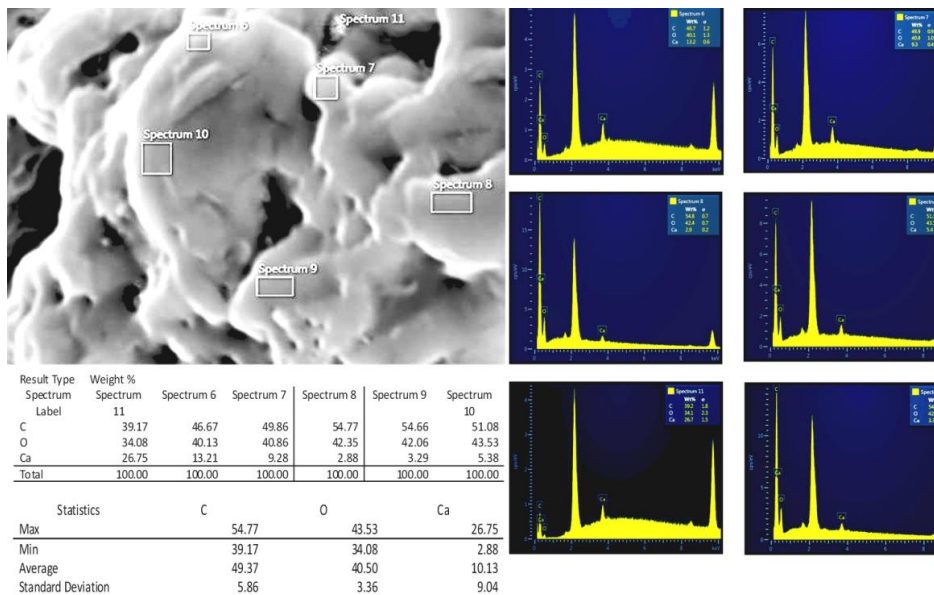


სურათი. 11. ნატიური ამნიონური მემბრანის ენერგოდისპერსიული მიკრორეტგენული სპექტრი. ნაჩვენებია ამნიონური მემბრანის შემადგენელი ძირითადი ელემენტების Na, Cl, K, Fe, C, O, Ca პიკები, შესაბამისი კონცენტრაციის ჩვენებით.

სურათი 11 და სურთი 12 წარმოადგენს დეცელულარიზებული ამნიონური მემბრანის ენერგოდისპერსიული მიკრორეტგენოსპექტრალურ ანალიზს რომელიც ნათლად გვიჩვენებს დეცელულარიზაციისას ჩვენს მიერ გამოყენებული დეტერგენტების გამორეცხვის ხარისხს. მაგალითად ერთ-ერთ ნიმუშში გამოჩნდა გოგირდის პიკი რაც მიუთითებს SDS არასრულ გამორეცხვაზე (სურ. 12). დანარჩენ ნიმუშებში გოგირდის პიკი არ დაფიქსირებულა რაც ადასტურებს დეტერგენტის სრულყოფილ გამორეცხვას (სურ. 13).



სურათი 12. დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის ენერგოდისპერსიული მიკრორენტგენული სპექტრი. აღსანიშნავია, რომ შემადგენელი ძირითადი ელემენტების C, O, Ca პიკების გარდა, ნიმუშის ზოგიერთ ადგილას დაიმზირება გოგირდის პიკი, რაც გამოწვეულია ნიმუშის SDS ხსნარით დამუშავების შემდეგ არასრულყოფილი გარეცხვით.



სურათი 13. დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის ენერგოდისპერსიული მიკრორენტგენული სპექტრი სრულყოფილი გამორეცხვის შემდეგ. აღსანიშნავია, რომ შემადგენელი ძირითადი ელემენტების C, O, Ca

პიკების გარდა არ აღინიშნება სხვა ელემენტების პიკები, რაც გამოწვეულია ნიმუშის SDS ხსნარით დამუშავების შემდეგ სრულყოფილი გამორეცხვით.

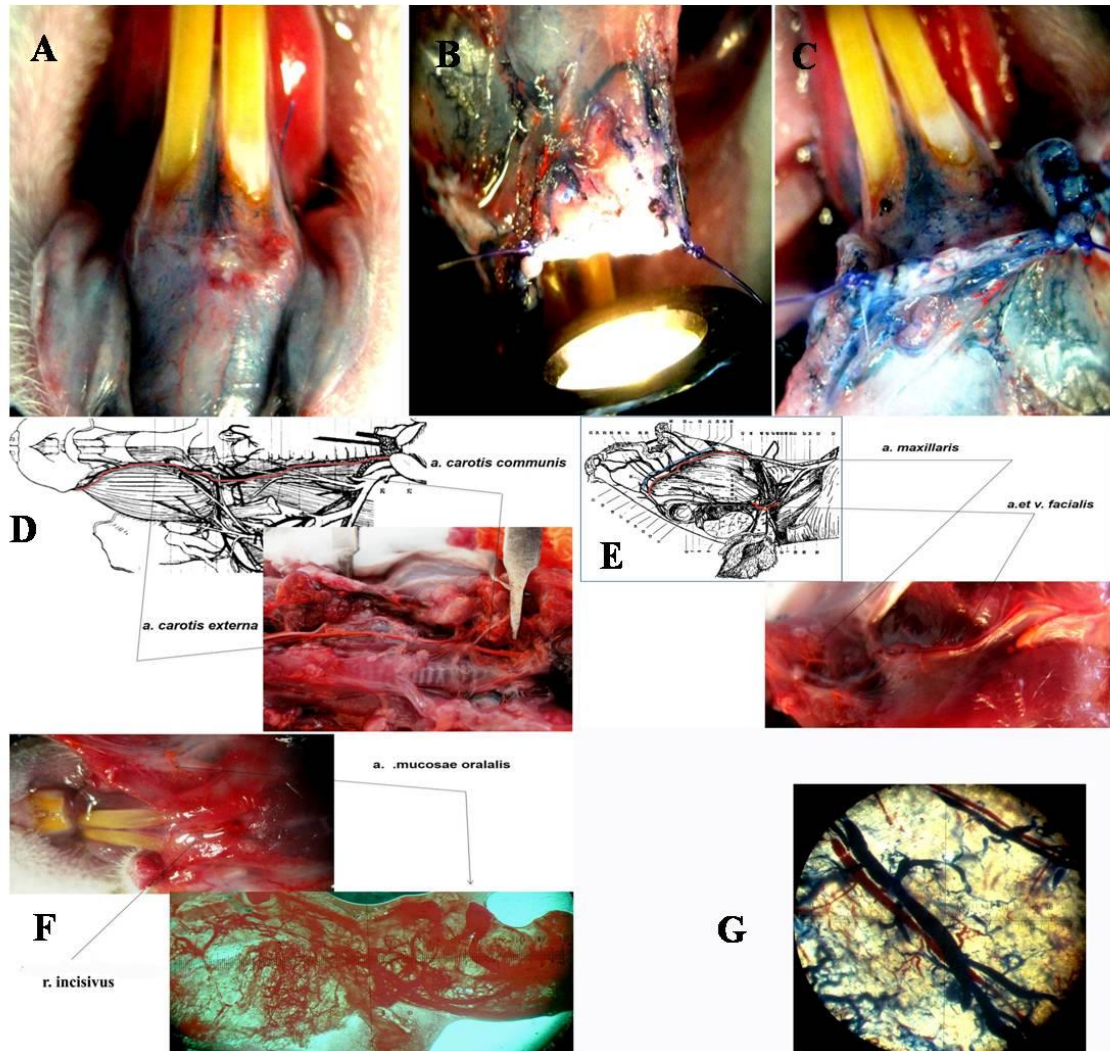
ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარე შეგიძლია დავასკვნათ, რომ ენერგოდისპერსული მიკრორენტგენოსპექტრალური ანალიზი შეიძლება გამოყენებულ იქნას როგორც ტესტი ბიოლოგიური ქსოვილების დეცელულარიზაციის დროს დეტერგენტების სრულყოფილი გამორეცხვის დასადასტურებლად.

ამ კვლევებთან ერთად ჩატარებულმა ბიომეთავსებადობის ტესტმა გვიჩვენა, რომ ორივე ჯგუფის ცხოველებში აღინიშნებოდა ლიმფოციტების, პლაზმური, რეტიკულური და ბლასტური უჯრედების უმნიშვნელო მომატება პირველი ორი კვირის განმავლობაში. ოპერაციიდან ერთი თვის შემდეგ მათი რაოდენობა უბრუნდებოდა ფიზიოლოგიურ ნარმას. ეს გვამღევეს შაშუალებას დავასკვნათ, რომ ადამიანის დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანა არის ბიომეთავსებადი.

2.4.2 ანატომიური კვლევის შედეგები

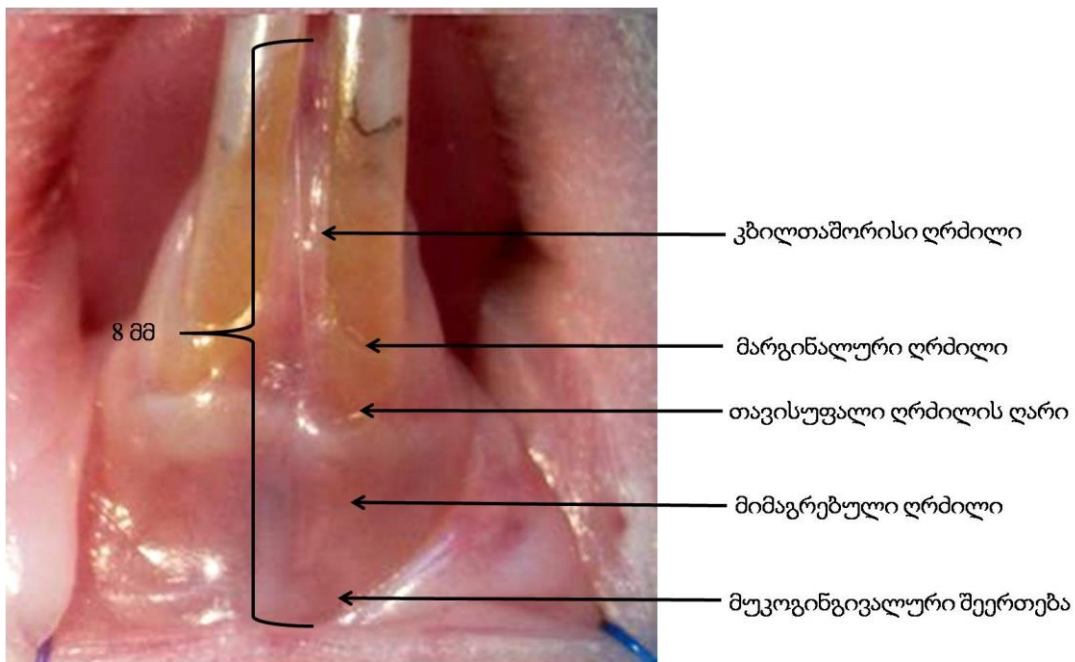
ვირთაგვის თავისა და კისრის ანატომიური კვლევისას ჩვენი ძირითადი ყურადღება გამახვილებული იყო სისხლძარღვების თავისებურებებზე. ანატომიურმა კვლევამ გვიჩვენა, რომ ვირთაგვის მარჯვენა საერთო საძილე არტერია (a. carotis communis dextra) არის მხართავის ღეროს გაგრძელება, მარცხენა კი უშუალოდ აორტის რკალიდან გამოდის. ორივე არტერია მიემართება კრანიალურად და განლაგებულები არიან ტრაქეის პარალელურად ფარისებური ჯირკვლის ქვედა კიდის დონემდე. ამ დონეზე ისინი იყოფიან შიგნითა და გარეთა საძილე არტერიებად. გარეთა საძილე არტერია (a. Carotis externa) აგრძელებს სვლას კრანიალურად და იძლევა შემდეგ ტოტებს: a. occipitalis, a. Thyroidea cranialis, a. Pharyngea ascendens, a. lingualis, a. Palatine ascendens, a. Facialis, a. Submental, a. Masseterica, a. Labialis inferior და superior, a. Angularis, a. temporalis superficialis, a. Maxillaries, a. Alveloris inferior.

ჩვენს მთავარ ინტერესს წამოადგენდა *a. Alveloris inferior*-ის განლაგება და მისი ტოტები. ქვედა ალვეოლარული არტერია გამოიყოფა ქვედა ყბის ტოტის ყელის დონეზე, მიემართება მედიალურად ქვემოთ ქვედა ყბის სხეულის მიმართულებით და შედის ქვედა ყბის არხში. ქვედა ყბის არხში იგი გვადლევს *r. Incisivus*, *r. mentalis* და ანასტომოზირებს ნიკაპისა და ქვედა ტუჩის არტერიების ტოტებთან (სურ.14).



სურათი 14. ვირთაგვის თავისა და კისრის სისხლძარღვების ანატომიური თავისებურებანი. A - საძილე არტერისა და საუღლე ვენაში შეყვანილია ფერადი საღებავები, B -C -ფრონტალურ რეგიონში აშრევებული ღრძილის ტრანსილუმინაცია, D- შეღებილია გარეთა საძილე არტერია, E-ვიზუალიზირებულია სახისა და ზედა ყბის არტერიები, F- წარმოდგენილია პირის ღრუს ლორწოვანის არტერია და ქვედა ყბის საჭრელი არტერიის ტოტები, G- ქვედა ყბის საჭრელი არტერიისა და ვენის ტოტების ტრანსილუმინაცია.

