

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

მედიცინის ფაკულტეტი

დოქტურანტურის საგანმანათლებლო პროგრამა

კლინიკური და ტრანსლაციური მედიცინა

მარია ზურმუხტაშვილი

პირის ღრუს კიბოს მკურნალობა კომბინირებული - ქიმიოთერაპიული
და მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ტრანსპლანტაციის
მეთოდებით

მედიცინის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად წარმოდგენილი
დისერტაცია

სამეცნიერო ხელმძღვანელი: ქეთევან კილურაძე-გოგილაშვილი

მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი, პროფესორი

თბილისი

2020

აბსტრაქტი

ბოლო წლებში მრავალი კვლევა ჩატარდა სიმსივნის ზრდისა და გავრცელების პროცესში მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების როლის შესასწავლად, თუმცა მიღებული შედეგები ჯერ კიდევ წინააღმდეგობრივია. რამდენიმე კვლევამ აჩვენა მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების მიგრაცია სიმსივნის ადგილისაკენ. არსებობს მოსაზრება, რომ ლოკალური ადმინისტრირებისას, მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედები ურთიერთქმედებენ ინექციის არეში არსებულ მასპინძელ უჯრედებთან. რამდენიმე კვლევამ სხვადასხვა ცხოველთა მოდელებში ასევე აჩვენა მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ინჰიბიტორული ეფექტი სიმსივნის ზრდაზე. სისტემურად ან ლოკალურად ადმინისტრირებული მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ტუმოროსუპრესიული ეფექტი კორელაციაშია უჯრედის პროლიფერაციულ აქტივობაზე მათ ინჰიბიტორულ ეფექტთან. თუმცა, უნდა აღინიშნოს, რომ მრავალრიცხოვანი თანამედროვე კვლევების მიუხედავად, ჯერ კიდევ ბოლომდე ნათელი არ არის, თუ რა მექანიზმი უდევს საფუძვლად ამ მოვლენებს.

ჩვენი კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ცხოველთა მოდელებში შეგვესწავლა ქიმიოთერაპიასთან კომბინაციაში ძვლის ტვინის მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ეფექტი და პირის ღრუს პირველადი სქუამოზური კიბოს ზრდაზე მოქმედების შესაძლო მექანიზმები. კვლევის პირველ ეტაპზე შევქმენით *in vivo* ონკოლოგიური მოდელი ათიმურ შიშველ თაგვებში ლოყის ქსოვილებში სიმსივნური უჯრედების ინექციის გზით. დაკვირვება გაგრძელდა 3 კვირა; შემდეგ ყველა ცხოველი გამოყვანილ იქნა ექსპერიმენტიდან. ჩატარდა თაგვებში განვითარებული სიმსივნის ჯანსაღი ქსოვილების ფარგლებში რეზექცია, მოცულობაში გაზომვა და ქსოვილოვანი პრეზერვაცია. მიღებულ ნიმუშებზე ჩატარდა მორფოლოგიური და იმუნოჰისტოქიმიური კვლევები. კვლევის მომდევნო ეტაპზე, ჩვენ მიერ შექმნილ ქსენოგრაფტულ მოდელებში, გამოვიკვლიეთ სიმსივნის ზრდაზე მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ზემოქმედება ქიმიოთერაპიულ აგენტ ცისპლატინთან კომბინაციაში. ექსპერიმენტული ცხოველები დაიყო 3 ჯგუფად: საკონტროლო ჯგუფი (მკურნალობის გარეშე), პირველი ექსპერიმენტული ჯგუფი (სტანდარტული მკურნალობა ცისპლატინით) და მეორე ექსპერიმენტული ჯგუფი (მკურნალობა ცისპლატინით მეზენქიმურ ღეროვანი უჯრედების ადმინისტრირებასთან

კომბინაციაში). სიმსივნის ვიზუალიზაციიდან მეცხრე დღეს ორი საკვლევი ჯგუფის ცხოველებში დაიწყო ქიმიოთერაპია ცისპლატინით. სიმსივნური უჯრედების ინექციიდან მესამე კვირას კი მეორე საკვლევ ჯგუფში განხორციელდა მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ადმინისტრირება ორი სხვადასხვა გზით: კუდის ვენაში ინფუზია და ინექცია ლოკალურად სიმსივნის არეში. ცხოველებზე დაკვირვება მიმდინარეობდა 6 კვირის მანძილზე და შემდეგ მოხდა მათი ექსპერიმენტიდან გამოყვანა. გაზომილ იქნა სიმსივნის მაკროსკოპული პარამეტრები (სიგრძე, სიგანე, სიმაღლე). ქსოვილებში ჩატარდა მორფოლოგიური კვლევა და იმუნოჰისტოქიმიური ანალიზი ანგიოგენეზის, ჰიპოქსიის სტატუსისა და აპოპტოზის შესაფასებლად.

იმ ჯგუფში, სადაც ჩავატარეთ კომბინირებული მკურნალობა ცისპლატინით და სიმსივნის ქსოვილში ტრანსპლანტირებული მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედებით, კიბოს ქსოვილის საშუალო მოცულობამ შეადგინა $98,9 \pm 7,65$ მმ, რაც სტატისტიკურად მნიშვნელოვნად ნაკლებია სხვა ჯგუფის მონაცემებთან შედარებით. კიბოს ქსოვილის მორფოლოგიური სურათი ამ ჯგუფში განსხვავდებოდა სხვა ჯგუფებისაგან და წარმოდგენილი იყო ნაკლები შემოფარგვლით, ნეკროზული კერებისა და შემაერთებელქსოვილოვანი ბაზალური შრეების არსებობით. იმუნოჰისტოქიმიური კვლევით, *Anti-CD31* და *Anti-Carbonic Anhydrase 9* ანტისხეულების გამოყენებით ამავე ჯგუფში, გამოვლინდა ძლიერად განვითარებული მიკროსისხლძარღვოვანი სტრუქტურები და ჰიპოქსიის მცირე კუნძულები. TUNEL კვლევამ გამოავლინა, რომ სიმსივნური ქსოვილები ძირითადად შედგებოდა აპოპტოზური უჯრედებისაგან. ცოცხალი უჯრედების ერთობლიობა წარმოდგენილი იყო მცირე კუნძულებად.

ჩვენი კვლევის შედეგებით შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ინტრატუმორული ინექცია ცისპლატინით ქიმიოთერაპიასთან კომბინაციაში ზრდის მიკროვასკულარიზაციას და მინიმუმამდე დაყავს ორთოტოპული კიბოს ქსოვილთა ჰიპოქსია. გარდა ამისა, კომბინირებული მკურნალობისას იზრდება სიმსივნური უჯრედების აპოპტოზური აქტივობა და მცირდება სიმსივნის ზომაში ზრდა.

Abstract

In recent years, numerous studies have been conducted to investigate the role of mesenchymal stem cells on tumor growth, but reported results are still very discrepant. Several studies have demonstrated mesenchymal stem cell migration toward tumor locations. When applied locally, mesenchymal stem cells interact with the locally residing host cells. Mesenchymal stem cells inhibitory effects on tumor growth are reported in several studies in different animal models. The tumor suppressive effect of systemically or directly injected mesenchymal stem cells is reported to correlate with their inhibitory action on tumor cell proliferation. Despite numerous studies, the mechanisms behind this are still unclear.

The purpose of our study was to detect the effect and possible action mechanisms of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on the *in vivo* growth of primary human oral squamous cell carcinoma (OSSC) in the animal model.

In the first stage of experiments, an *in vivo* mouse tumorigenic model, using athymic Crl:NU/NU-*Foxn1*^{nu} nude mice, was created via the injection of cancer cells suspension into the buccal tissues of mice. The animals underwent surveillance for the next three weeks and afterward were sacrificed. The size of grown orthotopic tumors was measured, and the volume was calculated. The tumor tissues were preserved in formaldehyde for further analyses.

In the second stage of experiments, we have investigated the effect of mesenchymal stem cells in combination with chemotherapy on oral cancer growth. Animals were divided into three groups: the control group (without treatment), Experimental Group I (treatment with cisplatin), and Experimental Group II (treatment with cisplatin in combination with mesenchymal stem cells). On the 9th day since the cancer visualization, chemotherapy with cisplatin was given to animals in the experimental groups.

Three weeks after the tumor cell injection, cultivated mesenchymal stem cells were administrated in Experimental Group II in two ways: tail vein infusion and local injection in tumor tissues. Animals underwent surveillance for 6 weeks and afterward were sacrificed. The tumor growth was measured and the tissues were evaluated morphologically and immunohistochemically for angiogenesis, hypoxia status, and cell apoptosis.

In the group treated with cisplatin in combination with mesenchymal stem cells injection, the average size of the tumor was $98.9 \pm 7.65 \text{ mm}^3$, which was significantly lower compared to other groups. In the Experimental Group II, tumor tissues were less outlined and the presence of necrotic areas and connective tissue basal layers were detected. Immunohistochemical surveys with Ant-CD31 and Anti-Carbonic Anhydrase 9 demonstrated strongly developed micro-vessel structures and small isles of hypoxia in the tumor tissues. TUNEL assay revealed in the same group that tumor tissues were mostly comprised of apoptotic cells. Viable cell communities were presented as small isles.

In conclusion, our study demonstrates that intratumorally injected mesenchymal stem cells in combination with chemotherapy with cisplatin increases micro vascularization, and minimizes hypoxia of orthotopic oral squamous cell carcinoma tissues. Moreover, combined treatment with cisplatin leads to higher apoptotic activity and reduced tumor tissue growth.

სარჩევი

| | |
|---|-----|
| აბსტრაქტი..... | I |
| Abstract..... | III |
| ცხრილები, გრაფიკები და სხვა ილუსტრაციების ჩამონათვალი | VII |
| აბრევიატურების ჩამონათვალი | XI |
| შესავალი..... | 1 |
| საკვლევი პრობლემის აქტუალობა..... | 1 |
| კვლევის ჰიპოთეზა, მიზნები და ამოცანები..... | 2 |
| კვლევის მნიშვნელობა და სიახლე | 3 |
| დასაცავად გამოტანილი დებულებები..... | 3 |
| სამეცნიერო ლიტერატურის მიმოხილვა..... | 4 |
| პირის ღრუს სქუამოზური კიბო | 4 |
| პირის ღრუს ონკოლოგიური კვლევის ექსპერიმენტული მოდელები ცხოველებში | 15 |
| მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედები | 23 |
| მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების როლი სიმსივნის მიკროგარემოში..... | 27 |
| მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ორგანიზმში ადმინისტრირების გზები | 31 |
| კვლევის მეთოდოლოგია, მეთოდიკა, მეთოდები | 34 |
| პირის ღრუს კიბოს in vivo ექსპერიმენტული მოდელი | 33 |
| ექსპერიმენტების დიზაინი | 36 |
| პირველადი მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების გამოყოფა და კულტივაცია..... | 37 |
| ქსოვილების მორფოლოგიური ანალიზი..... | 40 |
| კვლევის შედეგები და მათი ანალიზი | 42 |

| | |
|--|----|
| პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს in vivo მოდელის შედეგები | 42 |
| მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ფენოტიპური ტესტირება | 52 |
| ექსპერიმენტულ ცხოველთა სიცოცხლის ხანგრძლივობის ანალიზი..... | 54 |
| ცხოველის ორგანიზმში ტრანსპლანტირებული ღეროვანი უჯრედების ლოკალიზაციის ბიოლუმინესცენტური ანალიზი | 56 |
| კიბოს ქსოვილის ზრდა და გავრცელება ღეროვანი უჯრედების ტრანსპლანტაციის შემდეგ | 57 |
| ქსოვილების მორფოლოგიური კვლევის შედეგები..... | 60 |
| შედეგების ანალიზი | 70 |
| დასკვნები | 74 |
| პრაქტიკული რეკომენდაციები | 75 |
| ბიბლიოგრაფია..... | 76 |
| გამოქვეყნებული ნაშრომების სია..... | 93 |
| მოხსენებები ნაშრომის თემაზე | 94 |

ცხრილების გრაფიკებისა და სხვა ილუსტრაციების ჩამონათვალი

გრაფიკები/დიაგრამები

დიაგრამა #1. ტუჩისა და პირის ღრუს კიბოს გავრცელება სხვადასხვა ქვეყნებში ორივე სქესში 2018 წლის მონაცემებით. გვ. 5

დიაგრამა #2: ავთვისებიანი ახალწარმონაქმნების შეხვედრის სიხშირის განაწილება საცხოვრებელი ადგილის მიხედვით, საქართველო, 2015-2017. გვ. 7

დიაგრამა #3: პირის ღრუს კიბოს განაწილება ლოკალიზაციის მიხედვით. გვ.8

დიაგრამა #4: სიმსივნის გავითარების სტატისტიკური ანალიზი (%). გვ. 42

დიაგრამა #5: კიბოს მეტასტაზური აქტივობა (%) გვ.45

დიაგრამა #6: ორთოტოპური კიბოს გავრცელება სხვა ორგანოებზე (%) გვ.45

დიაგრამა #7 : ონკოლოგიური მოდელის ზოგადი პროლიფერაციული სტატუსი გვ.51

დიაგრამა #8: უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობისა და ზრდის დიაგრამა. გვ. 53

დიაგრამა #9: სიმსივნური ქსოვილების მოცულობების სტატისტიკური ანალიზი სხვადასხვა ჯგუფების მიხედვით გვ. 59

დიაგრამა #10: მეტასტაზური აქტივობა ექსპერიმენტის სხვადასხვა ჯგუფებში (%) გვ. 60

დიაგრამა #11: სისხლძარღვების სიმჭიდროვე სხვადასხვა ექსპერიმენტულ ჯგუფში გვ. 64

დიაგრამა #12: ქსოვილების ჰიპოქსიის სტატუსი სხვადასხვა ჯგუფში გვ. 66

გრაფიკი #1: უჯრედების ზრდისა და სიცოცხლისუნარიანობის მაჩვენებლები გვ. 54

გრაფიკი #2: ექსპერიმენტში მონაწილე ცხოველთა სიცოცხლის ხანგძლივობის სტატისტიკური ანალიზი გვ. 55

ცხრილები

ცხრილი #1. ავთვისებიანი სიმსივნეების მკურნალობა, საქართველო, 2015-2017. გვ. 13

ცხრილი #2: პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს მკურნალობის გართულებები გვ. 15

ცხრილი #3: პირის ღრუს კიბოს უჯრედული ხაზები. გვ.17

ცხრილი #4: სხვადასხვა ცხოველების მახასიათებლები პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს მოდელისათვის გვ.19

ცხრილი #5: სხვადასხვა იმუნოდეფიციტური მოდელები თავგებში და მათი იმუნური მახასიათებლები გვ.21

ცხრილი #6: მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების მინიმალური კრიტერიუმები ზედაპირული მარკერების ექსპრესიის მიხედვით. გვ. 27

ცხრილი #7: ექსპერიმენტის სხვადასხვა ჯგუფები, საცდელ ცხოველთა სახეობები და რაოდენობა გვ.38

ცხრილი #8: ექსპერიმენტებში იმუნოჰისტოქიმიური კვლევისათვის გამოყენებული ანტიგენები გვ.41

ცხრილი #9: ექსპერიმენტულ მოდელში მიღებული სიმსივნის ზომები. გვ. 44

ცხრილი #10: შეღებილი უჯრედების საშუალო რაოდენობა ობიექტივის ხედვის ერთ არეალში. გვ. 50

ცხრილი #11: უჯრედული კულტურის ფენოტიპირება სხვადასხვა მარკერების მიხედვით გვ. 53

ცხრილი #12: ექსპერიმენტში მონაწილე ცხოველთა სიცოცხლის ხანგრძლივობა ჯგუფების მიხედვით გვ.55

სურათები

- სურათი #1. ცისპლატინის სტრუქტურა და მოქმედების ქიმიური მექანიზმი გვ.11
- სურათი #2. პირის ღრუს კიბოს სხვადასხვა ტიპის მოდელები გვ.16
- სურათი #3: ღეროვანი უჯრედების იერარქია გვ.24
- სურათი #4: მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების დიფერენცირების შესაძლებლობები გვ. 26
- სურათი #5: სუფთა და სიმსივნიდან გამოყოფილი მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების განსხვავებული ზემოქმედება სიმსივნეზე. გვ. 29
- სურათი #6: Nu/Nu - ხაზის „შიშველი“ (უბეწვო) ლაბორატორიული თაგვი გვ.33
- სურათი #7: პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს უჯრედების მიკროსკოპული სურათი გვ.34
- სურათი #8. უჯრედული სუსპენზიის შეყვანა საინექციო ნემსით ექსპერიმენტულ ცხოველში გვ.35
- სურათი #9: ექსპერიმენტულ ცხოველებში ლოყის მიდამოში გამოვლენილი სიმსივნის ზრდა დინამიკაში გვ. 43
- სურათი #10: ცხოველის ექსპერიმენტიდან გამოყვანის შემდეგ ამოკვეთილი სიმსივნის ქსოვილი გვ. 43
- სურათი #11: პირის ღრუს კიბოს მორფოლოგიური სურათი გვ. 47
- სურათი #12: კიბოს უჯრედების ინვაზია ნერვულ ქსოვილში გვ.48
- სურათი #13: იმუნოჰისტოქიმია. *Anti-Human Epithelial Cell* ანტისხეული გვ.49
- სურათი #14: იმუნოჰისტოქიმია . *Anti - Ki67* ანტისხეული. გვ. 50
- სურათი #15: იმუნოჰისტოქიმია. *Anti - CD31* ანტისხეული. გვ. 52
- სურათი#16: მონიშნული ღეროვანი უჯრედების ლოკალიზაციის *in vivo* ბიოლუმინესცენტური ანალიზი. გვ. 56

სურათი #17: სიმსივნური ქსოვილები ამოკვეთის შემდეგ. ვიზუალური დათვალიერების შედეგები. გვ. 58

სურათი #18: პირის ღრუს კიბოს მორფოლოგიური სურათი გვ. 61

სურათი #19: პირის ღრუს კიბოს მორფოლოგიური სურათი ცისპლატინის გამოყენების შემდეგ გვ.61

სურათი #20: პირის ღრუს კიბოს მორფოლოგიური სურათი ცისპლატინს + მღუ კომბინირებული მკურნალობის შემდეგ გვ.62

სურათი #21: იმუნოჰისტოქიმია. *Anti-CD31* ანტისხეული. საკონტროლო და ცისპლატინის ჯგუფი გვ.63

სურათი #22: იმუნოჰისტოქიმია. *Anti-CD31* ანტისხეული. ცისპლატინს + მღუ კომბინირებული მკურნალობის შემდეგ გვ. 63

სურათი #23: იმუნოჰისტოქიმია. *Anti-Carbonic Anhydrase 9* ანტისხეული. საკონტროლო ჯგუფი გვ. 65

სურათი #24: იმუნოჰისტოქიმია. *Anti-Carbonic Anhydrase 9* ანტისხეული. ცისპლატინით მკურნალობის შემდეგ გვ. 65

სურათი #25: იმუნოჰისტოქიმია. *Anti-Carbonic Anhydrase 9* ანტისხეული. ცისპლატინს + მღუ კომბინირებული მკურნალობის შემდეგ გვ. 66

სურათი #26 : აპოპტოზური აქტივობა საკონტროლო ჯგუფში. გვ. 68

სურათი #27: აპოპტოზური აქტივობა ცისპლატინის ჯგუფში გვ. 68

სურათი #28: აპოპტოზური აქტივობა ცისპლატინი+ მღუ ჯგუფში გვ. 69

აბრევიატურების ჩამონათვალი

პსკ - პირის ღრუს სქუამოზური კიბო

მღუ - მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედი

SCID - მძიმე კომბინირებული იმუნოდეფიციტური

CDX- უჯრედული კულტურებიდან მიღებული ქსენოგრაფტი

PDX - პაციენტიდან მიღებული ქსენოგრაფტი

EGF- ეპიდერმისის ზრდის ფაქტორი

FGF - ფიბრობლასტების ზრდის ფაქტორი

TGF - მატრანსფორმირებელი ზრდის ფაქტორი

IL - ინტერლეიკინი

Bcl-2 - აპოპტოზის ინჰიბიტორი;

VEGF - ვასკულური ენდოთელური ზრდის ფაქტორი

PBS - მარილშემცველი ფოსფატური ბუფერი;

DMEM – დულბეკოს მოდიფიცირებული იგლის ნიადაგი

იჰქ - იმუნოჰისტოქიმია

ჰე - ჰემატოქსილინ-ეოზინი

შესავალი

საკვლევი პრობლემის აქტუალობა

პირის ღრუს ეპითელური კიბო პირის ღრუს სიმსივნეების 90%-ს წარმოადგენს. მას შეხვედრის სიხშირით მსოფლიოში მე-11 ადგილი უკავია. გამოვლენილი შემთხვევების $\frac{3}{4}$ განვითარებად ქვეყნებზე მოდის (World Health Organisation, 2019). პირის ღრუს ეპითელური კიბოს მკურნალობა ხდება ქირურგიული ჩარევით, ქიმიოთერაპიით, რადიოთერაპიით. აღნიშნულ მეთოდებს ბევრი უარყოფითი გვერდითი ეფექტი სდევს თან. რადიოთერაპიას შეუძლია გამოიწვიოს ძვლისა და სანერწყვე ჯირკვლების შეუქცევადი დაზიანება. კიბოს მკურნალობასთან დაკავშირებული გვერდითი მოვლენები ღრმა ფსიქოლოგიურ ზემოქმედებას ახდენს პაციენტზე. ამიტომ მუდმივად მიმდინარეობს მკურნალობის ალტერნატიული მიდგომების ძიება ქსოვილოვან, უჯრედულ და მოლეკულურ დონეებზე.

წლების მანძილზე ღეროვანი უჯრედები ონკოლოგიურ პაციენტებში გამოიყენებოდა ქიმიოთერაპიისა და რადიოთერაპიის შედეგად დაზიანებული იმუნური და სისხლმზადი სისტემის აღდგენისათვის. თანამედროვე კვლევებმა აჩვენა, რომ ორგანიზმში შეყვანილ ღეროვან უჯრედებს აქვთ უნარი დაგროვდნენ პირველადი და მეტასტაზური სიმსივნის ზრდის არეში. სიმსივნური უჯრედები გამოიმუშავენ სხვადასხვა ქემოკინებსა და ციტოკინებს, რომლებიც ასრულებენ ლიგანდების როლს მეზენქიმურ ღეროვან უჯრედებში ექსპრესირებული სპეციალური რეცეპტორებისათვის. ამ ურთიერთქმედებითა და ციტოკინ/რეცეპტორის წყვილების არსებობით შეიძლება აიხსნას მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ტუმოროტროპიზმის მოლეკულური საფუძვლები.

ბოლო წლებში მრავალი კვლევა ჩატარდა სიმსივნის ზრდის პროცესზე მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების როლის დასადგენად, მაგრამ გამოქვეყნებული შედეგები ძალიან წინააღმდეგობრივია. ზოგიერთი კვლევით დადგინდა, რომ ლოკალურად შეყვანილი მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედები ურთიერთქმედებენ მასპინძელ უჯრედებთან, ასევე იმუნურ უჯრედებთან და ამცირებენ ანთებითი ციტოკინების რაოდენობას. სხვა კვლევის მიხედვით მეზენქიმური ღეროვანი

უჯრედები ახდენენ პირდაპირი ან არაპირდაპირი გზით სიმსივნური უჯრედების პროლიფერაციის, დიფერენციაციის, იმუნური ტოლერანტობის, ანგიოგენეზისა და მეტასტაზირების რეგულირებას. თუმცა, ღეროვანი უჯრედების სიმსივნეზე ზემოქმედების კონკრეტული მექანიზმები ჯერ კიდევ ბოლომდე არაა ნათლად დადგენილი და დამატებითი კვლევების წარმოებას საჭიროებს.

კვლევის ჰიპოთეზა, მიზნები და ამოცანები

ყოველივე ზემოთქმულიდან გამომდინარე, ჩამოვყალიბეთ საკვლევი ჰიპოთეზა, რომ მეზენქიმურ ღეროვან უჯრედებს ცისპლატინთან კომბინაციაში შეუძლია პირის ღრუს კიბოს ზრდასა და გავრცელებაზე ზეგავლენის მოხდენა და გადავწყვიტეთ ექსპერიმენტში შეგვესწავლა მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების როლი პირის ღრუს კიბოს მიმდინარეობის პროცესში. გამოთქმული ჰიპოთეზის მიხედვით, მიზნად დავისახეთ დაავადების ქსენოგრაფტული მოდელის შექმნა ლაბორატორიულ ცხოველებში და შექმნილ მოდელში მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ტრანსპლანტაციის შეფასება, როგორც პოტენციური ალტერნატიული/დამხმარე თერაპიული მეთოდისა პირის ღრუს ლორწოვანის სიმსივნური პათოლოგიების მკურნალობისას.

დასახული მიზნის მისაღწევად ჩამოვყალიბეთ შემდეგი ამოცანები:

- დაავადების სტანდარტიზებული მოდელის შექმნა ლაბორატორიული ცხოველების პირის ღრუში ადამიანის დაბალდიფერენცირებული ბრტყელეპითელური კიბოს უჯრედების იმპლანტირების გზით (ქსენოგრაფტული მოდელი).
- მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების (მღუ) იზოლაციისა და კულტივაციის სტანდარტიზაცია;
- ცხოველის ქიმიოთერაპია დაწყებული სიმსივნის აღმოცენებიდან, ცხოველის ექსპერიმენტიდან გამოყვანამდე პროტოკოლით გაწერილ ვადებში. ქიმიოთერაპიის პარალელურად მღუ-ს ტრანსპლანტაცია ინტრავენურად ან კიბოს მომიჯნავე ჯანმრთელ ქსოვილში;

- ინტრავენურად და ლოკალურად შეყვანილი მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების მიგრაციისა და ლოკალიზაციის დადგენა ბიოლუმინესცენტური ანალიზის საშუალებით;
- ცხოველების კლინიკური პარამეტრებისა და სიცოცხლის ხანგრძლივობის შეფასება;
- მიღებული ქსოვილოვანი მასალის მორფოლოგიური და მოლეკულურ - ბიოლოგიური ანალიზი;
- შედეგების სტატისტიკური ანალიზი.

კვლევის მნიშვნელობა და სიახლე

- ჩატარებული კვლევის შედეგად შეიქმნა პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს ეფექტური ქსენოგრაფტული მოდელი ცხოველში, რომელიც ტექნიკური შესაძლებლობის თვალსაზრისით იოლად განხორციელებადია და მისი გამოყენება წარმატებით შეიძლება ონკოლოგიური კვლევებისათვის.
- ექსპერიმენტში პირველად იქნა შესწავლილი ქიმიოთერაპიის და მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ტრანსპლანტაციის კომბინაციის გავლენა პირის ღრუს კიბოს მიმდინარეობაზე. ასევე მოხდა მკურნალობის პროცესში ქიმიოთერაპიასთან კომბინაციაში მღუ-ს ტრანსპლანტაციის, როგორც დამხმარე/დამატებითი მეთოდის, გამოყენების ეფექტურობისა და მიზანშეწონილობის შეფასება.

დასაცავად გამოტანილი დებულებები

კვლევის შედეგების ანალიზის შემდეგ გაკეთებული დასკვნების საფუძველზე, ნაშრომში დასაცავად გამოტანილია შემდეგი დებულებები:

- ჩვენ მიერ შექმნილი ქსენოგრაფტული მოდელი ასახავს ქსოვილებში განვითარებული პათოლოგიის მორფოლოგიურ სურათს. ასევე, მისი საშუალებით იქმნება დაავადების ფუნქციური იმიტაცია. მოდელის გამოყენება შესაძლებელია პირის ღრუს კიბოს ექსპერიმენტული კვლევებისათვის.
- ლოკალურად ინექცირებული მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედები ლაგდებიან სიმსივნურ ქსოვილში. სისტემურად, კუდის ვენიდან ინფუზირებული

ღეროვანი უჯრედების აღმოჩენა კი მოხდა მხოლოდ ფილტვებსა და თირკმელებში.

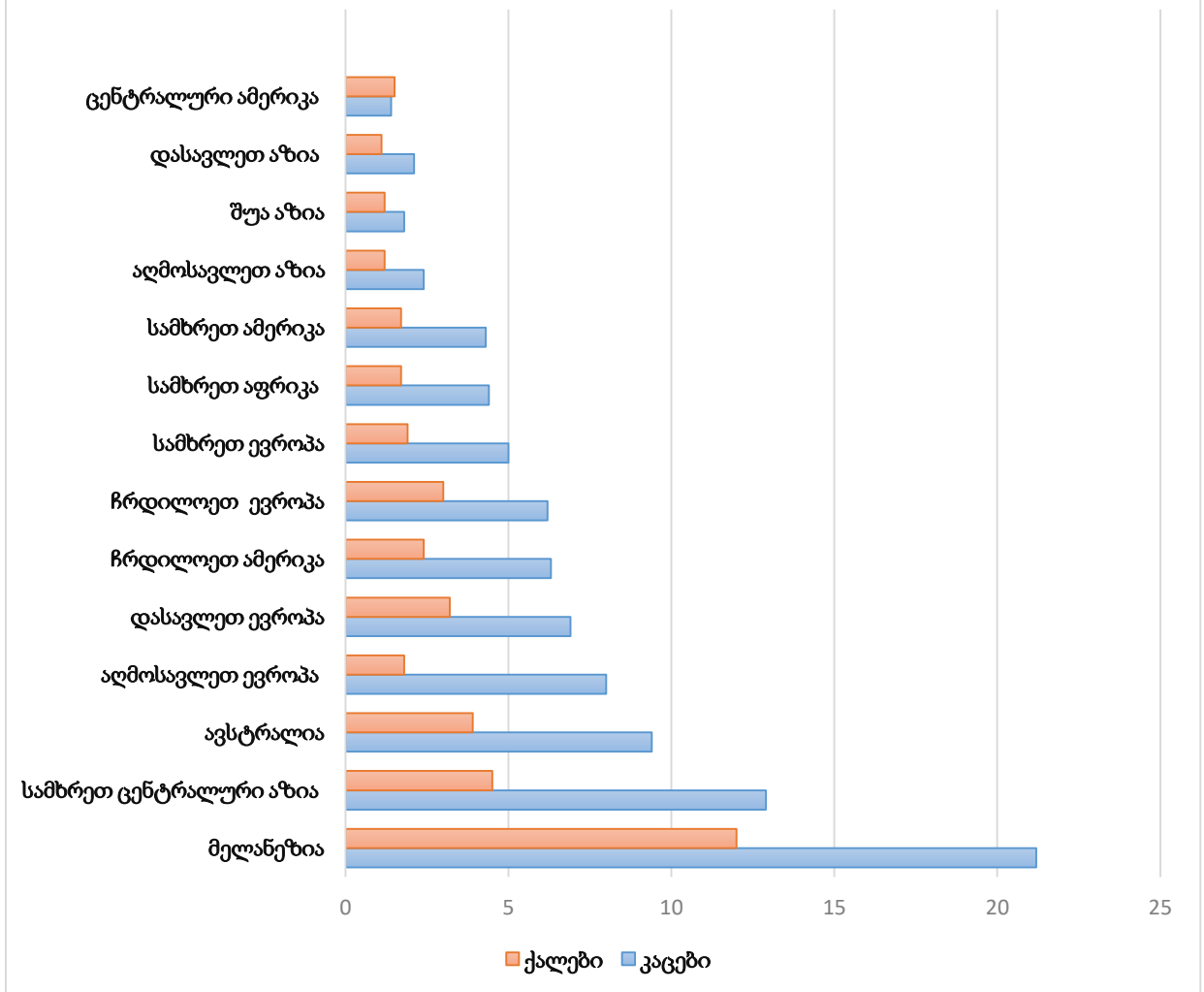
- მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების იმპლანტაცია პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს ქსოვილში ცისპლატინით მკურნალობის ფონზე, მნიშვნელოვნად ამცირებს სიმსივნის ზომაში ზრდის პროცესს, რის შედეგადაც საგრძნობლად მატულობს ექსპერიმენტში მონაწილე ცხოველების სიცოცხლის ხანგრძლივობა.
- მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ტრანსპლანტაციისა და ქიმიოთერაპიის კომბინაციით სიმსივნის ზომაში ზრდის პროცესის დათრგუნვის უკეთესი მაჩვენებელი მხოლოდ ქიმიოთერაპიასთან შედარებით, განპირობებულია კიბოს ქსოვილის აპოპტოზური აქტივობის ზრდით.

სამეცნიერო ლიტერატურის მიმოხილვა

პირის ღრუს სქუამოზური კიბო

პირის ღრუსა და ხახის კიბო მსოფლიოში გავრცელების მიხედვით მეთერთმეტე ადგილზეა. 2018 წელს მსოფლიოში პირის ღრუს კიბოს 354 864 ახალი შემთხვევა დაფიქსირდა, აქედან $\frac{3}{4}$ განვითარებად ქვეყნებში (World Health Organisation, 2019). პირის ღრუს კიბოს გავრცელების მაჩვენებელი მერყეობს სხვადასხვა რეგიონის მიხედვით. ერთი გეოგრაფიული არის ფარგლებშიც კი სხვადასხვა კატეგორიის ჯგუფებში (სქესი ასაკი, ცხოვრების წესი) გავრცელების მაჩვენებლები განსხვავებულია (Bray et al., 2018) (დიაგრამა #1).

ტუჩისა და პირის ღრუს კიბოს შეხვედრის სიხშირე 100 000 მოსახლეზე



დიაგრამა #1. ტუჩისა და პირის ღრუს კიბოს გავრცელება სხვადასხვა ქვეყნებში ორივე სქესში 2018 წლის მონაცემებით (World Health Organisation, 2019).

