



Teraźniejszość i przyszłość chirurgii rekonstrukcyjnej szkieletu czaszki twarzowej

Jan Zapala, Grażyna Wyszynska-Pawelec
Katedra i Klinika Chirurgii Szczękowo-Twarzowej,
Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

Present-day and future state of art of reconstruction of the facial skeleton

Summary

In this paper, present-day techniques used in reconstructive surgery of the facial skeleton are presented, including indications for autogenous, free and vascularized bone grafts as well as homogenous grafts, implants and bio-materials. The main directions of the development of reconstructive surgery are discussed. The preliminary results of research on xenogenous bone grafts harvested from transgenic pigs are presented as well as experimental model for New Zealand white rabbit and transgenic pig.

Key words:

facial skeleton, reconstructions in maxillofacial surgery, autogenous, homogenous, xenogenous bone grafts, transgenesis, bioengineering.

Adres do korespondencji

Jan Zapala,
Katedra i Klinika Chirurgii
Szczękowo-Twarzowej,
Collegium Medicum,
Uniwersytet Jagielloński,
os. Złotej Jesieni 1,
31-826 Kraków;
e-mail: dmfscmuj@wp.pl

1. Wstęp

Szkielet części twarzowej (trzewnej) czaszki, zbudowany głównie z kości płaskich o przewadze warstwy zbitej nad gąbczastą, stanowi wielopłaszczyznową strukturę będącą podłożem dla tkanek miękkich, a poprzez obecność pneumatycznych jam, zatok przynosowych, stanowi ochronę znajdujących się tu ważnych dla życia narządów. Nawet niewielkie ubytki szkieletu czaszki twarzowej mogą być przyczyną zaburzeń czynnościowych i estetycznych. Najczęstszą przyczyną po-

wstawiania ubytków kości czaszki twarzowej są urazy oraz zabiegi operacyjne w chirurgii onkologicznej. Występują również ubytki wrodzone w przebiegu licznych wad rozwojowych, jak na przykład brak łuku jarzmowego i gałęzi żuchwy w zespole Goldenhara.

Celem rekonstrukcji chirurgicznej jest uzyskanie symetrii twarzy i odtworzenie ciągłości wszystkich uszkodzonych tkanek i narządów.

Do rekonstrukcji w chirurgii kostnej najczęściej używane są własnopochodne, wolne przeszczepy kości (1). Miejscem ich pobrania są najczęściej talerz kości biodrowej, żebro, przednia ściana zatoki szczękowej, kość ciemieniowa. Alternatywą dla tych przeszczepów są wolne unaczynione przeszczepy kości, które wymagają zespolenia szypuły naczyniowej przeszczepu z naczyniami w miejscu biórczym (2-5). Oprócz przeszczepów autogennych stosuje się przeszczepy homogenne (6), np. kość żuchwy pobraną ze zwłok, następnie sterylizowaną radiacyjnie i głęboko mrożoną, o właściwościach przeszczepu biostatycznego lub przeszczepy liofilizowane.

W przypadku częściowych ubytków kostnych, o retencyjnym kształcie, istnieje możliwość wykorzystania materiałów bioaktywnych stymulujących przebudowę, a nawet odbudowę tkanki kostnej, jak bioszkleło, hydroksyapatyt, czy też resorbujący się w miarę tworzenia nowej tkanki kostnej β -fosforan trójwapniowy (Cerasorb).

Sposobem rekonstrukcji utraconej kości jest osteogeneza dystrykcyjna, nie wszędzie możliwa do zastosowania, a której istotną wadą jest długi czas leczenia.

Logiczną kontynuacją wykorzystywania w chirurgii szczękowo-twarzowej przeszczepów są badania nad możliwością zastosowania przeszczepów ksenogennych. Duże nadzieje wiąże się z możliwością zastosowania przeszczepów kostnych pochodzących od zwierząt transgenicznych. Innym kierunkiem są badania z zakresu inżynierii tkankowej dotyczące przeszczepiania autologicznych prekursorów komórek kostnych.

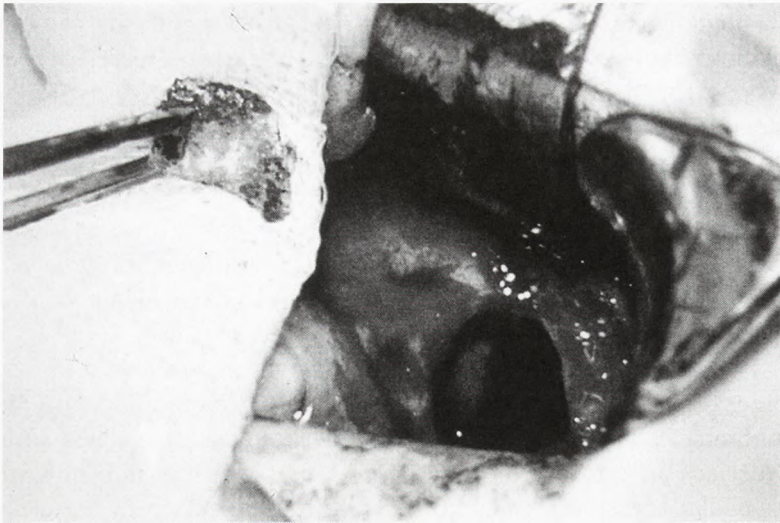
2. Materiał i metody

W latach 1997-2005 spośród 6588 leczonych w Klinice Chirurgii Szczękowo-Twarzowej CM UJ, u 346 chorych, w wieku od 8 do 80 lat, wykonano rekonstrukcję szkieletu czaszki twarzowej za pomocą różnych technik chirurgicznych. Dane o chorych przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1

Chorzy po rekonstrukcji szkieletu czaszki twarzowej leczeni w Klinice Chirurgii Szczękowo-Twarzowej CM UJ w latach 1997-2005

Liczba chorych	346 (100%)
pleć	M – 253 (73,1) K – 93 (26,9)
wiek	8 – 80 lat
wiek średni	34,6 lat



Ryc. 1. Przeszczep kości z przedniej ściany zatoki szczękowej. Kadr operacyjny.