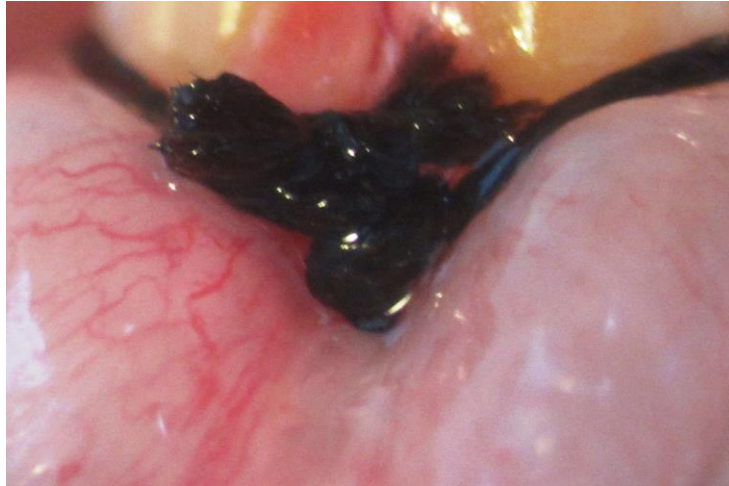
პირის ღრუს რბილი ქსოვილების ჩატარებულმა მორფომეტრულმა ანალიზმა გვიჩვენა რომ, ნორმაში ქვედა ყბის საჭრელების მიდამოში ღრძილის სიმაღლე საშუალოდ შეადგენს 8 მმ, ხოლო მოლარების რეგიონში 3 მმ. მისი სტრუქტურული აგებულება მსგავსია ადამიანის ღრძილისა. თეთრი ლაბორატორიული ვირთგვის ქვედა ყბის საჭრელების რეგიონში ღრძილი წარმოდგენილია შემდეგი სტრუქტურული ერთეულებით; კბილთაშორისი, მარგინალური ღრძილი, თავისუფალი ღრძილის ღარი, მიმაგრებული ღრძილი, მუკოგინგივალური შეერთება, რომელიც თავის მხრივ გრძელდება ალვეოლარული ლორწოვანით (სურ. 15).



სურათი 15. ღრძილის სტრუქტურული აგებულება

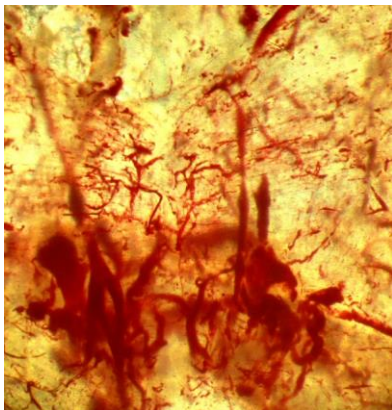
2.4.3 ღრძილის რეცესიის ლიგატურული მოდელის ანალიზი

ცხოველების ყველა სერიაში ღრძილის რეცესიის ლიგატურული მოდელის შედეგებმა გვანახა, რომ ლიგირებიდან მე-3 დღეს მოდელირებულ მიდამოში ღრძილი იყო შემუპკებული, და ჰიპერემიული (სურ.16)

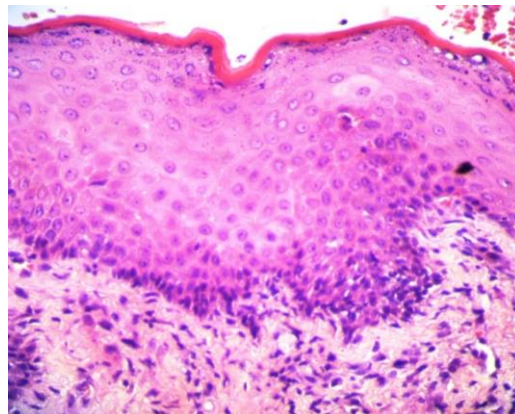


**სურათი. 16 ლიგირებიდან მე-3 დღე.
ღრძილის შეშუპება და ჰიპერემია**

ტრანსილუმინაციის მეთოდმა გვიჩვენა ღრძილის მიკროცირკულაციის მოშლა (სურ. 17). ასევე ჩატარებულმა ჰისტოლოგურმა კვლევამ გვიჩვენა მარგინალური ღრძილის რეგიონში მკვეთრად გამოხატული ლეიკოციტარული ინფილტრაცია (სურ.18). ამ დროისათვის რენტგენოლოგიურად ალვეოლური მორჩსა და კბილთაშორის მგიდეზე ცვლილებები არ აღინიშნებოდა.

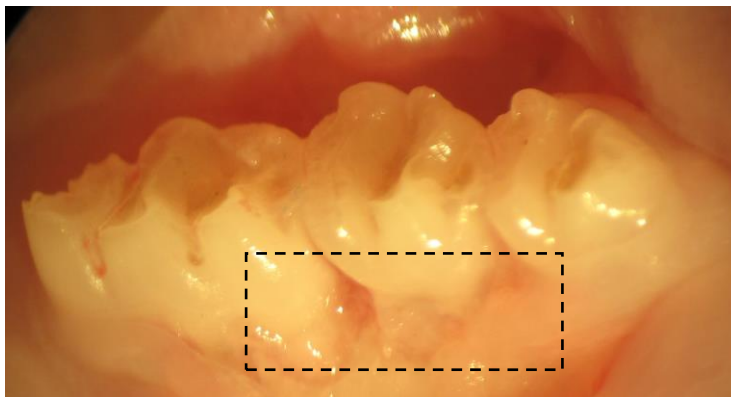


**სურათი 17. ტრანსილუმინაცია.
ღრძილის მიკროცირკულაციის
დარღვევა ლიგირებიდან მე-3
დღე.**

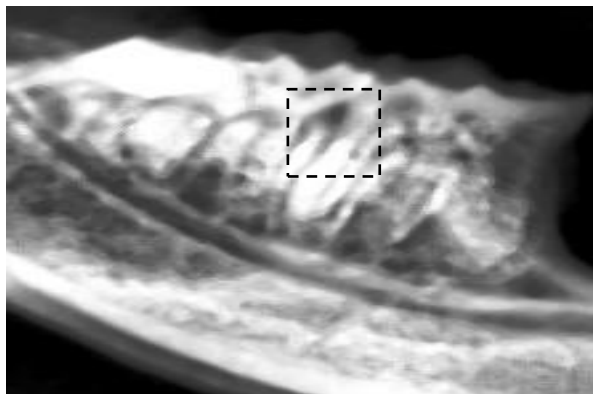


**სურათი. 18 რეცესიული უბნის
მკვეთრად გამოხატული
ლეიკოციტარული ინფილტრაცია.
დაკვირვების ვადა 3 დღე . შეღებვა
ჰემატოქსილინ ეოზინით X 400.**

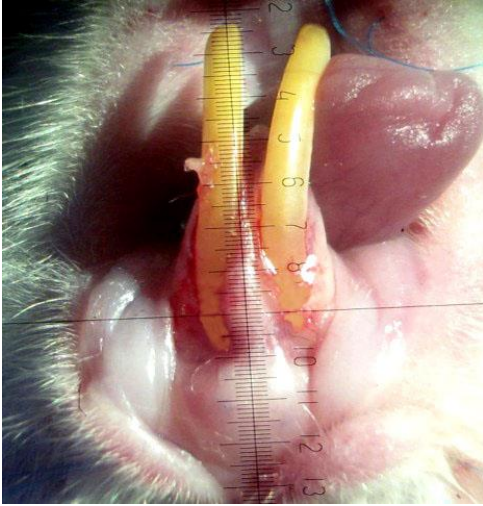
მეხუთე დღისათვის რბილ ქსოვილებში ლეიკოციტარული ინფილტრაცია მცირდებოდა, ამავდროულად მცირედ გამოხატული იყო მარგინალური ღრძილის ატროფია, რომელიც მინანქარ-ცემენტის შეერთების საზღვარს არ სცილდებოდა. მეშვიდე დღეს არ აღინიშნებოდა რბილი ქსოვილების ლეიკოციტარული ინფილტრაცია, თუმცა ღრძილის რეცესია გასცდა მინანქარ-დულაბის საზღვრებს და მოხდა კბილის ყელისა და ფესვის ზედა მესამედის გაშიშვლება (სურ.19). რენტგენოლოგიურად დაფიქსირდა კბილთაშორისი ძგიდის მწვერვალის განლევა (რეზორბცია) (სურ.20). ლიგირებიდან 14 დღის შემდეგ მარგინალური ქსოვილების რეცესია ვრცელდებოდა მუკოგინგივალური შეერთების საზღვრის ქვემოთ (სურ 21). რენტგენოლოგიურად დაფიქსირდა კბილთაშორისი ძგიდისა და ალვეოლური მორჩის განლევა კბილის ფესვის მწვერვალის დონეზე (სურ.22), რაც ჰისტოლოგიურადაც დადასტურდა (სურ 23)



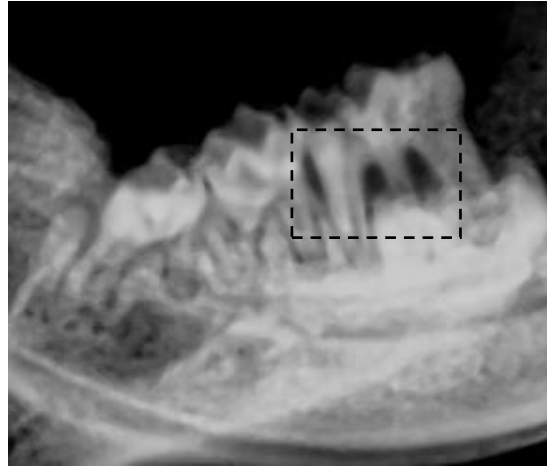
სურათი. 19. ლიგირებიდან მე-7 დღე. ღრძილის რეცესია. გაშიშვლებული კბილის ყელი და ფესვის ზედა მესამედი



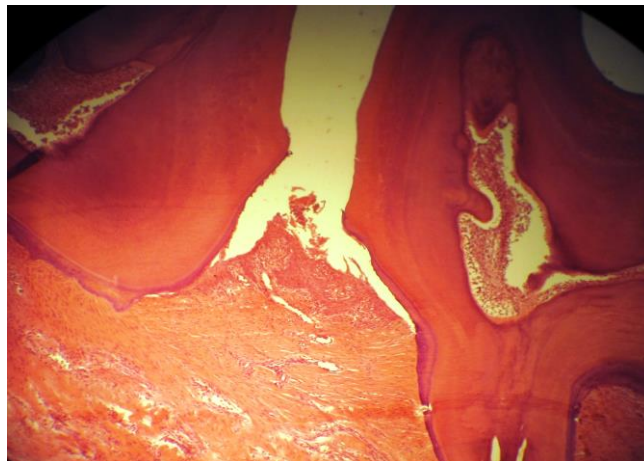
სურათი. 20. რენტგენოგრაფია. კბილთაშორისი ძგიდის მწვერვალის განლევა. დაკვირვების ვადა 7 დღე.



სურათი 21. ლიგირებიდან 14 დღის შემდეგ ჩამოყალიბებული რეცესია, რომელიც ვრცელდება მუკოგინგივალურ შეერთებამდე.



სურათი. 22. რენტგენოგრაფია. კბილთაშორისი ძვლისა და ალვეოლური მორჩის განლევა კბილის ფესვის მწვერვალის დონეზე. დაკვირვების ვადა 14 დღე.

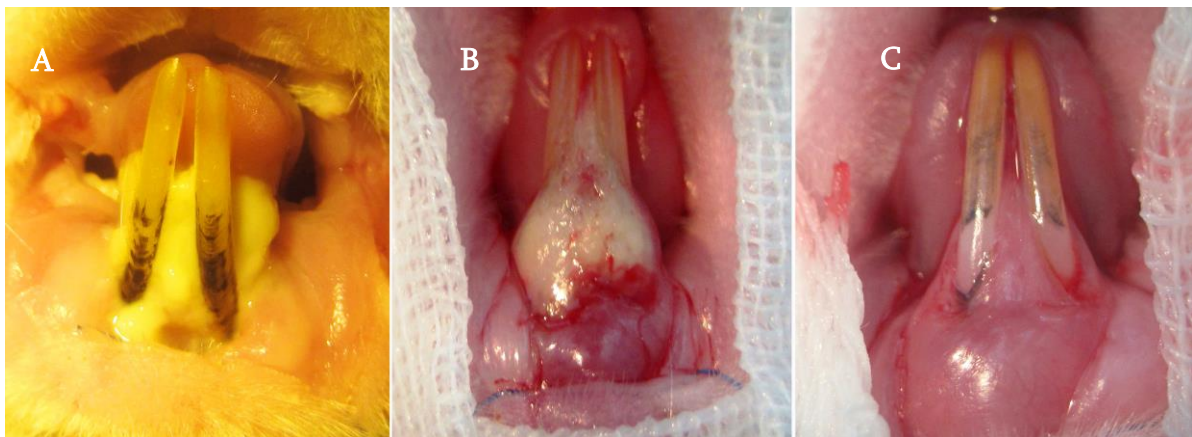


სურათი 23. კბილთაშორისი ძვლოვანი ძვლის განლევა. დაკვირვებიდან 14 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ ეოზინი X 100

ასეთი კლინიკური სურათი აღინიშნებოდა ყველა ჯგუფის ცხოველებში ლიგირებიდან პირველი 14 დღის განმავლობაში. რაც გვაძლევს საშუალებას დავასკვნათ რომ ჩამოყალიბდა ღრძილის რეცესია, მილერის კლასიფიკაციის მიხედვით კლასი IV.