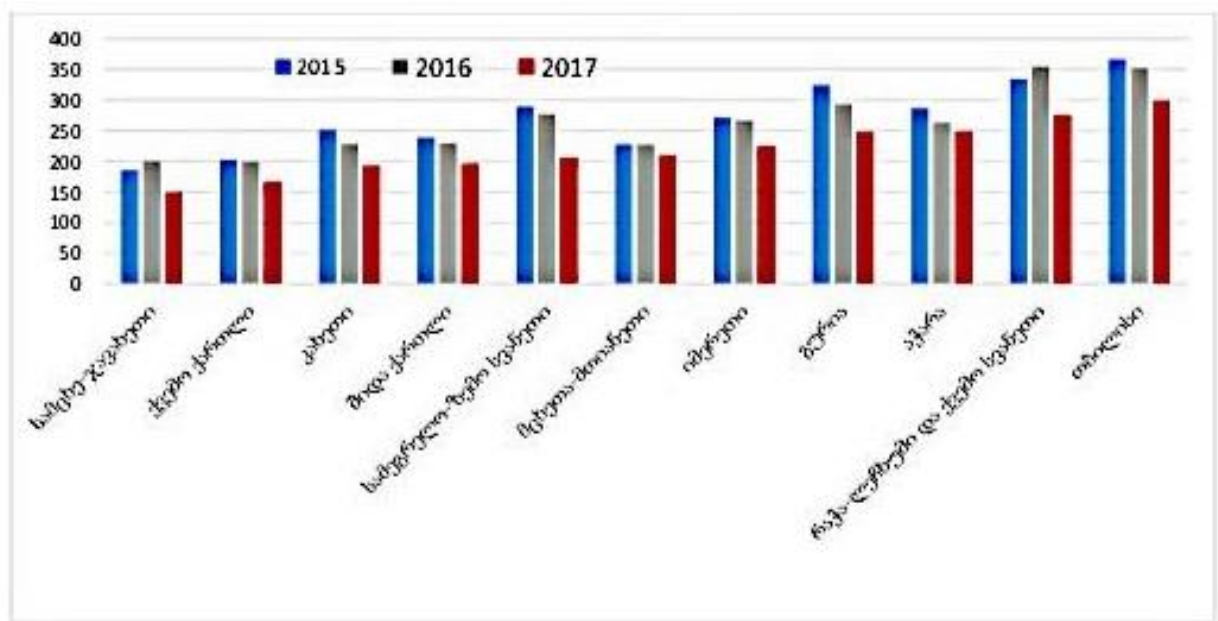
პირის ღრუს კიბოს პრევალენტობა უფრო მაღალია კაცებში. მამაკაცი/ქალი თანაფარდობა სხვადასხვა კვლევის მიხედვით მერყეობს 1.2:1-დან 2.4:1 მდე (Ferlay et al., 2018). ასეთი სხვაობა გამოწვეული უნდა იყოს იმით, რომ კაცებს მეტად აქვთ ისეთი ჩვევები, რომლებიც პირის ღრუს კიბოს განვითარების რისკ-ფაქტორებადაა აღიარებული (Torre et al., 2015; Lortet-Tieulent et al., 2015). ამერიკის კიბოს ეროვნული ინსტიტუტის მიხედვით, პირის ღრუს კიბოს გამოვლენის საშუალო ასაკია 65 წელი. თუმცადა, 45 წლამდე პირებში პირის ღრუს კიბოს შეხვედრის სიხშირე თანდათან მატულობს (Hussein et al., 2017; Warnakulasuriya et al., 2009). განვითარებად ქვეყნებში პირის ღრუს კიბოთი ახალგაზრდა კაცებისა და ქალების დაავადების შემთხვევები გაცილებით ხშირია განვითარებულ ქვეყნებთან შედარებით (Arnold et al., 2017; Hussain

et al., 2016). უკანასკნელ წლებში, პირის ღრუს კიბოს ინციდენტობისა და სიკვდილიანობის მაჩვენებლების მატების ტენდენცია შეინიშნება (Zhou et al., 2016; Chimed et al., 2017).

პირის ღრუს კიბოთი დაავადებულ პაციენტებში დასაქმების სფეროს მხრივ Sharma -ს მიერ ჩატარებული კვლევის მიხედვით, სოფლის მეურნეობას პირველი ადგილი უჭირავს (Sharma et al., 2010) ხოლო Almodovar-ის კვლევის მიხედვით კი — მეორე (Almodovar et al., 2006 ;). ეს შესაძლებელია აიხსნას იმ ფაქტით, რომ ფერმერები დიდი რაოდენობით მოიხმარენ თამბაქოს, რაც პირის ღრუს კიბოს განვითარების ძლიერი რისკ-ფაქტორია. გარდა ამისა დადგინდა, რომ ამ პაციენტებს ძირითად ტუჩის სქუამოზური კიბო აღენიშნებათ, რაც ულტრაიისფერი სხივების ხანგრძლივი ექსპოზიციით აიხსნება.

კიბოს სტადია დიაგნოზის დასმის დროისათვის გადამწყვეტ როლს თამაშობს დაავადების პროგნოზისათვის (Rivera 2015). პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს გამოვლენა ხშირად ხდება დაავადების განვითარების გვიან ეტაპზე, პაციენტები დროულად არ მიმართავენ ექიმს, რადგან ვერ აცნობიერებენ შესაძლო შედეგებს (Wong & Wiesenfeld, 2018).

საქართველოს დაავადებათა კონტროლისა და საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის ეროვნული ცენტრის მონაცემების მიხედვით, საქართველოში 58000-მდე ადამიანია დაავადებული სიმსივნით. თუმცადა, უკანასკნელ წლებში დისპანსერული აღრიცხვიანობის სისტემის მოშლამ და ონკოლოგიური ავადმყოფების ოჯახის ექიმებთან მეთვალყურეობაზე გადაცემამ უარყოფითი გავლენა იქონია სიმსივნეების სტატისტიკურ აღრიცხვაზე. კერძოდ, შემცირდა ავთვისებიანი სიმსივნეების შესახებ სტატისტიკური მონაცემები და დამახინჯდა მათი გავრცელების რეალური სურათი. საქართველოს კიბოს პოპულაციური რეგისტრის მონაცემების მიხედვით, კიბოს ახალი შემთხვევების რაოდენობა 2015-2017 წლებში 8700-11000-ის ფარგლებში მერყეობდა. 2017 წელს სულ რეგისტრირებული იყო კიბოს 8731 ახალი შემთხვევა, ინციდენტობის მაჩვენებელი კი 100000 მოსახლეზე შეადგენდა 234.8-ს. (დკეც, 2018. გვ. 4). დაავადების გავრცელება საქართველოს რეგიონების მიხედვით წარმოდგენილია დიაგრამაზე #2.

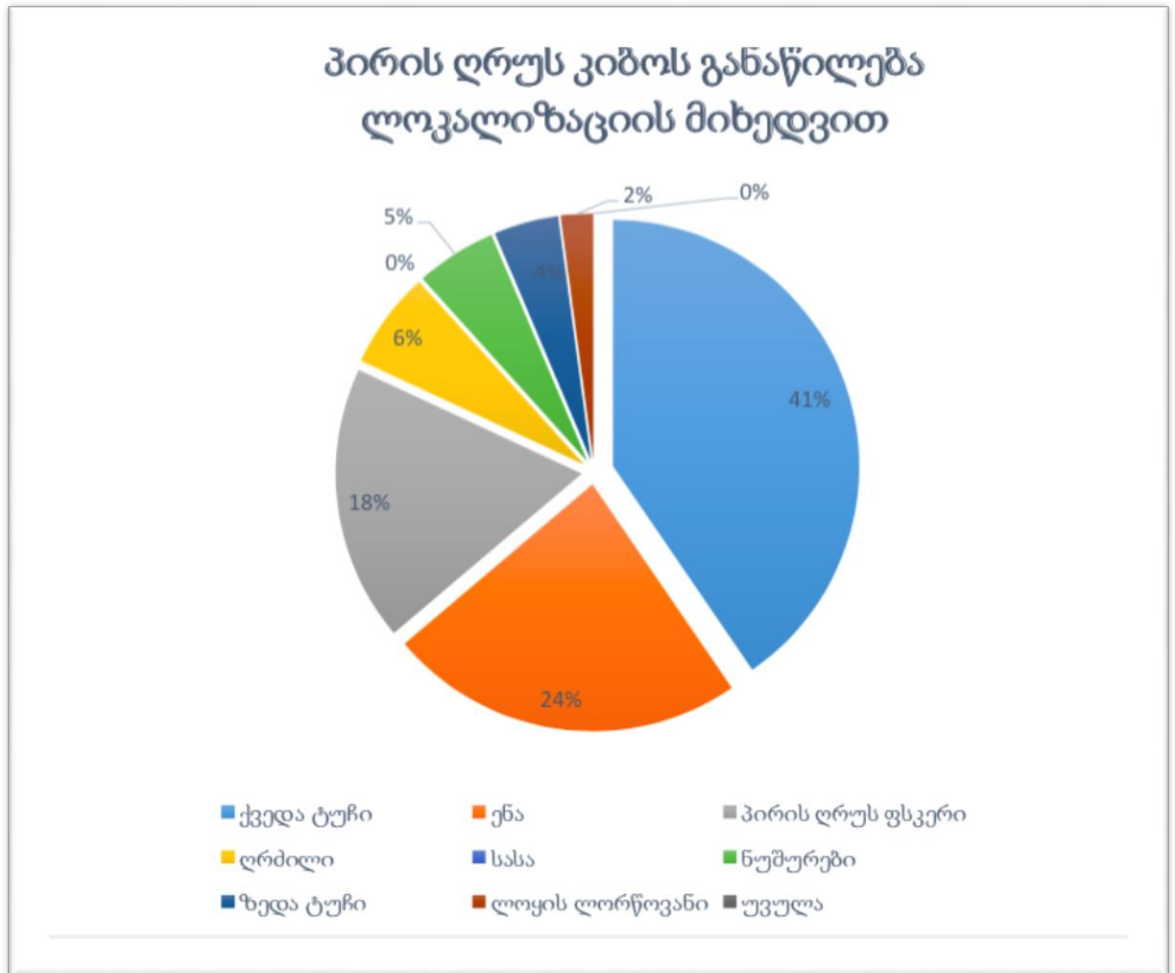


დიაგრამა #2: ავთვისებიანი სიმსივნეების ინციდენტობა რეგიონების მიხედვით, საქართველო, 2015-2017. (დკეც, 2018. გვ. 46)

პირის ღრუს კიბოს ყველაზე მნიშვნელოვან გარემო რისკ-ფაქტორებს მიეკუთვნება თამბაქო, ალკოჰოლი, კვებითი უკმარისობა, მზის სხივების ჭარბი ექსპოზიცია (Paré & Joly, 2017). ადგილობრივი ფაქტორებიდან მნიშვნელოვანია ტრავმა და ლორწოვანის ხანგრძლივი მექანიკური დაზიანება კბილებისა და ორთოპედიული კონსტრუქციების ბასრი კიდეებით (Ho et al., 2013). ბიოლოგიური ფაქტორებიდან აღსანიშნავია ადამიანის პაპილომა ვირუსის როლი. პაპილომა ვირუსების ოჯახი მოიცავს 200-მდე სხვადასხვა სახეობას, რომელთაგან მხოლოდ 9 მონაწილეობს სიმსივნეების ეტიოლოგიაში. პირის ღრუს სქუამოზურ კიბოს განვითარებას კი უკავშირდება HPV16, რომელიც პირველად, 1983 წელს იქნა აღმოჩენილი პირის ღრუს კიბოს ქსოვილებში და მას შემდეგ მნიშვნელოვანი ადგილი უკავია პირის ღრუს კიბოს ეტიოპათოგენებში. HPV16 პოზიტიური შემთხვევების რაოდენობა ზოგიერთი კვლევების მიხედვით 35% ს აღწევს (Yete et al., 2018; Jayaprakash et al., 2011)

ეპიდემიოლოგიურმა კვლევებმა აჩვენა, რომ პირის ღრუს კიბოს ლოკალიზაცია ფართოდ ვარიირებს. ენა, ტუჩი და პირის ღრუს ფსკერი პირის ღრუში სქუამოზური კიბოს გამოვლენის ყველაზე ხშირი ადგილია. დასავლეთის ქვეყნებში ენის დაზიანებას ვხვდებით დაახლოებით 40%-მდე შემთხვევებში, ხოლო პირის ღრუს ფსკერისას - 15 %-ში (Rimal et al., 2019). ზოგიერთმა კვლევამ კი აჩვენა, რომ პირის

ღრუში სქუამოზური კიბოს გამოვლენის ყველაზე ხშირი ადგილი ტუჩია, ენა კი მეორე ადგილზეა. (Al-Jaber et al., 2016; Djan et al., 2013). ღრძილი, სასის ლორწოვანი, რეტრომოდარული არე და ლოყის ლორწოვანი შედარებით იშვიათად ზიანდება. მთლიანობაში პირის ღრუს კიბოს ანატომიური ადგილის მიხედვით გავრცელება წარმოდგენილია დიაგრამაზე #3.



დიაგრამა #3: პირის ღრუს კიბოს განაწილება ლოკალიზაციის მიხედვით.

პირის ღრუს უკანა მიდამოს სიმსივნეებს წინა მიდამოს სიმსივნეებთან შედარებით, უფრო ცუდი პროგნოზი გააჩნია. კლინიკურად პირის ღრუს კიბო შესაძლებელია გამოვლინდეს ენდოფიტური ფორმით წყლულისა და ინფილიტრატის სახით ან ეგზოფიტური ფორმით, რომელსაც ახასიათებს ზრდა გარეთ. ენდოფიტურ სიმსივნეს მკვეთრად გამოხატული ავთვისებიანობის ნიშნები აქვს. (McCormick et al., 2016; Macey et al., 2015). პირის ღრუს ლორწოვანის კიბო ყველაზე ხშირად ავთვისებიანი წყლულის სახით ვლინდება. დასაწყისში სიმსივნე უსიმპტომოდ

მიმდინარეობს, შემდეგ თანდათან ჩნდება ეროზია, რომელიც გადადის წყულში. ინვაზიური ზრდის დაწყებასთან ერთად წყულის გარშემო ჩნდება მკვრივი მორგვი. გვიანდელ სტადიაზე ჭარბობს წყულოვან-ინფილტრაციული სურათი: მაგარი წყული, შემოსაზღვრული ამობურცული კიდეებით, უსწორმასწორო მარცვლოვანი ფსკერით. (Neville B.W., Damm D.D., Allen C., & Chi A.C., 2015)

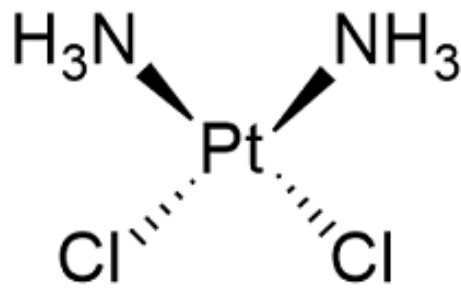
პირის ღრუს კიბო ვრცელდება მეზობელ ქსოვილებში ჩაზრდის გზით და განიცდის მეტასტაზირებას ლიმფური სადინრებითა და სისხლძარღვებით. რეგიონული ლიმფური გზებით მეტასტაზირების შედეგად ჩნდება მეორადი სიმსივნური კერები კისრის ლიმფურ კვანძებში, ჰემატოგენური მეტასტაზები დაშორებულ ორგანოებში ძალიან იშვიათად გვხვდება (Hassona et al., 2018; Noguti et al., 2012). პირის ღრუს სიმსივნეების შემთხვევაში მეტასტაზები გვხვდება უმეტესად ქვედაყბისქვეშა და კისრის ზედაპირულ და ღრმა ლიმფურ კვანძებში. ასევე შესაძლებელია ჩართული იყოს ნიკაპისქვეშა, ყურისწინა და ყურისუკანა ლიმფური კვანძები (Mupparapu et al. 2018). მეტასტაზების არსებობა-არ არსებობა ძალიან მნიშვნელოვანია დაავადების პროგნოზისათვის. უკანასკნელ წლებში ჩატარებული კვლევის მიხედვით, იმ პაციენტების 65%-მა, რომელთაც დიაგნოზის დასმის მომენტისათვის არ აღენიშნებოდათ მეტასტაზები რეგიონულ ლიმფურ კვანძებში, კიდევ 5 წელი იცოცხლეს, იმ პაციენტების შემთხვევაში კი, რომელთაც დიაგნოზის დასმის მომენტისათვის მეტასტაზები აღენიშნებოდათ, მხოლოდ 15%-მა იცოცხლა იგივე პერიოდი (Zhang et al., 2018).

პირის ღრუს კიბოს მკურნალობა ყველა შემთხვევაში მოითხოვს მულტიდისციპლინურ მიდგომას. შესაძლებელია გამოყენებულ იქნეს მკურნალობის ქირურგიული, სხივური, მედიკამენტური, კომბინირებული მეთოდები. მკურნალობის მიდგომა განისაზღვრება სიმსივნის ჰისტოლოგიურ შენებისა და დაავადების სტადიის მიხედვით. ბრიტანეთის ონკოლოგიური ცენტრების უმრავლესობაში მიღებულია მკურნალობის შემდეგი სქემები: პირველადი ადრეული ეტაპის სიმსივნეებისათვის (T1-T2) — ქირურგიული ამოკვეთა ან რადიოთერაპია, თუმცაღა, რადიოთერაპიის უამრავი უარყოფითი გვერდითი ეფექტის გამო, უფრო ფართოდ გამოიყენება ქირურგიული მეთოდი (Kerawala et al., 2016). შორსწასული

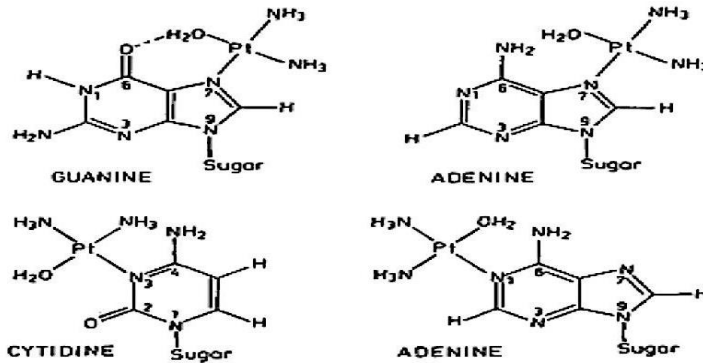
შემთხვევებისათვის (III-IV სტადია), ევროპული სამედიცინო ონკოლოგიის ასოციაციის გაიდლაინის მიხედვით, სტანდარტული მიდგომა მოიცავს ქირურგიულ ჩარევას შემდგომი რეკონსტრუქცია-რეაბილიტაციით და პოსტოპერაციულ რადიოთერაპიას. მაღალი რისკის შემთხვევებში მკურნალობის სქემას ემატება პოსტოპერაციული ქიმიოთერაპია. პაციენტებში, სადაც შეუძლებელია რეუქციის ჩატარება, მკურნალობის სტანდარტად ითვლება კომბინირებული თანმხლები ქიმიოთერაპია. (Grégoire et al., 2010)

ბოლო 30 წლის მანძილზე ინტენსიური კვლევა მიმდინარეობს, რათა უკეთ იქნეს შესწავლილი სისტემური ქიმიოთერაპიის როლი პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს მენეჯმენტში. ქიმიოთერაპია გამოიყენებოდა სიცოცხლის ხანგრძლივობის გაზრდის, მეტასტაზირების შემცირებისა და ორგანოების პრეზერვაციის მიზნით; გამოიყენებოდა როგორც მონოთერაპია ერთი ქიმიოთერაპიული აგენტით, ასევე სხვადასხვა კომბინაციები. რანდომიზებული კონტროლირებადი კვლევებით დადგინდა, რომ ტრადიციულ რადიოთერაპიის კურსზე ქიმიოთერაპიის დამატებამ გამოიწვია სიცოცხლის ხანგრძლივობის გაზრდა, თუმცა, ამავდროულად, გაიზარდა ასევე მკურნალობის ტოქსიურობაც (Omura, 2014; Chatzistefanou et al., 2017).

ცისპლატინი ერთერთი ფართოდ გამოყენებადი ქიმიოთერაპიული აგენტია. ცისპლატინი (სრული დასახელება: ცის- დიამინოდიქლორპლატინა (II)) ლითონის (პლატინის) კოორდინაციული ნაერთია კვადრატული სივრცული გეომეტრიით (სურათი #1ა). ოთახის ტემპერატურაზე იგი თეთრ ან მუქ- ყვითელ / ყვითელ-ნარინჯისფერ კრისტალურ ფხვნილს წარმოადგენს; მცირედ იხსნება წყალში და კარგად იხსნება დიმეთილპრიმანიდსა და N, N- დიმეთილფორმამიდიში. ცისპლატინი ნორმალური ტემპერატურისა და წნევის პირობებში სტაბილურია, მაგრამ დროთა განმავლობაში შეიძლება ტრანს-იზომერად გარდაიქმნას (Reedijk & Lohman, 1985).



ა



ბ

სურათი #1. ა. ცისპლატინის ქიმიური სტრუქტურა. ბ. ცისპლატინის მოქმედების ქიმიური მექანიზმი (Alderden, Hall, & Hambley, 2006).

ცისპლატინის სინთეზი პირველად მოახდინა მ. პეირონმა 1844 წელს, ხოლო მისი ქიმიური სტრუქტურა პირველად განმარტა ალფრედ ვერნერმა 1893 წელს. ნაერთმა მეცნიერების ყურადღება მხოლოდ 1960-იან წლებიდან მიიქცა. მკვლევარებმა მიჩიგანის სახელმწიფო უნივერსიტეტიდან დაადგინეს, რომ პლატინის ბადის ელექტროდების ელექტროლიზისას გამოყოფილ გარკვეულ პროდუქტებს Escherichia coli- ში უჯრედების დაყოფის შეჩერება შეუძლიათ (Florea & Büsselberg. 2011). შემდგომმა კვლევებმა ცისპლატინის ციტოტოქსიური აქტივობა და სხვადასხვა სიმსივნეების საწინააღმდეგო მოქმედება დაადასტურა (Basu A., & Krishnamurthy S.2010).

ცისპლატინი მაალკილირებელი შენაერთების ჯგუფს მიეკუთვნება. მას ორი აქტიური ქლორიდის ჯგუფი და ორი შედარებით ინერტული ამინური ლიგანდი გააჩნია (სურათი #1ა). წყალში ცისპლატინი ჰიდროლიზს განიცდის. ქლორის იონების მაღალი კონცენტრაცია ცისპლატინის ჰიდროლიზს ხელს უშლის. სისხლის პლაზმაში

ქლორიდების მაღალი კონცენტრაციის გამო (103მმოლი/ლ) ცისპლატინის ჰიდროლიზი შეფერხებულია. უჯრედში კი ქლორიდ იონების კონცენტრაცია ნაკლებია (4მმოლი/ლ), ამიტომ უჯრედში შესვლის შემდეგ ცისპლატინის ჰიდროლიზის პროცესი აქტიურად მიმდინარეობს (Basu A., & Krishnamurthy S., 2010). ჰიდროლიზის პროდუქტები დნმ-ს უტევენ, უკავშირდებიან ნუკლეოტიდების აზოტის ატომებს და ქმნიან ჯვარედინ კავშირებს დნმ-ს სპირალის ძაფებს შორის (სურათი #1ბ). შედეგად ფერხდება დნმ-ის რეპლიკაციის პროცესი და უჯრედის გაყოფა წყდება. უჯრედის ციკლი ჩერდება S, G1 or G2-M ფაზაში. ამას მოჰყვება აპოპტოზის სიგნალის გააქტივება და უჯრედის სიკვდილი.

გამოხატული სიმსივნის საწინააღმდეგო მოქმედების გამო ცისპლატინი გამოიყენება სხვადასხვა სარკომების, კარცინომების, ლიმფომების მკურნალობისათვის.

ქიმიოთერაპიისა და რადიოთერაპიის პარალელურად გამოიყენება გვამლევს საბოლოო სინერგისტულ ეფექტს, მაღალია მკურნალობის ეფექტი, რაც ხშირ შემთხვევაში გვამლევს შანსს თავიდან ავიცილოთ რადიკალური ქირურგიული ჩარევის აუცილებლობა (Varela-Centelles et al., 2018; Gharat et al., 2016). ამ კუთხით ძალიან მნიშვნელოვანია Gillson-ისა და Adelstein-ის მიერ წლების მანძილზე ჩატარებული კვლევები. მათ გამოიყენეს ცისპლატინისა და 5-ფტორურაცილის კომბინაცია კონკურენტულ რადიოთერაპიასთან ერთად და მიიღეს 4 წლიანი სიცოცხლის ხანგრძლივობის მაჩვენებელი 49% შემთხვევაში, რაც მხოლოდ რადიოთერაპიისას მიღებულ მაჩვენებელთან შედარებით უკეთესი შედეგი გახლდათ (Gillison et al., 2019). მოგვიანებით, კვლევებით დადასტურდა კონკურენტული ქიმიოთერაპიისას სიცოცხლის ხანგრძლივობის გაუმჯობესებული მაჩვენებლები უკვე შორსწასული კიბოს სტადიების შემთხვევაშიც (III IV სტადიები) (Ward et al., 2017; Sharrett et al., 2019).

საქართველოს ოკუპირებული ტერიტორიებიდან დევნილთა, შრომის, ჯანმრთელობისა და სოციალური დაცვის სამინისტროს მიერ დამტკიცებული რადიოთერაპიის პროტოკოლების მიხედვით (საქართველოს ოკუპირებული

ტერიტორიებიდან დევნილთა, შრომის, ჯანმრთელობისა და სოციალური დაცვის სამინისტრო, 2014), ადიუვანტური (ქიმიო) სხივური თერაპიის ჩვენებებია:

- ახლო დადებითი კიდები (0–5მმ);
- პერინევრალური ინვაზია;
- ლიმფოვასკულური ინვაზია;
- ჰისტოლოგიურად ცუდად დიფერენცირებული სიმსივნე;
- T3-T4 სიმსივნე;
- ექსტრაკაფსულარული გავრცელება (ქიმიოსხივური);
- მრავლობითი ლიმფური კვანძები;
- დაზიანებული IV-V დონის ლიმფური კვანძები.

2015-2017 წლებში ავთვისებიანი სიმსივნეების დიაგნოზით ჩატარებული სხვადასხვა მკურნალობის მაჩვენებლები წარმოდგენილია ცხრილში #1.

| | შემთხვევების რაოდენობა | | | % ახალი შემთხვევების რაოდენობიდან | | |
|--------------------------------|------------------------|------|------|-----------------------------------|------|------|
| | 2015 | 2016 | 2017 | 2015 | 2016 | 2017 |
| მედიკამენტური თერაპია | 2104 | 2138 | 1527 | 19.4 | 20.6 | 17.5 |
| რადიოთერაპია | 1390 | 1774 | 972 | 12.8 | 17.1 | 11.1 |
| ქირურგიული მკურნალობა | 4632 | 5409 | 4757 | 42.8 | 52.0 | 54.5 |
| გადაყვანილია პალიატიურ მოვლაზე | 1465 | 1252 | 805 | 17.4 | 10.7 | 6.9 |

ცხრილი #1. ავთვისებიანი სიმსივნეების მკურნალობა, საქართველო, 2015-2017 (დკეც, 2018. გვ. 45)

თავისა და კისრის სხვადასხვა ორგანოების კიბოს შემთხვევებში, მკურნალობის სხვადასხვა მეთოდებს მთელი რიგი უარყოფითი გვერდითი მოვლენები ახლავს თან.

(Carneiro-Neto et al., 2017; Valdez & Brennan, 2018). ცისპლატინის შემთხვევაში, პრეპარატს გააჩნია მაღალი ტოქსიურობა რაც სასარგებლოა კიბოს წინააღმდეგ, მაგრამ ამავედროულად მისი ეს თვისება მთელ რიგი საშიში გვერდითი ეფექტების განვითარებას განაპირობებს. ნეიროტოქსიურობა ცისპლატინის ყველაზე სერიოზული გვერდითი ეფექტია. ცისპლატინის ფარმაკოლოგიური გავლენის შესახებ ბოლოდროინდელი მიმოხილვის თანახმად, ნერვული სისტემიდან ყველაზე მეტად ზიანდება პერიფერიული სენსორული ნერვები, რაც შეიძლება გამოვლინდეს სმენის დაკარგვით, კრუნჩხვით, ლერმიტის ნიშნით და ენცეფალოპათიით. ეს ეფექტები ცისპლატინის დოზაზეა დამოკიდებული და როგორც წესი ცისპლატინის მაღალი დოზის გამოყენებისას აღინიშნება. ამასთან, სტატისტიკამ აჩვენა, რომ პაციენტების 30-50% -ში ნეიროპათია შეუქცევადია (St Germain et al., 2010). ქიმიოთერაპიამ და რადიოთერაპიამ შესაძლოა პირდაპირი ტოქსიური ეფექტი იქონიოს პირის ღრუს ლორწოვანზე, რაც იწვევს დისგეუზიას; ლორწოვანი ადვილად განიცდის დაწყლულებას, ჩნდება ტკივილის შეგრძნება, სისხლდენა და ირღვევა ქსოვილის ნორმალური ფუნქციონირება. (Bschorer et al., 2018). რადიოთერაპიას შეუძლია გამოიწვიოს ძვლისა და სანერწყვე ჯირკვლების მუდმივი სერიოზული დაზიანება (Nunez-Aguilar et al., 2018; Villa et al., 2018) (ცხრილი #2)

ამგვარად, მკურნალობის ტრადიციულ მეთოდებს თან სდევს უამრავი გვერდითი ეფექტი, რომელიც აზიანებს ორგანიზმის სხვადასხვა ქსოვილს და ორგანოს. ამიტომ მეცნიერები ცდილობენ იპოვონ მკურნალობის ისეთი მიდგომები, რომლებიც მიმართული იქნებოდა მხოლოდ კიბოს უჯრედებისაკენ და არ დააზიანებდა ჯანმრთელ ქსოვილებს.

| | | |
|--------------------|---|--|
| მკურნალობის მეთოდი | გვერდითი ეფექტი | |
| ქირურგიული ჩარევა | კოსმეტიკური დეფექტები ფუნქციური დარღვევები: - მეტყველების დარღვევა - ლეჩვის დარღვევა - ყლაპვის დარღვევა | |
| რადიოთერაპია | სანერწყვე ჯირკვლების დაზიანება მწვავე პაროტიტი შეუქცევადი ცვლილებები სანერწყვე ჯირკვლებში ქსეროსტომია პირის ღრუს მუკოზიტი სტომატიტი ინფექციები დისგეუზია | ტკივილი გულისრევა ღებინება დემინერალიზაცია დენტალური პრობლემები ოსტეორადიონეკროზი ტრიზმი წონაში დაკლება |
| ქიმიოთერაპია | პირის ღრუს მუკოზიტი დისგეუზია იმუნური დისფუნქცია ინფექციები სისხლჩაქცევები ნერწყვის გამოყოფის დარღვევა | |

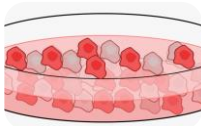
ცხრილი #2: პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს მკურნალობის გართულებები

პირის ღრუს ონკოლოგიური კვლევის ექსპერიმენტული მოდელები ცხოველებში

ექსპერიმენტები შესაბამისი *in vitro* და *in vivo* მოდელების გამოყენებით ძალიან მნიშვნელოვანია, ზოგადად, დაავადების და მათ შორის, პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს პროგრესირებისა და თერაპიული რეაგირების შესახებ ღრმა

ცოდნის მისაღებად. ახალი მოლეკულური სამიზნეების ამოცნობამ შეიძლება ხელი შეუწყოს ახალი თერაპიული სტრატეგიების შემუშავებას (Ohnishi et al., 2012). ამ მიზნით შეიძლება გამოყენებულ იქნეს როგორც *in vitro*, ასევე *in vivo* კვლევები (Szaniszlo et al., 2014). *In vivo* ექსპერიმენტები ცხოველთა მოდელებში ასახავს მთელი ორგანიზმის თვისებებს. ცხოველის შესაბამისი მოდელი არის უმთავრესი გასაღები იმ პროცესების გასაგებად, რომლებიც საფუძვლად უდევს პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს დაწყებას და პროგრესირებას. არსებობს უამრავი კვლევა სხვადასხვა ცხოველებზე, რომელთა გამოყენება შესაძლებელია პსკ მოდელებისთვის (Montague et al. 2014; Warner et al. 2014; Khiavi et al., 2017; Fulton et al., 2013; Soltero-Rivera et al., 2014;). სამეცნიერო წყაროებში მოპოვებული ნაშრომების ანალიზის შედეგად შეგვიძლია გამოვყოთ პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს მოდელის ჩამოყალიბების ორი ძირითადი გზა: *in vitro* უჯრედული ხაზები და *in vivo* ცხოველური მოდელები (სურათი #2).

პსკ მოდელები



I. უჯრედული კულტურები
(*in vitro*)



II. მოდელები ცხოველებში
(*in vivo*)

სურათი #2. პირის ღრუს კიბოს სხვადასხვა ტიპის მოდელები

ცნობილია, რომ პირის ღრუს კიბოს უჯრედები წარმატებით შეიძლება კულტივირდეს *in vitro* და ჩამოყალიბდეს უჯრედული ხაზები. კულტივირების ტექნიკა უმჯობესდება და ამ ეტაპზე უკვე ჩამოყალიბებულია კარცინომის რამდენიმე ათეული უჯრედული ხაზი. უჯრედული ხაზის განვითარების ორი ძირითადი მეთოდი არსებობს: პირველი ესაა სიმსივნის უჯრედებიდან კულტურის მოპოვება სიმსივნური ქსოვილის ფერმენტული დამუშავების შემდეგ, ხოლო მეორე -

ქსენოგრაფტად გაზრდილი სიმსივნისაგან ქსოვილის კულტურის მიღება (Brenner et al. 2010).