U 303 (87,6%) chorych, wykorzystano autogenne przeszczepy kości oraz wszczepy metalowe i materiały kościostateczne, odpowiednio u 23 (6,6%) i 20 (5,8%) chorych. Najczęściej wykorzystywano przeszczep własnopochodny z przedniej ściany zatoki szczękowej (180 chorych), z talerza kości biodrowej (69 chorych), rzadziej przeszczep z kości ciemieniowej (26 chorych) i w pojedynczych przypadkach z kości czołowej lub skroniowej. Rodzaje zastosowanych przeszczepów kostnych przedstawiono w tabeli 2. Sposób pobrania przeszczepu kości z przedniej ściany zatoki szczękowej przedstawiono na rycinie 1.

Tabela 2

Rodzaje zastosowanych przeszczepów kostnych u 303 chorych z ubytkami szkieletu czaszki twarzowej

Rodzaj przeszczepu	Liczba (%) chorych
przednia ściana szczęki	180 (59,5)
talerz kości biodrowej	69 (22,8)
kość ciemieniowa	26 (8,7)
kość homogenna (mrożona kość żuchwy)	12 (3,9)
żebro	6 (1,9)
kość strzałkowa (przeszczep mikrochirurgiczny)	4 (1,4)
kość czołowa	3 (0,9)
kość promieniowa (przeszczep mikrochirurgiczny)	1 (0,3)
kość skroniowa	1 (0,3)
wyrostek dziobiasty żuchwy	1 (0,3)
razem:	303 (100,0)

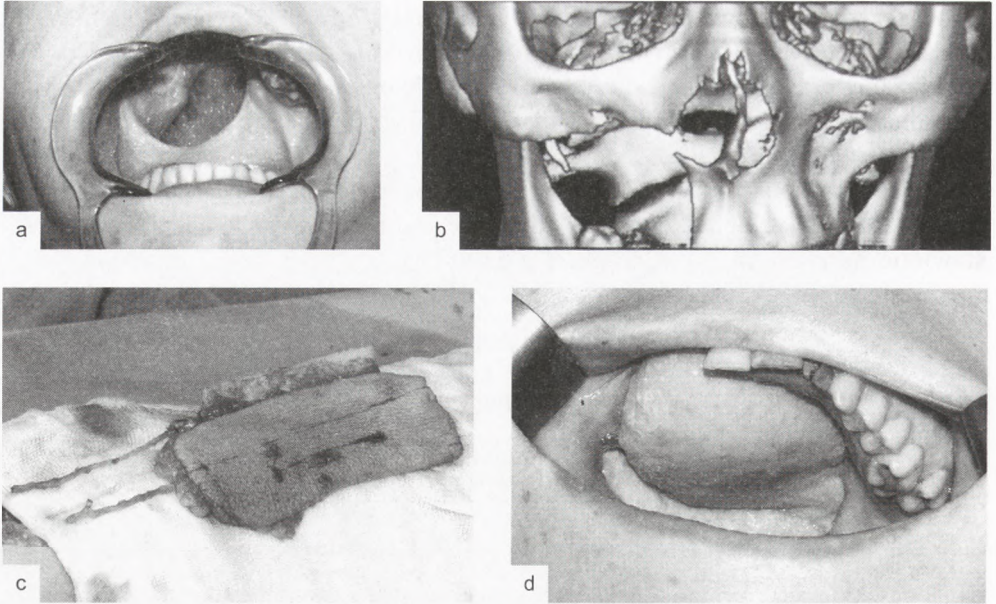
Wszczepy metalowe stosowano w postaci mini- lub makropłytek tytanowych, traktując tego typu rekonstrukcję w leczeniu ubytków żuchwy pełnej grubości jako rozwiązanie czasowe (7,8). Do wypełniania częściowych ubytków żuchwy stosowano biomateriały kośćcozastępcze, β -fosforan trójwapniowy i hydroksyapatyt, łącząc je dodatkowo z włóknami kostnymi u 5 chorych.

Sposoby rekonstrukcji utraconych tkanek w zależności od lokalizacji ubytku przedstawiono w tabeli 3. Przykłady kliniczne rekonstrukcji szczęki i żuchwy przedstawiono na rycinach 2 a-d, 3 a-b, 4 a-d.

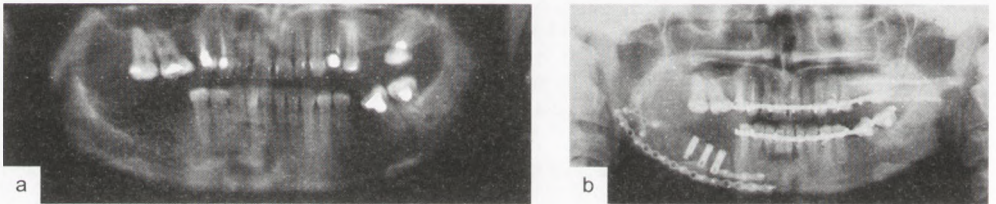
Tabela 3

Sposób rekonstrukcji utraconych tkanek szkieletu czaszki twarzowej w zależności od lokalizacji ubytku u 346 chorych

Lokalizacja ubytku i rodzaj materiału rekonstrukcyjnego	Liczba (%)
Ubytek oczodołu:	239 (69,1)
przednia ściana szczęki	179
talerz kości biodrowej	30
kość ciemieniowa	24
kość czołowa	3
kość skroniowa	1
liodura	1
mesh tytanowy	1
Ubytek żuchwy:	92 (26,6)
talerz kości biodrowej	31
wszczep metalowy	22
biomateriał kośćcozastępczy	17
kość homogenna	12
żebro	6
kość strzałkowa	4
Ubytek szczęki:	10 (2,9)
talerz kości biodrowej	6
biomateriał kośćcozastępczy	2
kość promieniowa	1
wyrostek dziobiasty żuchwy	1
Ubytek nosa:	4 (1,2)
talerz kości biodrowej	2
kość ciemieniowa	2
Ubytek łuski kości czołowej:	1 (0,2)
kość przedniej ściany szczęki	1