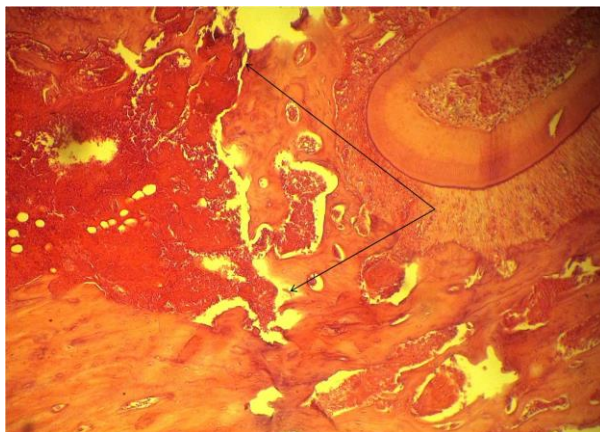
2.4. 4 ღრძილის რეცესიის მკურნალობის შედეგები

ლიგატურის მოხსნიდან მე-3 დღეს საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში, რომლებიც იმყოფებოდნენ მკურნალობის გარეშე, ფრონტალური მიდამოს რეცესიულ უბანში აღინიშნებოდა მკვეთრი ანთებითი რეაქცია, ჩირქოვანი ნადებითა და ღრძილის შეპუპებით (სურ 24 A). მეშვიდე დღისათვის ანთებითი რეაქცია მცირდებოდა, რომელიც ორი კვირის შემდეგ სრულად იქნა ალაგებული. ანთების ჩაცხრობის მიუხედავად რეცესიულ უბანში ახლად წარმოწმნილი ღრძილის სტრუქტურა არ ვლინდებოდა (სურ 24B, C).

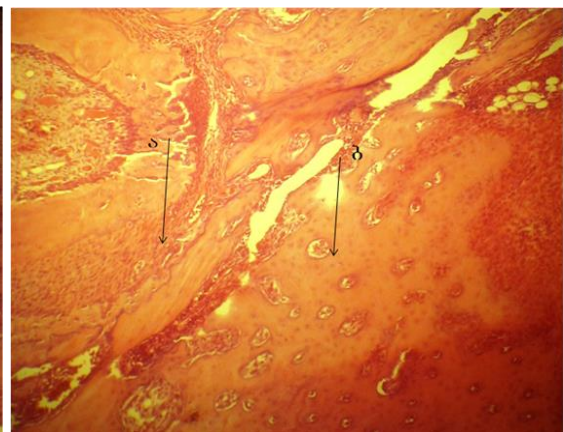


სურათი 24. ლიგირების შემდგომი პროცესი საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში. A - ანთებითი რეაქცია, ჩირქოვანი ნადებითა და ღრძილის შეპუპებით. დაკვირვების ვადა 3 დღე. B - შემცირებულია ანთებითი რეაქცია. დაკვირვების ვადა 7 დღე. C – მკვეთრად გამოხატული რეცესიის უბანი. დაკვირვების ვადა 14 დღე

რაც შეეხება მოლარების მიდამოში განვითარებულ რეცესიის პროცესებს, რომელიც მიმდინარეობდა კორტიკალური ძვლის დანაკარგით, მე-14-15 დღეს კორტიკალური ძვლის აპიკალურ ნაწილში პირველ და მეორე მოლარის მიდამოში აღინიშნებოდა ძვლის სტრუქტურის დარღვევა (სურ. 25). 30-35 დღის შემდეგ ვლინდებოდა ძვლოვანი ქსოვილის ნეკროზული უბნები და მკვეთრი ბაზოფილია, რაც მიგვითითებდა ანთებითი მოვლენების შენარჩუნებაზე. 50-60 დღის შემდეგ კორტიკალურ ძვალზე აღინიშნებოდა შესამჩნევი ჰიპერტროფია არასწორი ცემენტის კონტურებით და მცირე კორძით, რომელიც ვრცელდებოდა 1-3 მოლარის ფარგლებში (სურ.26)



სურათი 25. პირველი და მეორე მოლარის დონეზე კორტიკალური ძვლის დაზიანება. დაკვირვების ვადა 15 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ ეოზინით X 100

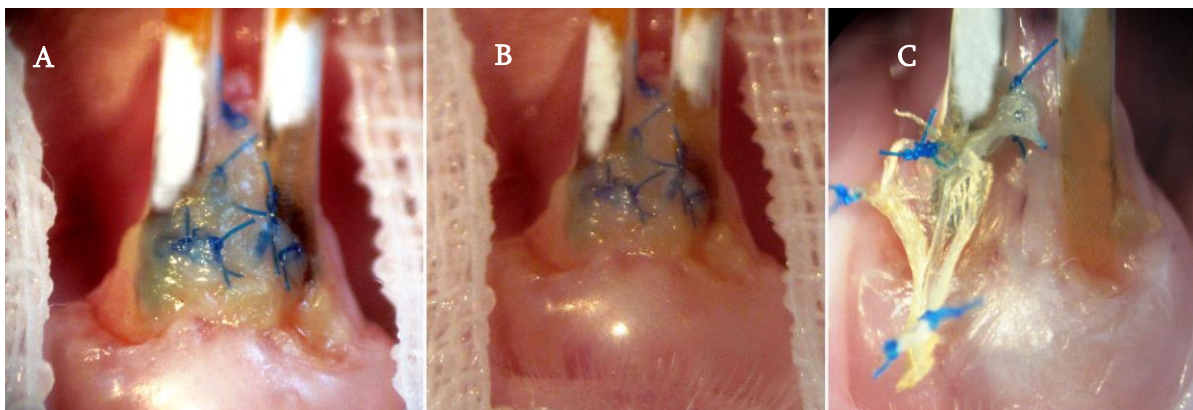


სურათი 26. საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში კორტიკალური ძვლის დაზიანება.ა) პირველი -მეორე მოლარის აპიკალურ რეგიონში განლუული კორტიკალური ძვალის ფირფიტა, ბ) ახლად წარმოქმნილი ძვლოვანი კკორძი. დაკვირვების ვადა 50-60 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ ეოზინით X 100

ოპერაციიდან 70-90 დღის შემდეგ რიგ პრეპარატებზე აღინიშნებოდა ახლად შექმნილი ძვლოვანი ტიხრები და სისხლძარღვები რომლებიც განლაგებულები იყვნენ ტიხრების გასწვრივ. აქედან გამომდინარე საკონტროლო ჯგუფის

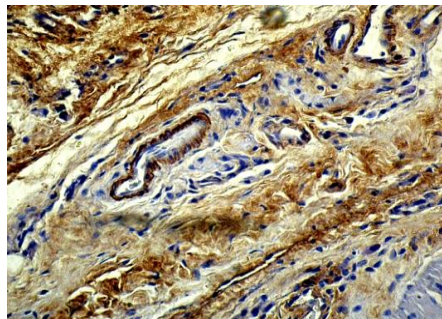
ცხოველებში სადაც ძვლოვანი დეფექტი არ იყო დაფარული მემბრანით ძვლის რეგენერაცია მიმდინარეობდა შეფერხებით. ვინაიდან ძვლის დეფექტი შევსებული იყო ფაშარი შემაერთებული ქსოვილით, რომელიც ხელს უშლიდა რეპარაციულ პროცესებს.

ყველა ჯგუფის ცხოველებში, გარდა საკონტროლო ჯგუფისა, რომლებშიც ხდებოდა მკურნალობა ჩვენს მიერ შერჩეული მეთოდებით ლიგატურის მოცილების შემდეგ პირველი 48 საათის განმავლობაში აღენიშნებოდა მემბრანის გაჟღენთვა პლაზმითა და სისხლის ელემენტებით. მემბრანის გარშემო მყოფი რბილი ქსოვილები იყო შეშუპებული, ჰიპერემიული. ამავე ვადებში მეორე ჯგუფის ცხოველებში იწყებოდა მემბრანის დეჰიდრატაცია და ზედაპირული შრის აშრევა, რომლის ფერიც იცვლებოდა ღია ყვითლიდან მუქ ყავისფრამდე. ვიზუალურად მეშვიდე დღისთვის შეინიშნებოდა ამნიონური მემბრანის პერიფერიიდან ცენტრისკენ შეჭმუხვნა და მის ქვეშ მოჩნდა ახლად წარმოქმნილი გრანულაციური ქსოვილები. მკურნალობიდან 18 დღის შემდეგ აშრეებული ამნიონური მემბრანის ქვეშ იყო ახლადფორმირებული ეპითელიალური ქსოვილი რომეიც რეცესიულ უბანს ფარავდა 5 მმ დონეზე (სურ.27).

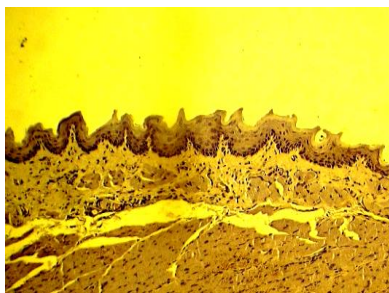


სურათი 27. მეორე ჯგუფის ცხოველები. რეცესიული უბანი დაფარულია ადამიანის დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანით. A-დაკვირვების ვადა 3 დღე. B-დაკვირვების ვადა 7 დღე. C-დაკვირვების ვადა 18 დღე. აღინიშნება მემბრანის დეჰიდრატაცია და ნაწილობრივი აშრევა.

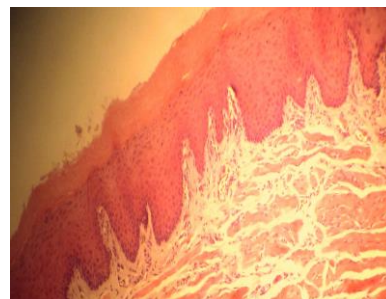
ჰისტოლოგიურმა კვლევებმა გვიჩვენეს, რომ მესამე დღისათვის მემბრანის ქვედა შრე დაფარული იყო თხელი ფენის ფიბროზული კაფსულით, რომელიც შედგებოდა ფაშარი შემაერთებელქსოვილოვანი ბოჭკოებით. იგი მჭირდროდ ფარავდა დეფექტის მიდამოს. მემბრანის კარიბჭისკენა ზედაპირზე აღინიშნებოდა მცირე რაოდენობის მაკროფაგები, გიგანტური უჯრედები და სხვა ანთებითი ელემენტები. ერთი კვირის შემდეგ მემბრანის გარშემო აღინიშნებოდა სხვადასხვა დიამეტრის მრავლობითი სისხლძარღვები, რომელიც გარს ერტყმოდა მემბრანას (სურ. 28) . მერვე- მეათე დღეს რბილი ქსოვილების დეფექტი ამოფენილი იყო ერთგვაროვანი ტიპის ეპითელური უჯრედებით (სურ.29). 20 დღის შემდეგ რეცესიული უბანი სრულად იყო დაფარული ახლად ფორმირებული ღრძილის ეპითელიუმით, რომელიც არც ფორმით და არც ფერით არ განსხვავდებოდა ნორმისაგან (სურ.30).



სურათი.28 მემბრანის გარშემო აღინიშნება მრავლობითი სხვადასხვა დიამეტრის სისხლძარღვები. შეღებვა იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით, VGEF, X 400. დაკვირვების ვადა 7 დღე.