ამჟამად მთელ მსოფლიოში, თავისა და კისრის უჯრედების ხაზების კოლექციები იკრიბება კიბოს უჯრედული ხაზების სპეციალურ ბიბლიოთეკაში. თითოეული მათგანისათვის მოცემულია შემდეგი ინფორმაცია: რომელი სიმსივნისაგან არის მიღებული, ჰისტოლოგიური და გენეტიკური მახასიათებლები. უჯრედის ხაზების მოკლე მიმოხილვა მათი წარმომავლობის ადგილების მიხედვით მოცემულია ცხრილში #3.

| პირის ღრუ | პირ-ხაზა | ხაზა | ხორბი | ცხვირის დანამატი ღრუები |
|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------------|
| <i>HN-1</i> | <i>UM-SCC-4</i> | <i>UM-SCC-15</i> | <i>UM-SCC-5</i> | <i>AMC-HN-5</i> |
| <i>HN-3</i> | <i>UM-SCC-6</i> | <i>UM-SCC-30</i> | <i>UM-SCC-10A</i> | <i>UT-SCC-53</i> |
| <i>HN-5</i> | <i>UM-SCC-18</i> | <i>UM-SCC-37</i> | <i>UM-SCC-11A</i> | <i>UM-SCC-3</i> |
| <i>HN-6</i> | <i>UM-SCC-19</i> | <i>UM-SCC-39</i> | <i>UM-SCC-11B</i> | <i>UM-SCC-33</i> |
| <i>HN-7</i> | <i>UM-SCC-26</i> | <i>UM-SCC-42</i> | <i>UM-SCC-11B</i> | <i>UM-SCC-85</i> |
| <i>UM-SCC-1</i> | <i>UM-SCC-31</i> | <i>UM-SCC-53</i> | | |
| <i>UM-SCC-9</i> | <i>UM-SCC-34</i> | <i>UM-SCC-60</i> | <i>UM-SCC-12</i> | |
| <i>UM-SCC-14A</i> | <i>UM-SCC-35</i> | <i>UM-SCC-80</i> | <i>UM-SCC-13</i> | |
| <i>UM-SCC-14B</i> | <i>UM-SCC-38</i> | <i>UM-SCC-88</i> | <i>UM-SCC-16</i> | |
| <i>UM-SCC-14C</i> | <i>UM-SCC-50</i> | <i>SCC-35</i> | <i>UM-SCC-17A</i> | |
| <i>UM-SCC-27</i> | <i>UM-SCC-62</i> | <i>PCI-104</i> | <i>UM-SCC-17B</i> | |
| <i>UM-SCC-32</i> | <i>UM-SCC-65</i> | <i>PCI-40</i> | <i>UM-SCC-20</i> | |
| <i>UM-SCC-44</i> | <i>UM-SCC-87</i> | <i>PCI-32</i> | <i>UM-SCC-23</i> | |
| <i>UM-SCC-45</i> | <i>UM-SCC-99</i> | <i>HN-SCC-104</i> | <i>UM-SCC-24</i> | |
| | <i>UM-SCC-100</i> | <i>SQ-31</i> | <i>UM-SCC-25</i> | |
| | <i>SCC-49</i> | <i>PCI-5</i> | <i>HN-10</i> | |
| | <i>SCC-71</i> | | | |

ცხრილი #3: პირის ღრუს კიბოს უჯრედული ხაზები

უჯრედების ხაზები განიხილება, როგორც ცნობილი ექსპერიმენტული მოდელები სიმსივნის უჯრედებში ფარმაკოკინეტიკის, უჯრედების

სიცოცხლისუნარიანობის, ციტოტოქსიურობის და წამლის ეფექტურობის შეფასებისათვის. ისინი გამოიყენება პრეკლინიკური ტესტირების ეტაპზე, ანტინეოპლასტიური თერაპიის შედეგის შესაფასებლად. უჯრედების ხაზები ასევე ცნობილი მოდელებია ქიმიოთერაპიის გარკვეული ტიპის სპეციფიკური მოლეკულური მექანიზმების გასაგებად (Möckelmann et al., 2016; Laban et al., 2013). უჯრედების კულტურა ხასიათდება ნიმუშის ჰომოგენურობით. გარდა ამისა, მათ აქვთ რამდენიმე დამატებითი უპირატესობა, როგორცაა: დაბალი ღირებულება და ეთიკური და სამართლებრივი საკითხების არ არსებობა, რაც დაკავშირებულია ცხოველებზე ექსპერიმენტებთან. მიუხედავად ამისა, უჯრედული კულტურა ხასიათდება გარკვეული შეზღუდვებითა და უარყოფითი მხარეებით. მათ შორისაა ხელოვნური გარემოს გამო უჯრედთა ურთიერთქმედების შეზღუდვა და შესაბამისად, სიმსივნეების დროს არსებული მრავალი ფიზიოლოგიური პროცესის ინჰიბირება. ამასთან, კვლევების თანახმად, 2D უჯრედული კულტურის საშუალებით რთულია კლინიკური სარგებელის პროგნოზირება (Maushagen et al., 2016). ეს მოდელი შეიძლება ეფექტური იყოს პსკ-ის პათოლოგიური მდგომარეობისა და მოლეკულური ბიოლოგიის გამოსაკვლევად, მაგრამ ვერ უზრუნველყოფს კლინიკურ პროგრამაზე საკმარისი ინფორმაციის მიწოდებას. ასე რომ, ვერ იქნება გამოყენებული როგორც წინასწარი კლინიკური პროგნოზის მოდელი ცალკეული ონკოლოგიური პაციენტისთვის (Shin et al., 2016; Kadletz et al., 2015).

პსკ-ს კლინიკური კვლევების უმეტესი ნაწილი იყენებს ცხოველების, ყველაზე ხშირად კი თაგვების მოდელებს (Mognetti et al., 2006). ამასთან, არსებობს მოსაზრება, რომ სხვა ცხოველების მოდელები რამდენიმე ისეთი უნიკალური მახასიათებლით გამოირჩევა, რაც ადამიანის ფიზიოლოგიასა და ანატომიასთან უფრო მეტ მსგავსებას გულისხმობს, ვიდრე ეს მღრღნელებს გააჩნიათ. მაგალითად: უჯრედების გაუმჯობესებული ვიზუალიზაცია *in vivo*, ასევე შესაძლებლობები თერაპიული გამოკვლევებისთვის დაავადების საწყის ეტაპზე. გარდა ამისა, სხვა ცხოველების მოდელებში შეიძლება შეინიშნებოდეს სპონტანური შემთხვევებიც და არა მხოლოდ ექსპერიმენტულად ან გენეტიკურად გამოწვეული პირის ღრუს კიბო. ზოგიერთი ეს არამღრღნელების მოდელი ექვემდებარება გენეტიკურ რედაქტირებას და იმუნოსუპრესიას. თუმცა, მათი გამოყენების უარყოფითი მხარე მოიცავს რეაგენტების შეზღუდულ

ხელმისაწვდომობას, უფრო მაღალ ფასს და საცხოვრებელი ფართის გაზრდას (Lehman et al., 2015). კიბოს კვლევისთვის გამოყენებული სხვადასხვა ცხოველებში მოდელის შექმნის დადებითი და უარყოფითი მხარეები მოკლედ არის აღწერილი ცხრილი #4-ში.

| ცხოველი | უპირატესობები | უარყოფითი მხარეები |
|---------|--|--|
| კატა | <p>იმუნოკომპეტენტურობა</p> <p>სიმსივნის სპონტანურად განვითარება</p> <p>სიმსივნის ორთოტოპულად განვითარება</p> <p>თერაპიული კვლევისათვის გამოყენება</p> <p>გენეტიკური და ფენოტიპური ჰეტეროგენურობა</p> | <p>რეაგენტების ნაკლები ხელმისაწვდომობა</p> <p>ტრანსგენური მოდელების არ არსებობა</p> |
| ძაღვი | <p>იმუნოკომპეტენტურობა</p> <p>სიმსივნის სპონტანურად განვითარება</p> <p>სიმსივნის ორთოტოპულად განვითარება</p> <p>თერაპიული კვლევისათვის გამოყენება</p> <p>გენეტიკური და ფენოტიპური ჰეტეროგენურობა</p> | <p>რეაგენტების ნაკლები ხელმისაწვდომობა</p> <p>ტრანსგენური მოდელების არ არსებობა</p> |
| ღორი | <p>ანატომიური და ფიზიოლოგიური მსგავსება ადამიანთან</p> <p>იმუნოკომპეტენტურობა</p> <p>ტრანსგენული სახეობების ხელმისაწვდომობა</p> | <p>მაღალი ღირებულება</p> <p>დიდი ფართობის აუცილებლობა</p> <p>სიმსივნის სპონტანურად განვითარების შეუძლებლობა</p> <p>ჰსკ-ს მოდელის არ არსებობა</p> |
| ზაზუნა | <p>ანატომიური და ფიზიოლოგიური მსგავსება ადამიანთან</p> <p>ალტერაციისა და მეტასტაზირების გზების (ჰემატოგენური/ლიმფოგენური) მსგავსება</p> | <p>მაღალი ღირებულება</p> <p>იმუნოდეფიციტური ხაზების ნაკლებობა</p> |

ცხრილი #4: სხვადასხვა ცხოველების მახასიათებლები ჰსკ-ს მოდელისათვის

ონკოლოგიური კვლევისას ყველაზე ხშირად გამოყენებული ცხოველები არიან მღრღნელები: ვირთაგვები და თაგვები (Ishida et al., 2017; Chen et al., 2016). ვირთაგვა უფრო დიდია, მაგრამ შესაბამისად უფრო ძვირია. გარდა ამისა, იმუნოდეფიციტური ან გენეტიკურად მოდიფიცირებული ვირთაგვის სახეობათა მწირი არჩევანი გვაქვს. კიბოს კვლევაში თაგვების ძირითად უპირატესობას წარმოადგენს მათი მცირე ზომა და სწრაფი გამრავლების უნარი. ისინი იაფია შესანარჩუნებლად და ადვილად შეუძლიათ დაექვემდებარონ გენეტიკურ მოდიფიცირებას სხვა ცხოველებთან შედარებით. თაგვს ახასიათებს 3 წლიანი სიცოცხლის ხანგრძლივობა, ფართო ფიზიოლოგიური და მოლეკულური მსგავსება ადამიანებთან და მთლიანად სეკვენსირებული (გაშიფრული) გენომი (Wu et al., 2017; Pickering et al., 2013). თაგვის მოდელებში კარცინოგენეზი ძალიან ჰგავს ადამიანის პირის ღრუს ეპითელურ კარცინოგენეზს. თაგვების მოდელის გამოყენება ონკოლოგიური პათოლოგიის კვლევაში მნიშვნელოვნად აფართოებს *in vivo* ექსპერიმენტების შესაძლებლობებს და მნიშვნელოვან როლს ასრულებს პსკ-ს განვითარების მექანიზმების შეფასებასა და აგრეთვე, ახალი სამკურნალო საშუალებების ტესტირებაში. ტრანსგენური ტექნოლოგიის შემუშავება და *in vivo* ვიზუალიზაციის ტექნოლოგიების შექმნა საშუალებას იძლევა თაგვის მოდელებმა პსკ-ის პროგრესირების უფრო და უფრო ზუსტი სიმულაცია მოახდინონ. თაგვების სხვადასხვა სახეობების სიმრავლე, როგორცაა: იმუნოდეფიციტური, გენეტიკურად მოდიფიცირებული თაგვები, ახალ შესაძლებლობებს იძლევა პირის ღრუს კიბოს მოდელების შესაქმნელად. ზემოჩამოთვლილი მიზეზების გამო პსკ-ს თაგვის მოდელებმა მიიპყრო ონკოლოგიური კვლევის სფეროში მომუშავე უამრავი მეცნიერის ყურადღება (Iglesias-Bartolome et al., 2013; Szaniszló et al., 2014).

თაგვების თიმუსის დისგენეზის მუტაციის აღმოჩენამ შესაძლებელი გახადა ექსპერიმენტული თაგვების ახალი ხაზის დამკვიდრება. ათიმურ უბეწვო თაგვებში განხორციელებულია მუტაცია ტრანსკრიპციის ფაქტორსა და Foxn1 გენში და ადგილი აქვს თიმუსის განუვითარებლობას (Rossa et al., 2019; Szadvari et al., 2016). ასეთი თაგვის ფენოტიპური მახასიათებლებია თმის დეფექტური ზრდა და უფრო დიდი სიცოცხლის ხანგრძლივობა ეუთიმური თაგვებთან შედარებით. ამ თაგვებს თავიანთი გარეგნობის გამო შიშველ თაგვებს უწოდებენ. შიშველ თაგვებს არ აქვთ მომწიფებული T-

უჯრედები და არ შეუძლიათ იმ გადანერგილი ქსოვილის გამოძევება, რომელიც გამოიყენება კიბოს განვითარებისთვის. ეს საშუალებას გვაძლევს გამოვიყენოთ ასეთი ტიპის თავგები კიბოს კვლევაში (Albanesi et al., 2013). სხვადასხვა იმუნოდეფიციტური თავგების მოდელების მახასიათებლები აღწერილია ცხრილში #5.

| <i>თავგის მოდელები</i> | <i>იმუნური თავისებურებები</i> |
|-------------------------------------|---|
| <i>უბეწვო ათიმური</i> | NK უჯრედების მაღალი აქტივობა, არ არის T-უჯრედები, B-უჯრედები, PMN უჯრედები, მაკროფაგები/მონოციტები, დენტრიტული უჯრედები ფუნქციონირებს. შეიძლება ჰქონდეთ გაზრდილი აქტივობა. დაზიანებული ლიმფური კვანძები და მეორეული ლიმფური სტრუქტურები |
| <i>SCID</i> | NK უჯრედების აქტივობა ვარირებს, არ არის T-უჯრედები, B-უჯრედები, PMN უჯრედები, მაკროფაგები/მონოციტები, დენტრიტული უჯრედები. განუვითარებელი/მცირედ განუვითარებული ლიმფური კვანძები. |
| <i>NOD-SCID</i> | აერთიანებს SCID თავგების თვისებებს კომბინაციაში კომპლიმენტის სისტემის აქტივაციის დეფექტთან, ასევე მაკროფაგებისა და NK უჯრედების დეფექტებთან. გამოიყენება ჰუმანიზებულ მოდელებში. |
| <i>NOG/NSG</i> | აერთიანებს NOD-SCID ცხოველების თვისებებსა და Il2rg გენის ინაქტივაციის ეფექტებს. გამოიყენება ჰუმანიზებულ მოდელებში. |
| <i>X-SCID Il2rg მუტანტი</i> | T და B უჯრედების შემცირებული რაოდენობა და დაქვეითებული ფუნქცია. განუვითარებელი/მცირედ განუვითარებული პერიფერიული ლიმფური კვანძები. |

ცხრილი #5: სხვადასხვა იმუნოდეფიციტური მოდელები თავგებში და მათი იმუნური მახასიათებლები

ამრიგად, შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ მღრღნელების იმუნოდეფიციტური მოდელები საშუალებას იძლევა მოხდეს ურთიერთქმედების შეფასება თანდაყოლილ იმუნურ უჯრედებსა და კიბოს უჯრედებს შორის. ამასთან, მათი დეფექტი უჯრედულ და ჰუმორულ იმუნიტეტში უნდა იქნას გათვალისწინებული სიმსივნური

იმუნოლოგიის შესახებ წარმოებულ კვლევებში (Shinohara et al., 2017).

ტრანსპლანტირებული თაგვის მოდელის შესაქმნელად სიმსივნური უჯრედები ან სიმსივნური ქსოვილები კულტივირდება და შემდგომ ხდება მათი გადანერგვა თაგვის ორგანიზმში. ამიტომ, ეს მოდელი შეიძლება შეფასდეს როგორც „ცხოველთა კულტურა“. ადამიანის ავთვისებიანი სიმსივნის თაგვში პირველი ტრანსპლანტაცია განხორციელდა 70-იან წლებში და მას შემდეგ ეს მოდელი ფართოდ გამოიყენება კიბოს კვლევაში. თაგვის ქსენოგრაფტულ მოდელში ერთი სახეობის სიმსივნური ქსოვილის ან უჯრედული ხაზის გადანერგვა ხდება იმუნოდეფიციტურ თაგვებში. ქსენოგრაფტის მოდელების კლასიფიკაცია შეიძლება გაკეთდეს გრაფტის წყაროს, ან სიმსივნის წარმოქმნის ადგილის მიხედვით. გრაფტის წყაროდან გამომდინარე, ქსენოგრაფტის თაგვის მოდელები შეიძლება დაიყოს უჯრედებიდან მიღებულ ქსენოგრაფტებად (CDX) და პაციენტის ქსოვილებიდან მომდინარე ქსენოგრაფტებად (PDX). CDX ისათვის სიმსივნური უჯრედები მიღებულია *in vitro* კულტივირებული უჯრედებიდან, ხოლო PDX-ისათვის კი - პაციენტისაგან მიღებული ახალი სიმსივნური ქსოვილებისგან. სიმსივნის უჯრედების ინექცია შეიძლება განხორციელდეს ექტოპიურ ან ორთოტოპურ ადგილებში. შესაბამისად, არსებობს ექტოპიური ან ორთოტოპული თაგვის მოდელები. ექტოპიური ორალური კიბოს თაგვის მოდელებში, სიმსივნური უჯრედები კანქვეშ შეჰყავთ თაგვების ბარძაყის ან ზურგის მიდამოში, ხოლო ორთოტოპული თაგვების მოდელში, სიმსივნური უჯრედები, როგორც წესი, ინოკულირდება ენაზე (Sun & Zhang, 2016). CDX მოდელებს აქვთ რამდენიმე უპირატესობა. სიმსივნური უჯრედების გარკვეული რაოდენობის თაგვებში ინოკულაციის შემდეგ სიმსივნის მოცულობა და ზრდის ტემპი თანმიმდევრულია, ინტერ-ინდივიდუალური განსხვავება დაბალია, ხოლო მასპინძლებზე ზემოქმედება იდენტურია. მაგრამ სიმსივნის მიკროგარემოში არის მიმდებარე ქსოვილების, აგრეთვე სისხლძარღვთა და ლიმფური მიმოქცევის ნაკლებობა (Rivera et al., 2018). PDX მოდელები უფრო ზუსტად ასახავს პაციენტებში სიმსივნის განვითარების გზებს. CDX მოდელებისგან განსხვავებით, PDX მოდელები ასახავს ორიგინალური სიმსივნის მახასიათებლებს და ასევე ინარჩუნებს სიმსივნურ მიკროგარემოს. ბოლოდროინდელმა კვლევამ აჩვენა ჰისტოპათოლოგიური და იმუნოჰისტოქიმიური ანალიზების შედეგების მაღალი მსგავსება PDX მოდელების

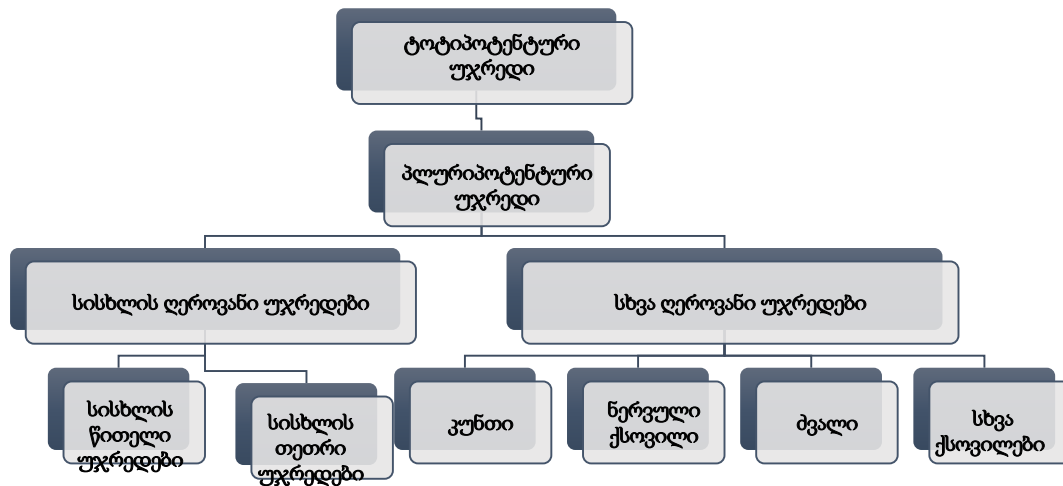
ქსოვილებსა და შესაბამის პაციენტებს შორის (Kerk et al., 2017). თუმცა, მეორეული გადატანის შემდეგ, სიმსივნის სტრომა სწრაფად გაქრა და ის ჩაანაცვლა თავის ინტერსტიციულმა უჯრედებმა.

თავის ქსენოგრაფიული მოდელების შემუშავება საშუალებას აძლევს მეცნიერებს გამოიკვლიონ ადამიანის სიმსივნური ქსოვილები და უჯრედული ხაზები *in vivo*. პრეკლინიკურ ეტაპზე ანტინეოპლასტიკური საშუალებების უმეტესობის ტესტირება ასევე თავის ქსენოგრაფიულ მოდელებში ხდება. PDX მოდელები უფრო მოწინავე პრეკლინიკურ ონკოლოგიურ მოდელებად ითვლება და CDX მოდელებთან შედარებით შეუძლიათ შექმნან უკეთესი გარემო წამლის ეფექტურობის შესამოწმებლად. PDX განიხილება, როგორც სიმსივნის მოდელი, რომელიც ყველაზე ახლოს არის ადამიანის სხეულთან და შეუძლია უზრუნველყოს ინდივიდუალური წამლის შერჩევა ცალკეულ პაციენტზე. პირის ღრუს კიბოს კვლევაში, თავის ქსენოგრაფიული მოდელები გამოიყენება წამლების სკრინინგისთვის და წამლების მიმართ რეზისტენტობის შესასწავლად (Rich et al., 2016; Fang et al., 2017;). მაგალითად, ცისპლატინის, 5-ფტორუორაცილისა და ცეტუქსიმაბის ზემოქმედება სიმსივნის ინვაზიასა და მეტასტაზირების პროცესზე სწორედ ამ ტიპის მოდელებში იქნა გამოკვლეული (Ozawa et al., 2017; Su et al., 2015). მაგრამ უნდა გავითვალისწინოთ, რომ თავის ქსენოგრაფიულ მოდელებში გამოყენებულია იმუნოდეფიციტური თავგები და მათ არ შეუძლიათ სიმსივნის იმუნური მიკროგარემოს სიმულირება. ამიტომ, ეს მოდელები არ არის მიზანშეწონილი სიმსივნესა და მასპინძლის იმუნიტეტს შორის ურთიერთქმედების შესამოწმებლად.

მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედები, მათი გამოყენება ექსპერიმენტულ კვლევებში

ღეროვანი უჯრედი ახალგაზრდა მოუმწიფებელ უჯრედს წარმოადგენს, რომელსაც თვითგანახლებისა და პარალელურად, დიფერენცირების უნარი აქვს, ანუ სხვაგვარად რომ ვთქვათ მას შეუძლია წარმოქმნას ქსოვილები, უჯრედები და ორგანოები (Daley, 2015). დიფერენცირების უნარისა და წარმოშობის მიხედვით

გამოყოფენ ღეროვანი უჯრედების რამდენიმე ტიპს. მათ განსხვავებული თვისებები და ფუნქციები გააჩნიათ. ღეროვანი უჯრედების ძირითადი სახეობების იერარქიული სქემა წარმოდგენილია სურათზე #3.



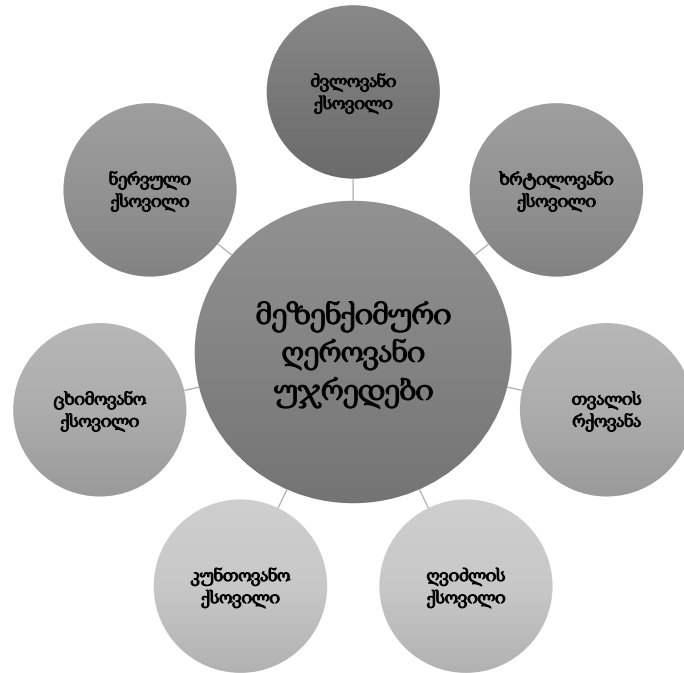
სურათი #3: ღეროვანი უჯრედების იერარქია

ტოტიპოტენტური უჯრედები ყველაზე ნაკლებად დიფერენცირებული უჯრედებია და გვხვდება ადრეულ განვითარების ეტაპებზე. განაყოფიერებული ოოციტი და პირველი ორი დაყოფით მიღებული უჯრედები ტოტიპოტენტური უჯრედებია, რადგან ისინი განიცდიან დიფერენციაციას როგორც ემბრიონულ, ისე ექსტრაემბრიონულ ქსოვილებად, რითაც ქმნიან ემბრიონსა და პლაცენტას. პლურიპოტენტურ ღეროვან უჯრედებს შეუძლიათ დიფერენცირება სამივე ძირითადი ჩანასახოვანი შრის - ექტოდერმის, ენდოდერმისა და მეზოდერმის უჯრედებად - საიდანაც ვითარდება ყველა ქსოვილი და ორგანო. პლურიპოტენტურ ღეროვანი უჯრედები, რომელთაც ასევე ემბრიონულ ღეროვან უჯრედებსაც უწოდებენ პირველად გამოყოფილი იქნა ბლასტოცისტის შიდა უჯრედული მასიდან (Clevers, 2015). მულტიპოტენტური ღეროვანი უჯრედები გვხვდება უმეტეს ქსოვილებში. მათ მხოლოდ ერთი ჩანასახოვანი შრის უჯრედებად შეუძლიათ დიფერენცირება. მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედები (მლუ) ყველაზე მეტად ცნობილი და შესწავლილი მულტიპოტენტური უჯრედებია (Mishra et al., 2017). მათი მიღება შესაძლებელია სხვადასხვა ქსოვილისგან, მათ შორის ძვლის ტვინისაგან,

ცხიმოვანი ქსოვილის, ძვლის, ვარტონის ჟელეს, ჭიპლარის სისხლისა და პერიფერიული სისხლისაგან. მღუ ახასიათებს ადჰეზია პეტრის ფინჯანზე და სხვდასხვა ზედაპირული მარკერების ექსპრესია. ამ უჯრედებს შეუძლიათ დიფერენცირება მეზოდერმიდან მიღებულ ქსოვილებად, როგორცაა ცხიმოვანი ქსოვილი, ძვალი, ხრტილი და კუნთი. ბოლო წლებში მეცნიერებმა შეძლეს მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების დიფერენცირება ნეირონულ ქსოვილად, რომელიც წარმოიქმნება ექტოდერმიდან. ეს არის ტრანსფერენცირების მაგალითი, ანუ როდესაც უჯრედი ერთი ჩანასახოვანი შრიდან - მეზოდერმიდან დიფერენცირდა მეორე ჩანასახოვანი შრის - ექტოდერმის უჯრედად (ნეირონულ ქსოვილად) (Munir et al., 2018). ოლიგოპოტენტურ ღეროვან უჯრედებს შეუძლიათ თვითგანახლება. მათ აქვს უნარი შექმნან ორი ან მეტი შტო კონკრეტული ქსოვილის შიგნით; მაგალითად, ღორის თვალის ზედაპირი, რქოვანის ჩათვლით, შეიცავს ოლიგოპოტენტურ ღეროვან უჯრედებს, რომლებიც წარმოქმნიან რქოვანის და კონიუნქტივის უჯრედების ინდივიდუალურ კოლონიებს. ჰემატოპოეტური ღეროვანი უჯრედები ოლიგოპოტენტური ღეროვანი უჯრედების ტიპური მაგალითია, რადგან მათ შეუძლიათ დიფერენცირება როგორც მიელოიდურ, ისე ლიმფოიდურ ხაზების უჯრედებად. ფილტვებში ჩატარებული კვლევების თანახმად, ბრონქო-ალვეოლარული სადინარის შეერთების უჯრედებმა შეიძლება დასაბამის მისცეს ბრონქიოლარულ ეპითელიუმსა და ალვეოლურ ეპითელიუმს. უნიპოტენტურ ღეროვან უჯრედებს შეუძლიათ თვითგანახლება და დიფერენცირება მხოლოდ ერთ სპეციფიკურ უჯრედულ ტიპად. მათ აქვთ უნარი შექმნან მხოლოდ ერთი შტოს უჯრედები. მაგალითად, კუნთის ღეროვანი უჯრედები, რომლებიც დასაბამს აძლევს მხოლოდ კუნთის მომწიფებულ უჯრედებს და არცერთ სხვა უჯრედს.

წარმომავლობის მიხედვით განასხვავებენ ემბრიონულ და ზრდასრულ ღეროვან უჯრედებს. ემბრიონული ღეროვანი უჯრედები (ელუ) პლურიპოტენტურია, მათი გამოყოფა ხდება ბლასტოციტის შიდა უჯრედული მასიდან, ემბრიონის პრე-იმპლანტაციურ ეტაპზე, განაყოფიერებიდან 5-6 დღის შემდეგ. მათ შეუძლიათ დიფერენცირება სამივე ძირითადი ჩანასახოვანი შრის ქსოვილებად, თუმცა ასევე შესაძლებელია მათი არადიფერენცირებულ მდგომარეობაში ხანგრძლივი პერიოდის განმავლობაში შენარჩუნება უჯრედული კულტურის სახით.

ზრდასრული ღეროვანი უჯრედები ზრდასრული ქსოვილისგან არის მიღებული. მათ შეზღუდული დიფერენცირების შესაძლებლობა აქვთ (სურათი #4). რამდენიმე კვლევამ აჩვენა, რომ ზრდასრულ კულტივირებულ ღეროვან უჯრედებს შეუძლია გამოყოფა სხვადასხვა მოლეკულური მედიატორები, რომელთაც გააჩნია იმუნომოდულაციური, ანგიოგენური და ქემოატრაქტანტული თვისებები.



სურათი #4: მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების დიფერენცირების შესაძლებლობები

ყველაზე ხშირად მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების მიღება ექსპერიმენტში და კლინიკურ კვლევაში ხდება ძვლის ტვინიდან. ძვლის ტვინის მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების გამოყოფა შესაძლებელია ადამიანისა და სხვადასხვა სახეობის ცხოველების ქსოვილებიდან. მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედებში აღინიშნება შემდეგი მარკერების ექსპრესია: CD44, Sca-1, CD90. ამავდროულად, ამ ტიპის უჯრედები ნეგატიურია ისეთი ჰემატოპოეტური ზედაპირული მარკერების მიმართ როგორცაა: CD34, CD116, CD45, CD31, (Maleki et al., 2014). მინიმალური კრიტერიუმები მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედებისათვის წარმოდგენილი ცხრილში #6

| მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედები | |
|-------------------------------|--|
| ექსპრესია (+) | არ უნდა აღინიშნებოდეს ექსპრესია (-) |
| CD105 | CD45 |
| CD73 | CD34 |
| CD90 | CD14 |
| | CD11b |
| | CD79a |
| | CD19 |
| | HLA-DR; |

ცხრილი #6: მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების მინიმალური კრიტერიუმები

მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების როლი სიმსივნის მიკროგარემოში

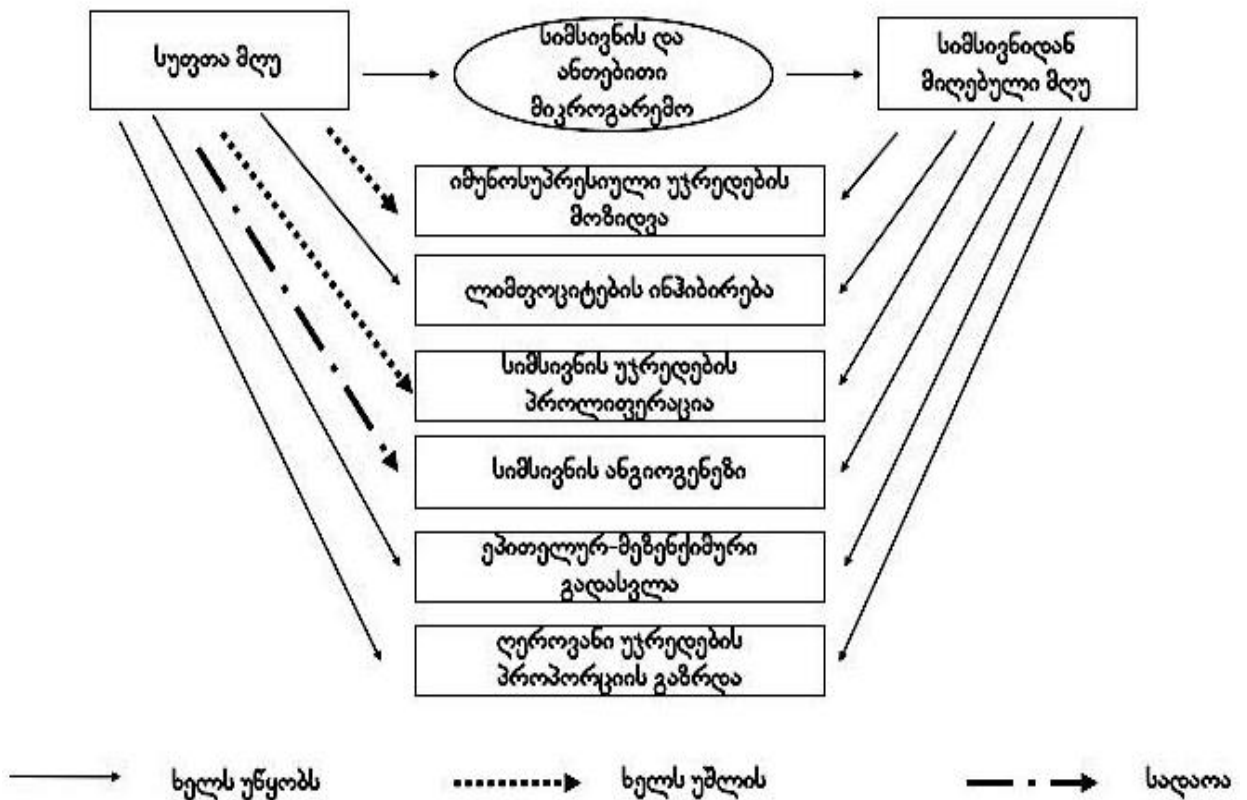
მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედები პირველად რამდენიმე ათეული წლის წინ იქნა გამოყენებული ონკოლოგიურ მედიცინაში. მოგვიანებით ცხოველებში ჩატარებულმა ექსპერიმენტებმა გამოავლინა მლუ-ს ტუმოროტროპული მიგრაციისა და დაზიანებულ ქსოვილებში ჩართვის უნარი. ამ შედეგებმა განაპირობა დამატებითი კვლევების აუცილებლობა და აჩვენა სიმსივნეების მკურნალობის პროცესში მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების გამოყენების შესაძლო პოტენციალი (Chulpanova et al., 2018; Berger et al., 2016; Guan et al., 2017; Rhee et al., 2015). წლების მანძილზე ღეროვანი უჯრედები ონკოლოგიურ პაციენტებში გამოიყენებოდა ქიმიო და რადიოთერაპიის შედეგად დაზიანებული იმუნური და სისხლმზადი სისტემის აღდგენისათვის. თანამედროვე კვლევებმა აჩვენა, რომ ორგანიზმში შეყვანილ ღეროვან უჯრედებს აქვთ უნარი დაგროვდნენ პირველადი და მეტასტაზური სიმსივნის ზრდის არეში და გამოამყდვენ ისეთი ეფექტები, როგორცაა სიმსივნის ზრდის ინჰიბირება, ზემოქმედება სიმსივნურ ქსოვილში ანგიოგენეზსა და მეტასტაზირების პროცესებზე (Zheng et al., 2018; Zong et al., 2018; Sagar et al., 2007). თუმცა ღეროვანი უჯრედების სიმსივნეზე ზემოქმედების კონკრეტული მექანიზმები

ჯერ კიდევ ბოლომდე არაა ნათლად დადგენილი და დამატებითი კვლევების წარმოებას საჭიროებს.