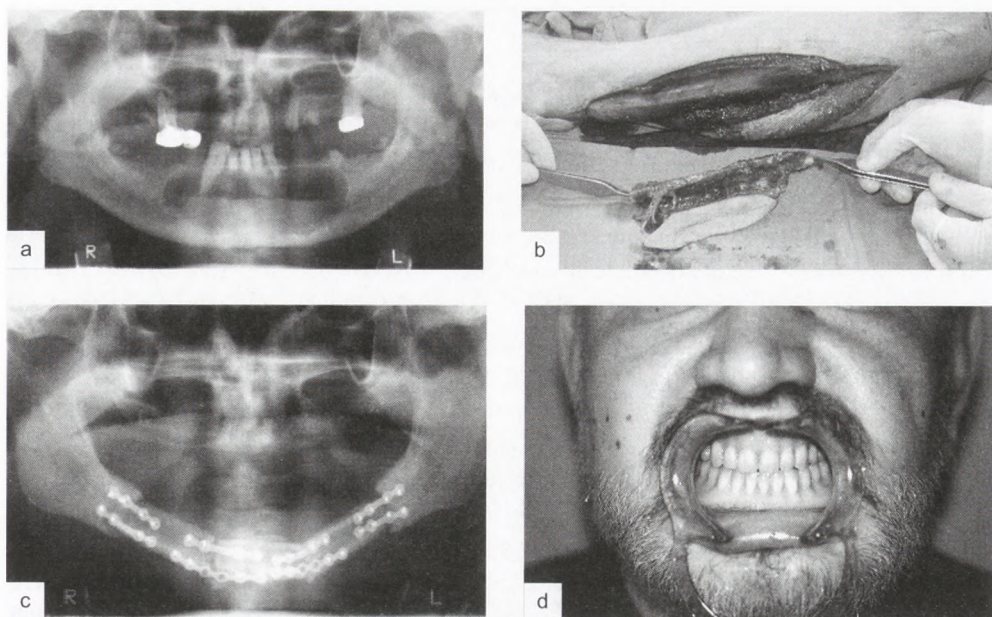


Ryc. 2. Chora po resekcji szczęki z powodu nowotworu złośliwego (a). Ta sama chora. Ubytek szczęki w obrazie tomografii komputerowej z rekonstrukcją trójwymiarową (b). Płat chiński z przedramienia wraz z fragmentem kości promieniowej i szypułą naczyniową przygotowany do przeniesienia do ubytku szczęki. Kadr operacyjny (c). Stan po rekonstrukcji podniebienia twardego płatem chińskim z fragmentem kości promieniowej (d).



Ryc. 3. Zdjęcie pantomograficzne chorego ze szklwiakiem prawego trzonu i kąta żuchwy. Stan przed zabiegiem operacyjnym (a). Zdjęcie pantomograficzne chorego po wycięciu guza oraz odtworzeniu żuchwy przeszczepem z talerza kości biodrowej. Stan po wprowadzeniu implantów zębowych (b).

U 10 chorych ze złożonymi deformacjami pourazowymi lub wrodzonymi twarzy wykonano przestrzenny model szkieletu czaszki twarzowej w celu zaplanowania zabiegu operacyjnego. Na modelu wykonanym za pomocą techniki stereolitograficznej (9,10) możliwe było przeprowadzenie próbných osteotomii oraz ustalenie kształtu i wielkości koniecznego do rekonstrukcji przeszczepu kostnego. Przykład indywidualnego modelu stereolitograficznego czaszki twarzowej przedstawiono na rycinie 5.



Ryc. 4. Zdjęcie pantomograficzne chorego ze szkliviakiem przedniego odcinka żuchwy (a). Przygotowany wolny unaczyniony przeszczep kości strzałkowej do rekonstrukcji żuchwy. Kadr operacyjny (b). Zdjęcie pantomograficzne chorego po resekcji przedniego odcinka żuchwy. Stan po rekonstrukcji żuchwy wolnym unaczynionym mikrochirurgicznie przeszczepem kości strzałkowej (c). Ten sam chory po rekonstrukcji żuchwy przeszczepem kości strzałkowej na zespoleniach mikronaczyniowych oraz po rehabilitacji protetycznej (d).



Ryc. 5. Model stereolitograficzny chorego z asymetryczną wadą szczęk i żuchwy, wykonany na podstawie trójwymiarowej tomografii komputerowej.

3. Model doświadczalny

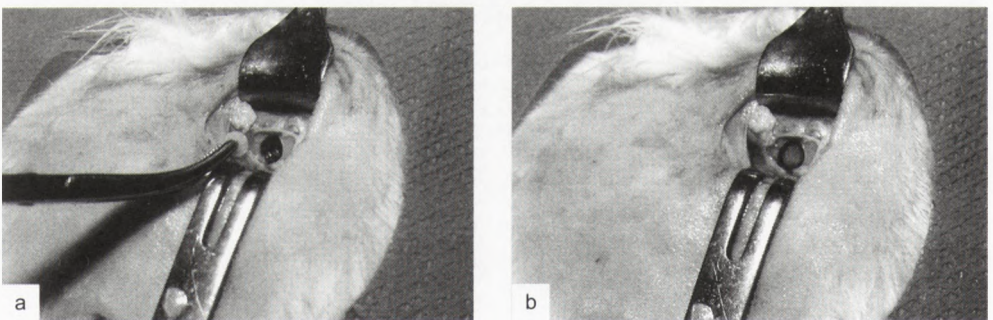
Trudności w pozyskiwaniu odpowiedniej ilości i kształtu własnopochodnego materiału kostnego stanowiącego najlepszy materiał rekonstrukcyjny wskazują drogę poszukiwań dawcy dowolnej ilości materiału rekonstrukcyjnego z możliwością jego modelacji. Zakładamy, że spełniającym wszystkie kryteria dawcą będzie świnia transgeniczna. W toku badań nad wykorzystaniem przeszczepów kostnych pobranych od świni transgenicznej do rekonstrukcji ubytków czaszki twarzowej u ludzi, opracowano model doświadczalny dla królika rasy białej nowozelandzkiej oraz dla świni transgenicznej. Do doświadczenia użyto 30 dorosłych królików rasy białej nowozelandzkiej oraz 10 świń transgenicznych.