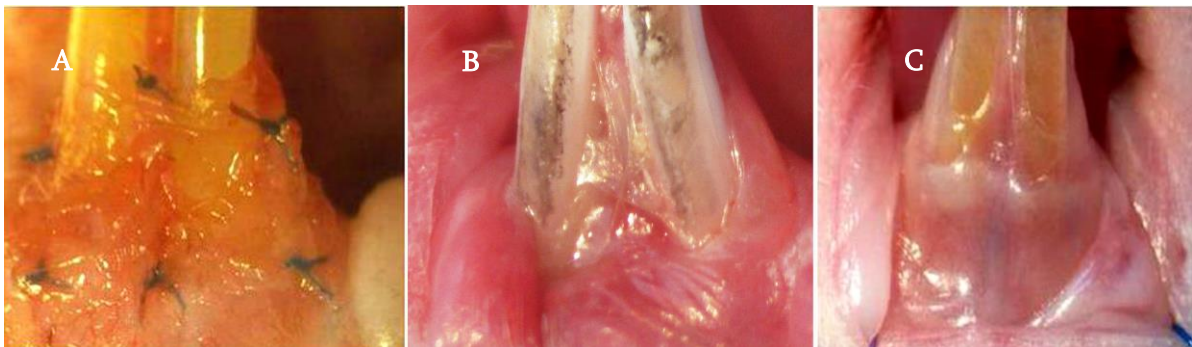


სურათი 29. რბილი ქსოვილების დეფექტი ამოფენილი იყო ერთგვაროვანი ტიპის ეპითელური უჯრედებით. შეღებვა იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით CD133, X 100



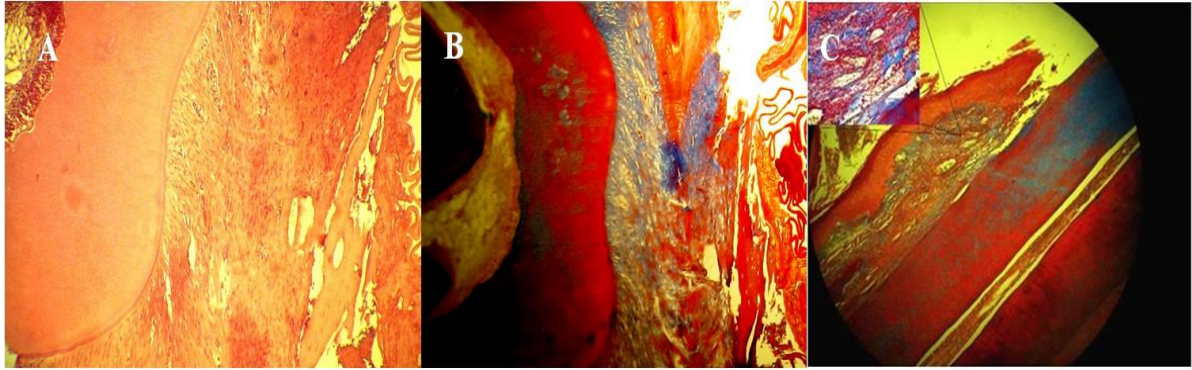
სურათი 30. სრულად აღდგენილი ღრძილის ლორწოვანი. დაკვირვების ვადა 20 დღე. შეღებვა ჰემატოქსილინ ეოზინით X 100

მეოთხე ჯგუფის ცხოველებში სადაც რეცესიის მკურნალობის მიზნის გამოყენებული იყო ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანა 3 დღის შემდეგ მემბრანის დეჰიდრატაციის მოვლენები, მეორე ჯგუფისგან განსხვავებით, ნაკლებად შეინიშნებოდა. ვიზუალურად მეშვიდე დღისთვის ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანა მჭიდროს ეკვროდა და სრულად ფარავდა რეცესიულ უბანს. თუმცა, ამავე ვადებში დაიწყო თვითონ ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანის სტრუქტურული აშრევაბა. მემბრანის ბოჭკოების ქვედა ნაწილი მჭიდროდ იყო ჩაზრდილი ახლად წარმოქმნილ გრანულაციურ ქსოვილთან და ქმნიდა ქსოვილოვან პროფილს. მემბრანის ბოჭკოების ზედაპირული ფენა, რომელიც პირის ღრუს კარიბჭისკენ იყვნენ მიმართულნი განიცდიდნენ დეჰიდრატაციას. მკურნალობიდან ორი კვირის შემდეგ მემბრანის დეჰიდრატირებული ფენა მოცილდა და მის ქვეშ აღინიშნებოდა ახლად წარმოქმნილი ეპითელიუმი (სურ.31).



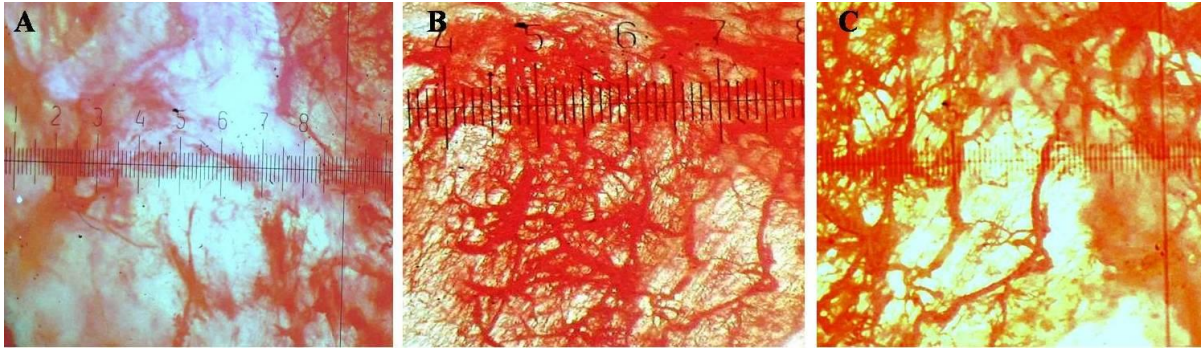
სურათი 31. მეოთხე ჯგუფის ცხოველები. A- რეცესიული უბანი დაფარული ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანით. დაკვირვების ვადა 3 დღე; B- ღრძილის რეეპითელიზაციის პროცესი. დაკვირვების ვადა 7 დღე; C- აღდგენილი რეცესიული უბანი. დაკვირვების ვადა 14 დღე.

ჰისტოლოგიურმა კვლევამ გვიჩვენა, რომ ღრძილის ეპითელიუმი იყო გასქელებული და მასში აღინიშნებოდა სუსტად გამოხატული გარქოვანება და ახლად წარმოქმნილი სისხლძარღვები (სურ 32).



სურათი 32. ღრძილის რეცესიის მკურნალობა ბიოლოგიურად აქტიური მემბრნით. A - რეცესიული უბანი აღდგენილია და ღრძილის ეპითელიუმი მჭიდროდ ეკვრის კბილის ქსოვილებს. შეღებვა ჰემატოქსილინ ეოზინით, გადიდება 200. **B-** კბილის ქსოვილებთან მჭიდროდ მიმაგრებულ ღრძილის ეპითელიუმთან ერთად მოჩანს ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანის ფრაგმენტები. შეღებვა მასონ ტრიქრომით, გადიდება 200. **C-** რეგენერირებული ღრძილის რეცესიული უბანი და ახლად წარმოქმნილი სისხლძარღვები. შეღებვა მასონ ტრიქრომით, გადიდება 200.

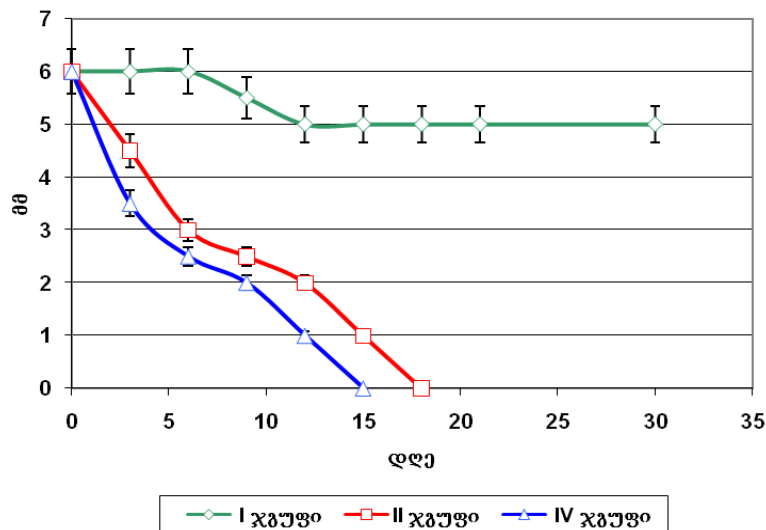
ჯგუფში ოპერაციის შემდგომი პერიოდის პირველ დღეებში რეცესიულ მიდამოში აღინიშნებოდა მიკროცირკულატორული დარღვევა. ეს მოვლენები მკვეთრათ იყო გამოხატული საკონტროლო ჯგუფში, სადაც მეშვიდე დღეს გამოვლენილ იქნა სისხლძარღვების დესტრუქცია და შემაერთებელქსოვილოვანი ნაწიბურის ფორმირება. ამავე ვადებში, დანარჩენი ჯგუფის ცხოველებში სისხლძარღვების დესტრუქცია არ იყო გამოხატული. მეშვიდე დღისათვის აღინიშნებოდა კაპილარების რაოდენობრივი მატება, რაც მიუთითებდა ნეოვასკულარიზაციის პროცესს, ხოლო ორი კვირის შემდეგ, საკონტროლო ჯგუფის გარდა, ყველა ჯგუფის ცხოველებში კაპილარების რაოდენობა მცირდებოდა და უახლოვდებოდა ნორმას (სურ 33).



სურათი 33. A- რეცესიული უბნის მიკროცირკულატორული დარღვევა.

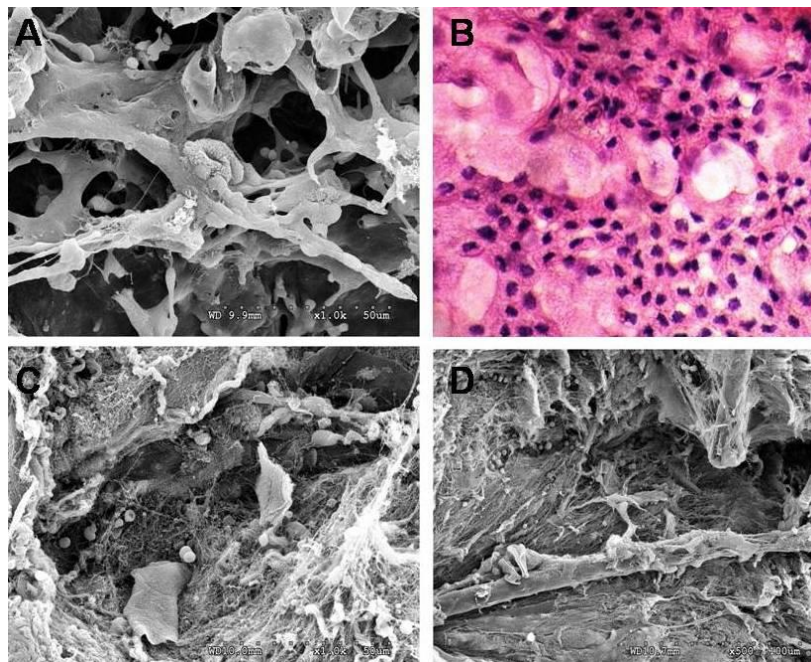
დაკვირვების ვადა 3 დღე. B- კაპილარული ქსელის ჭარბი ზრდა ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანის გამოყენების შემდეგ. დაკვირვების ვადა 7 დღე; C- კაპილარული ქსელის შემცირება. დაკვირვების ვადა 14 დღე.

ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარე შეიძლება დავასკვნათ, რომ ბიოლოგიურად აქტიურმა მემბრანამ მნიშვნელოვნად დააჩქარა რეცესიული უბნის სრულფასოვანი აღდგენა, რაც დაადასტურა მათემატიკურმა იმპერიულმა მოდელებმა, რომლის მეშვეობითაც დადგინდა რომ პირველი ჯგუფის ცხოველებში $H(t) = 5\text{mm}$ 10 დღის შემდგომ და ეს მონაცემები შენარჩუნდა კვლევის ბოლომდე, მეორე ჯგუფში $H(t)$ ნულს გაუტოლდა 18, ხოლო მეთხე ჯგუფში 14 დღეს (გრაფიკი 1).



გრაფიკი 1. რეცესიული უბნის რეგენერაცია დინამიკაში საკონტროლო ჯგუფში, ადამიანის დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანისა და ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანის გამოყენების შემდეგ.

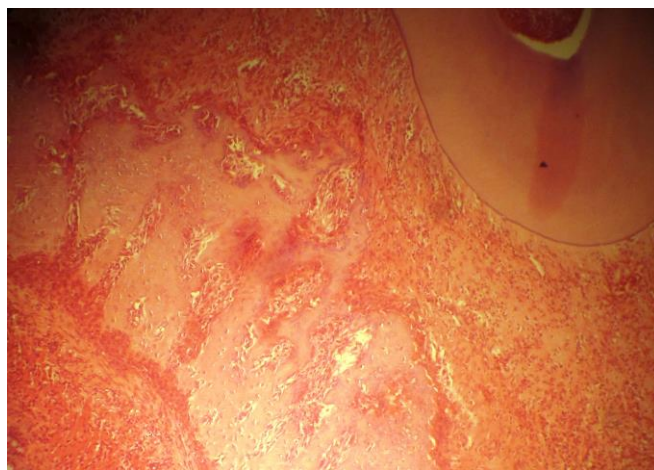
მეოთხე ჯგუფის ცხოველებში რეცესიული უბნის სრულფასოვანი რეგენერაცია განპირობებული იყო ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანის შემადგენლობით. დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანის ზემოთხსენებული თვისებების გარდა მას დაემატა ღეროვანი უჯრედებისათვის დამახასიათებელი აქტივობა (სურ.34). ამან განაპირობა ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანის გამოყენების დროს რეცესიულ უბანში ეპითელიზაციის ადრეული დაწყება და შემცირებული პერიოდი სრულ რეგენერაციამდე.