2011 წელს გამოქვეყნებული კვლევის შედეგების მიხედვით, პირდაპირ სიმსივნის მიკროგარემოში შეყვანილ ღეროვან უჯრედებს შეუძლიათ გამოყოფნა სიმსივნის საწინააღმდეგო აგენტები, რომლებიც ზემოქმედებენ მეზობელ უჯრედებზე (Sun et al., 2011). სხვა კვლევის მიხედვით, მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედები ახდენენ პირდაპირი ან არაპირდაპირი გზით სიმსივნური უჯრედების პროლიფერაციის, დიფერენციაციის, იმუნური ტოლერანტობის, ანგიოგენეზის და მეტასტაზირების რეგულირებას, ურთიერთქმედებენ მრავალ სხვადასხვა ციტოკინთან და ზრდის ფაქტორებთან (Mohammadi Najafabadi et al., 2018; Avnet et al., 2017; Honoki et al., 2011). გრენობლის უნივერსიტეტში გამოკვლეულ იქნა მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ზემოქმედება უკვე ჩამოყალიბებულ კანქვეშა და ფილტვის მეტასტაზებზე თავგებში. ორივე შემთხვევაში მლუ-ს ინექცია ამცირებდა უჯრედების დაყოფას და შესაბამისად, სიმსივნის ზრდის სისწრაფეს (Kéramidas et al., 2013). მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედები პირველად აღმოაჩინეს ძვლის ტვინში. ისინი ასრულებენ დამხმარე როლს ჰემატოპოეზის დროს (Xu et al., 2018; Wang et al., 2012). ქრომოსომული ან ფუნქციური პათოლოგიები მეზენქიმურ ღეროვან უჯრედებში შეიძლება არსებობდეს სხვადასხვა ავთვისებიანი ჰემატოლოგიური დაავადებების დროს, როგორცაა: მიელოდისპლაზიური სინდრომები, ლიმფოციტური ლეიკემია, მწვავე მიელოიდური ლეიკემია და ქრონიკული მიელოიდური ლეიკემია (Fracchiolla et al., 2017; Zhao et al., 2012; Pontikoglou et al., 2013). მლუ-ს დეფექტებმა შეიძლება გამოიწვიოს ჰემატოპოეზის დარღვევები. მეცნიერები ვარაუდობენ, რომ მლუ-ებში შესაძლოა გამოვლინდეს ფუნქციური დარღვევები სიმსივნეების დროსაც (Senthebane et al., 2017; Ren et al., 2012). ამასთან, მლუ-ების როლი ამ კონტექსტში უფრო და უფრო საინტერესო ხდება მკვლევარებისათვის.

ადრეულმა კვლევებმა წინააღმდეგობრივი შედეგები აჩვენა სიმსივნეების პათოგენეზში მლუ-ების როლის შესახებ. ზოგიერთი კვლევის შედეგის მიხედვით გამოითქვა ვარაუდი, რომ მლუ-ს შეუძლია შეაჩეროს სიმსივნის ზრდა და ხელი შეუწყოს სიმსივნური უჯრედების აპოპტოზს (Zhu et al., 2015; Sun et al., 2016). სხვა გამოკვლევებით დადგინდა, რომ ისინი ხელს უწყობენ ეპითელურ – მეზენქიმურ

გადასვლას (EMT) სიმსივნის მიმდინარეობის დროს (Kabashima-Niibe et al., 2013; Luo et al., 2014; Nishimura et al., 2012). მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების მემბრანებზე ექსპრესირებულია სხვადასხვა ზრდის ფაქტორებისა და ანთებითი ციტოკინების რეცეპტორები. გარდა ამისა, მეზენქიმურ ღეროვან უჯრედებს ახასიათებს პლასტიურობა. კერძოდ, სხვადასხვა მიკრო გარემოში ან სხვადასხვა ინდუქციურ პირობებში, მათ შეუძლიათ განიცადონ დიფერენცირება სხვადასხვა ტიპისა და ფუნქციების უჯრედებად, რომლებიც სხვადასხვა როლს ასრულებენ სიმსივნის განვითარებაში (სურათი #5).



სურათი #5: სუფთა და სიმსივნიდან გამოყოფილი მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების განსხვავებული ზემოქმედება სიმსივნეზე.

სიმსივნის ანთებითი მიკროგარემოს ზემოქმედებით მლუ-ები მიემართებიან სიმსივნური ქსოვილებისაკენ ისე, რომ გვერდს უვლიან პერიტუმორულ ნორმალურ ქსოვილებს. მლუ-ს შეიძლება ჰქონდეს ტროპიზმი ანთების თითქმის ყველა ადგილისადმი, მათ შორის მიოკარდიუმის იშემიური ქსოვილების, კანის დაზიანებული რეგიონებისა და კუჭ-ნაწლავის ლორწოვანი გარსისაკენ

რადიოთერაპიის შემდეგ (Uchibori et al., 2013). სიმსივნეების ქსოვილებში კონცენტრირებულმა მლუ-ებმა შეიძლება გააგრძელოს არსებობა როგორც მეზენქიმურმა ღეროვანმა უჯრედმა. მრავალრიცხოვანმა გამოკვლევებმა დაადასტურა, რომ მლუ-ს იზოლირება შესაძლებელია სიმსივნური ქსოვილებისგან (T-MSCs) (Teo et al., 2012; Chaturvedi et al., 2013). ეს იზოლირებული უჯრედები მსგავსია ნორმალური ქსოვილებისგან წარმოქმნილი მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების (N-MSCs) მორფოლოგიის, ფენოტიპისა და მულტიპოტენციური დიფერენცირების შესაძლებლობებთან მიმართებაში. ამასთან, T-MSCs-ები და N-MSCs-ები მნიშვნელოვან ფუნქციურ განსხვავებებს ამჟღავნებენ (de Lourdes Mora-García et al., 2016; Senst et al., 2013; Kidd et al. 2012).

სიმსივნურ ქსოვილებში, მლუ-ს შეუძლია დიფერენცირება მოახდინოს სიმსივნესთან დაკავშირებულ მიოფიბრობლასტებში (TAF; ასევე ცნობილია, როგორც კიბოსთან დაკავშირებული მიოფიბრობლასტები). TAF და მლუ-ს ანალოგიური ფენოტიპები აქვთ; გარდა ამისა, ორივე უჯრედის ტიპი ახდენს მსგავსი ციტოკინების სეკრეციას. ამასთან, მლუ-სთან შედარებით, TAF-ები მნიშვნელოვნად მეტი TGF- β , VEGF, IL-4 და IL-10 ის სეკრეციას ახორციელებს (Xu et al., 2018; Lecomte et al., 2012). უფრო მეტიც, TAF ახდენს სხვადასხვა სპეციფიკურ მარკერის ექსპრესიას, როგორცაა α -გლუვი კუნთის აქტინი (α -SMA), PDGF რეცეპტორ- β (PDGFR- β), დესმინი, ფიბრობლასტის სპეციფიკური ცილა (FSP) და ფიბრობლასტის აქტივაციის ცილა (FAP) (Gottschling et al., 2013).

სიმსივნის ქსოვილები შეიცავს დიდი რაოდენობით სხვადასხვა ანგიოგენურ ფაქტორებს, როგორცაა მაგალითად VEGF. *In vitro* კვლევებით დადგინდა, რომ VEGF ინდუქციამ შეიძლება გამოიწვიოს მლუ-ების დიფერენცირება სისხლძარღვთა ენდოთელურ უჯრედებად და შექმნას სამგანზომილებიანი სისხლძარღვთა სტრუქტურები (Ho et al., 201; Huang et al., 2013). ამასთან, იბადება კითხვა, შეუძლია თუ არა სიმსივნეებს მლუ-ს სისხლძარღვთა ენდოთელური უჯრედებად დიფერენცირება *in vivo*. სარძევე ჯირკვლის კიბოს და მსხვილი ნაწლავის კიბოს თავის მოდელებში, მლუ-ებმა ხელი შეუწყო სიმსივნის ანგიოგენეზს, მაგრამ არ განიცადა დიფერენცია CD31ად ან von Willebrand-ის ფაქტორ (vWF) –პოზიტიურ ენდოთელურ უჯრედებად. ცნობილია მხოლოდ, რომ მლუ-ს აქვს უფრო მეტი

დიფერენციაციის უნარი CD31 პოზიტიურ სისხლძარღვთა ენდოთელურ უჯრედებად, ვიდრე TAF- ებს (α -SMA- დადებითი უჯრედები) (Lin et al., 2013; Hernanda et al., 2013). მელანომის თავის მოდელში *in vivo* შესწავლამ დაადგინა, რომ TAF უჯრედები სიმსივნურ ქსოვილებში ძირითადად წარმოიქმნა ძვლის ტვინის მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედებისაგან, ხოლო სიმსივნურ ქსოვილებში სისხლძარღვთა ენდოთელური უჯრედები მეტწილად მომდინარეობდა ირგვლივ მდებარე ცხიმოვანი ქსოვილებიდან (Suzuki et al., 2011). ამრიგად, მას შემდეგ, რაც ცირკულაციაში მყოფი ძვლის ტვინის მღუ-ები და ცხიმოვანი ქსოვილისაგან წარმოქმნილი მღ უჯრედები თავს მოიყრიან სიმსივნეში, შეუძლიათ განიცადონ დიფერენციაცია სხვადასხვა გზით.

სიმსივნეები იწვევს ანთებას, ხოლო ანთებით სიმსივნურ მიკროგარემოს მიჰყავს მღუ მიმოქცევიდან და მიმდებარე ქსოვილებიდან სიმსივნურ ქსოვილებში. ამასთან, მღუ-ების პლასტიურობის გათვალისწინებით, გააქტიურებული სასიგნალო გზების ცვლილებამ შესაძლოა მოახდინოს ამ უჯრედების ტრანსფორმაცია ისეთ ფენოტიპებად, რომლებიც ხელს შეუშლის სიმსივნის ზრდას და განვითარებას. არა მხოლოდ სიმსივნეების, მღუ-ებისა და ანთებითი სიმსივნის მიკრო გარემოზე ურთიერთქმედების, არამედ ამ ურთიერთქმედებების შეწყვეტის მეთოდების შესწავლა, სავარაუდოდ, კიბოს ახალი თერაპიის მიზნებს წარმოადგენს (Sun et al 2014).

მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ორგანიზმში ადმინისტრირების გზები

მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ტრანსპლანტაციისა და შემდგომი თერაპიული ეფექტურობის ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი ასპექტია ღეროვანი უჯრედების ორგანიზმში ადმინისტრირების გზა. ოპტიმალური მეთოდი უნდა უზრუნველყოფდეს მაქსიმალურ თერაპიულ ეფექტს და მინიმალური გვერდითი მოვლენების განვითარებას. მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ტრანსპლანტაციის ყველაზე ფართოდ გამოყენებული მეთოდებია: ინტრავენური ინფუზია და პირდაპირ ქსოვილებში ინექცია (Langrzyk A., 2018).

მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედები ყველაზე ხშირად ორგანიზმში შეჰყავთ ინტრავენური ტრანსპლანტაციის მეთოდით. ამ გზით ორგანიზმში მოხვედრილი ღეროვანი უჯრედების გადანაწილება ძირითადად, ხდება ფილტვებში, ელენთაში, ღვიძლში, ძვლის ტვინში, თიმუსში, თირკმელში, კანსა და სიმსივნეებში. თავებზე ჩატარებული კვლევის საშუალებით ერთმანეთს შეადარეს კუდის ვენასა და კარის ვენაში ინექციის შედეგად ღეროვანი უჯრედების დისტრიბუცია და ქსოვილებში ჩართვის ხარისხი (Casiraghi, F. et al. 2008). კუდის ვენაში ინექციიდან 24 საათის შემდეგ უჯრედების მეტი რაოდენობა იქნა აღმოჩენილი ლიმფოიდურ ქსოვილში, ელენთასა და ლიმფურ კვანძებში, კარის ვენაში ინექციასთან შედარებით. კარის ვენაში ინექციას კი უკეთესი შედეგი ჰქონდა ღეროვანი უჯრედების ღვიძლში ჩართულობის კუთხით. ფილტვებში კარის ვენიდან შეყვანის შემდეგ, თითქმის არ დადგინდა ღეროვანი უჯრედების მიგრაცია (Liao X., 2008). სხვადასხვა ავტორები განსხვავებულ მონაცემებს გვაწვდიან ორგანიზმში ინტრავენური გზით შეყვანილი ღეროვანი უჯრედების სიცოცხლის ხანგრძლივობისა და სამიზნე ქსოვილებში მოგვიანებით აღმოჩენილი მათი რაოდენობის შესახებ. ინტრავენური ინექციიდან 4 კვირის შემდეგ თავის ფილტვებში აღმოჩენილ იქნა შეყვანილი ღეროვანი უჯრედების მხოლოდ 0,01%. მონიშნული ღეროვანი უჯრედების ლუმინესცენტური ანალიზის შედეგად დადგინდა სიგნალის ინტენსივობის კლება 60%-ით ინექციიდან 24 საათში (Tögel, F., 2008). საკითხი, მსგავსია თუ არა ორგანიზმში სისტემურად და ლოკალურად შეყვანილი ღეროვანი უჯრედების ზემოქმედება და ენიჭება თუ არა უპირატესობა მათი შეყვანის რომელიმე გზას კონკრეტული შედეგის მისაღებად, დამატებით კვლევებს საჭიროებს.

კვლევის მეთოდოლოგია, მეთოდიკა, მეთოდები

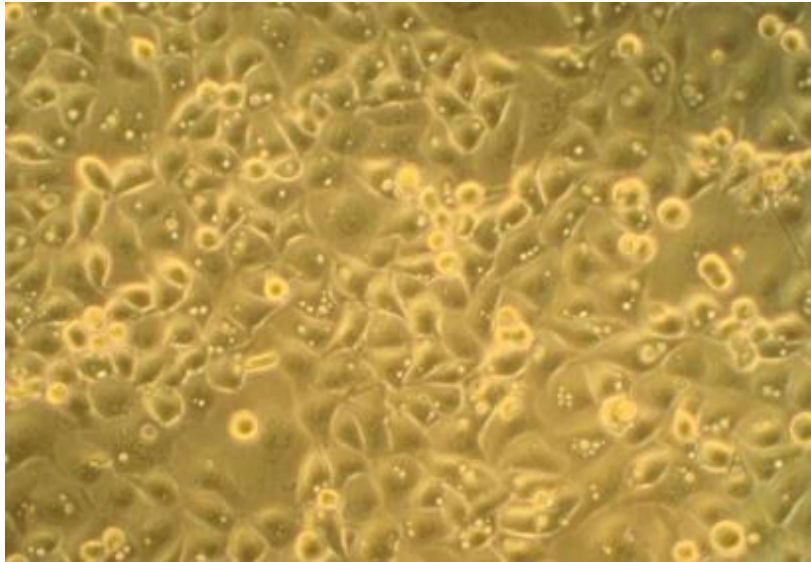
პირის ღრუს კიბოს *in vivo* ექსპერიმენტული მოდელი

იმისათვის, რომ შეგვესწავლა პირის ღრუს კიბოს მახასიათებლები სხვადასხვა ფაქტორების ზემოქმედების ქვეშ, მიზნად დავისახეთ სტანდარტიზირებული ონკოლოგიური მოდელის შექმნა. იმის გათვალისწინებით, რომ პირის ღრუს ავთვისებიანი სიმსივნეების 90%-ს წარმოადგენს სქუამოზური უჯრედოვანი კიბო, ჩვენ შევეცადეთ ლაბორატორიულ თავგებში შეგვექმნა სწორედ პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს მოდელი. ონკოლოგიური მოდელის შესაქმნელად გამოვიყენეთ Nu/Nu ხაზის ათიმური (თიმუსის გარეშე) თავგები (Nu/Nu Nude Mouse, Charles River, Wilmington, USA). ამ ხაზის თავგებს არ აქვთ თიმუსი, არ ხდება მათი T-უჯრედების თიმუსდამოკიდებული მომწიფება, რაც იწვევს იმუნური სისტემის მოქმედების ნაწილობრივ შეზღუდვას. ასევე ამ ხაზის ცხოველებს არ აქვთ ბეწვი და ხშირად მოიხსენიებენ როგორც “შიშველ” უბეწვო თავგებს. ასეთი იმუნოდეფიციტური ცხოველები განსაკუთრებით მისაღებია ქსენოგრაფტული ონკოლოგიური მოდელების შესაქმნელად (სურათი #6).



სურათი #6: Nu/Nu — ხაზის „შიშველი“ (უბეწვო) ლაბორატორიული თავგი, (Nu/Nu Nude Mouse, Charles River, Wilmington, USA)

In vivo ონკოლოგიური მოდელის შესაქმნელად გამოყენებულ იქნა ადამიანის პირის ღრუს სქუამოზური (ბრტყელეპითელური) კიბოს (პსკ) უჯრედები, რომელთა კულტივაცია ჩატარდა სტანდარტული მეთოდით და იმპლანტირებული იქნა ცხოველის პირის ღრუში (სურათი #7).



სურათი #7: პირის ღრის სქუამოზური კიბოს უჯრედების მიკროსკოპიული სურათი

პსკ უჯრედების კულტივაცია მოხდა DMEM საკვებ ნიადაგში, რომელიც შეიცავდა ფეტალური ხარის შრატს (10%) და პენიცილინ/სტრეპტომიცინს (0,5/0,5%), სტანდარტული უჯრედის საინკუბაციო გარემოში (37°C ტემპერატურა, 5% CO²). საკვები ნიადაგის გამოცვლა ხდებოდა 3-4 დღეში ერთხელ. ტრიპსინიზაციის შედეგად, ადჰეზიური უჯრედები მოცილებულ იქნა საკულტივაციო ფინჯნის ფსკერიდან და სუსპენზიის ტრიპსინისგან განსათავისუფლებლად მოვახდინეთ ცენტრიფუგირება (1000 ბრუნი/წთ.), 5 წუთის განმავლობაში. ამის შემდეგ დათვლილი იქნა უჯრედების რაოდენობა ინვერტირებული მიკროსკოპის მეშვეობით და ჩატარდა პსკ უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის შეფასება ტრიპან ბლუს საღებავის გამოყენებით. საბოლოოდ, მომზადდა სატრანსპლანტაციო სუსპენზია (1 მლნ. კიბოს უჯრედი / 50 მკლ PBS-ში).

სიმსივნური უჯრედების სუსპენზიის შეყვანა ლაბორატორიულ ცხოველებში (სულ 10 ცხოველი) განხორციელდა ინჰალაციური ზოგადი ანესთეზიის ქვეშ (პრეპარატი იზოფლურანი). გამოყენებული იქნა 26 G საინექციო ნემსი. პირის ღრუში უჯრედების ინექცია შესრულდა ლოყის არეში ლორწოვანი გარსის სუბმუკოზურ შრეში (სურათი #8).



სურათი #8: უჯრედული სუსპენზიის შეყვანა საინექციო ნემსით ექსპერიმენტულ ცხოველში

ექსპერიმენტი გაგრძელდა 3 კვირა. 21 დღის შემდეგ ცხოველები გამოყვანილი იქნა ექსპერიმენტიდან. შემდეგ მოხდა განვითარებული სიმსივნის ინსპექცია და წარმოქმნილი სიმსივნის ფოტოდოკუმენტირება. გაკვეთის შედეგად ჩატარდა წარმოქმნილი სიმსივნის ამოკვეთა ჯანსაღ ქსოვილებამდე, მოცულობაში გაზომვა და ნიმუშების შენახვა ფორმალდეჰიდში შემდგომი კვლევებისათვის. ასევე დათვალიერდა მეზობელი და მოშორებული ორგანოები მეტასტაზური წარმონაქმნების აღმოსაჩენად, რომელთა რეზექცია და ქსოვილოვანი პრეზერვაცია ასევე განხორციელდა შემდგომი კვლევებისათვის.

ფორმალდეჰიდში ფიქსაციის შემდეგ განხორციელდა ქსოვილების დეჰიდრაცია ალმავალი კონცენტრაციის ეთილის სპირტის ხსნარებით და მათი ჩაყალიბება პარაფინში. მიღებული ნიმუშები დაიჭრა მიკროტომით და განთავსდა სასაგნე მინებზე. მომდევნო ეტაპზე მოხდა ნიმუშების დეპარაფინიზაცია და რეჰიდრატაცია ქსილოლის ხსნარში და ალმავალი კონცენტრაციის ეთილის სპირტის ხსნარებში. ქსოვილთა ნიმუშები მორფოლოგიური კვლევისათვის შეღებილი იქნა ჰემატოქსილინ-ეოზინით. სხვადასხვა მოლეკულური მარკერების ექსპრესიის გამოსავლენად გამოყენებული იქნა იმუნოჰისტოქიმიური შეღების სტანდარტიზებული მეთოდი, სხვადასხვა ანტისხეულების გამოყენებით. თავის ანტი-Ki67 ანტისხეულები გამოყენებული იქნა პროლიფერაციული აქტივობის

დასადგენად, ბოცვის ანტი-CD31 - ვასკულარიზაციის შესასწავლად და ბოცვის ანტი-ადამიანის ეპითელური უჯრედის ანტიგენი კი - კიბოს უჯრედების ვიზუალიზაციისთვის. მეორეული ანტისხეულებით ინკუბაციის შემდეგ, ცილის სპეციფიკური გამოხატვა დაფიქსირდა პეროქსიდაზას რეაქციით. შედეგების რაოდენობრივი დაზუსტება (ქვანტიფიკაცია) განხორციელდა ImageJ პროგრამული უზრუნველყოფის გამოყენებით.

ექსპერიმენტების დიზაინი

ექსპერიმენტები განხორციელდა ჩვენ მიერ შემუშავებული პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს მოდელში. კვლევისათვის გამოყენებულ იქნა Nu/Nu ხაზის ათიმური (თიმუსის გარეშე) „შიშველი“ (უბეწვო) ლაბორატორიული თაგვები (Nu/Nu Nude Mouse, Charles River, Wilmington, USA). ექსპერიმენტული ცხოველები დაიყო ერთ საკონტროლო და 2 საკვლევ ჯგუფად. საკონტროლო და პირველ საკვლევ ჯგუფში განაწილდა 15-15 ცხოველი, ხოლო მეორე საკვლევ ჯგუფში — 30 ცხოველი და ჯგუფი გაიყო 2 ქვეჯგუფად (ცხრილი #7). თაგვის პირის ღრუში კიბოს უჯრედების იმპლანტაციიდან, წარმოქმნილი სიმსივნის ვიზუალიზაციისთანავე, ორივე საკვლევ ჯგუფის ცხოველებში (n= 45) განხორციელდა ქიმიოთერაპიული საშუალება ცისპლატინის (დოზით: 5 მგ/კგ, ყოველი 10 დღის განმავლობაში) ინტრაპერიტონული ინექცია (სულ 3 ინექცია). კიბოს უჯრედების იმპლანტაციიდან 3 კვირის შემდეგ მესამე საკვლევ ჯგუფში, პირველ ქვეჯგუფში (n= 15) განხორციელდა კულტივირებული მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ინფუზია თაგვის კუდის ვენაში (1×10^6 უჯრედი / 150 მკლ PBS სუსპენზია), ხოლო მეორე ქვეჯგუფში (n=15) სუსპენზიის ინექცია უშუალოდ სიმსივნურ უბანში (1×10^6 უჯრედი / 150 მკლ PBS სუსპენზია). საკონტროლო და პირველ საკვლევ ჯგუფში გამოყენებულ იქნა მხოლოდ PBS-ის ხსნარის ინექცია სიმსივნურ ქსოვილში, ღეროვანი უჯრედების გარეშე. ექსპერიმენტი გაგრძელდა 6 კვირა (ან ცხოველის დაღუპვამდე/მდგომარეობის უკიდურესად დამძიმებამდე), რის შემდეგაც ყველა ცხოველი გამოყვანილ იქნა ექსპერიმენტიდან. ჩატარდა ცხოველების სიცოცხლის ხანგრძლივობის სტატისტიკური ანალიზი. ცხოველთა ევთანაზიის შემდეგ, განხორციელდა

სიმსივნური ქსოვილების ამოკვეთა და მოცულობითი მასის გამოთვლა (სიგრძე X სიგანე X სიმაღლე).

მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების გამოყოფა და კულტივაცია

მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედები იზოლირებული იქნა C57BL / 6N ხაზის თაგვებისაგან (Charles River, USA) (n=30). გამოყენებული იქნა ბარძაყისა და წვივის ძვლების ძვლის ტვინი. აღნიშნული კომპაქტური ძვლები გათავისუფლდა მფარავი რბილი ქსოვილებისაგან, მოხდა ძვლების ეპიფიზების მოკვეთა და ძვლის ტვინის გამორეცხვა PBS ხსნარით. მიღებული სუსპენზიიდან თაგვის ძვლის ტვინის მონონუკლეარული უჯრედები იზოლირებული იქნა Ficoll- ის გრადიენტის საშუალებით. შემდეგ უჯრედები მოთავსდა მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების საკულტივაციო სპეციალურ ნიადაგზე (α -MEM) და განხორციელდა უჯრედების კულტივაცია სტანდარტულ პირობებში (37°C ტემპერატურაზე ტენიან გარემოში 5% CO_2 და 95% ჰაერის ატმოსფეროში). პირველი სამი დღის განმავლობაში არა-ადჰეზიური უჯრედების მოცილების მიზნით ყოველდღიურად იცვლებოდა კულტურის ნიადაგი. ექსპერიმენტებში გამოყენებული იქნა მხოლოდ ადჰეზიური უჯრედები, კულტივირებული არაუმეტეს ოთხი პასაჟისა. საბოლოოდ ტრასფუზიისათვის მომზადდა PBS ხსნარში მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების სუსპენზია (1 მლნ. უჯრედი / 150 მკლ PBS-ში), რომლის ინექცია განხორციელდა ლოკალურად სიმსივნის პარენქიმაში. საკონტროლო თაგვებში ჩატარდა მხოლოდ PBS-ის ინფუზია.

| კვლევის ეტაპი | გამოყენებული ცხოველთა სახეობები | გამოყენებული ცხოველთა რაოდენობა | განხორციელებული ინტერვენციები | |
|-------------------------|--|----------------------------------|---|--|
| პსკ მოდელის შექმნა | NU/NU Nude NU-Foxn1 ^{nu} ხაზის თაგვები | 10 | კიბოს უჯრედების იმპლანტაცია, პსკ <i>in vivo</i> მოდელის შექმნა | |
| მლუ იზოლაცია | C57BL/6N ხაზის თაგვები | 30 | ძვლის ტვინის მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების მისაღებად გამოყენებული დონორები | |
| ექსპერიმენტების სერიები | NU/NU Nude NU-Foxn1 ^{nu} ხაზის თაგვები | კონტროლი | 15 | კიბოს უჯრედების იმპლანტაცია |
| | | ცისპლანტინი | 15 | კიბოს უჯრედების იმპლანტაცია, ცისპლანტინის ინექციები |
| | | ცისპლანტინი + მლუ (ინტრავენურად) | 15 | კიბოს უჯრედების იმპლანტაცია, ცისპლანტინის ინექციები, მლუ ინექცია კუდის ვენიდან |
| | | ცისპლანტინი + მლუ (ლოკალურად) | 15 | კიბოს უჯრედების იმპლანტაცია, ცისპლანტინის ინექციები, მლუ ინექცია ლოკალურად |

ცხრილი # 7. ექსპერიმენტის სხვადასხვა ჯგუფები, საცდელ ცხოველთა სახეობები და რაოდენობა

გამდინარე ციტომეტრია (flow cytometry)

მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების მიერ სხვადასხვა მარკერების ექსპრესიის მიზნით ჩატარდა გამდინარე ციტომეტრია. გამოყენებული იქნა ისეთი მონოკლონური ანტისხეულები როგორცაა: ანტი CD45 FITC, CD34 FITC, CD90 PE, CD105 FITC, CD44 FITC.

In vitro სიცოცხლისუნარიანობის და ზრდის ექსპერიმენტი

იმისათვის, რო შეგვეფასებინა ქიმიოთერაპიული მედიკამენტ ცისპლატინის ზემოქმედება ჩვენ მიერ ექსპერიმენტში გამოყენებულ კიბოს უჯრედებზე, განხორციელდა *in vitro* სიცოცხლისუნარიანობის და ზრდის კვლევა. გამოყენებულ იქნა ცისპლატინის ორი სხვადასხვა დოზა (0,25 მკგ/მლ და 0,5 მკგ/მლ). უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობა განისაზღვრა ტრიპან ბლუს-შეღებვის მეთოდით, ხოლო უჯრედების ზრდა MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) ქიმიური აგენტის გამოყენებით.

In vivo ბიოლუმინესცენტური ანალიზი

თავდაპირველად ჩატარდა თავისი მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ინკუბაცია ადენოვირუსული ვექტორით, რომელიც ახდენდა ლუციფერაზას ექსპრესიას 5000 ვკ / უჯრედში. ინკუბაცია გაგრძელდა 6 საათის განმავლობაში, შრატისგან თავისუფალ გარემოში. შემდეგ კულტურას დაემატა შრატის შემცველი ნიადაგი. ვიზუალიზაციის დაწყებამდე ჩატარდა D-ლუციფერინის (Caliper Life Sciences, ქსენოგენი, ჰოპკინტონი, MA) ი.პ. ინექცია (3 მგ). D-ლუციფერინის ადმინისტრირებიდან 15 წუთის შემდეგ შესრულდა ბიოლუმინესცენციის დოკუმენტირება ულტრა დაბალი ხმაურის, მაღალი მგრძობელობის, გაგრილებად CCD კამერით. სიგნალის მონიტორინგი ჩატარდა Living Image® პროგრამული უზრუნველყოფის პროგრამით (Caliper Life Sciences, Xenogen). ლუმინესცენციის სურათები გადაღებულია დორსალური და ვენტრალური ხედებიდან 2 წუთიანი

ექსპოზიციით. ოპტიკური სიგნალის თავის სხეულში ლოკაციის გაადვილების მიზნით განხორციელდა მიღებული ფოტოგრაფიული და ფსევდოფერადი ლუმინესცენტური გამოსახულებების ზედდება. ოპტიკური სიგნალი გამოხატული იქნა როგორც ფოტონის ინტენსივობა, ფოტონების რაოდენობით ერთ წამში.

ქსოვილების მორფოლოგიური ანალიზი

ფორმალდეჰიდში ფიქსაციის შემდეგ განხორციელდა ქსოვილების დეჰიდრაცია ალმავალი კონცენტრაციის ეთილის სპირტის ხსნარებით და მათი ჩაყალიბება პარაფინში. მიღებული ნიმუშები დაიჭრა მიკროტომით და განთავსდა სასაგნე მინებზე. მომდევნო ეტაპზე მოხდა ნიმუშების დეპარაფინიზაცია და რეჰიდრატაცია ქსილოლის ხსნარში და ალმავალი კონცენტრაციის ეთილის სპირტის ხსნარებში. ქსოვილთა ნიმუშები მორფოლოგიური კვლევისათვის შეღებილი იქნა ჰემატოქსილინ-ეოზინით. სხვადასხვა მოლეკულური მარკერების ექსპრესიის გამოსავლენად გამოყენებული იქნა იმუნოჰისტოქიმიური შეღების სტანდარტიზებული მეთოდი, სხვადასხვა ანტისხეულების გამოყენებით. ანგიოგენეზის შესასწავლად გამოყენებული იქნა თავის *Anti-CD31* ანტისხეულები; ჰიპოქსიის შესასწავლად - ანტი-კარბო ანჰიდრაზა 9 ანტისხეულები; მეორეული ანტისხეულებით ინკუბაციის შემდეგ, ცილის სპეციფიკური გამოხატვა დაფიქსირდა პეროქსიდაზას რეაქციით. შედეგების რაოდენობრივი დაზუსტება (ქვანტიფიკაცია) განხორციელდა ImageJ პროგრამული უზრუნველყოფის გამოყენებით. ასევე ჩატარებულ იქნა იმუნოფლუორესცენტული გამოკვლევა ქსოვილში აპოპტოზური უჯრედების დასადგენად. აპოპტოზურ უჯრედებში დნმ-ის ფრაგმენტების 3'-OH დაბოლოებების ვიზუალიზაციისათვის გამოვიყენეთ ტერმინალ დეოქსინუკლეოტიდილ ტრანსფერაზა (TdT) გაშუალებული დეოქსირიდინ ტრიფოსფატ - ბიოტინის (dUTP) მარკირების მეთოდი (TUNEL-ის ექსპერიმენტი) აღწერილი პროტოკოლის მიხედვით (Gavrieli et al., 1992).

| ექსპერიმენტის ეტაპი | გამოყენებული პირველადი ანტისხეულები | მიზანი |
|---------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| პსკ მოდელის შექმნა | თაგვის <i>Anti-Ki67</i> | პროლიფერაციული აქტივობის დასადგენად |
| | <i>Anti-Human Epithelial Cell</i> | კიბოს უჯრედების ვიზუალიზაცია |
| | თაგვის <i>Anti-CD31</i> | ქსოვილებში ანგიოგენეზის შესწავლა |
| პსკ მკურნალობა | თაგვის <i>Anti-CD31</i> | ქსოვილებში ანგიოგენეზის შესწავლა |
| | <i>Anti-carbonic anhydrase 9</i> | ქსოვილის ჰიპოქსიის შესწავლა |

ცხრილი #8: ექსპერიმენტებში იმუნოჰისტოქიმიური კვლევისათვის გამოყენებული ანტიგენები

სტატისტიკური ანალიზი

მონაცემების სტატისტიკური დამუშავება მოიცავდა პარამეტრულ და არა პარამეტრულ სტატისტიკურ ანალიზს. ანალიზი ჩატარდა Student's t-test და Mann-Whitney ტესტების გამოყენებით. მონაცემების დამუშავება განხორციელდა კომპიუტერული უზრუნველყოფის პროგრამით GraphPad Prism™ 5 (GraphPad Software). ციფრობრივი მაჩვენებლები წარმოდგენილია როგორც საშუალო მაჩვენებელი და საშუალოს სტანდარტული გადახრა.

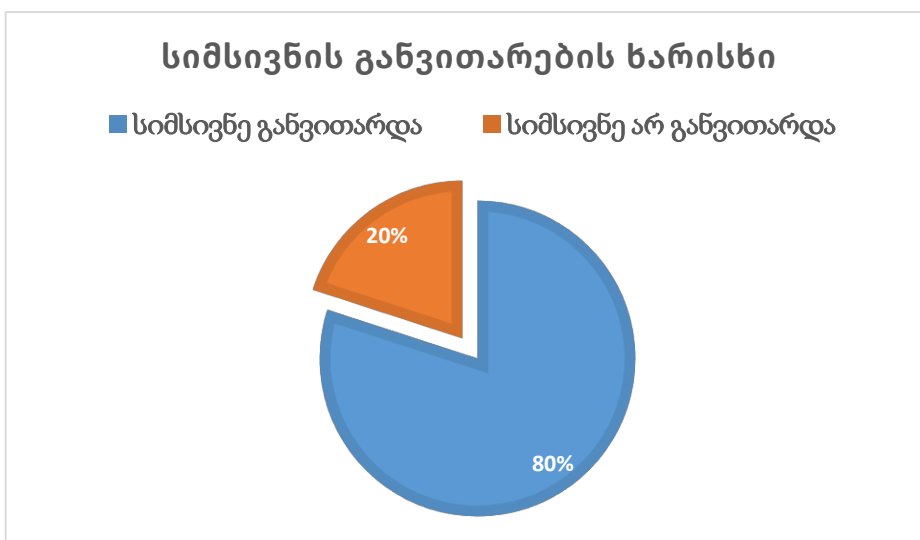
კვლევის ეთიკის საკითხები

ექსპერიმენტები ცხოველებზე ჩატარდა ცხოველთა დაცვის კომიტეტის მიერ დამტკიცებული პროტოკოლით, ლაბორატორიული ცხოველების მოპყრობის საერთაშორისო პრინციპების დაცვით (Workman et al. 2010). ქირურგიული მანიპულაციები ჩატარებულ იქნა ზოგადი გაუტკივარების პირობებში, ასეპტიკისა და ანტისეპტიკის ყველა წესის სრული დაცვით.