Celem badań była ocena kliniczna, radiologiczna i histologiczna zmian zachodzących w tkance kostnej królika oraz świni transgenicznej po rekonstrukcji ubytku kości przeszczepem autogennym, homogennym i ksenogennym.

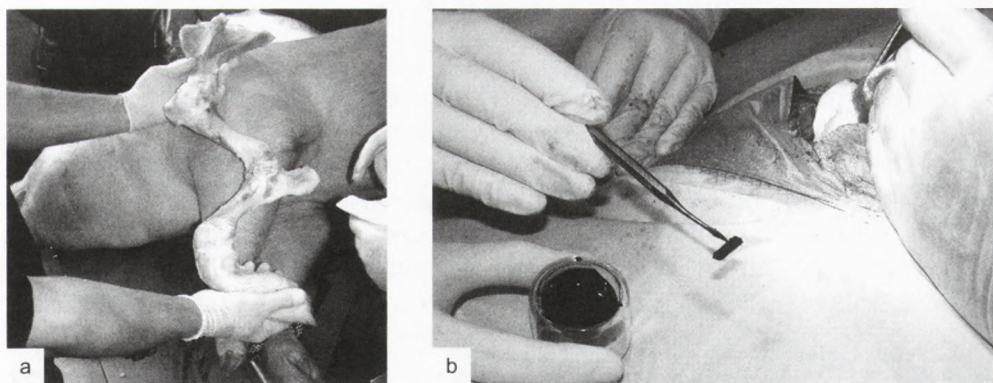
W początkowej fazie badań jako miejsce biorcze wybrano nasadę bliższą kości udowej królika, jednak ze względu na występujące powikłania pooperacyjne (złamanie kończyny, konieczne długotrwałe oszczędzanie kończyny u operowanego zwierzęcia) oraz trudności w przyżyciowej ocenie radiologicznej przeszczepów kostnych, w drugiej fazie badań zmieniono miejsce biorcze na lewy talerz kości biodrowej.

Zabieg operacyjny przeprowadzano w znieczuleniu ogólnym podając domięśniowo 1 ml 2% Xylazyny oraz 0,3-0,5 ml Ketaminy w dawce 156 mg/ml według schematu opracowanego w Zakładzie Fizjologii Rozrodu Zwierząt Instytutu Zootechniki w Krakowie. Stosowano standardowe instrumentarium chirurgiczne, w tym wiertło kostne w kształcie wydrążonego walca pozwalające na pobieranie bloczków kostnych i wytwarzanie ubytków kostnych o tych samych parametrach. Przygotowanie i wprowadzenie przeszczepu kostnego przedstawiono na rycinie 6 a-b.

W przebiegu pooperacyjnym stosowano leki przeciwbólowe (Ketonal w dawce 0,3 ml domięśniowo) oraz antybiotykoterapię (Lincoseptin w dawce 1 ml domięśniowo).



Ryc. 6. Przygotowanie przeszczepu kostnego do wprowadzenia w miejsce biorcze w talerzu kości biodrowej królika (a). Stan po wprowadzeniu przeszczepu w miejsce biorcze (b).



Ryc. 7. Wybór miejsca do obserwacji wgajania przeszczepów kostnych u świni transgenicznej (a). Zabarwiony bloczek przeszczepu kostnego przygotowany do wprowadzenia w miejsce biorcze w łopatkę świni transgenicznej (b).

Badane króliki podzielono na pięć grup. W grupie I (6 królików) oceniano wgajanie przeszczepu autogenego, w grupie II (6 królików) przeszczepu homogenego, w grupie III (6 królików) przeszczepu ksenogenego kości ludzkiej mrożonej, w grupie IV (6 królików) przeszczepu ksenogenego (mrożonego) od świni normalnej i w grupie V (6 królików) oceniano wgajanie przeszczepów kostnych (mrożonych) pobranych od świni transgenicznej.

W przebiegu pooperacyjnym prowadzono obserwację kliniczną zwierząt zwracając uwagę na gojenie rany pooperacyjnej oraz stan ogólny zwierzęcia. Kontrolne badanie radiologiczne wykonano przyżyciowo u 12 królików, u pozostałych po uboju. Badanie histopatologiczne preparatów przeprowadzano po ich odwapnieniu.

Ze względu na konieczność wnikliwego prześledzenia wgajania przeszczepów kostnych w układzie człowiek-świnia transgeniczna, przed ewentualnym wprowadzeniem do praktyki klinicznej przeszczepów kostnych pobieranych od świni transgenicznej, opracowano model doświadczalny dla świni transgenicznej.

Po analizie budowy anatomicznej szkieletu świni domowej, za odpowiednie miejsce do prowadzenia obserwacji i oceny wgajania przeszczepów kostnych uznano łopatkę. Wybór miejsca do obserwacji wgajania przeszczepów kostnych oraz sposób przeprowadzenia doświadczenia przedstawiono na rycinie 7 a-b.

Materiał doświadczalny stanowiło 10 świń transgenicznych, które podzielono na trzy grupy. W grupie I (3 świni transgeniczne) oceniano wgajanie przeszczepu autogenego, w grupie II (4 świni transgeniczne) przeszczepu ksenogenego, kości ludzkiej i w grupie III (3 świni transgeniczne) badano wgajanie przeszczepu homogenego pobranego od świni normalnej.