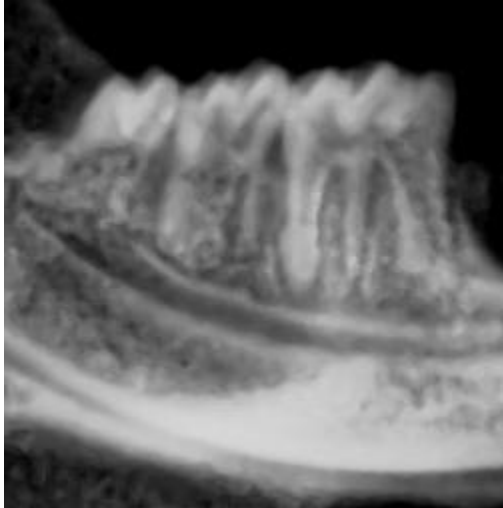
სურათი 34 . ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანა. დეცელულარიზირებულ და რეჰიდრირებულ ამნიონურ მემბრანაზე დასმული ღერვანი უჯრედები. A- SEM მიკროსკოპია x 1.0K 50um, B - ჰემატოქსილინ ეოზინით შერევა, გადიდება 400. C- ტრანსპლანტაციიდან 3 დღის შემდეგ. SEM მიკროსკოპია x 1.0K ; 50um , D- ტრანსპლანტაციიდან 7 დღის შემდეგ. SEM მიკროსკოპია x 500 ; 100um

რაც შეეხება, რეცესიულ უბანში ძვლოვანი დანაკარგის რეგენერაციას, ჩატარებულმა კვლევამ გვიჩვენა რომ მესამე და მეხუთე ჯგუფის ცხოველებში ძვლის ფხვნილის მოთავსების შემდეგ ძვლის დეფექტში მე-15 დღისათვის ვლინდებოდა ძვლოვანი ინტეგრაციის საწყისი პროცესები. აღნიშნული პროცესი

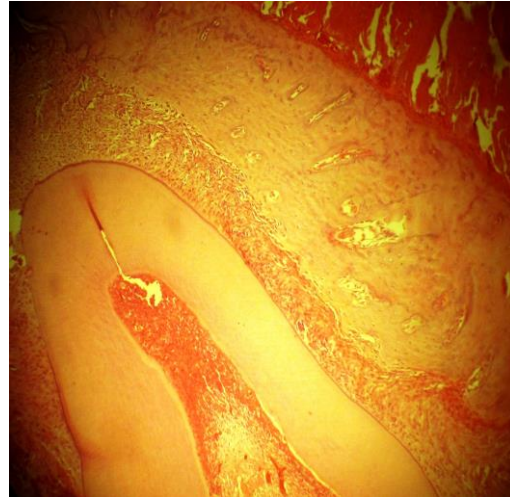
განპირობებული იყო Geo-Oss-ის ბიოლოგიური და მორფოლოგიური თვისებებით და ასევე ადამიანის ამნიონური მემბრანით, რომელიც ასრულებდა ბარიერულ ფუნქციას, ხელს უშლიდა მიკრობების შეჭრასა და ანთების განვითარებას. მეხუთე ჯგუფის ცხოველებში ეს პროცესები მოიცავდა რეპარაციული რეგენერაციის აქტიურ ფაზას, რომელიც განაპირობა ბიოლოგიურად აქტიურ მემბრანაში არსებული ღეროვანი უჯრედების პარაკრინული ფაქტორების არსებობამ. ოპერაციიდან 30-ე დღეს მეხუთე ჯგუფის ცხოველებში კარგად ჩანდა ახლად წარმოქმნილი ძვლოვანი ქსოვილი (სურ 35). ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანის ხარჯზე საგრძნობლად გაიზარდა ანგიოგენეზი, გაძლიერდა ძვლოვანი ქსოვილის შენება და ახალი ძვლის წარმოქმნა. ამ დროისათვის მესამე ჯგუფის ცხოველების რენტგენოგრამაზე პირველ და მეორე ჯგუფთან შედარებით მკვეთრად იყო გამოხატული ახლად წარმოქმნილი ძვლის კონტურები (სურ 36). მესამოცე დღეს მესამე და მეხუთე ჯგუფის ცხოველებში ძვლოვან დეფექტი სრულად იყო აღდგენილი (სურ 37). რენტგენოლოგიური გამოკვლევით დადასტურდა, რომ კბილთაშირისი ძვიდისა და ალვეოლური ძვლის კორტიკალური ფირფიტის კონტურები არ განსხვავდებოდა ნორმისაგან (სურ 38).



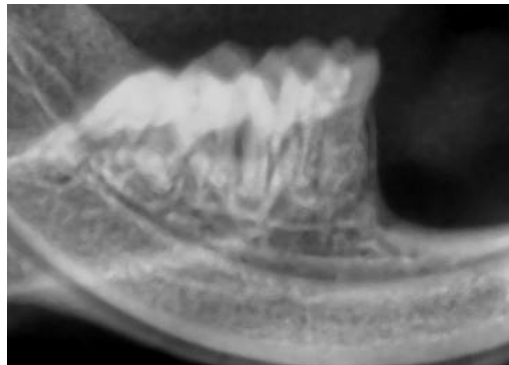
სურათი 35. მეხუთე ჯგუფის ცხოველები. ახლად წარმოქმნილი ძვლოვანი ქსოვილი. დაკვირვების ვადა 30 დღე. SeRebva hematoqsilin eoziniT X 100.



სურათი 36. რონტგენოგრამა. ახლად წარმოქმნილი ძვალი პირველი და მეორე მოლარს შორის. დაკვირვების ვადა 30 დღე.



სურათი 37. სრულად აღდგენილი ძვლოვანი დეფექტი. დაკვირვების ვადა 60 დღე. SeRebva hematoqsilin eoziniT X 200.



სურათი 38. პირველ და მეორე მლარებს შორის აღდგენილი ალვეოლური ძვლის კორტიკალური ფირფიტა და კბილთაშორისი ძგიდე. დაკვირვების ვადა 60 დღე.

მეორე ჯგუფის ცხოველებში კი ამ ვადებში ახლადშექმნილი ძვლის ქსოვილი წარმოდგენილი იყო მოზაიკური სურათით და ვიზუალურად განსხვავდებოდა ნორმალური ძვლისაგან. ჩვენს მიერ მიღებული შედეგები ადასტურებს ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანის ბიოშეთავსებადობას, მის ოსტეოინდუქციურ, ოსტეოკონდუქციურ თვისებებს და ანგიოგენეზის

სტიმულირებას, Geo –Oss-ის გამოყენებამ კი მემბრანასთან კომინაციაში დააჩქარა ოსტეოინტეგრაცია და ძვლის რეგენერაციის პროცესი.

ეს გვადლევს საშუალებას დავასკვნათ, რომ ჩვენს მიერ შემუშავებული ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანა აკმაყოფილებს კოლაგენური მემბრანებისათვის წარდგენილ ყველა მოთხოვნას და ეფექტურად შეიძლება იყოს გამოყენებული რბილი და მაგარი ქსოვილების რეგენერაციისათვის პირის ღრუს სხვადასხვა პათოლოგიური პროცესების მკურნალობის დროს.

თავი 2.5 კვლევის შედეგების ანალიზი

ლიტერატურული მიმოხილვის საფუძველზე შეიძლება დავასკვნათ, რომ ღრძილის რეცესიით მსოფლიოს მოსახლეობის 50%-დან 90%-მდე არის დაავადებული. დღესდღეობი იგი სტომატოლოგებისათვის მნიშვნელოვან პრობლემას წარმოადგენს, რადგან ამ დროს ხდება ღრძილის მარგინალური კიდის გადანაცვლება გარდამავალი ნაოჭისაკენ, რის გამოც კბილის ფესვი შიშვლდება. პაციენტებს უჩნდებათ ესთეტიური დისკომფორტი, კბილის ფესვის კარიესი, ჰიპერმგრძნობელობა და აბრაზიები.

მიუხედავად მრავალი კლინიკური თუ ექსპერიმენტული კვლევისა და დღეისათვის არ არის შემუშავებული რეცესიის მკურნალობის ეფექტური მეთოდი. ეს დაკავშირებულია მრავალ ფაქტორთან, მათ შორის არ არის შემუშავებული სრულყოფილი რეცესიის მოდელი ექსპერიმენტში ცხოველებზე, რომელიც აღწერს რეცესიის განვითარების ეტიოლოგიურ ფაქტორებსა და პათოგენურ მექანიზმებს. დღეისათვის მოწოდებულია ანთებითი-დისტროფიული და დისტროფიული პაროდონტის დაავადებებისა სხვადასხვა ექსპერიმენტული მოდელი. ზოგიერთი ექსპერიმენტული მოდელი პრაქტიკულად რთულად განსახორციელებელია მათი ტექნიკური სირთულისა და მიღებული შედეგების ინტერპრეტაციის გამო. ჩვენს მიერ მოდიფიცირებული ლიგატურული მოდელის საშუალებით შესაძლებელი

გახდა მიგველო მაქსიმალურად ღრძილის რეცესიის IV კლასთან მიახლოებული მოდელი.

ღრძილის რეცესიის სამკურნალოდ მოწოდებულია სხვადასხვა კონსერვატიული და ქირურგიული მეთოდები. კონსერვატიული მკურნალობა სრულად არ აკმაყოფილებს კლინიკისტების მოთხოვნებს, ხოლო ქირურგიული მეთოდებიდან ძირითადად გამოიყენება ქსოვილის თავისუფალი ან ფეხიანი ნაფლეთის ტრანსპლანტაცია, რომლის მიზანიც არის გაშიშვლებული კბილის ფესვის რბილი ქსოვილით დაფარვა და მიმაგრებული ღრძილის ადეკვატური ზომის შექმნა. ქირურგიული მკურნალობის მთავარ უარყოფით თვისებად ითვლება დამატებით დონორი მიდამოს არსებობა და ღრძილის რეცესიის გენერალიზებული ფორმის დროს გადასანერგი ქსოვილების არასაკმარისი რაოდენობა. ასევე მნიშვნელოვნად იზრდება გართულებების რისკი და პოსტოპერაციული ტკივილი. ამ მეთოდების ალტერნატივას ღრძიის რეცესიის მკურნალობისათვის, დღეისათვის წარმოადგენს სხვადასხვა ბიოლოგიური და სინთეტური მემბრანების გამოყენება. თუმცა დღეისათვის სამედიცინო ბაზარზე არსებული ყველა მემბრანა ხასიათდება მისთვის დამახასიათებელი მაკრო და მიკრო სტრუქტურით. რაც დემონსტრაციას უკეთებს ორგანიზმის უჯრედულ და სისტემურ პასუხს მემბრანის მიმართ. ეს კი თავის მხრივ გავლენას ახდენს მემბრანის რეციპიენტ ქსოვილებში ინტეგრაციაზე.

დღეისათვის იდეალურ მემბრანს მიმართ წაყენებულია შემდეგი მოთხოვნები: იყოს ბიოლოგიურად უსაფრთხო და ბიომეთავსებადი, შექმნას სივრცე, ჰქონდეს მექანიკური სიმტკიცე და სტაბილურობა. რეციპიენტი ქსოვილში მემბრანის ინტეგრაციის მისაღწევად აუცილებელია უცხო სხეულზე პასუხი იყოს მინიმალური, მემბრანის მიკროსტრუქტურა კი ხელს უწყობდეს შემაერთებელი ქოვილის მიმაგრებას რეგენერაციის პროცესში. მემბრანა რომელიც არის ინტეგრირებული გარშემო ქსოვილებში უზრუნველყოფს მექანიკურ სტაბილურობას.

ჩატარებულმა კვლევებმა გვიჩვენა, რომ ამნიონური მემბრანა წარმოდგენილია ხუთი შრით; ამნიონური ეპითელიალური შრე, ბაზალური მემბრანა, კომპაქტური შრე, ფიბრობლასტების შრე და ღრუბლოვანი შრე. ეპითელიალური შრე ძირითადად წარმოდგენილია ერთბრთვიანი ეპითელიური უჯრედებით. მათში აღინიშნება მრავალი მიტოზი, გამოირჩევიან მაღალი სინთეზური აქტივობით და გამოიმუშავენ ისეთ ნივთიერებებს რომელსაც გააჩნიათ იმუნოსუპრესორული აქტივობა; α ფეტოპროტეინი, ლამინინი 6, 7, ინტერლეიკინი, ეპიდერმალური ზრდის ფაქტორი, ტრასფორმირებადი ზრდის ფაქტორი β , ფიბრობლასტების ზრდის ფაქტორი, ენდოთელინები, რომლებიც აძლიერებენ ეპითელიუმის ღეროვანი უჯრედების პროლიფერაციას, მიგრაციასა და დიფერენცირებას. აქვე გვინდა ავღნიშნოთ, რომ ამნიონურ ეპითელიალურ უჯრედებს ზედაპირზე არ გააჩნიათ HLA-A,B,C ანტიგენები. ბაზალური მემბრანა შეიცავს III, IV, V ტიპის კოლაგენს, ფიბრონექტინს, ლამინინს, ნიდოგენს და პროტეოგლიკანებს, რომლებიც თავის მხრივ მდიდარია სულფატ ჰეპარინით და იქვე განლაგებულია სისხლძარღვოვანი ქსელი. მსგავსად ბაზალური მემბრანისა, კომპაქტური შრე შეიცავს რეტიკულურ ბოჭკოებს, თუმცა მასში განლაგებულია I, III, V, VI ტიპის კოლაგენი და ფიბრონექტინი. ფიბრობლასტების შრე წარმოდგენილია ჰისტოციტების, მიოფიბრობლასტებისა და მაკროფაგებისაგან, რომლებიც განლაგებულები არიან კოლაგენის, რეტიკულური ბოჭკოებისა და უჯრედშორისი ნივთიერებისგან წარმოქმნილ ხშირ ქსელში. ასევე შეიცავს I, III, VI ტიპის კოლაგენს, ლამინინს, ფიბრონექტინს და ნიდოგენს. ღრუბლოვანი შრე კი I, III, V ტიპის კოლაგენის და პროტეოგლიკანებს. იგი შემაერთებული ქსოვილისა და უჯრედშორის ნივთიერებასთან ერთად დაკავშირებულია ქორიონულ მემბრანასთან.