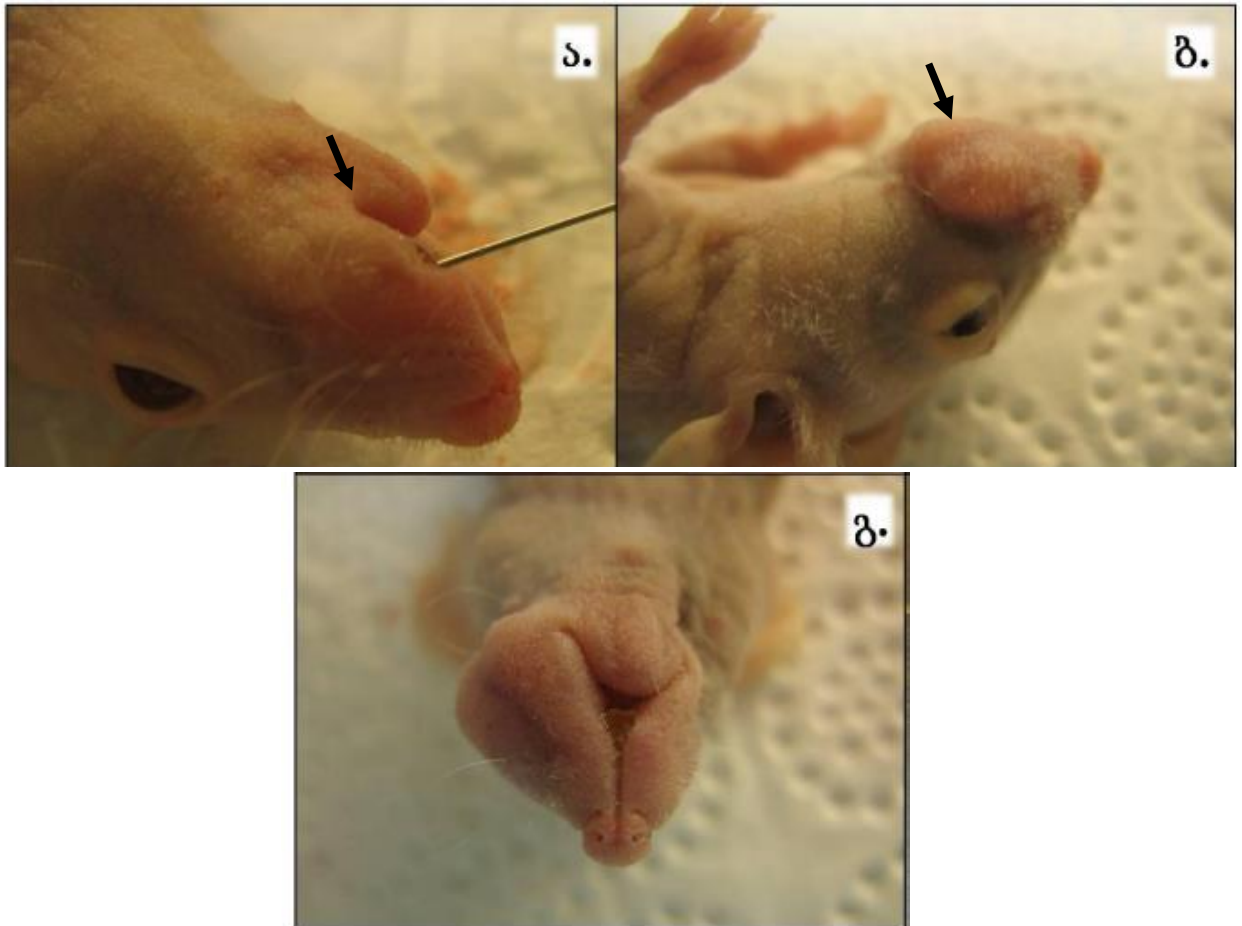
კვლევის შედეგები და მათი ანალიზი

პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს *in vivo* მოდელის შედეგები

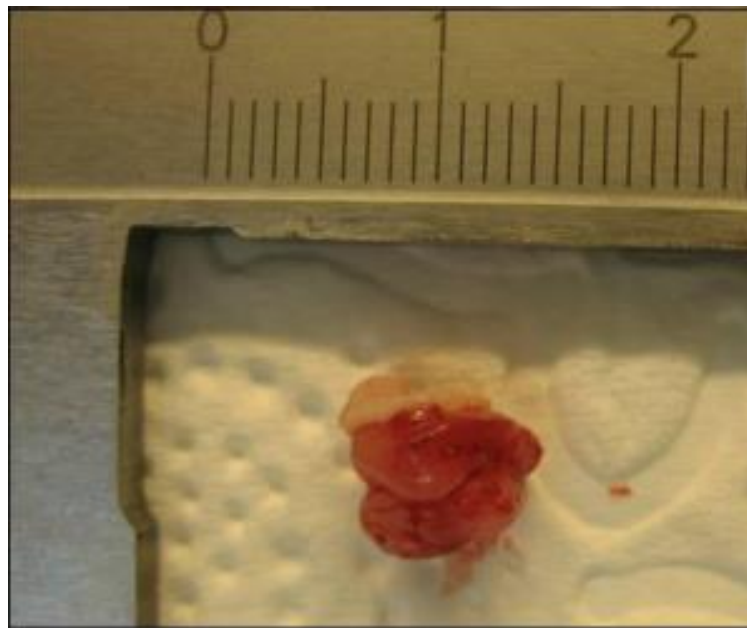
კიბოს უჯრედების პირის ღრუში ტრანსპლანტაციიდან საშუალოდ 2 კვირის შემდეგ, ცხოველებს ლოყის მიდამოში გამოუვლინდათ მცირე ზომის სიმსივნე, რომელმაც დინამიკაში განიცადა ზომაში მომატება (სურათი. #9 ა- ბ-გ). თავების ერთ ნაწილში სიმსივნის ზრდა მეტწილად დრუნჩის მიმართულებით განვითარდა, ხოლო მეორე ნაწილში კი სიმსივნის ზრდა ზედა ყბის მიმართულებით იყო გამოხატული. (სურათი #9 ბ-გ). უჯრედების ინექციიდან 3 კვირის შემდეგ ყველა ცხოველი გამოყვანილი იქნა ექსპერიმენტიდან. კვლევა თავდაპირველად ჩატარდა ათ ლაბორატორიულ თავგზე, რომელთაგან რვა ინდივიდს 3 კვირის შემდეგ ვიზუალურად აღენიშნა სიმსივნის არსებობა ლოყის მიდამოში (80%). დარჩენილი ორი თავის ორგანიზმში სიმსივნე არ განვითარდა, რაც გაკვეთის შედეგად დადასტურდა. სიმსივნის გავითარების სტატისტიკური ანალიზი წარმოდგენილია დიაგრამაზე #4.



დიაგრამა #4: სიმსივნის გავითარების სტატისტიკური ანალიზი (%).



სურათი #9: ექსპერიმენტულ ცხოველებში ლოყის მიდამოში გამოვლენილი სიმსივნის ზრდა დინამიკაში (შავი ისრებით ნაჩვენებია სიმსივნის ადგილმდებარეობა).



სურათი #10: ცხოველის ექსპერიმენტიდან გამოყვანის შემდეგ ამოკვეთილი სიმსივნის ქსოვილი

ცხოველთა ევთანაზიის შემდეგ ჩატარდა სიმსივნური ქსოვილების ამოკვეთა. მოხდა თითოეული ცხოველიდან ამოკვეთილი სიმსივნური ქსოვილების გაზომვა (სიგრძე, სიგანე, სიმაღლე) და მათი მოცულობითი მასის გამოთვლა (სიგრძე X სიგანე X სიმაღლე) ყველა ცხოველისთვის (სურათი #10).

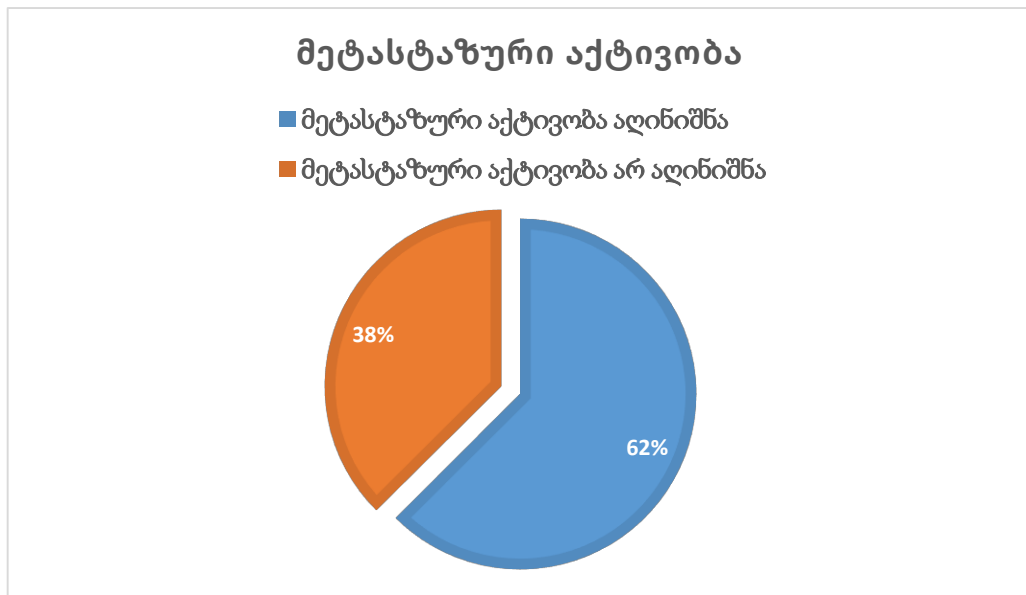
რვა სხვადასხვა მოცულობის სიმსივნის ზომები მოცემულია ცხრილ #9-ში. ამ მონაცემების საფუძველზე გამოანგარიშებულ იქნა შექმნილი ექსპერიმენტული ქსენოგრაფტული მოდელისათვის პირის ღრუს კიბოს საშუალო მოცულობა (146 მმ³), რომელსაც მან მიაღწია ექსპერიმენტის მიმდინარეობისას 3-კვირიანი ზრდის განმავლობაში (ცხრილი #9).

| N | სიგრძე (მმ) | სიგანე (მმ) | სიმაღლე (მმ) | მოცულობა (მმ ³) |
|----------------|----------------|----------------|-----------------|--------------------------------|
| 1 | 5 | 4,5 | 5,5 | 124 |
| 2 | 5,5 | 4 | 5 | 110 |
| 3 | 5 | 4,5 | 6 | 135 |
| 4 | 6 | 6 | 5 | 180 |
| 5 | 5,5 | 5,5 | 5 | 151 |
| 6 | 7 | 6 | 4 | 168 |
| 7 | 6,5 | 6 | 4 | 156 |
| 8 | 6 | 4,5 | 5,5 | 148 |
| საშუალო | | | | 146 |

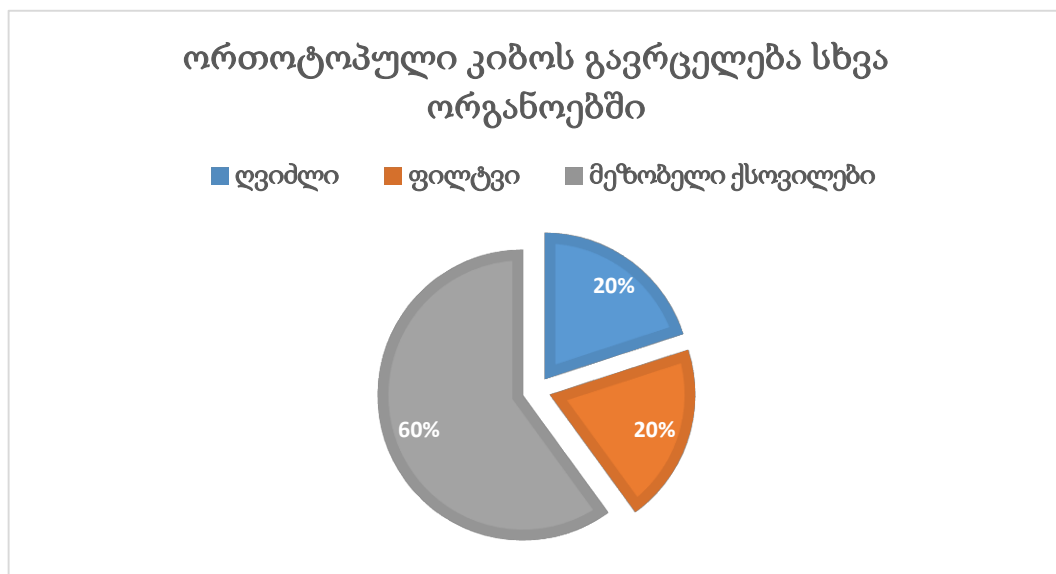
ცხრილი #9: ექსპერიმენტულ მოდელში მიღებული სიმსივნის ზომები 8 ექსპერიმენტული ცხოველისათვის. წარმოდგენილია აბსოლუტური ზომები მმ-ში, მოცულობა - მმ³ და საშუალო მაჩვენებელი.

ცხოველების გაკვეთის შემდეგ, ასევე შესწავლილ იქნა ორთოტოპიული კიბოს გავრცელება სხვა ორგანოებზე. რვა ინდივიდიდან ხუთს (დიაგრამა #5) აღენიშნა კიბოს უჯრედების მაკროსკოპული გავრცელება როგორც მეზობელ

ქსოვილებსა და ორგანოებში, ასევე ფილტვის (n=1) და ღვიძლის (n=1) ქსოვილებში (დიაგრამა #6).



დიაგრამა #5: კიბოს მეტასტაზური აქტივობა (%)



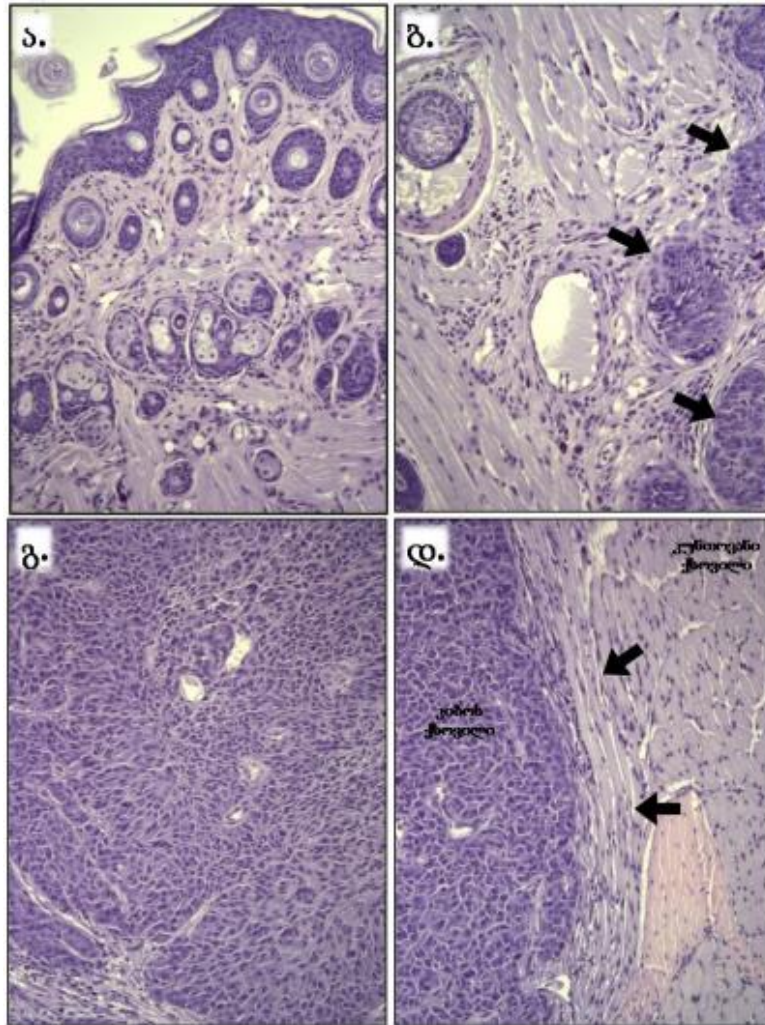
დიაგრამა #6: ორთოტოპული კიბოს გავრცელება სხვა ორგანოებზე

პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს მორფოლოგიური ანალიზი

პირის ღრუში განვითარებული სიმსივნის მორფოლოგიური სურათის შესწავლისათვის ნიმუშების შეღებვა განხორციელდა ჰემატოქსილინ-ეოზინის საშუალებით და ჩატარდა მიკროსკოპული ანალიზი. თავდაპირველად შედარებისათვის შევისწავლეთ ჯანმრთელი თავგის პირის ღრუს (სადაც პირის

ღრუს სქუამოზური კიბოს უჯრედების ნაცვლად შეყვანილ იქნა ფიზიოლოგიური ხსნარი) მორფოლოგიური აგებულება. კარგად გამოიკვეთა ქსოვილების შრეობრივი შენების თავისებურებანი და ლორწოვანის და ლორწქვეშა შრეების სტრუქტურული აგებულება. კარგად ვიზუალიზირდა ე.წ. „კერატინული ბუდეები“ და სქუამოზური უჯრედების კუნძულები (სურათი #11ა).

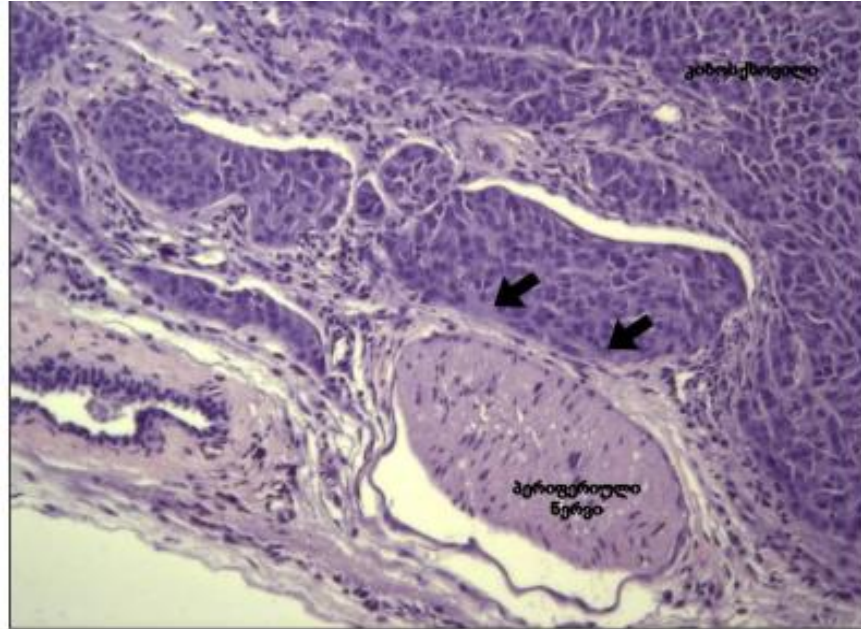
სიმსივნური ქსოვილის მორფოლოგიური გამოკვლევისას ნანახი იქნა პირის ღრუს ლორწოვან და ლორწქვეშა შრეებში განვითარებული ინვაზიური კიბო, რომელიც პერიფერიულად ვრცელდებოდა პირის ღრუს ქსოვილის სტრუქტურებში. (სურათი #11ბ. ისრებით ნაჩვენებია კიბოს უჯრედების ჩაზრდა ჯანმრთელ ქსოვილში). უშუალოდ სქუამოზური კიბოს ქსოვილი წარმოდგენილი იყო დაბალდიფერენცირებული, პოლიმორფული უჯრედებისგან შემდგარი ჰომოგენური სტრუქტურის პარენქიმით (სურათი #11 გ.), რომელიც ხასიათდებოდა „სარკომატოიდური“ ზრდის ფორმით და ღრმა ქსოვილების საზღვარზე წარმოქმნიდა შემაერთებელ ქსოვილოვან გარსს - „კაფსულას“. (სურათი #11დ ისრებით ნაჩვენებია შემაერთებელ ქსოვილოვანი კაფსულა). ასევე აღსანიშნავია ძლიერი ლოკალური ანთებითი ინფილტრაციები კიბოს ქსოვილის პერიფერიულ ნაწილებში.



სურათი #11: პირის ღრუს კიბოს მორფოლოგიური სურათი (ჰემატოქსილინ-ეოზინი. გადიდება: 20x) ა. თავისი ჯანმრთელი ლორწოვანი გარსი; ბ. ლორწოვან და ლორწოვან შრეებში განვითარებული ინვაზიური კიბო (ისრებით ნაჩვენებია კიბოს უჯრედების ჩაზრდა ჯანმრთელ ქსოვილში); გ. სარკომატოიდული კიბოს ქსოვილი; დ. ღრმა ქსოვილების საზღვარზე წარმოქმნილი კავსულა (ისრებით ნაჩვენებია შემაერთებელ ქსოვილოვანი კავსულა).

როგორც ცნობილია, პირის ღრუს ონკოლოგიური დაავადებების დროს კიბოს უჯრედები პერიფერიულ ნერვებში ინვაზიის თვისებით ხასიათდებიან, რაც ერთი მხრივ, გამოიხატება ძლიერი ტკივილის სინდრომით და მეორე მხრივ, სხვადასხვა ფუნქციური მოშლილობით. პერინერვული ინვაზია ავთვისებიანი უჯრედების გავრცელების მნიშვნელოვან და სპეციფიურ გზას წარმოადგენს. იგი ერთ-ერთი ფაქტორია სიმსივნის რეციდივისა რეზექციის შემდეგ. დღესდღეობით, გამოთქმულია სხვადასხვა ვარაუდი ინვაზიის განვითარების მექანიზმების შესახებ. თუმცა, მიუხედავად ამ მიმართულებით არსებული მრავალი კვლევისა, მოლეკულური მექანიზმები და ფაქტორები, რომლებიც ჩართულია პერინერვულ

ინვაზიაში, სადღეისოდ ცნობილი არ არის. საინტერესოა, რომ ზემოთ აღნიშნული სქუამოზური კიბოს ქსოვილის მორფოლოგიური შესწავლისას გამოვლინდა კიბოს უჯრედების პირდაპირი კონტაქტი და ინვაზია პირის ღრუს პერიფერიულ ნერვებში/პერინეურიუმში (სურათი #12).

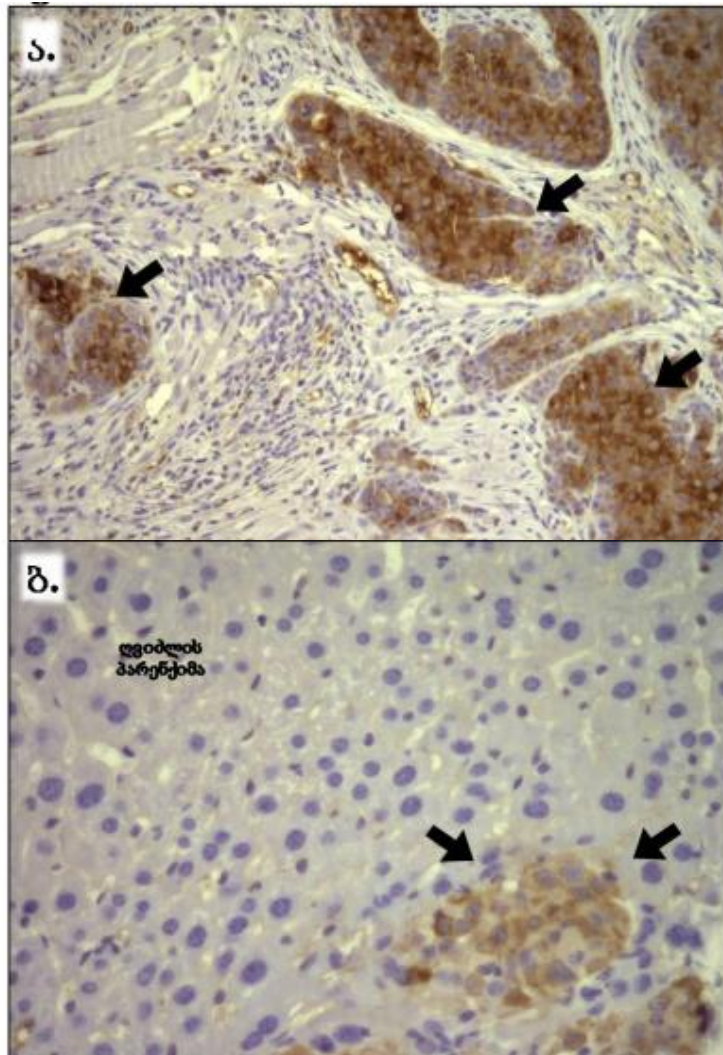


სურათი #12: კიბოს უჯრედების ინვაზია ნერვულ ქსოვილში (ჰემატოქსილ-ეოზინი. გადიდება: 20x.) ისრებით ნაჩვენებია კიბოს უჯრედების ინვაზია ნერვულ ქსოვილში.

ორთოტოპიული და მეტასტაზური კიბოს ვერიფიკაცია

იმისათვის, რომ გადაგვემოწმებინა მორფოლოგიური კვლევით მიღებული შედეგები, განვახორციელეთ პირის ღრუს ორთოტოპიული და მეტასტაზური (ღვიძლი) ქსოვილის იმუნოჰისტოქიმიური (იჰქ) ანალიზი, *Anti-Human Epithelial Cell* ანტისხეულების გამოყენებით. ამ ანტისხეულის შესაბამისი ანტიგენის ექსპრესია აღინიშნება მხოლოდ ადამიანის ეპითელურ უჯრედებში; რადგან ჩვენ მოვახდინეთ ადამიანის ეპითელური (კიბოს) უჯრედების ჩანერგვა თაგვის ორგანიზმში, აღნიშნული ანტისხეულები შესაძლებელია გამოყენებულ იქნას როგორც მარკერი ამ უჯრედების აღმოსაჩენად. ექსპერიმენტმა ნათლად აჩვენა, რომ ინვაზიური კიბოსა (სურათი

#13ა.) და მეტასტაზური ქსოვილის (სურათი #13 ბ.) წარმომავლობა ადამიანის უჯრედებს უკავშირდება.

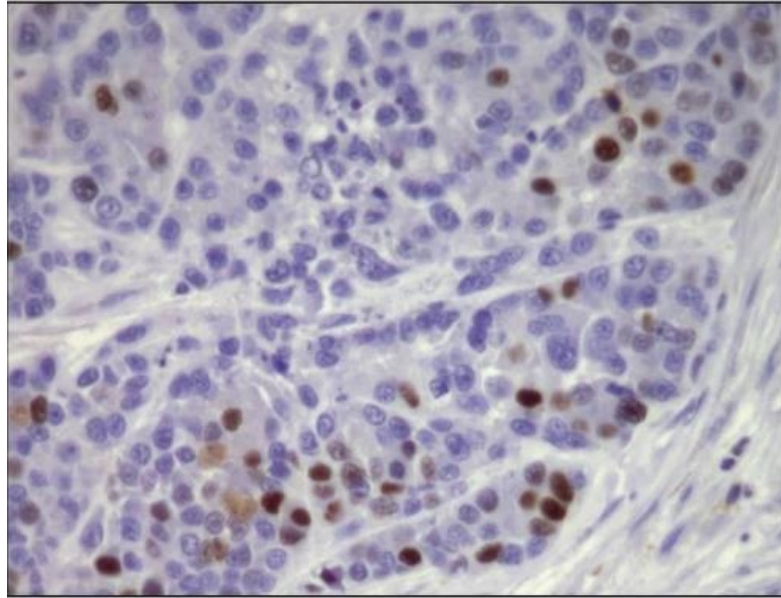


სურათი #13: იმუნოჰისტოქიმიის. Anti-Human Epithelial Cell ანტისხეული. (გადიდება: 10x – 20x) (ისრებით ნაჩვენებია ყავისფრად შეღებილი ადამიანის პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს უჯრედების განლაგება თავის პირის ღრუსა (ა.) და ღვიძლის (ბ.) ქსოვილში.

პირის ღრუს ორთოტოპიული კიბოს პროლიფერაციული აქტივობა

ავთვისებიანი სიმსივნის აგრესიულობის ერთ-ერთ მთავარ მახასიათებელს წარმოადგენს მისი უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობა, რაც პირდაპირპროპორციულად განსაზღვრავს სიმსივნის ზრდა-გავრცელებას. იმისათვის, რომ დაგვედგინა ჩვენ მიერ მოდელირებული პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს პროლიფერაციული აქტივობა, შევისწავლეთ Ki67-ის ექსპრესია აღნიშნული სიმსივნის ქსოვილში. აღნიშნულმა ექსპერიმენტმა აჩვენა

პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს ზომიერი პროლიფერაციული აქტივობა, რაც გამოიხატა მიტოზური უჯრედების ბირთვების ყავისფრად შეღებვით (სურათი #14).



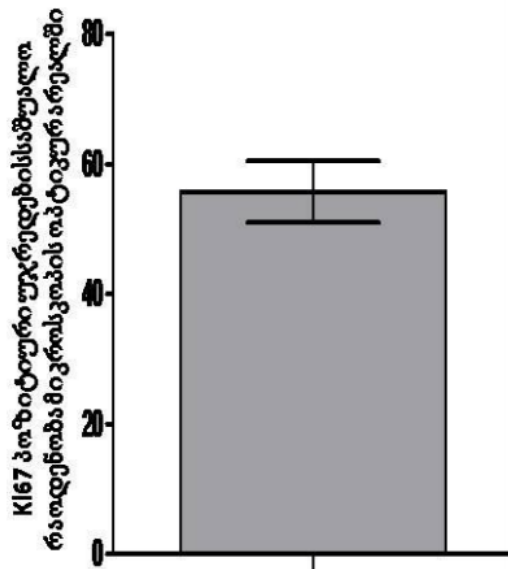
სურათი #14: იმუნოჰისტოქიმია. Anti-Ki67 ანტისხეული. (გადიდება: 20x) მიტოზური უჯრედების ბირთვების ყავისფრად შეღებვა.

პროლიფერაციული აქტივობის ხარისხის შესაფასებლად ჩატარდა იმუნოჰისტოქიმიური მონაცემების კვანტიფიკაცია. თითოეულ ჰისტოლოგიურ პრეპარატზე (სულ 8) მიკროსკოპის ობიექტივის ხედვის არეალში (200X-გადიდებით) დათვლილ იქნა შეღებილი უჯრედები ქსოვილის სამი სხვადასხვა შემთხვევითი ადგილიდან, რის შემდეგაც გამოანგარიშებულ იქნა თითოეულ ქსოვილში შეღებილი უჯრედების საშუალო რაოდენობა ობიექტივის ხედვის ერთ არეალში (ცხრილი #10)

| Ki67 პოზიტიური უჯრედების რაოდენობა მიკროსკოპის ოპტიკურ არეალში | | | | | | | | |
|--|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| N | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Ki 67+ | 85,00 | 42,00 | 55,00 | 61,00 | 45,00 | 53,00 | 57,00 | 48,00 |

ცხრილი #10: შეღებილი უჯრედების საშუალო რაოდენობა ობიექტივის ხედვის ერთ არეალში

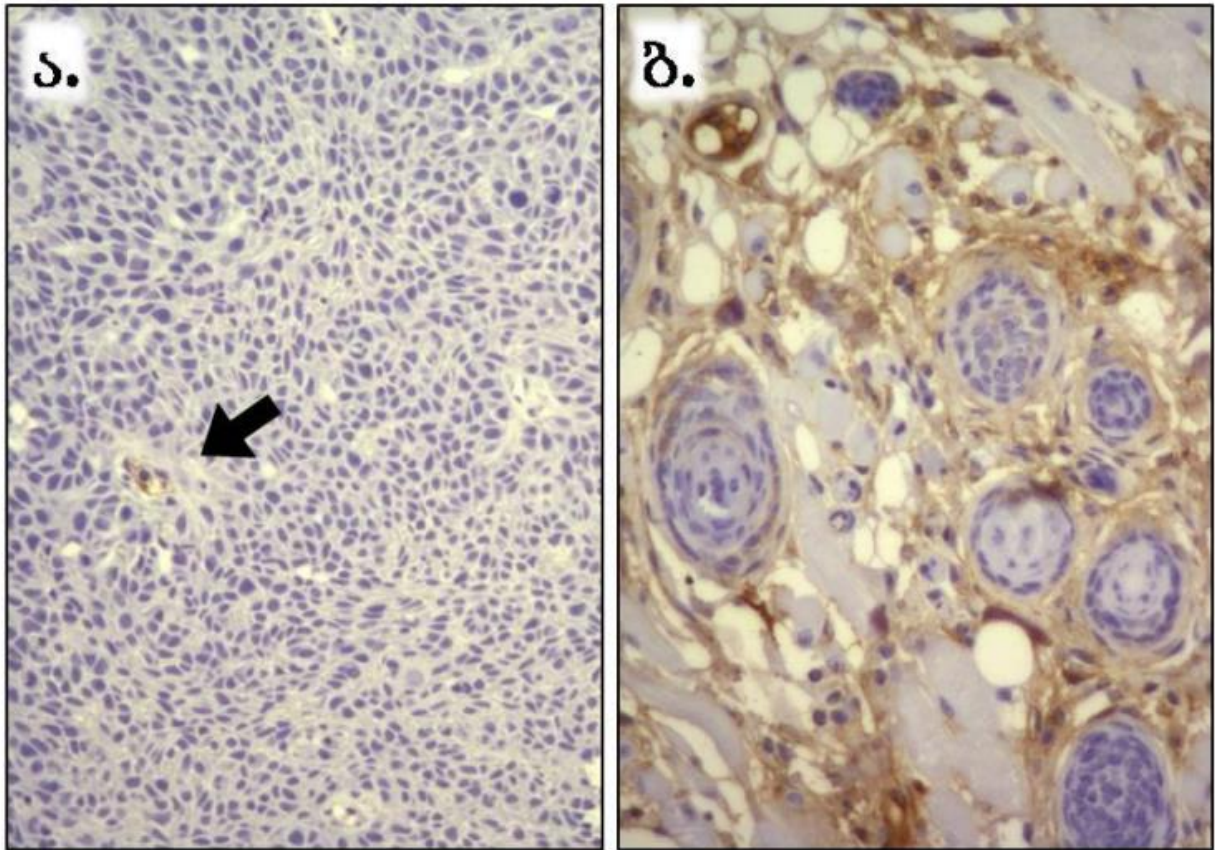
საბოლოოდ, გამოთვლით მივიღეთ ჩვენი ონკოლოგიური მოდელის ზოგადი პროლიფერაციული სტატუსი, რაც საშუალოდ შეადგენს $55,7 \pm 4,7$ პროლიფერაციულ უჯრედს ობიექტის ერთ ოპტიკურ არეალში (დიაგრამა #7)



დიაგრამა #7: ონკოლოგიური მოდელის ზოგადი პროლიფერაციული სტატუსი

პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს ვასკულარიზაცია

ნეოპლაზიური ქსოვილის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან პათოფიზიოლოგიურ მახასიათებელს წარმოადგენს კიბოს ქსოვილის სისხლძარღვოვანი ქსელის განვითარება. ნეოვასკულარიზაციის შესაფასებლად გამოვიყენეთ სიმსივნური ქსოვილის იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით შეღებვა, *Anti-CD 31* ანტისხეულების მეშვეობით. CD31 წარმოადგენს ენდოთელური უჯრედის მარკერს და შესაბამისად, მისი ექსპრესია აღინიშნება ყველა ტიპის სისხლძარღვებში. ამ კვლევამ აჩვენა CD31-ის სუსტი ექსპრესია უშუალოდ სიმსივნური ქსოვილის პარენქიმაში, რაც ჩვენ მიერ მოდელირებულ პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს ქსოვილში სისხლძარღვოვანი ქსელის სუსტ განვითარებაზე მიუთითებს (სურათი #15 ა). შედარებისთვის სურათ #15 ბ-ზე შეგვიძლია დავაფიქსიროთ თავგის პირის ღრუს ჯანმრთელი ლორწოვანის სისხლძარღვოვანი სტრუქტურა.