4. Wyniki

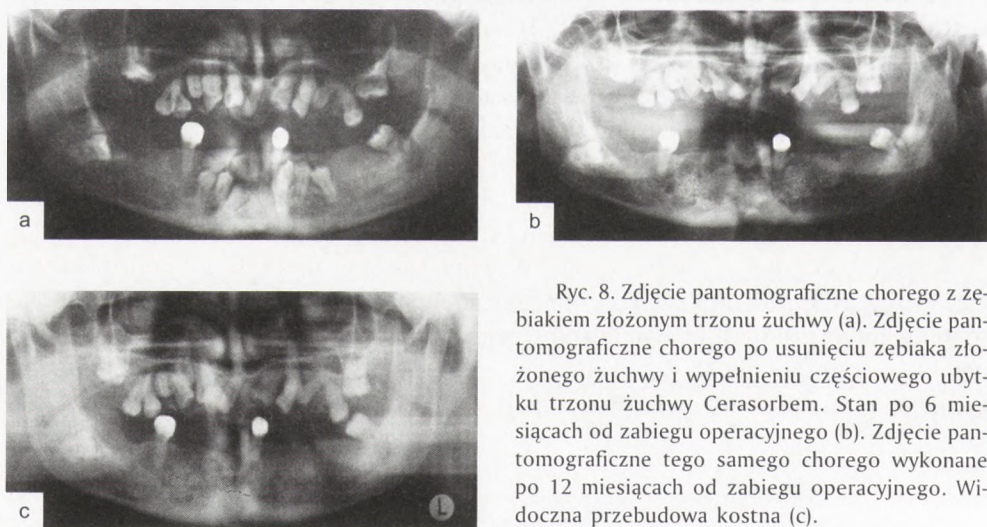
W grupie chorych po rekonstrukcji żuchwy, zwłaszcza w przypadkach ubytków pełnej grubości obserwowano częściową resorpcję przeszczepów kości, odczyn osteolityczne wokół materiału zespalającego, a nawet całkowitą utratę przeszczepu.

W rekonstrukcji częściowych ubytków żuchwy za pomocą biomateriałów najczęstszym powikłaniem było rozecie rany pooperacyjnej, które wystąpiło u 4 chorych (20%). U pozostałych chorych obserwowano postępującą resorpcję biomateriału, odbudowę tkanki kostnej i jej dobrą tolerancję na β -fosforan trójwapniowy oraz hydroksyapatyt. Stan po wszczępieniu Cerasorbu z prawidłową przebudową kości przedstawiono na rycinie 8 a-c.

4.1. Wyniki badań klinicznych u królików

Przez 3 do 7 dni po zabiegu operacyjnym, obserwowano oszczędzanie przez królika kończyny po stronie operowanej. W jednym przypadku nastąpił zgon zwierzęcia w dobie zabiegu operacyjnego. Powikłania w postaci niedowładu kończyny, zwichnięcia w stawie kolanowym i złamania patologicznego w miejscu operowanym wystąpiły w pojedynczych przypadkach.

Podczas sekcji poubojowej w grupie I obserwowano gojenie tkanek miękkich przez rychłozrost oraz wgojenie przeszczepów własnopochodnych. W grupie II gojenie tkanek miękkich przebiegało przez rychłozrost, zwracał uwagę zaznaczony odczyn okostnowy. Ciągłość kości była zachowana. W grupie III i IV gojenie tkanek miękkich również przebiegało przez rychłozrost, natomiast zwracała uwagę znacz-



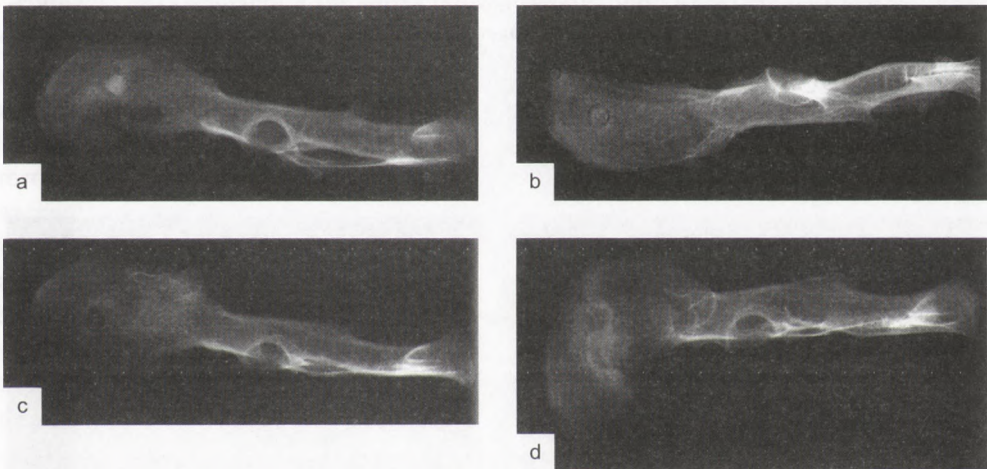
Ryc. 8. Zdjęcie pantomograficzne chorego z zębakiem złożonym trzonu żuchwy (a). Zdjęcie pantomograficzne chorego po usunięciu zębaka złożonego żuchwy i wypełnieniu częściowego ubytku trzonu żuchwy Cerasorbem. Stan po 6 miesiącach od zabiegu operacyjnego (b). Zdjęcie pantomograficzne tego samego chorego wykonane po 12 miesiącach od zabiegu operacyjnego. Widoczna przebudowa kostna (c).

na deformacja kości w okolicy wprowadzenia przeszczepu oraz resorpcja przeszczepów ksenogennych. W grupie V gojenie tkanek miękkich było prawidłowe, podobnie jak w grupie I obserwowano wgojenie przeszczepów kostnych.

4.2. Wyniki badań radiologicznych u królików

W grupie I oceniano wgajanie przeszczepów autogennych. Struktura przeszczepu zbliżona była do kości otaczającej, a obrysy ubytku kostnego zatarte co świadczyło o wgojeniu przeszczepu. W grupie II oceniano wgajanie przeszczepów homogenych. Stwierdzono zwiększone wysycenie struktury przeszczepu, utrzymywanie się wyraźnych obrysów ubytku oraz cechy resorpcji przeszczepu. W grupie III oceniano wgajanie przeszczepów ksenogennych. Stwierdzono ubytki osteolityczne z cechami resorpcji przeszczepu. W grupie IV oceniano wgajanie przeszczepów ksenogennych. Bloczki przeszczepionej kości były wyraźnie widoczne z zaznaczonymi cechami osteolizy wokół przeszczepów.