ჩვენს მიერ შემუშავებული ადამიანის ნატიური ამნიონური მემბრანის დეცელულარიზაციის მეთოდმა SDS და Tritin x 100 გამოყენებით, გვიჩვენა რომ ინარჩუნებს თავის ბუნებრივ სტრუქტურას. დნმ ანალიზმა გვიჩვენა, რომ ნატიურ ამნიონურ მემბრანაში, თუ იგი წარმოდგენილი იყო 338 მგ/მლ

დეცელულარიზაციის შემდეგ მისი შემცველობა 2% ნაკლებია. ჰისტოლოგიურმა და სკანირებადმა მიკროსკოპიულმა კვლევებმა დაადასტურეს, რომ დეცელულარიზაციის შემდეგ ამნიონურ მემბრანაში არ აღინიშნება უჯრედები და წარმოდგენილია ფოროვანი სტრუქტურით. აღსანიშნავია, რომ დეცელულარიზირებული ამნიონური მარტიქსი ინარჩუნებს თავის სტრუქტურას რეჰიდრატაციის შემდეგაც. ჩატარებულმა გენის ექსპრესიის ანალიზმა გვიჩვენა, რომ დეცელულარიზაციის შემდეგ ამნიონურ მემბრანაში შენარჩუნებულია ისეთი ზრდის ფაქტორები როგორც არის BMP7, BMP8a, EGF, და VEGF. ჩვენს მიერ გამოყენებულმა ენერგოდისპერსული მიკრორენტგენოსპექტრალურმა ანალიზმა გვანახა, როგორც ნატიური ისე დეცელულარიზირებული მემბრანის არაორგანული ნივთიერებების შემადგენლობა და მათი რაოდენობა. ამან მოგვცა საშუალება ენერგოდისპერსული მიკრორენტგენოსპექტრალური ანალიზი გამოგვეყენებინა დეცელულარიზაციისას დეტერგენტების სრულყოფილი გამორეცხვის დასადასტურებლად.

ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარე შეგვიძია ვთქვათ, რომ როგორც ადამიანის დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანა, ასევე ჩვენს მიერ შემუშავებული ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანა აკმაყოფილებენ ზემოთ აღნიშნულ თვისებებს.

ღრმილის რეცესიის მკურნალობისათვის ჩატარებულმა ექსპერიმენტულმა კვლევამ გვიჩვენა, რომ ყველა ჯგუფის ცხოველებში, გარდა საკონტროლო ჯგუფისა, რომლებშიც ხდებოდა მკურნალობა ჩვენს მიერ შერჩეული მეთოდებით ლიგატურის მოცილების შემდეგ პირველი 48 საათის განმავლობაში აღინიშნებოდა მემბრანის გაჟღენთვა პლაზმითა და სისხლის ელემენტებით. მემბრანის გარშემო მყოფი რბილი ქსოვილები იყო შეშუპებული, ჰიპერემიული. ამავე ვადებში მეორე ჯგუფის ცხოველებში იწყებოდა მემბრანის დეჰიდრატაცია და ზედაპირული შრის აშრეება, რომლის ფერიც იცვლებოდა ღია ყვითლიდან მუქ ყავისფრამდე. ვიზუალურად მეშვიდე დღისთვის შეინიშნებოდა ამნიონური მემბრანის პერიფერიიდან ცენტრისკენ შექმუხვა და მის ქვეშ მოჩნდა ახლად წარმოქმნილი გრანულაციური ქსოვილები. მკურნალობიდან 18 დღის შემდეგ

აშრევებული ამნიონური მემბრანის ქვეშ იყო ახლადფორმირებული ეპითელიალური ქსოვილი რომეიც რეცესიულ უბანს ფარავდა 5 მმ დონეზე. ჰისტოლოგიურმა კვლევებმა გვიჩვენეს, რომ მესამე დღისათვის მემბრანის ქვედა შრე დაფარული იყო თხელი ფენის ფიბროზული კაფსულით, რომელიც შედგებოდა ფაშარი შემაერთებელქსოვილოვანი ბოჭკოებით. იგი მჭირდროდ ფარავდა დეფექტის მიდამოს. მემბრანის კარიბჭისკენა ზედაპირზე აღინიშნებოდა მცირე რაოდენობის მაკროფაგები, გიგანტური უჯრედები და სხვა ანთებითი ელემენტები. ერთი კვირის შემდეგ მემბრანის გარშემო აღინიშნებოდა სხვადასხვა დიამეტრის მრავლობითი სისხლძარღვები, რომელიც გარს ერტყმოდა მემბრანას. მერვე-მეთე დღეს რბილი ქსოვილების დეფექტი ამოფენილი იყო ერთგვაროვანი ტიპის ეპითელიური უჯრედებით. 20 დღის შემდეგ რეცესიული უბანი სრულად იყო დაფარული ახლად ფორმირებული ღრძილის ეპითელიუმით, რომელიც არც ფორმით და არც ფერით არ განსხვავდებოდა ნორმისაგან.

მეოთხე ჯგუფის ცხოველებში სადაც რეცესიის მკურნალობის მიზნის გამოყენებული იყო ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანა 3 დღის შემდეგ მემბრანის დეჰიდრატაციის მოვლენები, მეორე ჯგუფისგან განსხვავებით, ნაკლებად შეინიშნებოდა. ვიზუალურად მეშვიდე დღისთვის ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანა მჭიდროს ეკვროდა და სრულად ფარავდა რეცესიულ უბანს. თუმცა, ამავე ვადებში დაიწყო თვითონ ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანის სტრუქტურული აშრევაბა. მემბრანის ბოჭკოების ქვედა ნაწილი მჭიდროს იყო ჩაზრდილი ახლად წარმოქმნილ გრანულაციურ ქსოვილთან და ქმნიდა ქსოვილოვან პროფილს. მემბრანის ბოჭკოების ზედაპირული ფენა, რომელიც პირის ღრუს კარიბჭისკენ იყვნენ მიმართულნი განიცდიდნენ დეჰიდრატაციას.

მკურნალობიდან ორი კვირის შემდეგ მემბრანის დეჰიდრატირებული ფენა მოცილდა და მის ქვეშ აღინიშნებოდა ახლად წარმოქმნილი ეპითელიუმი.

ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარე შეიძლება დავასკვნათ, რომ ბიოლოგიურად აქტიურმა მემბრანამ მნიშვნელოვნად დააჩქარა რეცესიული უბნის სრულფასოვანი აღდგენა. მეოთხე ჯგუფის ცხოველებში რეცესიული უბნის

სრულფასოვანი რეგენერაცია განპირობებული იყო ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანის შემადგენლობით.

რაც შეეხება რეცესიულ უბანში ძვლოვანი დანაკარგის რეგენერაციას, ჩატარებულმა კვლევამ გვიჩვენა რომ მესამე და მეხუთე ჯგუფის ცხოველებში ძვლის ფხვნილის მოთავსების შემდეგ ძვლის დეფექტში მე-15 დღისათვის ვლინდებოდა ძვლოვანი ინტეგრაციის საწყისი პროცესები. აღნიშნული პროცესი განპირობებული იყო Geo-Oss-ის ბიოლოგიური და მორფოლოგიური თვისებებით და ასევე ადამიანის ამნიონური მემბრანით, რომელიც ასრულებდა ბარიერულ ფუნქციას, ხელს უშლიდა მიკრობების შეჭრასა და ანთების განვითარებას. მეხუთე ჯგუფის ცხოველებში ეს პროცესები მოიცავდა რეპარაციული რეგენერაციის აქტიურ ფაზას, რომელიც განაპირობა ბიოლოგიურად აქტიურ მემბრანაში აარსებული ღეროვანი უჯრედების პარაკრინული ფაქტორების არსებობამ. ოპერაციიდან 30-ე დღეს მეხუთე ჯგუფის ცხოველებში კარგად ჩანდა ახლად წარმოქმნილი ძვლოვანი ქსოვილი. ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანის ხარჯზე საგრძნობლად გაიზარდა ანგიოგენეზი, გაძლიერდა ძვლოვანი ქსოვილის შენება და ახალი ძვლის წარმოქმნა. ამ დროისათვის მესამე ჯგუფის ცხოველების რენტგენოგრამაზე პირველ და მეორე ჯგუფთან შედარებით მკვეთრად იყო გამოხატული ახლად წარმოქმნილი ძვლის კონტურები. მესამოცე დღეს მესამე და მეხუთე ჯგუფის ცხოველებში ძვლოვან დეფექტი სრულად იყო აღდგენილი. რენტგენოლოგიური გამოკვლევით დადასტურდა, რომ კბილთაშირისი ძგიდისა და ალვეოლური ძვლის კორტიკალური ფირფიტის კონტურები არ განსხვავდებოდა ნორმისაგან. მეორე ჯგუფის ცხოველებში კი ამ ვადებში ახლადშექმნილი ძვლის ქსოვილი წარმოდგენილი იყო მოზაიკური სურათით და ვიზუალურად განსხვავდებოდა ნორმალური ძვლისაგან. ჩვენს მიერ მიღებული შედეგები ადასტურებს ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანის ბიომეთავსებადობას, მის ოსტეოინდუქციურ, ოსტეოკონდუქციურ თვისებებს და ანგიოგენეზის სტიმულირებას, Geo –Oss-ის გამოყენებამ კი მემბრანასთან კომინაციაში დააჩქარა ოსტეოინტეგრაცია და ძვლის რეგენერაციის პროცესი.

ეს გვაძლევს საშუალებას დავასკვნათ, რომ ჩვენს მიერ შემუშავებული ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანა აკმაყოფილებს კოლაგენური მემბრანებისათვის წარდგენილ ყველა მოთხოვნას და ეფექტურად შეიძლება იყოს გამოყენებული რბილი და მაგარი ქსოვილების რეგენერაციისათვის პირის ღრუს სხვადასხვა პათოლოგიური პროცესების მკურნალობის დროს.

თავი 2.6. დასკვნები და პრაქტიკული რეკომენდაციები

2.6.1. დასკვნები

- დეცელულარიზაციის მეთოდის გამოყენებით შექმნილია ადამიანის ამნიონური მემბრანისაგან სამგანზომილებიანი ფოროვანი სტრუქტურის მატრიქსი, რომელიც ხასიათდება დაბალი ანტიგენური აქტივობით, ბიოშეთავსებადობით და ბიორეზორბირებადი თვისებებით.
- შემუშავებული ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანა წარმოადგენს ადამიანის დეცელულარიზირებული ამნიონური მემბრანისა და ძვლის ტვინის ღეროვანი უჯრედების კომპოზიტს.
- ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანა ხასიათდება ანთების საწინააღმდეგო და ანტიმიკრობული თვისებებით, აძლიერებს ანგიოგენეზს და ხელს უწყობს სწრაფ რეგენერაციას, რომელიც მიმდინარეობს ნაწიბურის განვითარების გარეშე.
- ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანა, არის ბიოლოგიურად უსაფრთხო, პირის ღრუს ქსოვილებთან ბიოშეთავსებადი და აკმაყოფილებს იდიალური კოლაგენური მემბრანისათვის წაყენებულ მოთხოვნებს.
- ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანა, შეიძლება ეფექტურად იყოს გამოყენებული ღრძილის რეცესიის მკურნალობისათვის.

- ჩვენს მიერ შემუშავებული ბიოლოგიური ქსოვილების დეცელულარიზაციის პროტოკოლი საშუალებას იძლევა მივიღოთ სამგანზომილებიანი ფოროვანი უჯრედგარეშე მატრიქსი.
- ენერგოდისპერსული მიკრორენტგენოსპექტრალური ანალიზი შეიძლება გამოყენებული იყოს, როგორც ტესტი დეცელულარიზაციის პროცესში დეტერგენტების სრულყოფილი გამორეცხვის დასადასტურებლად.