სურათი #15: იჰქ. ანტი - CD31 ანტისხეული. (გადიდება: 20x) (ისარი მიუთითებს ერთეულ სისხლძარღვზე).

მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ფენოტიპური ტესტირება

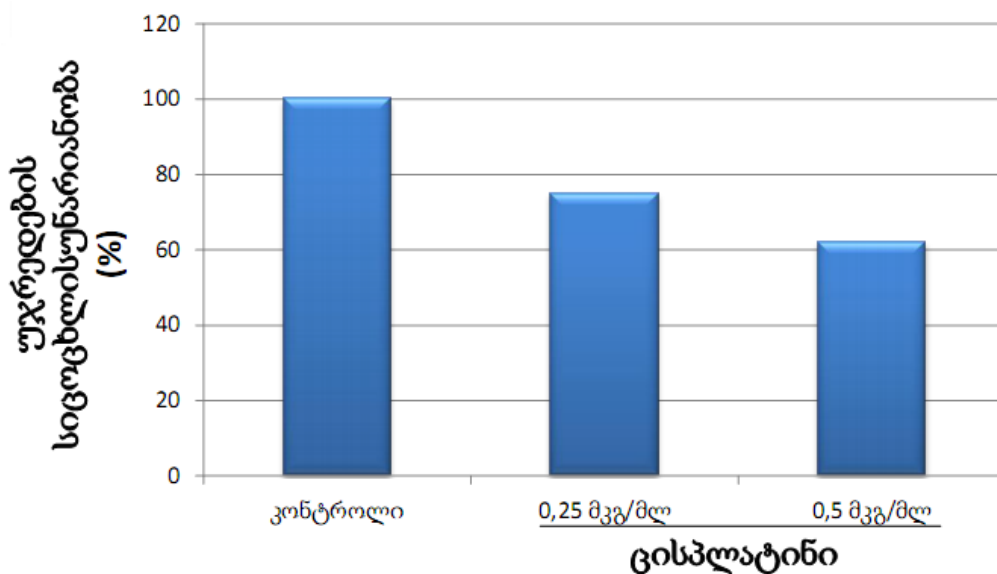
ტრანსპლანტაციამდე განხორციელდა C57BL/6N ხაზის თაგვებიდან მიღებული მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების კულტურის ფენოტიპური ანალიზი ღეროვანი უჯრედების რამდენიმე მნიშვნელოვანი მარკერის მიხედვით. გამდინარე ციტომეტრიის, უფრო ზუსტად კი FACS (Fluorescence-activated cell sorting) ანალიზის მეშვეობით ნაჩვენები იქნა რომ უჯრედების აბსოლუტური უმრავლესობა პოზიტიური იყო მეზენქიმური მარკერების მიმართ. აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ იმავე კულტურაში არ გამოვლენილა ჰემოტოპოეტური მარკერების ექსპრესია. უჯრედების ფენოტიპირების შედეგები წარმოდგენილია ცხრილში #11.

| მარკერი | CD 45 | CD 34 | CD 90 | CD 105 | CD 44 |
|----------|-------|-------|-------|--------|-------|
| ლეროვანი | - | - | + | + | + |
| უჯრედი | (0%) | (0%) | (97%) | (95%) | (95%) |

ცხრილი #11: უჯრედული კულტურის ფენოტიპირება სხვადასხვა მარკერების მიხედვით

ცისპლატინის *in vitro* ზემოქმედება პირის ღრუს კიბოს უჯრედებზე

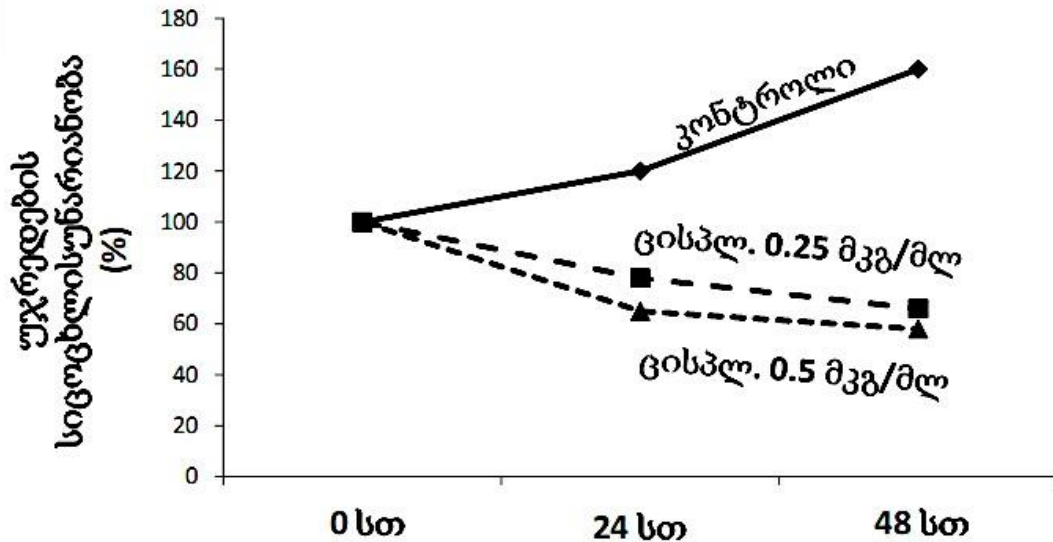
იმისათვის, რომ განვესაზღვრა ქიმიოთერაპიული საშუალება ცისპლატინის ეფექტურობა, ჩვენ მიერ გამოყენებული კიბოს უჯრედების მიმართ, ჩატარდა *in vitro* ექსპერიმენტები უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის და ზრდის დასადგენად. უჯრედების შედეგამ უჩვენა, რომ უჯრედების მხოლოდ 62% ($\pm 2,5\%$) იყო სიცოცხლისუნარიანი 0,5მკგ/მლ ცისპლატინის ზემოქმედებიდან 24 საათის შემდეგ. 0,25მკგ/მლ ცისპლატინის ინკუბაციიდან 24 საათის შემდეგ პირის ღრუს კიბოს უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობა განისაზღვრა 78,2 \pm 1,8%-ით (დიაგრამა #8) (ორივე შემთხვევაში $P < 0,05$).



დიაგრამა #8: უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის და ზრდის დიაგრამა

In vitro უჯრედების ზრდის კვლევა MTT-ექსპერიმენტის საშუალებით ჩატარდა. უჯრედების მიერ გამოიმუშავებული ფორმაზანის სოლუბილიზაცია განხორციელდა იზოპროპანოლის მეშვეობით. ოპტიკური ხვედრითი წილი

გაიზომა Elisa Reader-ის მეშვეობით. 0,25მკგ/მლ ცისპლატინის ზემოქმედების შედეგად კიბოს უჯრედების ზრდამ 24 საათის შემდეგ შეადგინა 80%, ხოლო 48 საათის შემდეგ 65% (სურათი 11ბ). 0,5 მკგ/მლ ცისპლატინის ზემოქმედების შედეგად კი - 68% (24 საათის შემდეგ) და 58% (48 საათის შემდეგ) (გრაფიკი #1) (P<0,05) .



გრაფიკი #1: უჯრედების ზრდისა და სიცოცხლისუნარიანობის მაჩვენებლები

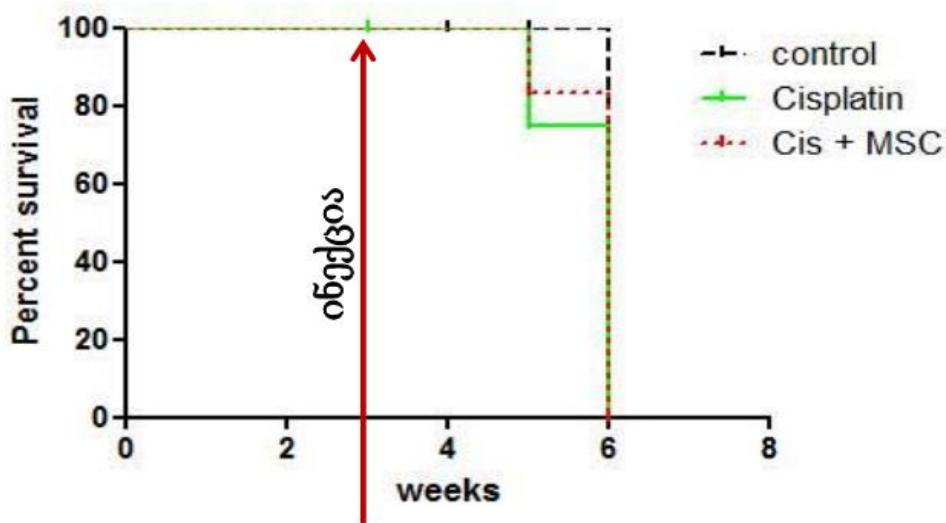
ექსპერიმენტულ ცხოველთა სიცოცხლის ხანგრძლივობის ანალიზი

საკონტროლო ჯგუფში თავების მხოლოდ 40%-ს აღენიშნათ 6 კვირიანი სიცოცხლის ხანგრძლივობა. 2 ცხოველის ფიზიკური მდგომარეობის გათვალისწინებით, მოხდა მათი ექსპერიმენტიდან უფრო ადრე გამოყვანა. ექსპერიმენტული ცხოველების იმ ჯგუფში, სადაც განხორციელდა ცისპლატინის ინექციები, ერთი თავი დაიღუპა ქიმიოთერაპიის დაწყებიდან მე-3 დღეს, ერთი კი მე-6 კვირას. ცხოველების 60%-მა იცოცხლა 6 კვირის განმავლობაში. განსხვავებული სურათი აღინიშნა ქიმიოთერაპიის პარალელურად მღუ-ს სიმსივნურ უბანში შეყვანილი თავების ჯგუფში. თხუთმეტივე თავის (100%) სიცოცხლის ხანგრძლივობა განისაზღვრა 6 კვირით. თავების სიცოცხლის ხანგრძლივობის მონაცემები სამივე ჯგუფისათვის წარმოდგენილია ცხრილში #12 .

| კვირა | კონტროლი | ცისპლატინი | ცის + მლუ |
|-------|----------|------------|-----------|
| 0 | 100% | 100% | 100% |
| 3 | ↓ | ↓ | ↓ |
| 4 | 60% | 80% | ↓ |
| 5 | 40% | 80% | 100% |
| 6 | 40% | 60% | 100% |

ცხრილი #12: ექსპერიმენტში მონაწილე ცხოველთა სიცოცხლის ხანგრძლივობა ჯგუფების მიხედვით.

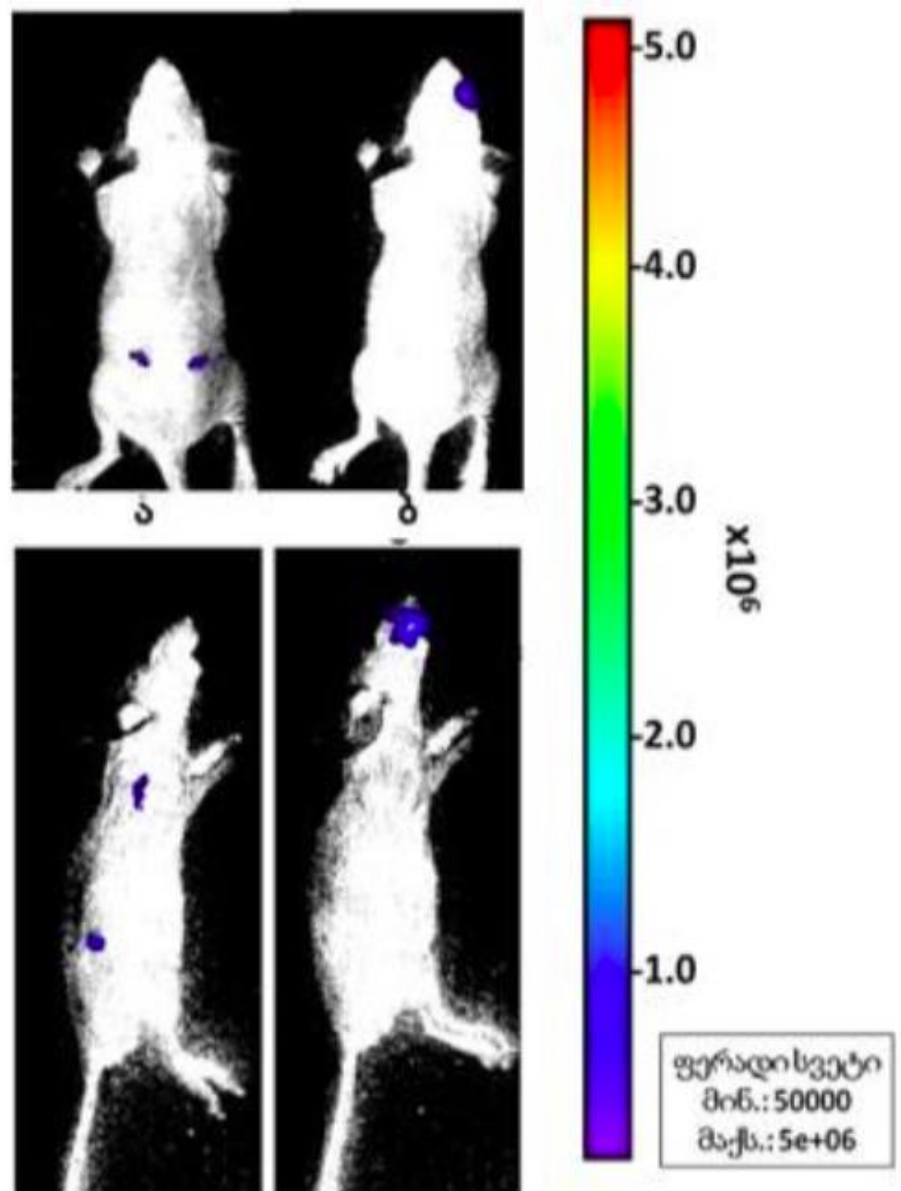
აღნიშნული მონაცემები სტატისტიკურად გაანალიზდა პროგრამა GraphPad Prizm 5-ის მეშვეობით, კაპლან-მაიერის მეთოდით. მიუხედავად იმისა, რომ შედეგები არ აღმოჩნდა სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი (შედარებით მცირე მონაცემების გამო), აშკარად გამოიკვეთა ტენდენცია, უკეთესი სიცოცხლის ხანგრძლივობისა იმ ცხოველებში, რომელთა სიმსივნურ ქსოვილშიც მოხდა მლუ-ს ინექცია (გრაფიკი #2).



გრაფიკი #2: ექსპერიმენტში მონაწილე ცხოველთა სიცოცხლის ხანგრძლივობის სტატისტიკური ანალიზი

ცხოველის ორგანიზმში ტრანსპლანტირებული ღეროვანი უჯრედების ლოკალიზაციის
ბიოლუმინესცენტური ანალიზი

სხვადასხვა გზებით თავის ორგანიზმში მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ტრანსპლანტაციის შემდეგ ინფუზირებული უჯრედების ბიოდისტრიბუციის დადგენის მიზნით ჩატარდა *in vivo* ბიოლუმინესცენტურ ანალიზი. პირის ღრუს კიბოს მქონე თაგვებში, კუდის ვენიდან ტრანსპლანტაციის შემთხვევაში ღეროვანი უჯრედების ლოკალიზაცია სიმსივნის მიდამოში არ გამოვლინდა. სუსტი ლუმინესცენტური სიგნალი აღინიშნა მხოლოდ თირკმელებისა და ფილტვების ლოკალიზაციის ადგილას. (სურათი#16ა)



სურათი #16: მონიშნული ღეროვანი უჯრედების ლოკალიზაციის *in vivo* ბიოლუმინესცენტური ანალიზი

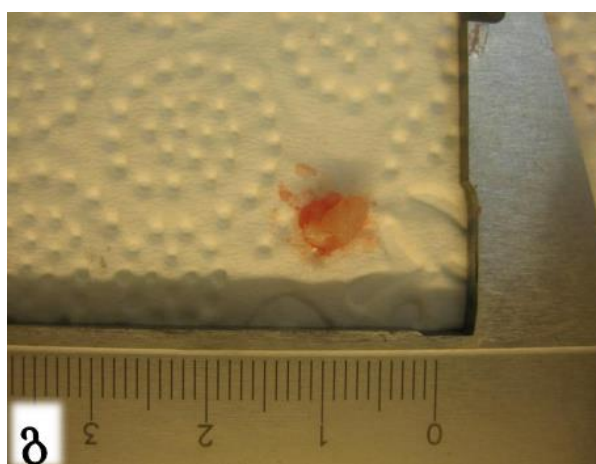
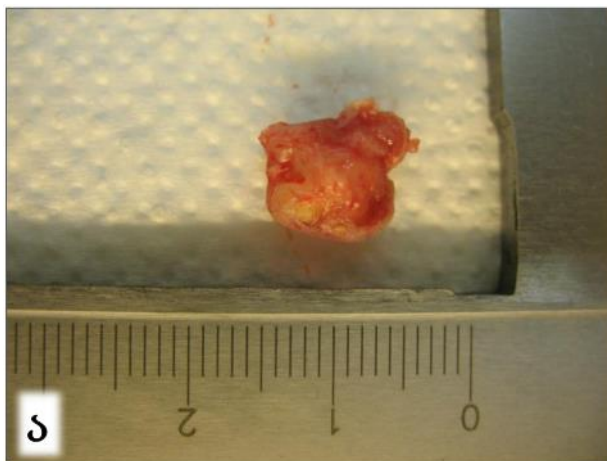
ადგილობრივად, სიმსივნური ქსოვილების მიდამოში ინექციის შემდეგ კი ღეროვანი უჯრედები მაღალი კონცენტრაციით ვიზუალიზირდა დაზიანების ადგილას (სურათი #16 ბ).

ბიოლუმინესცენტურის ანალიზის შედეგებით დადგინდა, რომ კუდის ვენიდან შეყვანილი ღეროვანი უჯრედების მიზიდვა და თავმოყრა არ აღინიშნა ჩვენი კვლევისათვის საინტერესო მიდამოში, არ მოხდა მათი ჩართვა სიმსივნურ ქსოვილში. აქედან გამომდინარე, გადავწყვიტეთ კვლევა გაგვეგრძელებინა იმ ჯგუფში, სადაც ღეროვანი უჯრედების ინექცია უშუალოდ სიმსივნურ ქსოვილებში განხორციელდა და ბიოლუმინესცენტური ანალიზით დადასტურდა მათი ლოკალიზაცია სიმსივნურ ქსოვილში.

კიბოს ქსოვილის ზრდა და გავრცელება ღეროვანი უჯრედების ტრანსპლანტაციის შემდეგ

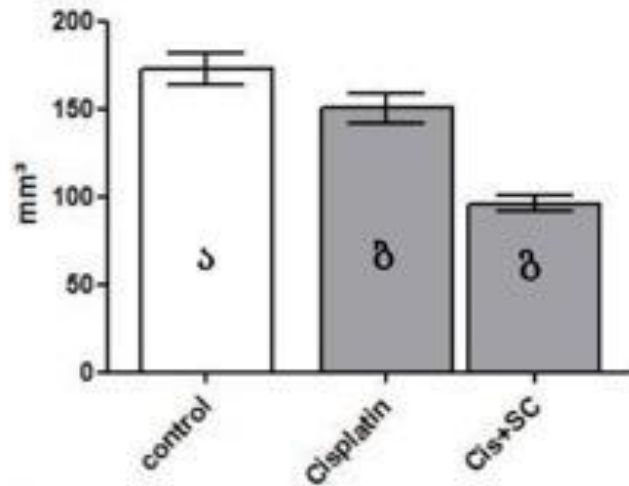
ცხოველებზე ექსპერიმენტული დაკვირვება გაგრძელდა 6 კვირა. ცხოველთა ექსპერიმენტიდან გამოყვანის შემდეგ, ჩატარდა სიმსივნური ქსოვილების ამოკვეთა და მათი გაზომვა. შეფასდა ამოკვეთილი ქსოვილების სიგრძე, სიგანე და სიმაღლე ყველა ჯგუფის ცხოველებისათვის; შემდეგ მოხდა ამ მონაცემების საფუძველზე სიმსივნის მოცულობითი მასის გამოთვლა (სიგრძე X სიგანე X სიმაღლე). გამოისახა თითოეულ ჯგუფში სიმსივნის საშუალო მოცულობა და ჩატარდა მათი სტატისტიკური ანალიზი. საკონტროლო ჯგუფის თავგებში ექსპერიმენტის ბოლოს სიმსივნის საშუალო მოცულობამ შეადგინა $172,7 \pm 9,03$ მმ³ (სურათი #17ა). მხოლოდ ცისპლატინით მკურნალობის ჯგუფში, ცისპლატინის ინექციის შედეგად სიმსივნის საშუალო მოცულობამ შეადგინა $149,5 \pm 12,25$ მმ³ (სურათი #17ბ), ხოლო იმ ჯგუფში, სადაც ჩავატარეთ კომბინირებული მკურნალობა ცისპლატინით და მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედებით, ქიმიოთერაპიის შემდეგ სიმსივნის ქსოვილში ტრანსპლანტირებული მღუ-ს შემდეგ კიბოს ქსოვილის

საშუალო მოცულობამ შეადგინა $98,9 \pm 7,65$ მმ³ (სურათი #17გ). აღნიშული მონაცემები სტატისტიკურად მნიშვნელოვანია.



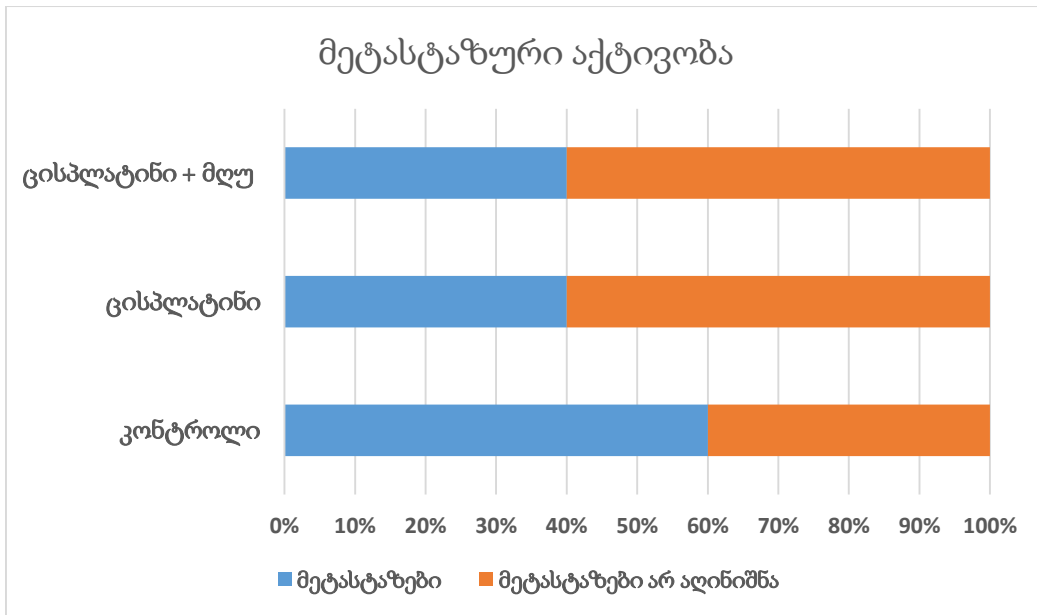
სურათი #17: სიმსივნური ქსოვილები ამოკვეთის შემდეგ. ვიზუალური დათვალიერების შედეგები.

ცისპლატინით ნამკურნალებ ჯგუფსა და PBS ინექციის (საკონტროლო) ჯგუფს შორის არ გამოვლინდა სხვაობა სიმსივნის ზრდის და ცხოველის სიცოცხლის ხანგრძლივობის მხრივ (მონაცემები არ არის ნაჩვენები). მონაცემთა სტატისტიკური დამუშავების შედეგები საშუალო მაჩვენებლის სახით წარმოდგენილია დიაგრამაზე #9



დიაგრამა #9: სიმსივნური ქსოვილების მოცულობების სტატისტიკური ანალიზი სხვადასხვა ჯგუფების მიხედვით

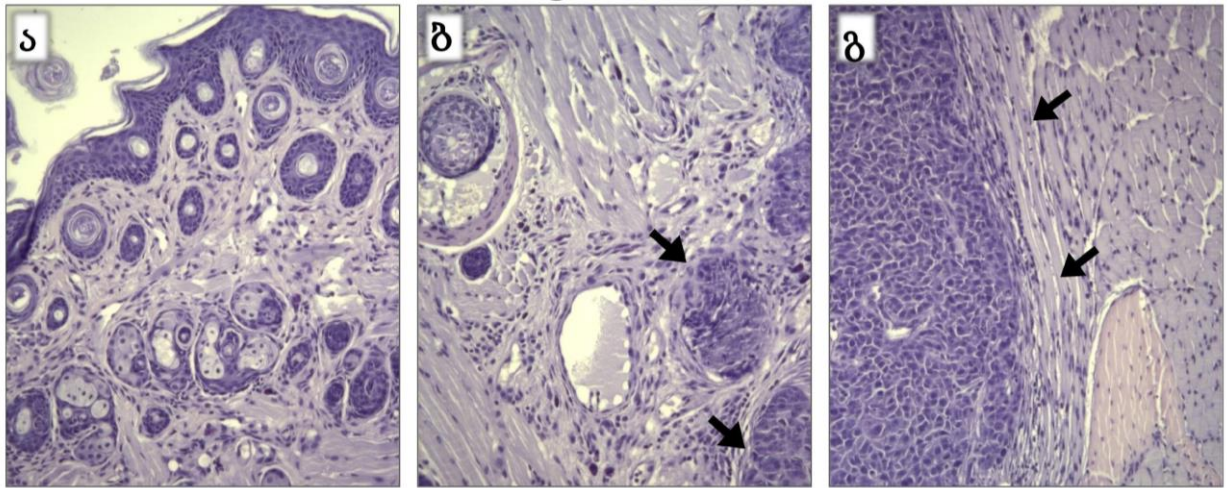
ცხოველების გაკვეთის შემდეგ, ასევე შესწავლილ იქნა ორთოტოპული კიბოს გავრცელება სხვა ორგანოებზე. საკონტროლო ჯგუფიდან ცხრა თავს აღენიშნა კიბოს მეტასტაზური განვითარება ახლო ან/და მოშორებულ ორგანოებზე (60%). ცისპლატინით ნამკურნალებ 6 ლაბორატორიულ ცხოველს დაუდგინდა მაკრომეტასტაზების არსებობა (40%). ხოლო ცისპლატინთან ერთად კიბოს ქსოვილში ინექცირებული მღუ-ს ჯგუფში, ასევე 6 ცხოველში აღინიშნა კიბოს გავრცელებული ზრდა (40%) (დიაგრამა #10).



დიაგრამა #10: მეტასტაზური აქტივობა ექსპერიმენტის სხვადასხვა ჯგუფებში (%)

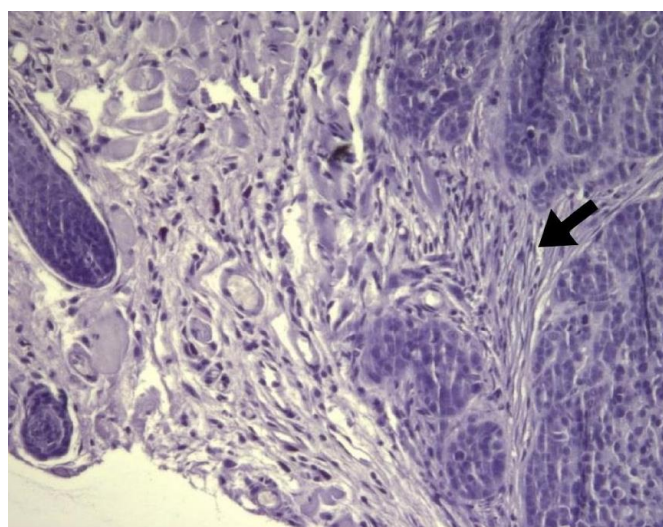
ქსოვილების მორფოლოგიური კვლევის შედეგები

სიმსივნური ქსოვილის მორფოლოგიური გამოკვლევისას ნანახი იქნა პირის ღრუს ლორწოვან და ლორწოსქვეშა შრეებში განვითარებული ინვაზიური კიბო, რომელიც პერიფერიულად ვრცელდებოდა პირის ღრუს ქსოვილის სტრუქტურებში (სურათი #18 ბ). უშუალოდ სქუამოზური კიბოს ქსოვილი წარმოდგენილი იყო დაბალ-დიფერენცირებული, პოლიმორფული უჯრედებისაგან შემდგარი ჰომოგენური სტრუქტურის პარენქიმით, რომელიც ხასიათდებოდა „სარკომატოიდური“ ზრდის ფორმით და ღრმა ქსოვილების საზღვარზე წარმოქმნიდა შემაერთებელ ქსოვილოვან გარსს - „კაფსულას“ (ნაჩვენებია შავი ისრებით) (სურათი #18გ). მეტი თვალსაჩინოებისათვის ქსოვილების მორფოლოგიური სურათის შედარება მოხდა თავისი ჯანმრთელი პირის ღრუს ლორწოვანი გარსის სტრუქტურასთან (სურათი #18ა).

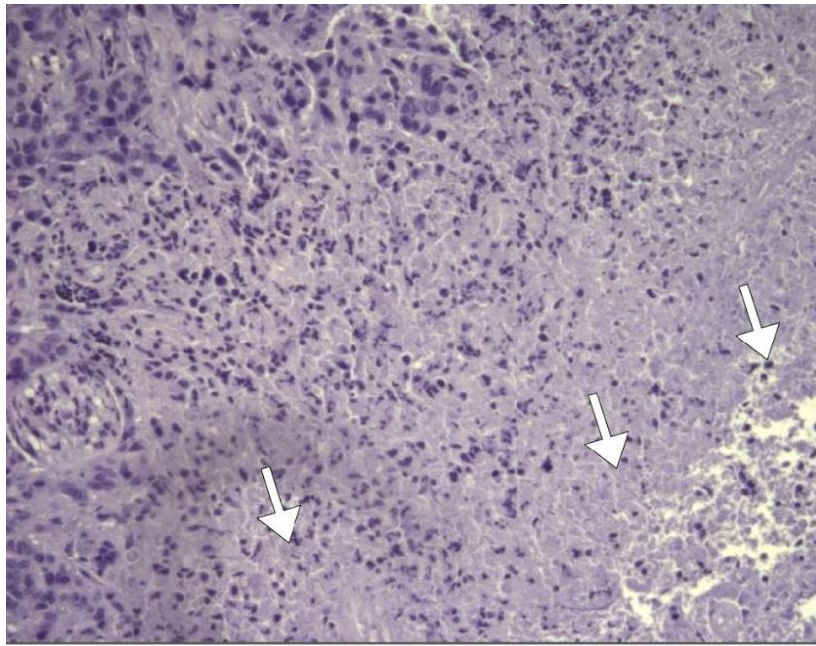


სურათი #18: პირის ღრუს კიბოს მორფოლოგიური სურათი (ჰემატოქსილინ-ეოზინი. გადიდება: 20x) ა. თავის ჯანმრთელი ლორწოვანი გარსი; ბ. ლორწოვან და ლორწოსქვეშა შრეებში განვითარებული ინვაზიური კიბო (ისრებით ნაჩვენებია კიბოს უჯრედების ჩაზრდა ჯანმრთელ ქსოვილში); გ. სარკომატოიდული კიბოს ქსოვილი (ისრით ნაჩვენებია შემაერთებელ ქსოვილოვანი გარსი — „კაფსულა“);

ქიმიოთერაპიული საშუალება ცისპლატინის გამოყენების შედეგად, კიბოს ქსოვილის მორფოლოგიური სურათი მსგავსი იყო საკონტროლო ჯგუფის სიმსივნურ სურათთან (სურათი #19) (შავი ისრით ნაჩვენებია შემაერთებელქსოვილოვანი „კაფსულა“). რაც შეეხება ცისპლატინით თერაპიის შემდეგ ტრანსპლანტირებულ მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ჯგუფს, კიბოს ქსოვილის მორფოლოგიური სურათი წარმოდგენილი იყო ნაკლები შემოფარგვლით, ნეკროზული კერების არსებობით (თეთრი ისარი) და შემაერთებელქსოვილოვანი ბაზალური შრეების არსებობით (სურათი #20).