Badania radiologiczne wykonywano po 30 dniach, 3 i 6 miesiącach od zabiegu operacyjnego. W celu pełnego zobrazowania I i II fazy kostnienia ocena wgajania przeszczepów w grupie V, tj. po przeszczepieniu królikom mrożonej kości świni transgenicznej, badanie radiologiczne przeprowadzano po 1,2,3,4,5,6 tygodniu od zabiegu operacyjnego. Do drugiego tygodnia obserwowano sklerotyzację prze-



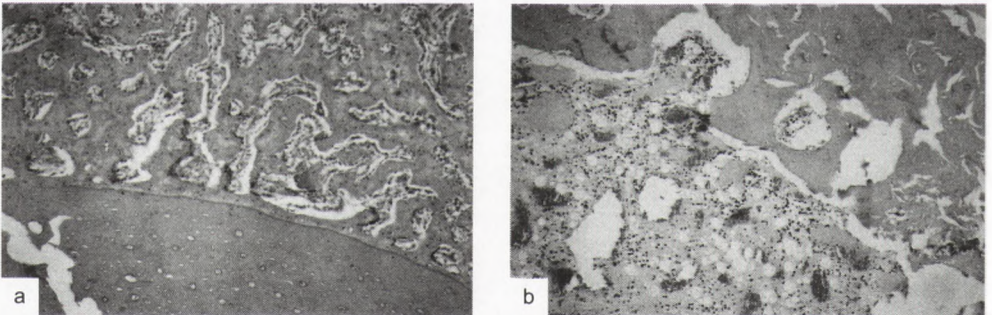
Ryc. 9. Obraz radiologiczny przeszczepu kości świni transgenicznej wprowadzony do talerza kości biodrowej królika. Stan po 2 tygodniach od zabiegu operacyjnego (a). Obraz radiologiczny przeszczepu kości świni transgenicznej wprowadzony do talerza kości biodrowej królika. Stan po 3 tygodniach od zabiegu operacyjnego (b). Obraz radiologiczny przeszczepu kości świni transgenicznej wprowadzony do talerza kości biodrowej królika. Stan po 4 tygodniach od zabiegu operacyjnego (c). Obraz radiologiczny przeszczepu kości świni transgenicznej wprowadzony do talerza kości biodrowej królika. Stan po 5 tygodniach od zabiegu operacyjnego (d).

szczepu z obecnym słabym odczynem okostnowym, w trzecim tygodniu struktura przeszczepu była zbliżona do kości otaczającej, a w piątym tygodniu nie można było odgraniczyć przeszczepu od kości otaczającej. Wgajanie przeszczepów w grupie V przedstawiono na rycinie 9 a-d.

Wgajanie przeszczepów autogennych i pobranych od świni transgenicznej przebiegało u królików podobnie (grupa I i V), natomiast w pozostałych grupach, obserwowano ich resorpcję i przedłużoną przebudowę kostną.

4.3. Wyniki badań histopatologicznych u królików

Celem badania było histologiczne zobrazowanie etapów gojenia przeszczepów kostnych auto-, kseno- i homogenych wypełniających ubytek w kości królika. Przyjęty czas od zabiegu operacyjnego do pobrania materiału do badania histopatologicznego wynosił 1,3,6 miesięcy. Materiał kostny utrwalano w 10% formalinie i odwapniono przez 2 tygodnie. Z każdego materiału wykonano serię materiałów histologicznych barwionych hematoksyliną i eozyną. W grupach od I do IV, jedynie w przypadku zwierząt, które w wyniku powikłań zostały usłone po 1 tygodniu od zabiegu operacyjnego, można było rozpoznać elementy pierwszej fazy wgajania przeszczepu kostnego. Zaobserwowano wyraźne włóknienie szczelinowe, waskularyzację przeszczepu od kości macierzystej, reakcję zapalną z obecnością limfocytów, plazmacytów, makrofagów, nielicznych dojrzałych granulocytów obojętno- i kwasochłonnych oraz ogniskowe pobudzenie osteoblastów kości macierzystej. Obserwacje te dotyczyły królików z grupy I i II. Przyjęty dla pozostałych materiałów w grupach I-IV okres pobrania przeszczepów, tj. powyżej 4 tygodni, uniemożliwił ocenę pozostałych etapów wgajania przeszczepu kostnego.



Ryc. 10. Preparat histologiczny przeszczepu ksenogennego kości ludzkiej po 30 dniach od wprowadzenia do talerza kości biodrowej królika. Cechy resorpcji i kościotworzenia, beleczki kostne otoczone osteoblastami (a). Preparat histologiczny przeszczepu ksenogennego kości ludzkiej po 30 dniach od wprowadzenia do talerza kości biodrowej królika. Cechy waskularyzacji przeszczepu od kości macierzystej (b).

Z tego powodu w grupie V, w której badano wżajanie przeszczepu kości od świni transgenicznej, skrócono okres obserwacji do 5 tygodni, pobierając materiał do badania w odstępach tygodniowych. Analiza histologiczna tych przypadków nie jest jeszcze zakończona. Obraz wżajania przeszczepu ksenogennej kości ludzkiej po 4 tygodniach od zabiegu operacyjnego przedstawiono na rycinie 10 a-b.

4.4. Wyniki badań klinicznych u świń transgenicznych

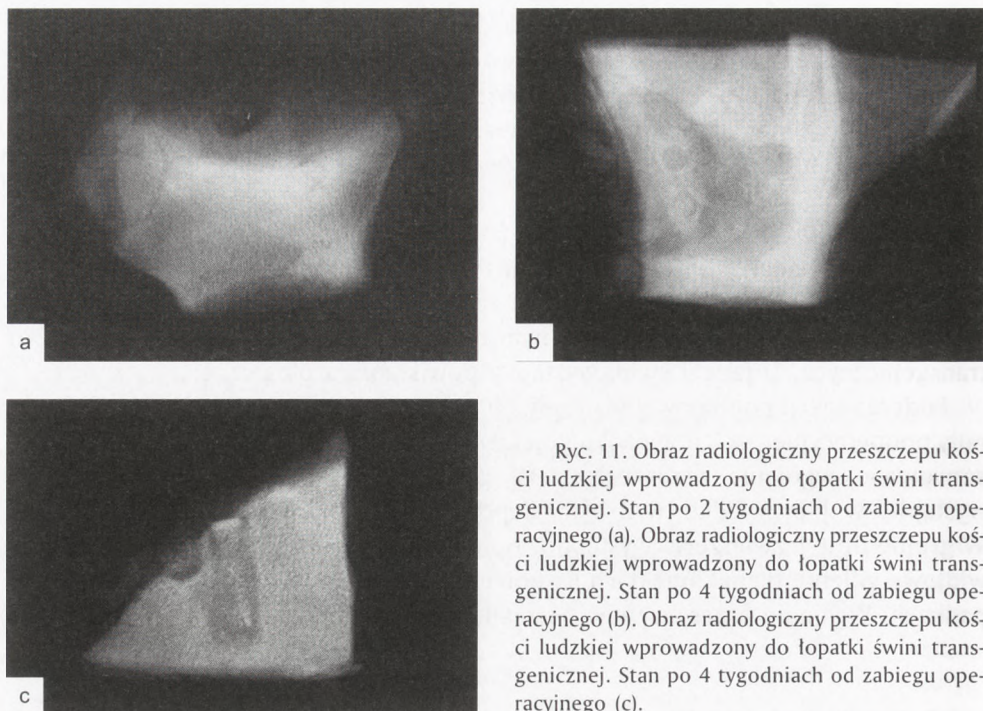
Gojenie tkanek miękkich z nasilonym odczynem zapalnym wystąpiło u 4 świń transgenicznych. U jednej świni wystąpiły powikłania urologiczne.