2.6.2 პრაქტიკული რეკომენდაციები

ამნიონური მემბრანის გამოყენება შესაძლებელია, როგორც ღრძილის რეცესიის დროს ასევე თავისა და კისრის რეგიონში ჭრილობებისას. მემბრანის გამოყენებისას უნდა დავიცვათ სტერილურად მუშაობის ზოგადი პრინციპები. ამნიონური მემბრანა გამოყენებამდე რამდენიმე წუთით ადრე უნდა მოთავსდეს ფიზიოლოგიურ ხსნარში რეჰიდრატაციისათვის. მემბრანა ადვილად იჭრება ქირურგიული მაკრატლებით საჭირო ზომის და ფორმის შესაბამისად. ამნიონური მემბრანა, რომელიც დატვირთულია ღეროვანი უჯრედებით თავსდება ამ ზედაპირით ჭრილობისაკენ. მემბრანას ახასიათებს კარგი ადგეზია. ამის მიუხედავად შესაძლებელია მისი ფიქსაცია ქირურგიული ნაკერებით.

თავი 3. დასკვნითი ნაწილი

ბიბლიოგრაფია

- Ark, Alexandra Vander, Jingchen Cao, and Xiaohong Li. 2018. “TGF- β Receptors: In and beyond TGF- β Signaling.” *Cellular Signalling*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2018.09.002>.
- Bartold, P. Mark, Christopher A.G. McCulloch, A. Sampath Narayanan, and Sandu Pitaru. 2000. “Tissue Engineering: A New Paradigm for Periodontal Regeneration Based on Molecular and Cell Biology.” *Periodontology 2000* 24 (1): 253–69. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0757.2000.2240113.x>.
- Batouli, S., M. Miura, J. Brahim, T. W. Tsutsui, L. W. Fisher, S. Gronthos, P. Gehron Robey, and S. Shi. 2003. “Comparison of Stem-Cell-Mediated Osteogenesis and Dentinogenesis.” *Journal of Dental Research* 82 (12): 976–81. <https://doi.org/10.1177/154405910308201208>.
- Baum, Bruce J., and David J. Mooney. 2000. “The Impact of Tissue Engineering on Dentistry.” *Journal of the American Dental Association* 131 (3): 309–18. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2000.0174>.
- Bianco, Paolo, Mara Riminucci, Stan Gronthos, and Pamela Gehron Robey. 2001. “Bone Marrow Stromal Stem Cells: Nature, Biology, and Potential Applications.” *Stem Cells* 19 (3): 180–92. <https://doi.org/10.1634/stemcells.19-3-180>.
- Bianco, Paolo, and Pamela Gehron Robey. 2001. “Stem Cells in Tissue Engineering.” *Nature*. <https://doi.org/10.1038/35102181>.
- Bunnell, Bruce A., Mette Flaatt, Christine Gagliardi, Bindiya Patel, and Cynthia Ripoll. 2008. “Adipose-Derived Stem Cells: Isolation, Expansion and Differentiation.” *Methods* 45 (2): 115–20. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2008.03.006>.
- Cao, Xu. 2018. “RANKL-RANK Signaling Regulates Osteoblast Differentiation and Bone Formation.” *Bone Research*. Sichuan University. <https://doi.org/10.1038/s41413-018-0040-9>.
- Chaudhary, L. R., A. M. Hofmeister, and K. A. Hruska. 2004. “Differential Growth Factor Control of Bone Formation through Osteoprogenitor Differentiation.” *Bone* 34 (3): 402–11. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2003.11.014>.
- Chrysanthakopoulos, Nikolaos Andreas. 2011. “Aetiology and Severity of Gingival Recession in an Adult Population Sample in Greece.” *Dental Research Journal*.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22013465><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3177396>.

- Cochran, D.L., G.N. King, J. Schoolfield, D. Velasquez-Plata, J.T Mellonig, and A. Jones. 2003. "The Effect of Enamel Matrix Proteins on Periodontal Regeneration as Determined by Histological Analyses." *Journal of Periodontology* 74 (7): 1043–55. <https://doi.org/10.1902/jop.2003.74.7.1043>.
- Cordioli, Giampiero, Cinzia Mortarino, Andrea Chierico, Maria Gabriella Grusovin, and Zeina Majzoub. 2001. "Comparison of 2 Techniques of Subepithelial Connective Tissue Graft in the Treatment of Gingival Recessions." *Journal of Periodontology* 72 (11): 1470–76. <https://doi.org/10.1902/jop.2001.72.11.1470>.
- Diomede, Francesca, Guya Diletta Marconi, Simone Guarnieri, Michele D'Attilio, Marcos F. X. B. Cavalcanti, Maria A. Marigliò, Jacopo Pizzicannella, and Oriana Trubiani. 2019. "A Novel Role of Ascorbic Acid in Anti-Inflammatory Pathway and ROS Generation in HEMA Treated Dental Pulp Stem Cells." *Materials* 13 (1): 130. <https://doi.org/10.3390/ma13010130>.
- Ellis, S G, P Sharma, and I R Harris. 2000. "Case Report: Aesthetic Management of a Localised Periodontal Defect with a Gingival Veneer Prosthesis." *The European Journal of Prosthodontics and Restorative Dentistry* 8 (1): 23–26. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11307386>.
- Eppley, Barry L., Jennifer E. Woodell, and Joel Higgins. 2004. "Platelet Quantification and Growth Factor Analysis from Platelet-Rich Plasma: Implications for Wound Healing." *Plastic and Reconstructive Surgery* 114 (6): 1502–8. <https://doi.org/10.1097/01.PRS.0000138251.07040.51>.
- Everts, Peter A.M., Johannes T.A. Knape, Gernot Weibrich, Jacques P.A.M. Schönberger, Johannes Hoffmann, Eddy P. Overdeest, Henk A.M. Box, and André Van Zundert. 2006. "Platelet-Rich Plasma and Platelet Gel: A Review." *Journal of Extra-Corporeal Technology*.
- Fahmy, Rania A., and Maha R. Taalab. 2018. "Modified Tunnel Technique for Management of Gingival Recession in Esthetic Zone Using Acellular Dermal Matrix versus Connective Tissue Graft." *Future Dental Journal*, December. <https://doi.org/10.1016/j.fdj.2018.12.001>.
- Francis, Michael P., Patrick C. Sachs, Lynne W. Elmore, and Shawn E. Holt. 2010. "Isolating Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells from Lipoaspirate Blood and Saline

- Fraction.” *Organogenesis* 6 (1): 11–14. <https://doi.org/10.4161/org.6.1.10019>.
- Gentile, Piergiorgio, Valeria Chiono, Chiara Tonda-Turo, Ana M. Ferreira, and Gianluca Ciardelli. 2011. “Polymeric Membranes for Guided Bone Regeneration.” *Biotechnology Journal*. <https://doi.org/10.1002/biot.201100294>.
- Ghaneialvar, Hori, Leila Soltani, Hamid Reza Rahmani, Abbas Sahebghadam Lotfi, and Masoud Soleimani. 2018. “Characterization and Classification of Mesenchymal Stem Cells in Several Species Using Surface Markers for Cell Therapy Purposes.” *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 33 (1): 46–52. <https://doi.org/10.1007/s12291-017-0641-x>.
- Gopakumar, Ashish, and Banoo Sood. 2012. “Conservative Management of Gingival Recession: The Gingival Veneer.” *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry* 24 (6): 385–93. <https://doi.org/10.1111/j.1708-8240.2012.00513.x>.
- Gupta, Santosh, Ruchi Banthia, Pallavi Singh, Priyank Banthia, Sapna Raje, and Neha Aggarwal. 2015. “Clinical Evaluation and Comparison of the Efficacy of Coronally Advanced Flap Alone and in Combination with Platelet Rich Fibrin Membrane in the Treatment of Miller Class I and II Gingival Recessions.” *Contemporary Clinical Dentistry* 6 (2): 153–60. <https://doi.org/10.4103/0976-237X.156034>.
- Jati, Ana Suzy, Laurindo Zanco Furquim, and Alberto Consolaro. 2016. “Gingival Recession: Its Causes and Types, and the Importance of Orthodontic Treatment.” *Dental Press Journal of Orthodontics* 21 (3): 18–29. <https://doi.org/10.1590/2177-6709.21.3.018-029.oin>.
- Jones, Archie A., Daniel Buser, Robert Schenk, John Wozney, and David L. Cochran. 2006. “The Effect of RhBMP-2 Around Endosseous Implants With and Without Membranes in the Canine Model.” *Journal of Periodontology* 77 (7): 1184–93. <https://doi.org/10.1902/jop.2006.050337>.
- Jovii, Bojan, Zoran Lazi, Milica Nedi, Stevo Matijevi, and Aleksandra Gostovi-Špadijer. 2013. “Strana 664 VOJNOSANITETSKI PREGLED Therapeutic Efficacy of Connective Tissue Autotransplants with Periosteum and Platelet Rich Plasma in the Menagement of Gingival Recession Terapijski Efekat Plazme Obogaene Trombocitima i Autotransplantata Vezivnog Tkiva.” *Vojnosanit Pregl* 70 (7): 664–69. <https://doi.org/10.2298/VSP1307664J>.
- Juopperi, Tarja A., William Schuler, Xuan Yuan, Michael I. Collector, Chi V. Dang, and Saul J. Sharkis. 2007. “Isolation of Bone Marrow-Derived Stem Cells Using Density-

- Gradient Separation.” *Experimental Hematology* 35 (2): 335–41.
<https://doi.org/10.1016/j.exphem.2006.09.014>.
- Kakabadze, Ann, Konstantine Mardaleishvili, George Loladze, Lia Karalashvili, Gocha Chutkerashvili, David Chakhunashvili, and Zurab Kakabadze. 2017. “Reconstruction of Mandibular Defects with Autogenous Bone and Decellularized Bovine Bone Grafts with Freeze-Dried Bone Marrow Stem Cell Paracrine Factors.” *Oncology Letters* 13 (3): 1811–18. <https://doi.org/10.3892/ol.2017.5647>.
- Kakabadze, Zurab, Konstantine Mardaleishvili, George Loladze, Ivane Javakhishvili, Konstantine Chakhunasvili, Lika Karalashvili, Natia Sukhitashvili, Gocha Chutkerashvili, Ann Kakabadze, and David Chakhunasvili. 2016. “Clinical Application of Decellularized and Lyophilized Human Amnion/Chorion Membrane Grafts for Closing Post-Laryngectomy Pharyngocutaneous Fistulas.” *Journal of Surgical Oncology* 113 (5): 538–43. <https://doi.org/10.1002/jso.24163>.
- Karalashvili, L, A. Kakabadze, G Vyshnevskaya, and Z Kakabadze. 2015. “ACELLULAR HUMAN AMNIOTIC MEMBRANE AS A THREE-DIMENSIONAL SCAFFOLD FOR THE TREATMENT OF MUCOGINGIVAL DEFECTS.” *Georgian Medical News*, no. 244–245: 84–89. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26177140>.
- Kassab, Moawia M., and Robert E. Cohen. 2003. “The Etiology and Prevalence of Gingival Recession.” *Journal of the American Dental Association* 134 (2): 220–25.
<https://doi.org/10.14219/jada.archive.2003.0137>.
- Khorramirouz, Reza, Shabnam Sabetkish, Aram Akbarzadeh, Ahad Muhammadnejad, Reza Heidari, and Abdol Mohammad Kajbafzadeh. 2014. “Effect of Three Decellularisation Protocols on the Mechanical Behaviour and Structural Properties of Sheep Aortic Valve Conduits.” *Advances in Medical Sciences* 59 (2): 299–307.
<https://doi.org/10.1016/j.advms.2014.08.004>.
- Khuller, Nitin. 2009. “Coverage of Gingival Recession Using Tunnel Connective Tissue Graft Technique.” *Journal of Indian Society of Periodontology* 13 (2): 101.
<https://doi.org/10.4103/0972-124x.55838>.
- Kumar, Ashish, and Sujata Masamatti. 2013. “A New Classification System for Gingival and Palatal Recession.” *Journal of Indian Society of Periodontology* 17 (2): 175–81.
<https://doi.org/10.4103/0972-124X.113065>.
- Lee, Eun-Ju, Stephen J. Meraw, Tae-Ju Oh, William V. Giannobile, and Hom-Lay Wang. 2002. “Comparative Histologic Analysis of Coronally Advanced Flap With and Without

- Collagen Membrane for Root Coverage.” *Journal of Periodontology* 73 (7): 779–88. <https://doi.org/10.1902/jop.2002.73.7.779>.
- Lee, Ryang Hwa, Byung Chul Kim, Ik Soo Choi, Hanna Kim, Hee Sun Choi, Keun Tak Suh, Yong Chan Bae, and Jin Sup Jung. 2004. “Characterization and Expression Analysis of Mesenchymal Stem Cells from Human Bone Marrow and Adipose Tissue.” *Cellular Physiology and Biochemistry* 14 (4–6): 311–24. <https://doi.org/10.1159/000080341>.
- Lin, N. H., S. Gronthos, and P. M. Bartold. 2008. “Stem Cells and Periodontal Regeneration.” *Australian Dental Journal*. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2008.00019.x>.
- Mahajan, A., A. Bharadwaj, and P. Mahajan. 2012. “Comparison of Periosteal Pedicle Graft and Subepithelial Connective Tissue Graft for the Treatment of Gingival Recession Defects.” *Australian Dental Journal* 57 (1): 51–57. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2011.01648.x>.
- Mahajan, Ajay, Kanwarjit Singh Asi, Deepa Rayast, and Mayum Negi. 2019. “Comparison of Miller’s Classification of Gingival Recession Defects with Mahajan’s Classification of Gingival Recession Defect: A Reliability Study.” *European Journal of General Dentistry* 8 (2): 45–50. https://doi.org/10.4103/ejgd.ejgd_42_19.
- Mythri, Sarpangala, Suryanarayan Arunkumar, Shashikanth Hegde, Shanker Rajesh, Mohamed Munaz, and Devasya Ashwin. 2015. “Etiology and Occurrence of Gingival Recession - An Epidemiological Study.” *Journal of Indian Society of Periodontology* 19 (6): 671–75. <https://doi.org/10.4103/0972-124X.156881>.
- Naik, Archana, Alampalli Ramesh, C. Dwarkanath, Madhukeshwara Naik, and A. Chinnappa. 2013. “Use of Autologous Platelet Rich Plasma to Treat Gingival Recession in Esthetic Periodontal Surgery.” *Journal of Indian Society of Periodontology* 17 (3): 345–53. <https://doi.org/10.4103/0972-124X.115665>.
- Oa, Licensee, Publishing London, Creative Commons, and Attribution License. 2014. *Licensee OA Publishing London 2014. Creative Commons Attribution License (CC-BY)*. Vol. 2. <http://www.oapublishinglondon.com/images/article/pdf/1393755704.pdf>.
- Patel, M., P. J. Nixon, and M. F.W.Y. Chan. 2011. “Gingival Recession: Part 1. Aetiology and Non-Surgical Management.” *British Dental Journal* 211 (6): 251–54. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2011.764>.
- Periodontology, American Academy of. 2001. “The American Academy of Periodontology.” *J Periodontal*, 44.