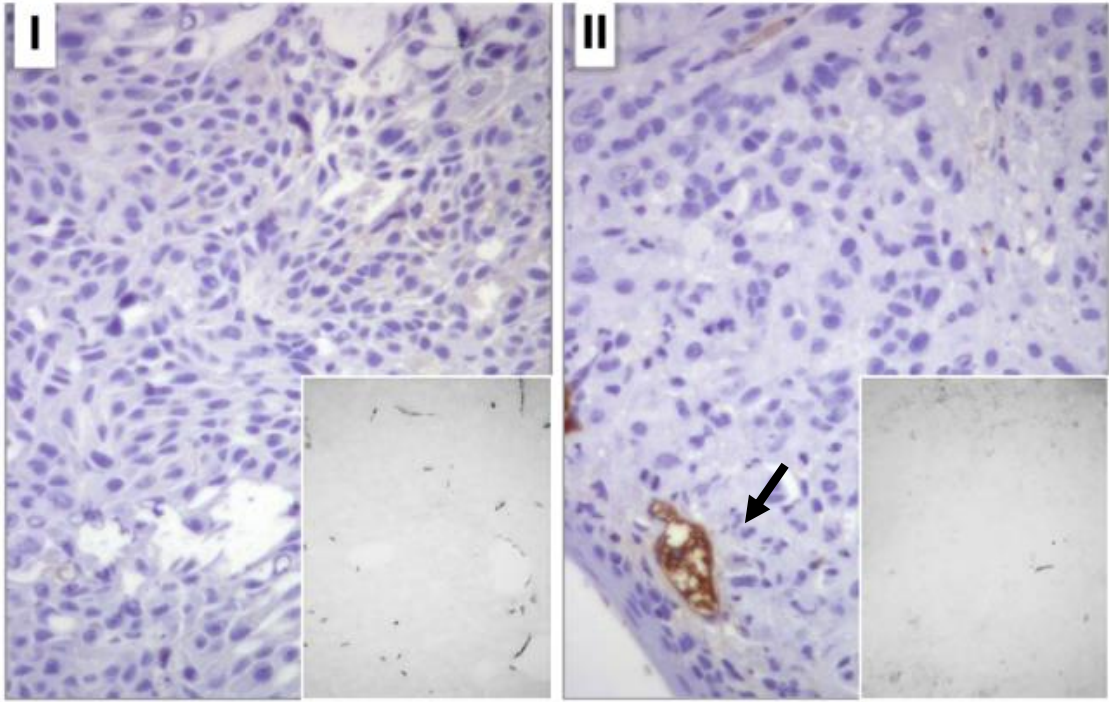


სურათი #19: პირის ღრუს კიბოს მორფოლოგიური სურათი ცისპლატინის გამოყენების შემდეგ (ჰემატოქსილინ-ეოზინი. გადიდება: 20x) (შავი ისრით ნაჩვენებია „კაფსულა“)

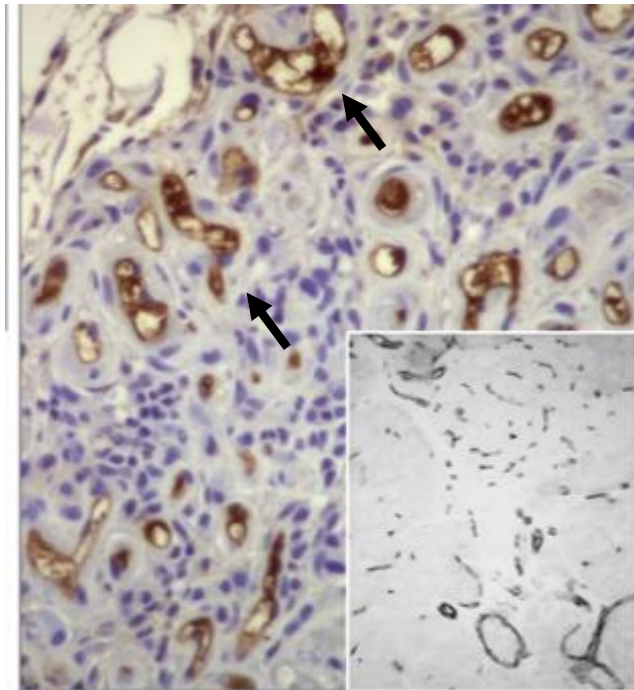


სურათი #20: პირის ღრუს კიბოს მორფოლოგიური სურათი ცისპლატინს + მღუ კომბინირებული მკურნალობის შემდეგ (ჰემატოქსილინ-ეოზინი. გადიდება: 20x) თეთრი ისრით ნაჩვენებია ნეკროზული კერები.

იმისათვის, რომ შეგვეფასებინა სიმსივნური ქსოვილის ანგიოგენეზი, განხორციელდა იმუნოჰისტოქიმიური კვლევა *Anti-CD31* ანტისხეულების გამოყენებით. CD31 ენდოთელური უჯრედების მნიშვნელოვანი მარკერია, აქედან გამომდინარე მისი გამოვლენის საშუალებით განვსაზღვრეთ მიკრო სისხლძარღვების არსებობა ქსოვილებში. ექსპერიმენტმა უჩვენა მიკროსისხლძარღვების თითქმის არ არსებობა საკონტროლო და ცისპლატინით ნამკურნალებ ცხოველთა კიბოს ქსოვილებში (სურათი #21 I-II). რაც შეეხება მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედებით ინექცირებულ ცხოველებს, იმუნოჰისტოქიმიური კვლევით დადგინდა სიმსივნურ ქსოვილში ძლიერად განვითარებული სისხლძარღვოვანი სტრუქტურები (სურათი #22).

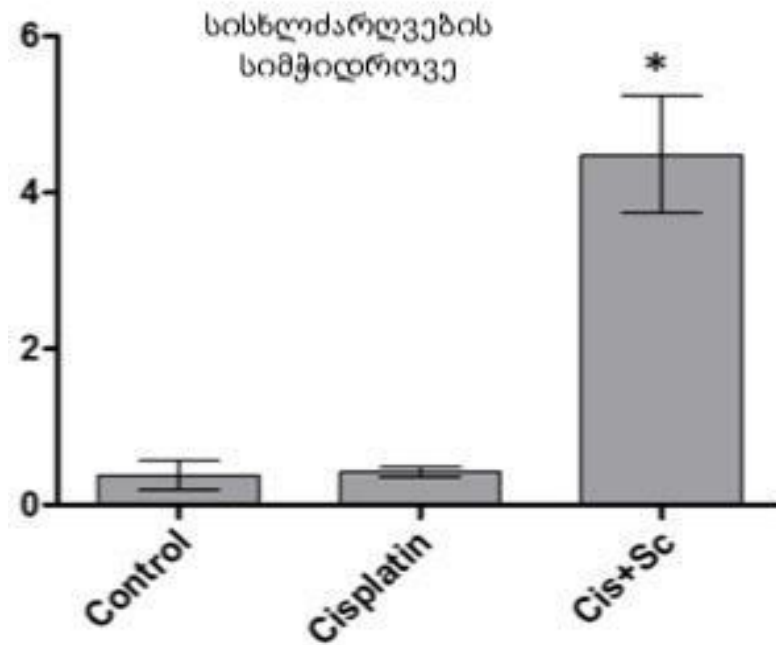


სურათი #21: იჰქ. ანტი - CD31 ანტისხეული. საკონტროლო და ცისპლატინის ჯგუფი (გადიდება: 20x) I. საკონტროლო ჯგუფი. II. ცისპლატინით მკურნალობის შემდეგ (ისარი მიუთითებს ერთეულ სისხლძარღვზე).



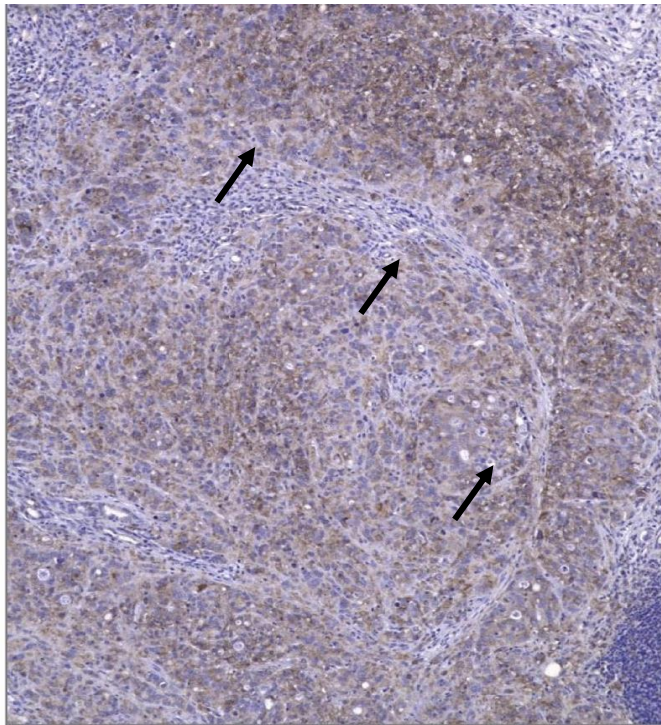
სურათი #22: იჰქ. ანტი - CD31 ანტისხეული. ცისპლატინს + მღუ კომბინირებული მკურნალობის შემდეგ (გადიდება: 20x) (ისრებით მიუთითებულა ძლიერად განვითარებული სისხლძარღვოვანი სტრუქტურები)

ჩატარდა ასევე ვასკულარიზაციის ხარისხის შეფასება და სტატისტიკურად შედარება სხვადასხვა ჯგუფებს შორის. ქვანტიფიკაციის შედეგები წარმოდგენილია დიაგრამაზე # 11.



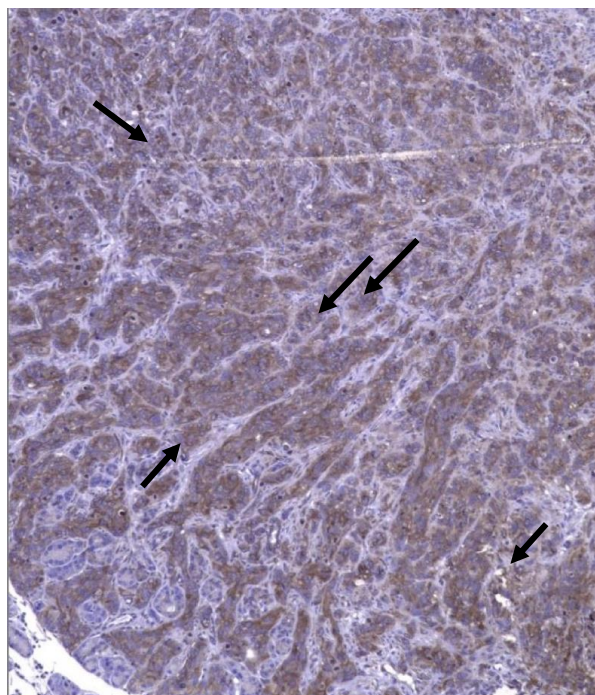
დიაგრამა #11: სისხლძარღვების სიმჭიდროვე (არეალის %)

კიბოს ქსოვილის ვასკულარიზაციის შესწავლის შემდეგ, შევეცადეთ დაგვედგინა იმავე ქსოვილის ჰიპოქსიური სტატუსი. *Anti-Carbonic Anhydrase 9* ანტისხეულების გამოყენებით იმუნოჰისტოქიმიურმა კვლევამ დაადგინა კიბოს ქსოვილის ძლიერი ჰიპოქსიური მდგომარეობა საკონტროლო ჯგუფში (სურათი #23).



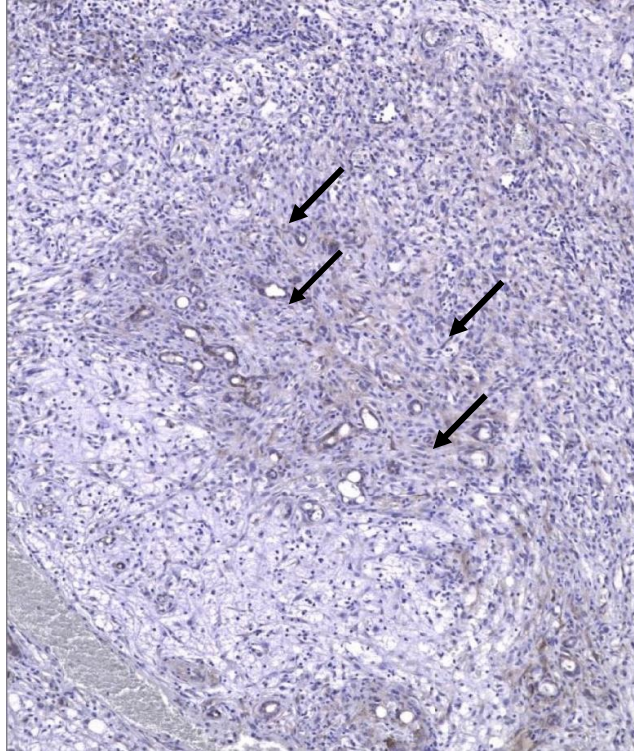
სურათი #23: იპქ. Anti-Carbonic Anhydrase 9 ანტისხეული. საკონტროლო ჯგუფი (გადიდება: 20x) (ისრებით მითითებულია ძლიერი ჰიპოქსიის უბნები)

ანალოგიური სურათი იქნა ნანახი ცისპლატინით ნამკურნალები ცხოველების კიბოს ქსოვილში, სადაც ასევე ძლიერი ჰიპოქსია იყო გამოხატული (სურათი#24).



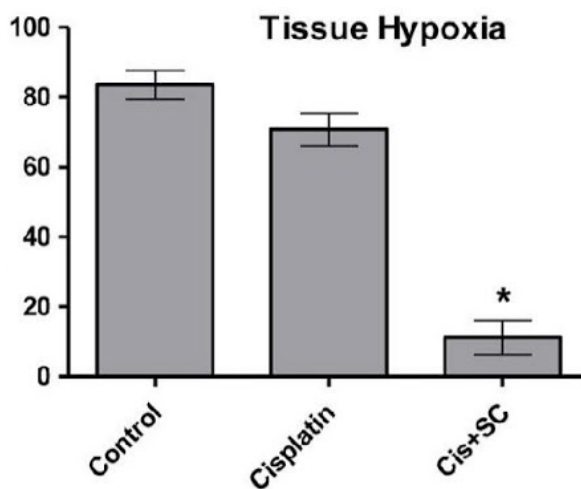
სურათი #24: იპქ. Anti-Carbonic Anhydrase 9 ანტისხეული. ცისპლატინით მკურნალობის შემდეგ (გადიდება: 20x) (ისრებით მითითებულია ძლიერი ჰიპოქსიის უბნები)

რაც შეეხება კიბოს ქსოვილს, მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ტრანსპლანტაციის შემდეგ გამოვლინდა სიმსივნური პარენქიმის მინიმალური ჰიპოქსიურობა, რომელიც წარმოდგენილი იყო ქსოვილში მცირე კუნძულების სახით (სურათი #25).



სურათი #25: იჰქ. ანტი-კარბო ანჰიდრაზა 9 ანტისხეული. ცისპლატინს + მღუ კომბინირებული მკურნალობის შემდეგ (გადიდება: 20x) (ისრებით მითითებულია სუსტად გამოხატული ჰიპოქსიის უბნები)

ჩატარდა ასევე ჰიპოქსიის სტატუსის საშუალო მაჩვენებლების შედარება ჯგუფებს შორის. შედეგები წარმოდგენილია დიაგრამაზე # 12.

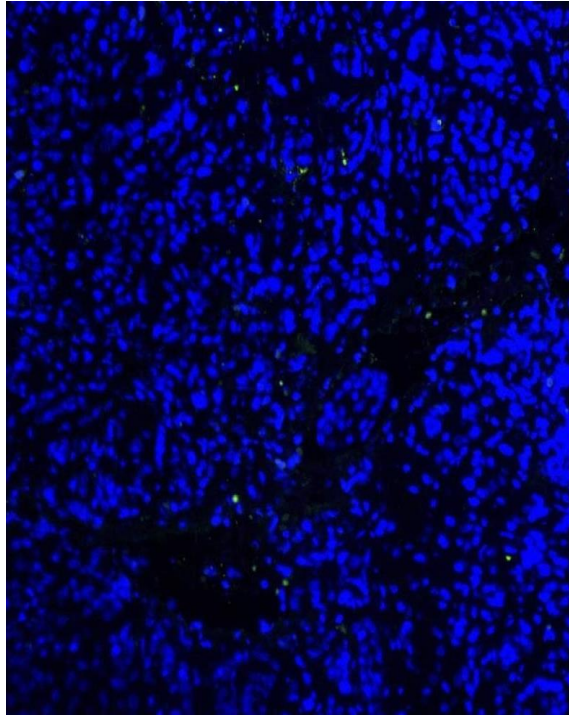


დიაგრამა #12: ქსოვილების ჰიპოქსიის სტატუსი სხვადასხვა ჯგუფში (არეალის %)

აღნიშნული კვლევებით შესაძლებელია ვივარაუდოთ, რომ კიბოს ქსოვილის ჰიპოქსიურობა შეუღლებულია ამავე ქსოვილების ანგიოგენეზურ სტატუსთან.

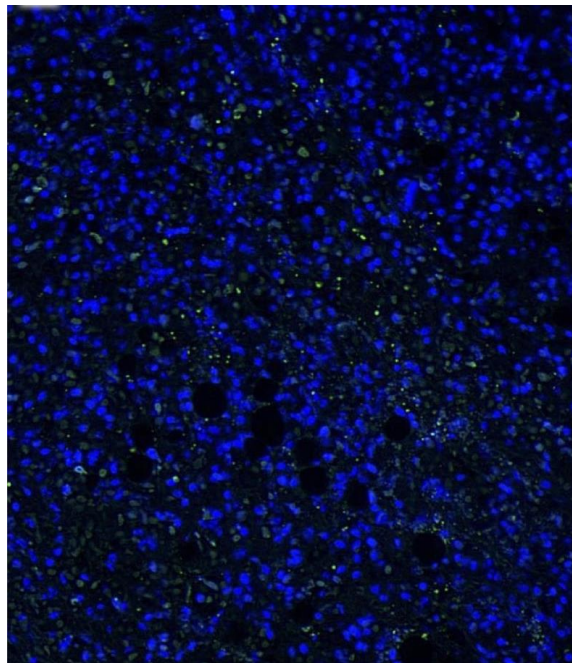
გამომდინარე იქიდან, რომ მორფოლოგიური ანალიზის შედეგად სიმსივნური ქსოვილებში, რიგ შემთხვევებში ნანახი იქნა ნეკროზული უბნები, გადავწყვიტეთ შეგვესწავლა უჯრედების აპოპტოზური აქტივობა კიბოს ქსოვილებში. ამ ექსპერიმენტში გამოყენებულ იქნა ტუნელის კვლევა (TUNEL assay), რომელიც იმუნოფლოუორესცენტულ მეთოდს ეფუძნება. აპოპტოზის ერთ-ერთ მთავარ ნიშანს წარმოადგენს იმ ენდონუკლეაზების გააქტიურება, რომლებიც ქრომოსომულ დნმ-ს ასუფთავებენ. დნმ – ის ფრაგმენტაცია, რომელიც მისი ჯაჭვის მრავალი გაწყვეტის არსებობით ვლინდება, აპოპტოზური უჯრედების იდენტიფიკაციის ოქროს სტანდარტადაა მიჩნეული. შემუშავებულია მეთოდოლოგიის რამდენიმე ვარიანტი, რომელიც დაფუძნებულია დნმ-ის ჯაჭვის გაწყვეტილი 3'-OH დაბოლოებების (ტერმინალების) ფლოუროქრომულ ეტიკეტირებაზე დეოქსინუკლეოტიდილ ტრანსფერაზას (TdT) გამოყენებით. დნმ-ის ერთდროული შეღებვა 4',6-დიამინო-2-ფენილინდოლის (DAPI) საშუალებით და უჯრედების მულტიმეტრიული ანალიზი გამდინარე ან ლაზერული სკანირების ციტომეტრიით, საშუალებას გვაძლევს აპოპტოზის წარმოქმნა უჯრედული ციკლის ფაზასთან დავაკავშიროთ. მიღებულ გამოსახულებაზე აპოპტოზური უჯრედები გამოხატულია მწვანე ფერით, ხოლო ლურჯი ფერით წარმოდგენილია სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების ბირთვები.

აღნიშნული კვლევის შედეგად გამოვლინდა კიბოს ქსოვილის უჯრედების დაბალი (ან არ არსებობდა) აპოპტოზური აქტივობა საკონტროლო ჯგუფში (სურათი # 26).



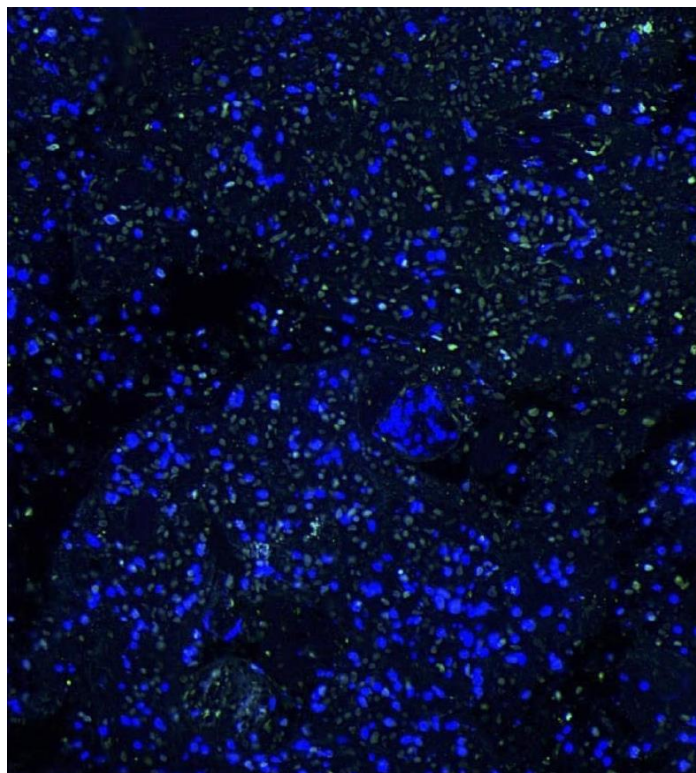
სურათი #26: აპოპტოზური აქტივობა საკონტროლო ჯგუფში. (გადიდება 40x). აპოპტოზური უჯრედები გამოხატულნი არიან მწვანე ფერით, ხოლო ლურჯი ფერით წარმოდგენილია სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების ბირთვები.

ქიმიოთერაპიის შედეგად (ცისპლატინი) ლაბორატორიულ თაგვებში განვითარებულ კიბოს ქსოვილში აპოპტოზური უჯრედები მეტად იყვნენ წარმოდგენილნი, ვიდრე საკონტროლო ჯგუფში (სურათი #27).



სურათი #27: აპოპტოზური აქტივობა ცისპლატინის ჯგუფში (გადიდება 40x) აპოპტოზური უჯრედები გამოხატულნი არიან მწვანე ფერით, ხოლო ლურჯი ფერით წარმოდგენილია სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების ბირთვები.

საინტერესოა, რომ კომბინირებული - მღუ-ს ტრანსპლანტაციის და ცისპლატინის ინექციის შემდეგ, ცხოველის პირის ღრუმში განვითარებული კიბოს ქსოვილის უდიდესი ნაწილი წარმოდგენილი იყო აპოპტოზური უჯრედებით. სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების ერთობლიობა ქსოვილის მასაში გამოისახა მცირე უბნების/„კუნძულების“ სახით. ნეკროზული უბნები ქმნიდა „ბნელ“ მიდამოს, სადაც არ ვლინდებოდა არც აპოპტოზური უჯრედის (მწვანე) და არც სიცოცხლისუნარიანი უჯრედის (ლურჯი) ფლუორესცენციული სიგნალი (სურათი #28).



სურათი #28: აპოპტოზური აქტივობა ცისპლატინი+ მღუ ჯგუფში (გადიდება 40x) აპოპტოზური უჯრედები გამოხატულნი არიან მწვანე ფერით, ხოლო ლურჯი ფერით წარმოდგენილია სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების ბირთვები.

შედეგების ანალიზი

ავთვისებიანი დაავადების გამოსაკვლევად, ონკოლოგიურ კვლევაში, ყველაზე ფართოდ გამოყენებულია თავის ონკოლოგიური მოდელები. ამჟამად *in vivo* კიბოს მოდელების უმეტესი ნაწილი ხორციელდება შიშველ თავგებში, განსაკუთრებით ორთოტოპული სიმსივნის ზრდის ანალიზისთვის. ეს ცხოველური მოდელები საკმაოდ კარგად ასახავს ავთვისებიანი დაავადების პათოლოგიურ და კლინიკურ სურათს და ქმნის ოპტიმალურ პირობებს მკურნალობის სხვადასხვა სტრატეგიის შესამოწმებლად.

კვლევაში შევეცადეთ შიშველ თავგებში შეგვექმნა პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს *in vivo* მოდელი და წარმოგვედგინა მისი დახასიათება. გავანალიზეთ ამ მოდელის კლინიკური ასპექტები, აღვწერეთ და ავსახეთ სიმსივნის მოდელის მორფოლოგიური განვითარების თავისებურებები.

ცხოველების 80%-ს, რომელთაც ჩაუტარდათ სქუამოზური კიბოს უჯრედების ინექცია, ჩამოუყალიბდათ ორთოტოპული სიმსივნე. თავგების 62%-ში ადგილი ჰქონდა კიბოს უჯრედების მეტასტაზურ გავრცელებას. სიმსივნის მორფოლოგიური გამოკვლევით გამოვლინდა კიბოს ქსოვილის ინვაზიური ფენოტიპი და ლოკალური ანთება. ორთოტოპული ქსოვილების პროლიფერაციულმა აქტივობამ შეადგინა $55,7 \pm 4,7$ მიტოზური უჯრედი/ოპტიკურ ველში. კიბოს ქსოვილში ასევე გამოიხატა სუსტად განვითარებული სისხლძარღვოვანი ქსელი. ეს მოდელი შესაძლებლობას იძლევა განხორციელდეს სიმსივნის ზრდის დინამიური მონიტორინგი და მანიპულირება. პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს უჯრედული ხაზებით შესაძლებელია წარმოიქმნას ინვაზიური და მეტასტაზური კიბო შიშველ თავგებში, რომლებიც ვითარდება როგორც ცუდად ვასკულარიზებული ჰიპოქსიური სიმსივნე. ჩვენ მიერ გამოყენებული ადამიანის პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს უჯრედები ახდენენ ინვაზიური და მეტასტაზური ფენოტიპის ქსოვილის ფორმირებას ათიმური „შიშველი“ თავგების ორგანზმში, რომელიც ყალიბდება როგორც ღარიბი ვასკულარიზაციის, ჰიპოქსიური კიბოს ქსოვილი. იმუნოჰისტოქიმიური ანალიზების მეშვეობით შესაძლებელია კიბოს ქსოვილის პროლიფერაციული აქტივობის თუ სხვა ფუნქციური მახასიათებლების განსაზღვრა/კვანტიფიკაცია.

ამრიგად, ჩვენი კვლევის შედეგებიდან გამომდინარე, შეგვიძლია გამოვთქვათ მოსაზრება, რომ ტექნიკური მიზანშეწონილობის თვალსაზრისით, შიშველი თაგვების *in vivo* მოდელი არის ადვილად რეპროდუქციული და მისაღები ცხოველური მოდელი პირის ღრუს ონკოლოგიის კვლევის სფეროში.

თანამედროვე ტრანსლაციურ მედიცინაში, სულ უფრო და უფრო მნიშვნელოვანი ხდება კვლევები მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების გავლენის შესახებ *in vitro* და *in vivo* სიმსივნის ზრდაზე მლუ-ების გამოყენების გრძელვადიანი უსაფრთხოების უზრუნველსაყოფად. ონკოლოგიური კვლევებისთვის კრიტიკულად მნიშვნელოვანია მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ზეგავლენის დადგენა სიმსივნის ზრდის პროცესზე. ლიტერატურაში აღწერილია უამრავი *in vivo* კვლევა, რომელთა მიზანი იყო მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების მოქმედების ეფექტურობის დადგენა სხვადასხვა დაავადების მიმდინარეობაზე როგორც ექსპერიმენტულ ცხოველებში, ისე ადამიანებში. სხვადასხვა კვლევებში მიღებული შედეგები წინააღმდეგობრივია.

სხვადასხვა კვლევებმა ურთიერთსაპირისპირო შედეგები აჩვენა მლუ-ების გავლენის შესახებ სიმსივნის ზრდაზე. ზოგიერთი ბოლოდროინდელი ექსპერიმენტის შედეგების თანახმად, მლუ-ები უფრო მეტად ხელს უწყობენ სიმსივნის პროგრესირებას და მეტასტაზირებას. ამის საპირისპიროდ, ცხოველებში ჩატარებულმა სხვა კვლევებმა აჩვენა, რომ მლუ-ების ინექციის შემდეგ, სიმსივნის წარმოქმნის დრო გახანგრძლივდა და სიმსივნის ზომა უფრო მცირე იყო, შემცირდა უჯრედების გამრავლება, გაიზარდა აპოპტოზი. ექსპერიმენტების შედეგებთან შედარებით, ჩვენმა კვლევამ აჩვენა, რომ ექსპერიმენტულ ჯგუფებში, სადაც მლუ ინექცია განხორციელდა პირის ღრუს კბოს ქსოვილებში ცისპლატინით თერაპიასთან ერთად, სიმსივნის ზრდის სიჩქარის დაქვეითება და მისი სისტემური გავრცელების შემცირება დაფიქსირდა. ამ მოვლენამ გამოიწვია ექსპერიმენტული ცხოველების საშუალო სიცოცხლის ხანგრძლივობის მაჩვენებლის გაუმჯობესება.

ღეროვანი უჯრედები აქტიურად ზემოქმედებენ მიკროგარემოში ციტოკინების, ზრდის ფაქტორების და უჯრედუჯრედული მატრიქსის (ECM) მოლეკულების გამოყოფის გზით, რომლებიც მოქმედებენ ან თვითონ ღეროვან

უჯრედებზე (აუტოკრინული მოქმედებები), ან მეზობელ უჯრედებზე (პარაკრინული მოქმედებები). ამიტომ, ღეროვანი და პროგენიტორული უჯრედების ბიომოლეკულების წარმოების უფრო ნათლად გააზრებამ შეიძლება ახალი შეხედულებები ჩამოაყალიბოს უჯრედის ფენოტიპების რეგულირების შესახებ, უკეთ განსაზღვროს ღეროვანი უჯრედების ფუნქციური როლი ქსოვილებში მიმდინარე პათოლოგიურ პროცესებში და საბოლოოდ განსაზღვროს შესაბამისი უჯრედის წყაროები სპეციფიკური ქსოვილის რეგენერაციისთვის. დღეისათვის გაჩნდა ურთიერთსაწინააღმდეგო ცნობები, რომლებიც მღუ-სა და ხსნადი ფაქტორების არსებობისას აჩვენებს ინ ვიტრო და ინ ვივო სიმსივნის უჯრედების პროლიფერაციის გაზრდას, შემცირებას და უცვლელობას. ღეროვან უჯრედებსა და ავთვისებიან უჯრედებს შორის ურთიერთქმედებამ შეიძლება გამოიწვიოს არა მხოლოდ სიმსივნური უჯრედების გამრავლების გაზრდა, არამედ ღეროვანი უჯრედების ფენოტიპური ცვლილება და გარდაქმნა უჯრედებად, რომლებიც ხელს უწყობენ ნეოპლასტიკურ უჯრედების ზრდას. ამასთანავე, ამ მოსაზრებების საპირისპიროდ არსებობს მონაცემები რომ ღეროვანი უჯრედების გადანერგვის საპასუხოდ სიმსივნის ზრდა შეიძლება შეფერხდეს უჯრედის ციკლის შეჩერებისა და სიმსივნური უჯრედების აპოპტოზის გააქტივების საშუალებით.

ამ მოსაზრებებიდან გამომდინარე, მნიშვნელოვანი იყო შეგვესწავლა მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების მიერ სხვადასხვა პროცესების მასტიმულირებელი ფაქტორების სეკრეციის ხარისხი სიმსივნის მიკროგარემოში.

სხვადასხვა კვლების შედეგები გვადლევს საფუძველს ვიფიქროთ რომ მეზენქიმურ ღეროვან უჯრედებს შეუძლიათ გამოიყონ სხვადასხვა ფაქტორები, რომლებიც ანგიოგენეზს უწყობენ ხელს. ასევე მათ აქვთ უნარი სპეციფიური ცილების ექსპრესიის გზით ოახდინონ ენდოთელური უჯრედების მობილიზაცია და მათი მიგრაცია დაზიანებული უბნისაკენ. ჩვენი კვლევის შედეგების მიხედვით შეგვიძლია გამოვთქვათ ვარაუდი, რომ საკვლევ ჯგუფში მიკროანგიოგენეზის მნიშვნელოვანი დონე განაპირობებს ამავე ჯგუფში გამოვლენილ მეტასტაზურ აქტივობას. თუმცა ისიც უნდა აღინიშნოს, რომ ცისპლატინისა და ცისპლატინს + მღუ ჯგუფებს შორის მეტასტაზურ აქტივობებს შორის სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი სხვაობა არ

გამოვლენილა. მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ზემოქმედება სიმსივნის მეტასტაზურ აქტივობაზე ჩვენი მოსაზრებით დამატებითი კვლევების ჩატარებას და შესწავლას საჭიროებს.

ჩვენ ასევე შევისწავლეთ სიმსივნური ქსოვილების ჰიპოქსიის სტატუსი, რაც მნიშვნელოვანია ტუმოროგენეზში. ინტრა-სიმსივნური ჰიპოქსია ააქტიურებს ჰიპოქსიის ინდუქციურ ფაქტორებს (HIFs) და ამ გზით ხელს უწყობს მეტასტაზურ პროცესს. ჰიპოქსიის კვლევების შედეგებმა აჩვენა კავშირი ჰიპოქსიასა და ანგიოგენეზის სტატუსს შორის: სისხლძარღვთა გაზრდამ გამოიწვია ქსოვილების ჟანგბადით მომარაგების გაუმჯობესება და ჰიპოქსიის სტატუსის დაქვეითება.

მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედებისა და სიმსივნური უჯრედების ინტერაქციის კიდევ ერთი მნიშვნელოვანი მომენტია ზემოქმედება სიმსივნური უჯრედების აპოპტოზზე. ცნობილია, რომ ნეოპლაზიურ უჯრედებში, რომლებმაც უკვე განიცადეს დნმ-ის დამაზიანებელი ზემოქმედება ადგილი აქვს აპოპტოზის ინდუქციის დათრგუნვას, რაც ზრდის უჯრედის სიცოცხლისუნარიანობას და წარმოქმნილი გენეტიკური ცვლილების შენარჩუნების ალბათობას. ავთვისებიან უჯრედებში ციკლის უარყოფითი მარეგულირებლები შედარებით დაბალაქტიურია (ან საერთოდ გამორთული). ერთ-ერთ ბოლო კვლევაში ნაჩვენებია იყო, რომ სიმსივნური უჯრედების აპოპტოზური სიკვდილის მაჩვენებელი მკვეთრად გაიზარდა მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ტრანსპლანტაციის შემდეგ (Chen, A., 2015). უჯრედული ციკლის ანალიზმა აჩვენა სიმსივნის უჯრედების აკუმულაცია უპირატესად G₀ / G₁ ფაზაში და S ფაზის დაქვეითება. RT-PCR ანალიზმა დაადასტურა უჯრედული ციკლის ცვლილებები. ავტორების მოსაზრებით აპოპტოზი ასოცირდება p21 და კასპაზა 3 გენის ექსპრესიასთან. სხვა ექსპერიმენტული კვლევის შედეგების თანახმად, მღუ-ების ინჰიბიტორული მოქმედება სიმსივნის უჯრედზე შეიძლება ასოცირებული იყოს FasL-ით გამოწვეულ აპოპტოზთან და უჯრედული ციკლის შეჩერებასთან (Krammer P.H., 2000). მიუხედავად გამოქვეყნებული მონაცემებისა, აუცილებლად მიგვაჩნია მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების პროლიფერაციული ინჰიბიტორული ეფექტების მექანიზმების შემდგომი კვლევების ჩატარება.

ჩვენ კვლევაში სხვადასხვა ექსპერიმენტულ ჯგუფებში აპოპტოზის გამოკვლევის შედეგებმა აჩვენა, რომ ცხოველებში, რომლებსაც მკურნალობა ჩაუტარდათ ცისპლატინი + მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ინექციით, სიმსივნის ქსოვილებში აპოპტოზის მაჩვენებელი მნიშვნელოვნად აღემატებოდა მხოლოდ ცისპლატინით მკურნალობის დროს მიღებულ მაჩვენებლებს. ეს აღმოჩენა ჩვენი მოსაზრებით აიხსნება ცისპლატინის უკეთესად განაწილებით სისხლძარღვთა რაოდენობის გაზრდის გამო.