Podczas sekcji poubojowej w grupie I u 2 zwierząt obserwowano cechy ropienia rany pooperacyjnej, w 1 przypadku gojenie było niepowikłane i po 4 tygodniach obserwowano wgojenie przeszczepu. W grupie II ropienie rany pooperacyjnej wystąpiło w 1 przypadku, w 3 było niepowikłane, a przeszczepy kości wgojone. W grupie III u 1 zwierzęcia wystąpiło ropienie rany pooperacyjnej, natomiast prawidłowe gojenie tkanek miękkich i wgojenie przeszczepu obserwowano w 2 przypadkach. Wżajanie przeszczepów oceniano makroskopowo.

4.5. Wyniki badań radiologicznych u świń transgenicznych

W grupie I oceniano wżajanie autogennej przeszczepu kości. Po pierwszym tygodniu obserwowano wyraźną strefę przejaśnienia wokół wprowadzonego przeszczepu, po dwóch tygodniach obszar osteolizy wokół przeszczepu poszerzył się, natomiast po czterech tygodniach nastąpiło zatarcie granicy pomiędzy kością własną a przeszczepioną. W grupie II oceniano wżajanie przeszczepu kości ludzkiej mrożonej. Po pierwszym tygodniu obserwowano zaznaczoną osteolizę wokół przeszczepu, po dwóch tygodniach obszar osteolizy wokół przeszczepu poszerzył się, natomiast po czterech tygodniach nastąpiło zatarcie struktury przeszczepu. W grupie III oceniano wżajanie przeszczepu kości mrożonej świni normalnej. Po pierwszym tygodniu obserwowano wyraźną strefę przejaśnienia wokół wprowadzonego przeszczepu, po dwóch tygodniach obszar osteolizy był miernie nasilony, po czterech tygodniach struktura przeszczepu była słabo widoczna. Wżajanie przeszczepów w grupie II przedstawiono na rycinie 11 a-c.

Wżajanie przeszczepów w grupie I i II przebiegało podobnie.



Ryc. 11. Obraz radiologiczny przeszczepu kości ludzkiej wprowadzony do łopatki świni transgenicznej. Stan po 2 tygodniach od zabiegu operacyjnego (a). Obraz radiologiczny przeszczepu kości ludzkiej wprowadzony do łopatki świni transgenicznej. Stan po 4 tygodniach od zabiegu operacyjnego (b). Obraz radiologiczny przeszczepu kości ludzkiej wprowadzony do łopatki świni transgenicznej. Stan po 4 tygodniach od zabiegu operacyjnego (c).

4.6. Wyniki badań histopatologicznych u świń transgenicznych

Przyjęto czas od wprowadzenia przeszczepu kostnego do pobrania materiału do badania histopatologicznego od 1 tygodnia do 2 i 4 tygodni po zabiegu operacyjnym. Wycięte fragmenty kości łopatki świni transgenicznej z wprowadzonymi przeszczepami autogennymi, kości ludzkiej i świni normalnej utrwalano w 10% formalinie. Ocena histopatologiczna preparatów kostnych jest w trakcie wykonywania i będzie przedmiotem następnego doniesienia.

5. Dyskusja

Zastosowanie własnopochodnych przeszczepów kości jest wciąż metodą z wyboru w rekonstrukcji szkieletu czaszki twarzowej, jednak nie zawsze możliwe jest pobranie wystarczającej ilości materiału kostnego, odpowiedniej jakości i odpowiedniego kształtu (11-16).

Od wielu lat prowadzone są badania nad substytutami kości (17,18), których zaletami są praktycznie nieograniczona dostępność, przebudowa w prawidłową kość, możliwość dowolnego formowania, parametry biomechaniczne zbliżone do tkanki

kostnej oraz brak ryzyka infekcji (HIV, priony) w przypadku preparatów syntetycznych. Wadą tych materiałów jest ich wysoki koszt, a także ograniczone możliwości zastosowania, głównie do wypełniania niewielkich ubytków częściowych żuchwy. Warunkiem wprowadzenia substytutów kostnych do ubytku jest możliwość szczelnego pokrycia tkankami miękkimi.

Dzięki zastosowaniu technik inżynierii tkankowej, białka morfogenetyczne kości (BMP) mogą być wprowadzone do biomateriałów, a następnie uwalniane z nich tak by mogły stymulować tworzenie tkanki kostnej. Przykładem takiego biomateriału może być syntetyczna matryca z hydrożelu z glikolu polietylenowego, będąca nośnikiem BMP (19,20).

Alternatywą do wykorzystania BMP jest zastosowanie osocza bogatego w płytki krwi (PRP) zawierającego czynniki wzrostu: PDF (wydzielany przez płytki czynnik wzrostu), TGF $\beta 1$ i TGF $\beta 2$ (transformujący czynnik wzrostu $\beta 1$ i $\beta 2$), a także insulino-pochodny czynnik GF-I (21). W tym przypadku matrycą biologiczną jest fibryna zawarta w osoczu krwi. PRP może być łączone z biomateriałami, a wówczas czynniki wzrostu pobudzają angiogenezę, mitozy fibroblastów i preosteoblastów, wytwarzanie macierzy kostnej przez osteoblasty oraz syntezę macierzy kolagenowej przez fibroblasty. Dzięki technikom inżynierii tkankowej prowadzone są badania nad przeszczepianiem komórek podścieliska szpikowego, które mogą różnicować się w dojrzałe komórki tkanki kostnej oraz nad przeszczepianiem komórek dawcy, które dzięki modyfikacji genetycznej mogą wytwarzać czynniki regulujące regenerację i przebudowę kości.