<http://www.perio.org/sites/default/files/files/PDFs/Publications/GlossaryOfPeriodontalTerms2001Edition.pdf>.

- Potârniche, Oana, Sorina Solomon, Liliana Păsărin, Alexandra Mârțu, Diana-Cristala Nițescu, and Silvia Mârțu. n.d. “STATISTICAL STUDY ON THE PREVALENCE OF GINGIVAL RECESSION IN YOUNG ADULTS.” *International Journal of Medical Dentistry*.
- Sankaranarayanan, Seshadri, Nadeem Jetty, Jayaprakash S Gadagi, Senthilkumar Preethy, and Samuel J K Abraham. 2013. “Periodontal Regeneration by Autologous Bone Marrow Mononuclear Cells Embedded in a Novel Thermo Reversible Gelation Polymer.” *Journal of Stem Cells* 8 (2): 99–103. <https://doi.org/jsc.2014.8.2.99>.
- Sawan, Nozha Mahmoud, Ahmed Ghoneima, Kelton Stewart, and Sean Liu. 2018a. “Risk Factors Contributing to Gingival Recession among Patients Undergoing Different Orthodontic Treatment Modalities.” *Interventional Medicine and Applied Science* 10 (1): 19–26. <https://doi.org/10.1556/1646.9.2017.42>.
- . 2018b. “Risk Factors Contributing to Gingival Recession among Patients Undergoing Different Orthodontic Treatment Modalities.” *Interventional Medicine and Applied Science* 10 (1): 19–26. <https://doi.org/10.1556/1646.9.2017.42>.
- Sculean, Anton, Mohammad Berakdar, Britta Willershausen, Nicole B. Arweiler, Jürgen Becker, and Frank Schwarz. 2006. “Effect of EDTA Root Conditioning on the Healing of Intrabony Defects Treated With an Enamel Matrix Protein Derivative.” *Journal of Periodontology* 77 (7): 1167–72. <https://doi.org/10.1902/jop.2006.050300>.
- Seong, J., D. Bartlett, R. G. Newcombe, N. C.A. Claydon, N. Hellin, and N. X. West. 2018. “Prevalence of Gingival Recession and Study of Associated Related Factors in Young UK Adults.” *Journal of Dentistry* 76 (September): 58–67. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2018.06.005>.
- Shkreta, Mirsad, Aneta Atanasovska-Stojanovska, Blerta Dollaku, and Zlatanka Belazelkoska. 2018. “Exploring the Gingival Recession Surgical Treatment Modalities: A Literature Review.” *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*. Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2018.185>.
- Slutzkey, Shimshon, and Liran Levin. 2008. “Gingival Recession in Young Adults: Occurrence, Severity, and Relationship to Past Orthodontic Treatment and Oral Piercing.” *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* 134 (5):

- 652–56. <https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2007.02.054>.
- Sudo, Kazuhiro, Megumi Kanno, Kenichi Miharada, Saeri Ogawa, Takashi Hiroyama, Kaoru Saijo, and Yukio Nakamura. 2007. “Mesenchymal Progenitors Able to Differentiate into Osteogenic, Chondrogenic, and/or Adipogenic Cells In Vitro Are Present in Most Primary Fibroblast-Like Cell Populations.” *Stem Cells* 25 (7): 1610–17. <https://doi.org/10.1634/stemcells.2006-0504>.
- Sun, Shengkun, Zikuan Guo, Xuren Xiao, Bing Liu, Xiaodan Liu, Pei-Hsien Tang, and Ning Mao. 2003. “Isolation of Mouse Marrow Mesenchymal Progenitors by a Novel and Reliable Method.” *Stem Cells* 21 (5): 527–35. <https://doi.org/10.1634/stemcells.21-5-527>.
- Tinti, Carlo, Gianpaolo Vincenzi, Pierpaolo Coltellini, Giampaolo Pini Prato, and Carlo Clauser. 1992. “Guided Tissue Regeneration in the Treatment of Human Facial Recession. A 12-Case Report.” *Journal of Periodontology* 63 (6): 554–60. <https://doi.org/10.1902/jop.1992.63.6.554>.
- Tong, Zhen, Jingxu Guo, Robert C. Glen, Nicholas W. Morrell, and Wei Li. 2019. “A Bone Morphogenetic Protein (BMP)-Derived Peptide Based on the Type I Receptor-Binding Site Modifies Cell-Type Dependent BMP Signalling.” *Scientific Reports* 9 (1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49758-x>.
- Tóth, Ferenc, József M. Gáll, József Tözsér, and Csaba Hegedűs. 2020. “Effect of Inducible Bone Morphogenetic Protein 2 Expression on the Osteogenic Differentiation of Dental Pulp Stem Cells in Vitro.” *Bone* 132 (March). <https://doi.org/10.1016/j.bone.2019.115214>.
- Tugnait, A., and V. Clerehugh. 2001. “Gingival Recession - Its Significance and Management.” *Journal of Dentistry*. [https://doi.org/10.1016/S0300-5712\(01\)00035-5](https://doi.org/10.1016/S0300-5712(01)00035-5).
- Wada, Teiji, Tomoki Nakashima, Nishina Hiroshi, and Josef M. Penninger. 2006. “RANKL-RANK Signaling in Osteoclastogenesis and Bone Disease.” *Trends in Molecular Medicine*. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2005.11.007>.
- Wilshaw, Stacy Paul, John Kearney, John Fisher, and Eileen Ingham. 2008. “Biocompatibility and Potential of Acellular Human Amniotic Membrane to Support the Attachment and Proliferation of Allogeneic Cells.” *Tissue Engineering - Part A*. 14 (4): 463–72. <https://doi.org/10.1089/tea.2007.0145>.
- Zanwar, Kushal, Manohar Laxmanrao Bhongade, Kiran Kumar Ganji, Somnath B Koudale, and Purushothama Gowda. 2014. “Comparative Evaluation of Efficacy of Stem Cells in

Combination with PLA/PGA Membrane versus Sub-Epithelial Connective Tissue for the Treatment of Multiple Gingival Recession Defects: A Clinical Study.” *Journal of Stem Cells* 9 (4): 253–67. <https://doi.org/jsc.2015.9.4.253>.

Zhang, Qinglin, Xun Sun, Jianxun Ding, Ping He, Yujia Liu, Hongjing Cheng, Changlin Zhou, and Xiangwei Meng. 2015. “Autoserum: An Optimal Supplement for Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells of Liver-Injured Rats.” *Stem Cells International* 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/459580>.

Zucchelli, G., C. Amore, N. M. Sforza, L. Montebugnoli, and M. De Sanctis. 2003. “Bilaminar Techniques for the Treatment of Recession-Type Defects. A Comparative Clinical Study.” *Journal of Clinical Periodontology* 30 (10): 862–70. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051X.2003.00397.x>.

გამოქვეყნებულ ნაშრომთა სია

1. Kakabadze Z, Chakhunashvili D, Gogilashvili K, Ediberidze K, Chakhunashvili K, Kalandarishvili K, Karalashvili L. Bone Marrow Stem Cell and Decellularized Human Amniotic Membrane for the Treatment to Nonhealing Wound After Radiation Therapy. *Experimental and Clinical Transplantation*. 2019 Jan;17 (Suppl 1):92-98. doi: 10.6002/ect.MESOT2018.O29.
2. Karalashvili L, Kakabadze A, Uhryn M, Vyshnevskaya H, Ediberidze K, Kakabadze Z. BONE GRAFTS FOR RECONSTRUCTION OF BONE DEFECTS (REVIEW). *Georgian Med News*. 2018 Sep;(282):44-49.
3. Karalashvili L, Mardaleishvili K, Uhryn M, Chakhunashvili D, Kakabadze Z. CURRENT CONDITION AND CHALLENGES IN TREATMENT OF NON-HEALING WOUND AFTER RADIATION THERAPY (REVIEW). *Georgian Med News*. 2018 Jul-Aug; (280-281):23-28.
4. Kakabadze A, Mardaleishvili K, Loladze G, Karalashvili L, Chutkerashvili G, Chakhunashvili D, Kakabadze Z. Reconstruction of mandibular defects with autogenous bone and decellularized bovine bone grafts with freeze-dried bone marrow stem cell paracrine factors. *Oncol Lett*. 2017 Mar;13(3):1811-1818. doi: 10.3892/ol.2017.5647. Epub 2017 Jan 25.
5. 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 Apr; 113(5):538-43. doi: 10.1002/jso.24163. Epub 2016 Jan 21.
6. Karalashvili L, Kakabadze A, Vyshnevskaya G, Kakabadze Z. ACELLULAR HUMAN AMNIOTIC MEMBRANE AS A THREE-DIMENSIONAL SCAFFOLD FOR THE TREATMENT OF MUCOGINGIVAL DEFECTS. *Georgian Med News* 2015 Jul-Aug; (244-245):84-9.

7. Chumakova Y, Vishnevskaya A, Kakabadze A, Karalashvili L, Kakabadze Z. Clinical and biochemical analysis of ligature-induced periodontitis in rats. *Georgian Med News*. 2014 Oct; (235):639.

მოხსენებები ნაშრომის თემაზე

1. A new method of bone marrow stem cells using reparative regeneration of periodontitis - საქართველოს სტომატოლოგთა IX საერთაშორისო კონგრესი (ბათუმი, საქართველო, 2013)
2. Amnion Membrane for Treatment of Periodontitis - საქართველოს სტომატოლოგთა X საერთაშორისო კონგრესი (ბათუმი, საქართველო 2014)
3. Acellular Human Amniotic Membrane for the Treatment of Mucogingival Defects - თურქეთის სტომატოლოგთა ასოციაციის 21-ე საერთაშორისო სტომატოლოგიურ კონგრესი (სტამბული, თურქეთი 2015)
4. Clinical Application of Decellularized Human Amniotic Membrane Grafts for Closing Post-laryngectomy Pharyngocutaneous Fistulas- სამხრეთ-აღმოსავლეთ ევროპის სამედიცინო ფორუმის მეშვეობით საერთაშორისო სამედიცინო კონგრესი (ბათუმი, საქართველო 2016),
5. An innovative biologically active dressing for the oral full thickness wound reconstruction - FDI სტომატოლოგთა მსოფლიო კონგრესი (მადრიდი, ესპანეთი 2017).
6. Acellular Human amniotic membrane as a three -dimensional scaffold for the treatment of pharyngocutaneous fistula after radiotherapy and total laryngectomy- ქსოვილური ინჟინერიის მე-6 და რეგენერაციული ბიოსამედიცინო მასალების მე-3 საერთაშორისო გაერთიანებულ კონფერენციაზე (კრეტა, საბერძნეთი 2017) .
7. Bone Marrow Stem Cell and Decellularized Human Amniotic Membrane for the Treatment to Nonhealing Wound After Radiation Therapy - ორგანოთა

გადანერგვის შუა აღმოსავლეთის საზოგადოების მე-16 კონგრესი (ანკარა, თურქეთი 2019),

8. Use of Acellular Human Amniotic Membrane to Repair Large Pharyngocutaneous Fistulae Developing after Radiotherapy and Total Laryngectomy - მე-5 საერთაშორისო კონფერენცია სტომატოლოგიური მეცნიერება და განათლება & ქირურგია და ქირურგთა მე-5 საერთაშორისო შეხვედრა (ნიუ-იორკი, აშშ 2019).