Innym kierunkiem badań jest **wykorzystanie transgenety** w genetycznej modyfikacji świń dla pozyskiwania przeszczepów kostnych. Dla potrzeb ksenotransplantacji konieczne jest wprowadzenie do komórek świni genów kodujących enzymy swoiste dla tego samego substratu, co endogenny enzym dawcy (konstrukcja genu konkurencyjna), zastąpienie genu świni genem nieaktywnym $\alpha 1,3$ -galaktozylotransferazy (konstrukcja genu inaktywująca) oraz zastosowanie konstrukcji genowych o charakterze regulatorowym, które mają regulować ekspresję białek dopełniacza. Brak antygeny Gal genetycznie zmienionej świni pozbawionej enzymu $\alpha 1,3$ -galaktozylotransferazy pozwoliłoby na tolerancję przeszczepu. Podobnie wprowadzenie do komórek świni genów kodujących białka regulujące kaskadę dopełniacza zapobiegłoby formowaniu się kompleksu atakującego błonę komórkową (22). Uwzględniając omówione wady stosowania własnopochoďnych przeszczepów kostnych perspektywa użycia kości świń transgenicznych dla potrzeb człowieka jest obiecująca (23). Ze względu na budowę anatomiczną świni możliwe jest pozyskanie odpowiedniej ilości materiału kostnego z talerza biodrowego, łopatki, żeber, szczególnie do rekonstrukcji żuchwy. Należy jednak brać pod uwagę możliwość przenoszenia chorób odzwierzęcych, powikłania zapalne lub immunologiczne. Dalsze badania prowadzone będą w celu eliminacji zagrożeń.

6. Podsumowanie

Pozyskiwanie od świni transgenicznej odpowiedniej ilości materiału kostnego, z możliwością jego modelowania z wykorzystaniem techniki stereolitograficznej stanowi nadzieję na lepszą przyszłość chirurgii rekonstrukcyjnej szkieletu czaszki twarzowej.

Literatura

1. Kurek M., Bartkowski S., Zapala J., (1996), *Urazy twarzy*, red. Bartkowski S., 13, 215-279, Oficyna Wydawnicza Ages, Kraków.
2. Peled M., Abu El-Naaj I., Lipin Y., Ardekian L., (2005), *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 63, 220-224.
3. Munoz Guerra M., Gias L., Rodriguez Campo F., (2001), *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 59, 140-144.
4. Sieg P., Zieron J., Bierwolf S., (2002), *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.*, 40, 322-325.
5. Poeschl P., Kermer C., Wagner A., Klug C., Ziya F., Poeschl E., (2003), *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, 32, 158-165.
6. Roselli R., Muscatello L., Valdatta L., Pavan G., Spriano G., (2004), *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 113, 956-960.
7. Lopez R., Dekeister C., Sleiman Z., Paoli J.-R., (2004), *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 62, 421-426.
8. Merx M., Fennis C., Verhagen C., Stoelinga P., (2004), *Int. J. Oral and Maxillofac. Surg.*, 33, 733-739.
9. Bill J., Reuther J., Dittmann N., Kübler N., Meier J., Pistner H., Wittenberg G., (1995), *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, 24, 98-103.
10. Kermer C., Lindner A., Friede I., Wagner A., Millesi W., (1998), *J. Cranio-Max. Fac. Surg.*, 26, 136-139.
11. Cohen M., (2000), *J. Craniofac. Genet. Dev. Biol.*, 20, 94-100.
12. Bartkowski S., Wszyńska-Pawelec G., Zapala J., (2002), *Okulistyka*, 1, 13-17.
13. Wszyńska-Pawelec G., Zapala J., Kubatko-Zielińska A., (2005), *Klinika Oczna*, 107, 269-271.
14. Papadopoulos N., Schaff J., Bucher H., Groener R., Geishauser M., Biemer E., (2002), *Ann. Plast. Surg.*, 49, 138-144.
15. Nkenke E., Weisbach V., Winckler E., Kessler P., Schultze-Mosgau S., Wiltfang J., Neukam F., (2004), *Int. J. Oral and Maxillofac. Surg.*, 33, 157-163.
16. Hartman E., Spauwen P., Jansen J., (2002), *J. Invest. Surg.*, 15, 185-197.
17. Terheyden H., Menzel C., Wang H., Springer I., Rueger D., Acil Y., (2004), *Int. J. Oral and Maxillofac. Surg.*, 33, 164-172.
18. Thorn J., Sorensen H., Weis-Fogh U., Andersen M., (2004), *Int. J. Oral and Maxillofac. Surg.*, 33, 95-100.
19. Lutolf M., Weber F., Schmoekel H., Schense J., Kohler T., Müller R., Hubbell J., (2003), *Nature Biotechnology*, 21, 513-517.
20. Dąbrowski Z., Niedźwiedzki T., Osyczka A., (2004), *Hodowla komórek i tkanek*, red. Stokłosowa S., 20 A., 20 B., 314-341, Wyd. Nauk. PWN, Warszawa.
21. Pochwalski M., Urbanowska E., Wojtowicz A., (2000), *Nowa Stomatologia*, 12, 1-6.
22. Słomski R., (2005), *Materiały z 2 Sympozjum Projektu Badawczego Zamawianego pt. „Wykorzystanie transgenezy w genetycznej modyfikacji świń dla pozyskiwania organów do transplantacji u człowieka”*, 8-10.
23. Zapala J., Wszyńska-Pawelec G., (2005), *Materiały z 2 Sympozjum Projektu Badawczego Zamawianego pt. „Wykorzystanie transgenezy w genetycznej modyfikacji świń dla pozyskiwania organów do transplantacji u człowieka”*, 16-17.