დასკვნები

- ჩვენ მიერ შექმნილი ქსენოგრაფიული მოდელი ასახავს ქსოვილებში განვითარებული პათოლოგიის მორფოლოგიურ სურათს. ასევე, მისი საშუალებით იქმნება დაავადების ფუნქციური იმიტაცია. მოდელის შექმნის პროცესი ადვილი განსახორციელებელია. მოდელის გამოყენება შესაძლებელია პირის ღრუს კიბოს ექსპერიმენტული კვლევებისათვის.
- თავის პირის ღრუში კიბოს არსებობისას, ლოკალურად ინექცირებული მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედები ლაგდებიან პათოლოგიურ ქსოვილში. სისტემურად, კუდის ვენიდან ინფუზირებული ღეროვანი უჯრედები კი არ განიცდიან ე.წ. ჰომინგს სიმსივნურ ქსოვილში.
- მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების იმპლანტაცია პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს ქსოვილში ცისპლატინით მკურნალობის ფონზე, მნიშვნელოვნად ამცირებს სიმსივნის ზომაში ზრდის პროცესს, რის შედეგადაც საგრძნობლად მატულობს ამ ცხოველების სიცოცხლის ხანგრძლივობა.
- მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების იმპლანტაცია სიმსივნურ ქსოვილში მკვეთრად ამღიერებს ანგიოგენეზს, რის შედეგადაც კლებულობს სიმსივნური ქსოვილის ჰიპოქსია.
- ქიმიოთერაპიის და მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების იმპლანტაციის კომბინაციის შედეგად მატულობს კიბოს ქსოვილის აპოპტოზი, რაც

განპირობებულია მომატებული ანგიოგენეზის ფონზე ქსოვილში ცისპლატინის უკეთესი დისტრიბუციით.

პრაქტიკული რეკომენდაციები

- ჩვენ მიერ შემუშავებული პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს ათიმური თავგის მოდელი წარმოადგენს აქტუალურ და გამოსადეგ კვლევით მეთოდს. ეს მოდელი შესაძლებელია გამოყენებულ იქნეს პირის ღრუს ონკოლოგიის მიმართულების კვლევებში.
- პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს *in vivo* მოდელში ცისპლატინით თერაპიის ფონზე მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ინექცია ანელებს სიმსივნის ზრდის პროცესს და ზრდის სიცოცხლის ხანგრძლივობას. მიღებული შედეგების საფუძველზე შესაძლებელია რეკომენდაცია გაეწიოს ადამიანებში დამატებითი კვლევების ჩატარებას მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების გამოყენებით კომბინირებული მკურნალობის შედეგების შესაფასებლად.
- ჩვენი კვლევის შედეგებით შეფასებულია ცხოველებში პირის ღრუს კიბოს მართვის პროცესში მხოლოდ კომბინირებული მიდგომის გამოყენება: ქიმიოთერაპია თანმხლები ღეროვანი უჯრედების ტრანსპლანტაციით. აქედან გამომდინარე შემდგომი კვლევებისათვის რეკომენდაციას ვუწევთ ღეროვანი უჯრედების გამოყენებას სიმსივნურ მიკროგარემოში მხოლოდ ქიმიოთერაპიასთან კომბინაციაში.
- მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების მონოთერაპიის სახით პირის ღრუს კიბოს მართვაში გამოყენების ეფექტურობის შეფასება დამატებითი კვლევების ჩატარებას საჭიროებს.

ბიბლიოგრაფია

1. Al-Jaber, A., Al-Nasser, L., & El-Metwally, A. (2016). Epidemiology of oral cancer in Arab countries. *Saudi medical journal*, *37*(3), 249–255. <https://doi.org/10.15537/smj.2016.3.11388>
2. Albanesi M, Mancardi DA, Jönsson F, Iannascoli B, Fiette L, Di Santo JP, et al. (2013) Neutrophils mediate antibody-induced antitumor effects in mice. *Blood*;122(18):3160–4.
3. Alderden, R., Hall,D.,& Hambley, T. (2006)The Discovery and Development of Cisplatin. *Journal of Chemical Education* *83*(5), 728 DOI: 10.1021/ed083p728
4. Almodovar J, Perez SI, Arruza M, Morell CA, Baez A. (2006)Descriptive epidemiology of head and neck squamous cell carcinoma in Puerto Ricans. *Puerto Rico Health Science Journal*; 15:251-5.
5. Arnold, M., Sierra, M. S., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2017). Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. *Gut*, *66*(4), 683–691. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-310912>
6. Avnet, S., Di Pompo, G., Chano, T., Errani, C., Ibrahim-Hashim, A., Gillies, R. J., Donati, D. M., & Baldini, N. (2017). Cancer-associated mesenchymal stroma fosters the stemness of osteosarcoma cells in response to intratumoral acidosis via NF-κB activation. *International journal of cancer*, *140*(6), 1331–1345. <https://doi.org/10.1002/ijc.30540>
7. Basu, A., & Krishnamurthy, S. (2010). Cellular responses to Cisplatin-induced DNA damage. *Journal of nucleic acids*, *2010*, 201367. <https://doi.org/10.4061/2010/201367>
8. Berger, L., Shamai, Y., Skorecki, K. L., & Tzukerman, M. (2016). Tumor Specific Recruitment and Reprogramming of Mesenchymal Stem Cells in Tumorigenesis. *Stem cells (Dayton, Ohio)*, *34*(4), 1011–1026. <https://doi.org/10.1002/stem.2269>
9. Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality

- worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 68(6), 394–424.
10. Brenner JC, Graham MP, Kumar B, Saunders LM, Kupfer R, Lyons RH, et al.(2010) Genotyping of 73 UM-SCC head and neck squamous cell carcinoma cell lines. *Head Neck*;32(4):417–26.
 11. Bschorer, M., Schneider, D., Hennig, M., Frank, B., Schön, G., Heiland, M., & Bschorer, R. (2018). Early intensive rehabilitation after oral cancer treatment. *Journal of cranio-maxillo-facial surgery : official publication of the European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery*, 46(6), 1019–1026. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2018.04.005>
 12. Carneiro-Neto, J. N., de-Menezes, J. D., Moura, L. B., Massucato, E. M., & de-Andrade, C. R. (2017). Protocols for management of oral complications of chemotherapy and/or radiotherapy for oral cancer: Systematic review and meta-analysis current. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal*, 22(1), e15–e23. <https://doi.org/10.4317/medoral.21314>
 13. Casiraghi, F., Azzollini, N., Cassis, P., Imberti, B., Morigi, M., Cugini, D., Cavinato, R. A., Todeschini, M., Solini, S., Sonzogni, A., Perico, N., Remuzzi, G., & Noris, M. (2008). Pretransplant infusion of mesenchymal stem cells prolongs the survival of a semiallogeneic heart transplant through the generation of regulatory T cells. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 181(6), 3933–3946. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.6.3933>
 14. Chaturvedi, P., Gilkes, D. M., Wong, C. C., Kshitiz, Luo, W., Zhang, H., Wei, H., Takano, N., Schito, L., Levchenko, A., & Semenza, G. L. (2013). Hypoxia-inducible factor-dependent breast cancer-mesenchymal stem cell bidirectional signaling promotes metastasis. *The Journal of clinical investigation*, 123(1), 189–205. <https://doi.org/10.1172/JCI64993>
 15. Chatzistefanou, I., Lubek, J., Markou, K., & Ord, R. A. (2017). The role of perineural invasion in treatment decisions for oral cancer patients: A review of the literature. *Journal of cranio-maxillo-facial surgery : official publication of the European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery*, 45(6), 821–825. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2017.02.022>

16. Chen YF, Yang CC, Kao SY, Liu CJ, Lin SC, Chang KW. (2016) MicroRNA-211 enhances the oncogenicity of carcinogen-induced oral carcinoma by repressing TCF12 and increasing antioxidant activity. *Cancer Research*.;76(16):4872–86.
17. Chen, A., Huang, X., Xue, Z., Cao, D., Huang, K., Chen, J., Pan, Y., & Gao, Y. (2015). The Role of p21 in Apoptosis, Proliferation, Cell Cycle Arrest, and Antioxidant Activity in UVB-Irradiated Human HaCaT Keratinocytes. *Medical science monitor basic research*, 21, 86–95. <https://doi.org/10.12659/MSMBR.893608>
18. Chimed, T., Sandagdorj, T., Znaor, A., Laversanne, M., Tseveen, B., Genden, P., & Bray, F. (2017). Cancer incidence and cancer control in Mongolia: Results from the National Cancer Registry 2008-12. *International journal of cancer*, 140(2), 302–309. <https://doi.org/10.1002/ijc.30463>
19. Chulpanova, D. S., Kitaeva, K. V., Tazetdinova, L. G., James, V., Rizvanov, A. A., & Solovyeva, V. V. (2018). Application of Mesenchymal Stem Cells for Therapeutic Agent Delivery in Anti-tumor Treatment. *Frontiers in pharmacology*, 9, 259. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00259>
20. Clevers H. (2015). STEM CELLS. What is an adult stem cell?. *Science (New York, N.Y.)*, 350(6266), 1319–1320. <https://doi.org/10.1126/science.aad7016>
21. Daley G. Q. (2015). Stem cells and the evolving notion of cellular identity. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 370(1680), 20140376. <https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0376>
22. de Lourdes Mora-García, M., García-Rocha, R., Morales-Ramírez, O., Montesinos, J. J., Weiss-Steider, B., Hernández-Montes, J., Ávila-Ibarra, L. R., Don-López, C. A., Velasco-Velázquez, M. A., Gutiérrez-Serrano, V., & Monroy-García, A. (2016). Mesenchymal stromal cells derived from cervical cancer produce high amounts of adenosine to suppress cytotoxic T lymphocyte functions. *Journal of translational medicine*, 14(1), 302. <https://doi.org/10.1186/s12967-016-1057-8>
23. Djan, R., & Penington, A. (2013). A systematic review of questionnaires to measure the impact of appearance on quality of life for head and neck cancer patients. *Journal of plastic, reconstructive & aesthetic surgery : JPRAS*, 66(5), 647–659. <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2013.01.007>

24. Fang Z, Zhao J, Xie W, Sun Q, Wang H, Qiao B. (2017) LncRNA UCA1 promotes proliferation and cisplatin resistance of oral squamous cell carcinoma by sunppressing miR-184 expression. *Cancer Med.*;6(12):2897–908. <https://doi.org/10.1002/cam4.1253>
25. Ferlay, J., Colombet, M., Soerjomataram, I., Dyba, T., Randi, G., Bettio, M., Gavin, A., Visser, O., & Bray, F. (2018). Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries and 25 major cancers in 2018. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*, *103*, 356–387. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2018.07.005>
26. Florea, A. M., & Büsselberg, D. (2011). Cisplatin as an anti-tumor drug: cellular mechanisms of activity, drug resistance and induced side effects. *Cancers*, *3*(1), 1351–1371. <https://doi.org/10.3390/cancers3011351>
27. Fracchiolla, N. S., Fattizzo, B., & Cortelezzi, A. (2017). Mesenchymal Stem Cells in Myeloid Malignancies: A Focus on Immune Escaping and Therapeutic Implications. *Stem cells international*, *2017*, 6720594. <https://doi.org/10.1155/2017/6720594>
28. Fulton AJ, Nemeč A, Murphy BG, Kass PH, Verstraete FJ. (2013) Risk factors associated with survival in dogs with nontonsillar oral squamous cell carcinoma 31 cases (1990–2010). *J Am Vet Med Assoc.*;243(5):696–702.
29. Gavrieli, Y., Sherman, Y., & Ben-Sasson, S. A. (1992). Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *The Journal of cell biology*, *119*(3), 493–501. <https://doi.org/10.1083/jcb.119.3.493>
30. Gharat, S. A., Momin, M., & Bhavsar, C. (2016). Oral Squamous Cell Carcinoma: Current Treatment Strategies and Nanotechnology-Based Approaches for Prevention and Therapy. *Critical reviews in therapeutic drug carrier systems*, *33*(4), 363–400. <https://doi.org/10.1615/CritRevTherDrugCarrierSyst.2016016272>
31. Gillison, M. L., Trotti, A. M., Harris, J., Eisbruch, A., Harari, P. M., Adelstein, D. J., Jordan, R., Zhao, W., Sturgis, E. M., Burtness, B., Ridge, J. A., Ringash, J., Galvin, J., Yao, M., Koyfman, S. A., Blakaj, D. M., Razaq, M. A., Colevas, A. D., Beitler, J. J., Jones, C. U., ... Le, Q. T. (2019). Radiotherapy plus cetuximab or cisplatin in human papillomavirus-positive oropharyngeal cancer (NRG Oncology RTOG 1016): a

- randomised, multicentre, non-inferiority trial. *Lancet (London, England)*, *393*(10166), 40–50. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32779-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32779-X)
32. Gottschling, S., Granzow, M., Kuner, R., Jauch, A., Herpel, E., Xu, E. C., Muley, T., Schnabel, P. A., Herth, F. J., & Meister, M. (2013). Mesenchymal stem cells in non-small cell lung cancer--different from others? Insights from comparative molecular and functional analyses. *Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)*, *80*(1), 19–29. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2012.12.015>
33. Grégoire V., J.-L. Lefebvre, L. Licitra, E. Felip (2010). Squamous cell carcinoma of the head and neck: EHNS–ESMO–ESTRO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*; 21 (Suppl 5): vi184-vi186.
34. Guan, S. P., Lam, A., Newman, J. P., Chua, K., Kok, C., Chong, S. T., Chua, M., & Lam, P. (2017). Matrix metalloproteinase-1 facilitates MSC migration via cleavage of IGF-2/IGFBP2 complex. *FEBS open bio*, *8*(1), 15–26. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12330>
35. Hassona, Y., Sawair, F., Matarweh, D., Abdalhamid, A., Thweib, D., & Scully, C. (2018). Oral Cancer Early Detection: What Do Patients Need To Know?. *Journal of cancer education : the official journal of the American Association for Cancer Education*, *33*(4), 865–869. <https://doi.org/10.1007/s13187-017-1191-x>
36. Hernanda, P. Y., Pedroza-Gonzalez, A., van der Laan, L. J., Bröker, M. E., Hoogduijn, M. J., Ijzermans, J. N., Bruno, M. J., Janssen, H. L., Peppelenbosch, M. P., & Pan, Q. (2013). Tumor promotion through the mesenchymal stem cell compartment in human hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis*, *34*(10), 2330–2340. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgt210>
37. Ho, I. A., Toh, H. C., Ng, W. H., Teo, Y. L., Guo, C. M., Hui, K. M., & Lam, P. Y. (2013). Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells suppress human glioma growth through inhibition of angiogenesis. *Stem cells (Dayton, Ohio)*, *31*(1), 146–155. <https://doi.org/10.1002/stem.1247>
38. Ho, M. W., Field, E. A., Field, J. K., Risk, J. M., Rajlawat, B. P., Rogers, S. N., Steele, J. C., Triantafyllou, A., Woolgar, J. A., Lowe, D., & Shaw, R. J. (2013). Outcomes of oral squamous cell carcinoma arising from oral epithelial dysplasia: rationale for monitoring

- pre-malignant oral lesions in a multidisciplinary clinic. *The British journal of oral & maxillofacial surgery*, 51(7), 594–599. <https://doi.org/10.1016/j.bjoms.2013.03.014>
39. Honoki, K., Fujii, H. & Tsujiuchi, T. (2011) Cancer Stem Cell Niche: The Role of Mesenchymal Stem Cells in Tumor Microenvironment
40. Huang, W. H., Chang, M. C., Tsai, K. S., Hung, M. C., Chen, H. L., & Hung, S. C. (2013). Mesenchymal stem cells promote growth and angiogenesis of tumors in mice. *Oncogene*, 32(37), 4343–4354. <https://doi.org/10.1038/onc.2012.458>
41. Hussain, R., Jamshed, A., Iqbal, H., Usman, S., Irfan, M., & Hafeez Bhatti, A. B. (2016). Long term survival and impact of various prognostic factors in T1, T2 oral tongue cancer in Pakistan. *JPMA. The Journal of the Pakistan Medical Association*, 66(2), 187–193.
42. Hussein, A. A., Helder, M. N., de Visscher, J. G., Leemans, C. R., Braakhuis, B. J., de Vet, H., & Forouzanfar, T. (2017). Global incidence of oral and oropharynx cancer in patients younger than 45 years versus older patients: A systematic review. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*, 82, 115–127. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2017.05.026>
43. Iglesias-Bartolome R, Martin D, Gutkind JS. (2013) Exploiting the head and neck cancer oncogenome: widespread PI3K-mTOR pathway alterations and novel molecular targets. *Cancer Discovery*.;3(7):722–5.
44. Ishida K, Tomita H, Nakashima T, Hirata A, Tanaka T, Shibata T, et al. (2017) Current mouse models of oral squamous cell carcinoma: genetic and chemically induced models. *Oral Oncology*.;73:16–20.
45. Jayaprakash, V., Reid, M., Hatton, E., Merzianu, M., Rigual, N., Marshall, J., Gill, S., Frustino, J., Wilding, G., Loree, T., Popat, S., & Sullivan, M. (2011). Human papillomavirus types 16 and 18 in epithelial dysplasia of oral cavity and oropharynx: a meta-analysis, 1985-2010. *Oral oncology*, 47(11), 1048–1054. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2011.07.009>
46. Kabashima-Niibe, A., Higuchi, H., Takaishi, H., Masugi, Y., Matsuzaki, Y., Mabuchi, Y., Funakoshi, S., Adachi, M., Hamamoto, Y., Kawachi, S., Aiura, K., Kitagawa, Y., Sakamoto, M., & Hibi, T. (2013). Mesenchymal stem cells regulate epithelial-

- mesenchymal transition and tumor progression of pancreatic cancer cells. *Cancer science*, 104(2), 157–164. <https://doi.org/10.1111/cas.12059>
47. Kadletz L, Heiduschka G, Domayer J, Schmid R, Enzenhofer E, Thurnher D. (2015) Evaluation of spheroid head and neck squamous cell carcinoma cell models in comparison to monolayer cultures. *Oncol Lett.*;10(3):1281–6.
48. Kéramidas, M., de Fraipont, F., Karageorgis, A., Moisan, A., Persoons, V., Richard, M. J., Coll, J. L., & Rome, C. (2013). The dual effect of mesenchymal stem cells on tumour growth and tumour angiogenesis. *Stem cell research & therapy*, 4(2), 41. <https://doi.org/10.1186/scrt195>
49. Kerawala, C., Roques, T., Jeannon, J. P., & Bisase, B. (2016). Oral cavity and lip cancer: United Kingdom National Multidisciplinary Guidelines. *The Journal of laryngology and otology*, 130(S2), S83–S89. <https://doi.org/10.1017/S0022215116000499>
50. Kerk SA, Finkel KA, Pearson AT, Warner KA, Zhang Z, Nör F, et al. (2017) 5T4-targeted therapy ablates cancer stem cells and prevents recurrence of head and neck squamous cell carcinoma. *Clinical Cancer Research.*;23(10):2516–27. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-1834>
51. Khiavi MM, Abdal K, Abbasi MM, Hamishehkar H, Aghbali AA, Salehi R, et al. (2017) Comparison of injectable doxorubicin & its nanodrug complex chemotherapy for the treatment of 4-nitroquinoline-1-oxide induced oral squamous cell carcinoma in rats. *Indian Journal of Medical Research*. 145(1):112–7.
52. Kidd, S., Spaeth, E., Watson, K., Burks, J., Lu, H., Klopp, A., Andreeff, M., & Marini, F. C. (2012). Origins of the tumor microenvironment: quantitative assessment of adipose-derived and bone marrow-derived stroma. *PloS one*, 7(2), e30563. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030563>
53. Krammer P. H. (2000). CD95's deadly mission in the immune system. *Nature*, 407(6805), 789–795. <https://doi.org/10.1038/35037728>
54. Kurtz A. (2008). Mesenchymal stem cell delivery routes and fate. *International journal of stem cells*, 1(1), 1–7. <https://doi.org/10.15283/ijsc.2008.1.1.1>

55. Laban S, Steinmeister L, Gleißner L, Grob TJ, Grénman R, Petersen C, et al (2013). Sorafenib sensitizes head and neck squamous cell carcinoma cells to ionizing radiation. *Radiotherapy in Oncology*;109:286–92.
56. Langrzyk, A., Nowak, W. N., Stępniewski, J., Jaźwa, A., Florczyk-Soluch, U., Józkowicz, A., & Dulak, J. (2018). Critical View on Mesenchymal Stromal Cells in Regenerative Medicine. *Antioxidants & redox signaling*, 29(2), 169–190. <https://doi.org/10.1089/ars.2017.7159>
57. Lecomte, J., Masset, A., Blacher, S., Maertens, L., Gothot, A., Delgaudine, M., Bruyère, F., Carnet, O., Paupert, J., Illemann, M., Foidart, J. M., Lund, I. K., Høyer-Hansen, G., & Noel, A. (2012). Bone marrow-derived myofibroblasts are the providers of pro-invasive matrix metalloproteinase 13 in primary tumor. *Neoplasia (New York, N.Y.)*, 14(10), 943–951. <https://doi.org/10.1593/neo.121092>
58. Lehman, H. L., & Stairs, D. B. (2015). Single and Multiple Gene Manipulations in Mouse Models of Human Cancer. *Cancer growth and metastasis*, 8(Suppl 1), 1–15. <https://doi.org/10.4137/CGM.S21217>
59. Liao, X., Li, F., Wang, X., Yanoso, J., & Niyibizi, C. (2008). Distribution of murine adipose-derived mesenchymal stem cells in vivo following transplantation in developing mice. *Stem cells and development*, 17(2), 303–314. <https://doi.org/10.1089/scd.2007.0086>
60. Lin, J. T., Wang, J. Y., Chen, M. K., Chen, H. C., Chang, T. H., Su, B. W., & Chang, P. J. (2013). Colon cancer mesenchymal stem cells modulate the tumorigenicity of colon cancer through interleukin 6. *Experimental cell research*, 319(14), 2216–2229. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2013.06.003>
61. Lortet-Tieulent, J., Renteria, E., Sharp, L., Weiderpass, E., Comber, H., Baas, P., Bray, F., Coebergh, J. W., & Soerjomataram, I. (2015). Convergence of decreasing male and increasing female incidence rates in major tobacco-related cancers in Europe in 1988–2010. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*, 51(9), 1144–1163. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2013.10.014>
62. Luo, J., Ok Lee, S., Liang, L., Huang, C. K., Li, L., Wen, S., & Chang, C. (2014). Infiltrating bone marrow mesenchymal stem cells increase prostate cancer stem cell

- population and metastatic ability via secreting cytokines to suppress androgen receptor signaling. *Oncogene*, 33(21), 2768–2778. <https://doi.org/10.1038/onc.2013.233>
63. Macey, R., Walsh, T., Brocklehurst, P., Kerr, A. R., Liu, J. L., Lingen, M. W., Ogden, G. R., Warnakulasuriya, S., & Scully, C. (2015). Diagnostic tests for oral cancer and potentially malignant disorders in patients presenting with clinically evident lesions. *The Cochrane database of systematic reviews*, 2015(5), CD010276. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD010276.pub2>
 64. Maleki, M., Ghanbarvand, F., Reza Behvarz, M., Ejtemaei, M., & Ghadirkhomi, E. (2014). Comparison of mesenchymal stem cell markers in multiple human adult stem cells. *International journal of stem cells*, 7(2), 118–126. <https://doi.org/10.15283/ijsc.2014.7.2.118>
 65. Maushagen R, Reers S, Pfannerstill AC, Hahlbrock A, Stauber R, Rahmanzadeh R, et al. (2016) Effects of paclitaxel on permanent head and neck squamous cell carcinoma cell lines and identification of anti-apoptotic caspase 9b. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*.;142(6):1261–71.
 66. McCormick, N. J., Thomson, P. J., & Carrozzo, M. (2016). The Clinical Presentation of Oral Potentially Malignant Disorders. *Primary dental journal*, 5(1), 52–63. <https://doi.org/10.1177/205016841600500106>
 67. Mishra, P. J., & Banerjee, D. (2017). Activation and Differentiation of Mesenchymal Stem Cells. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1554, 201–209. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6759-9_13
 68. Möckelmann N, Rieckmann T, Busch CJ, Becker B, Gleißner L, Hoffer K, et al. (2016) Effect of sorafenib on cisplatin-based chemoradiation in head and neck cancer cells. *Oncotarget*.;7(17):23542–51.
 69. Mohammadi Najafabadi, M., Shamsasenjan, K., & Akbarzadehlaleh, P. (2018). The Angiogenic Chemokines Expression Profile of Myeloid Cell Lines Co-Cultured with Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Cell journal*, 20(1), 19–24. <https://doi.org/10.22074/cellj.2018.4924>
 70. Montague MJ, Li G, Gandolfi B, Khan R, Aken BL, Searle SM, et al (2014). Comparative analysis of the domestic cat genome reveals genetic signatures underlying feline

- biology and domestication. *Proceeding of National Academy of Science. USA.* 111(48):17230–5.
71. Munir, H., Ward, L., & McGettrick, H. M. (2018). Mesenchymal Stem Cells as Endogenous Regulators of Inflammation. *Advances in experimental medicine and biology*, 1060, 73–98. https://doi.org/10.1007/978-3-319-78127-3_5
72. Mupparapu, M., & Shanti, R. M. (2018). Evaluation and Staging of Oral Cancer. *Dental clinics of North America*, 62(1), 47–58. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2017.08.003>
73. Neville B.W., Damm D.D., Allen C., & Chi A.C (2015). Oral and maxillofacial pathology (4th ed.) Elsevier.
74. Nishimura, K., Semba, S., Aoyagi, K., Sasaki, H., & Yokozaki, H. (2012). Mesenchymal stem cells provide an advantageous tumor microenvironment for the restoration of cancer stem cells. *Pathobiology : journal of immunopathology, molecular and cellular biology*, 79(6), 290–306. <https://doi.org/10.1159/000337296>
75. Noguti, J., De Moura, C. F., De Jesus, G. P., Da Silva, V. H., Hossaka, T. A., Oshima, C. T., & Ribeiro, D. A. (2012). Metastasis from oral cancer: an overview. *Cancer genomics & proteomics*, 9(5), 329–335.
76. Nunez-Aguilar, J., Oliveros-Lopez, L. G., Fernandez-Olavarria, A., Torres-Lagares, D., Serrera-Figallo, M. A., Gutierrez-Corrales, A., & Gutierrez-Perez, J. L. (2018). Influence of dental treatment in place on quality of life in oral cancer patients undergoing chemoradiotherapy. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal*, 23(4), e498–e505. <https://doi.org/10.4317/medoral.22353>
77. Ohnishi Y, Inoue H, Furukawa M, Kakudo K, Nozaki M. (2012) Heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor is a potent regulator of invasion activity in oral squamous cell carcinoma. *Oncology Reports*. 27(4):954–8.
78. Omura K. (2014). Current status of oral cancer treatment strategies: surgical treatments for oral squamous cell carcinoma. *International journal of clinical oncology*, 19(3), 423–430. <https://doi.org/10.1007/s10147-014-0689-z>
79. Ozawa, H., Ranaweera, R. S., Izumchenko, E., Makarev, E., Zhavoronkov, A., Fertig, E. J., Howard, J. D., Markovic, A., Bedi, A., Ravi, R., Perez, J., Le, Q. T., Kong, C. S., Jordan, R. C., Wang, H., Kang, H., Quon, H., Sidransky, D., & Chung, C. H. (2017).

- SMAD4 Loss Is Associated with Cetuximab Resistance and Induction of MAPK/JNK Activation in Head and Neck Cancer Cells. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 23(17), 5162–5175. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-1686>
80. Paré, A., & Joly, A. (2017). Cancers de la cavité buccale : facteurs de risque et prise en charge [Oral cancer: Risk factors and management]. *Presse medicale (Paris, France : 1983)*, 46(3), 320–330. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2017.01.004>
81. Pickering CR, Zhang J, Yoo SY, Bengtsson L, Moorthy S, Neskey DM, et al. (2013) Integrative genomic characterization of oral squamous cell carcinoma identifies frequent somatic drivers. *Cancer Discov.* 3(7):770–81.
82. Pontikoglou, C., Kastrinaki, M. C., Klaus, M., Kalpadakis, C., Katonis, P., Alpantaki, K., Pangalis, G. A., & Papadaki, H. A. (2013). Study of the quantitative, functional, cytogenetic, and immunoregulatory properties of bone marrow mesenchymal stem cells in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Stem cells and development*, 22(9), 1329–1341. <https://doi.org/10.1089/scd.2012.0255>
83. Reedijk, J., & Lohman, P. H. (1985). Cisplatin: synthesis, antitumour activity and mechanism of action. *Pharmaceutisch weekblad. Scientific edition*, 7(5), 173–180. <https://doi.org/10.1007/BF02307573>
84. Ren, G., Zhao, X., Wang, Y., Zhang, X., Chen, X., Xu, C., Yuan, Z. R., Roberts, A. I., Zhang, L., Zheng, B., Wen, T., Han, Y., Rabson, A. B., Tischfield, J. A., Shao, C., & Shi, Y. (2012). CCR2-dependent recruitment of macrophages by tumor-educated mesenchymal stromal cells promotes tumor development and is mimicked by TNF α . *Cell stem cell*, 11(6), 812–824. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2012.08.013>
85. Rhee, K. J., Lee, J. I., & Eom, Y. W. (2015). Mesenchymal Stem Cell-Mediated Effects of Tumor Support or Suppression. *International journal of molecular sciences*, 16(12), 30015–30033. <https://doi.org/10.3390/ijms161226215>
86. Rich LJ, Seshadri M. (2016) Photoacoustic monitoring of tumor and normal tissue response to radiation. *Science Reports.* ;6(1):21237. <https://doi.org/10.1038/srep21237>
87. Rimal, J., Shrestha, A., Maharjan, I. K., Shrestha, S., & Shah, P. (2019). Risk Assessment of Smokeless Tobacco among Oral Precancer and Cancer Patients in Eastern

- Developmental Region of Nepal. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*, 20(2), 411–415. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2019.20.2.411>
88. Rivera C, Zandonadi FS, Sánchez-Romero C, Soares CD, Granato DC, González-Arriagada WA, et al. (2018) Agrin has a pathological role in the progression of oral cancer. *British Journal of Cancer*.;118(12):1628–38. <https://doi.org/10.1038/s41416-018-0135-5>
89. Rivera C. (2015). Essentials of oral cancer. *International journal of clinical and experimental pathology*, 8(9), 11884–11894.
90. Rossa C Jr, D’Silva NJ. (2019) Immune-relevant aspects of murine models of head and neck cancer. *Oncogene*.;38(21):3973–88.
91. Sagar, J., Chaib, B., Sales, K., Winslet, M., & Seifalian, A. (2007). Role of stem cells in cancer therapy and cancer stem cells: a review. *Cancer cell international*, 7, 9. <https://doi.org/10.1186/1475-2867-7-9>
92. Senst, C., Nazari-Shafti, T., Kruger, S., Höner Zu Bentrup, K., Dupin, C. L., Chaffin, A. E., Srivastav, S. K., Wörner, P. M., Abdel-Mageed, A. B., Alt, E. U., & Izadpanah, R. (2013). Prospective dual role of mesenchymal stem cells in breast tumor microenvironment. *Breast cancer research and treatment*, 137(1), 69–79. <https://doi.org/10.1007/s10549-012-2321-0>
93. Senthebane, D. A., Rowe, A., Thomford, N. E., Shipanga, H., Munro, D., Mazeedi, M., Almazyadi, H., Kallmeyer, K., Dandara, C., Pepper, M. S., Parker, M. I., & Dzobo, K. (2017). The Role of Tumor Microenvironment in Chemoresistance: To Survive, Keep Your Enemies Closer. *International journal of molecular sciences*, 18(7), 1586. <https://doi.org/10.3390/ijms18071586>
94. Sharma P, Saxena S, Aggarwal P. (2010) Trends in the epidemiology of oral squamous cell carcinoma in Western UP: An institutional study. *Indian Journal of Dental Research* ;21:316-9.
95. Sharrett, J. M., Ward, M. C., Murray, E., Scharpf, J., Lamarre, E. D., Prendes, B. L., Lorenz, R. R., Burkey, B. B., Koyfman, S. A., Woody, N. M., Greskovich, J. F., Adelstein, D. J., Geiger, J. L., & Joshi, N. P. (2019). Tumor Volume Useful Beyond Classic Criteria

- in Selecting Larynx Cancers For Preservation Therapy. *The Laryngoscope*, 10.1002/lary.28396. Advance online publication. <https://doi.org/10.1002/lary.28396>
96. Shin YS, Cha HY, Lee BS, Kang SU, Hwang HS, Kwon HC, et al. (2016) Anti-cancer effect of luminacin, a marine microbial extract, in head and neck squamous cell carcinoma progression via autophagic cell death. *Cancer Research and Treatment*.;48(2):738–52.
97. Shinohara H, Kuranaga Y, Kumazaki M, Sugito N, Yoshikawa Y, Takai T, et al. (2017). Regulated Polarization of Tumor-Associated Macrophages by miR-145 via Colorectal Cancer-Derived Extracellular Vesicles. *Journal of Immunology* ;199(4):1505–15.
98. Soltero-Rivera MM, Krick EL, Reiter AM, Brown DC, Lewis JR.(2014) Prevalence of regional and distant metastasis in cats with advanced oral squamous cell carcinoma: 49 cases (2005-2011). *J Feline Medicine and Surgery*.;16(2):164–9.
99. St Germain, C., Niknejad, N., Ma, L., Garbuio, K., Hai, T., & Dimitroulakos, J. (2010). Cisplatin induces cytotoxicity through the mitogen-activated protein kinase pathways and activating transcription factor 3. *Neoplasia (New York, N.Y.)*, 12(7), 527–538. <https://doi.org/10.1593/neo.92048>
100. Su, H., Luo, Q., Xie, H., Huang, X., Ni, Y., Mou, Y., & Hu, Q. (2015). Therapeutic antitumor efficacy of tumor-derived autophagosome (DRibble) vaccine on head and neck cancer. *International journal of nanomedicine*, 10, 1921–1930. <https://doi.org/10.2147/IJN.S74204>
101. Sun S, Zhang Z. (2016) Patient-derived xenograft platform of OSCC: a renewable human bio-bank for preclinical cancer research and a new co-clinical model for treatment optimization. *Front Med*.;10(1):104–10. <https://doi.org/10.1007/s11684-016-0432-4>
102. Sun, B., Roh, K. H., Park, J. R., Lee, S. R., Park, S. B., Jung, J. W., Kang, S. K., Lee, Y. S., & Kang, K. S. (2016). Therapeutic potential of mesenchymal stromal cells in a mouse breast cancer metastasis model. *Cytotherapy*, 11(3), 289–298. <https://doi.org/10.1080/1465324>

103. Sun, X. Y., Nong, J., Qin, K., Warnock, G. L., & Dai, L. J. (2011). Mesenchymal stem cell-mediated cancer therapy: A dual-targeted strategy of personalized medicine. *World journal of stem cells*, *3*(11), 96–103. <https://doi.org/10.4252/wjsc.v3.i11.96>
104. Suzuki, K., Sun, R., Origuchi, M., Kanehira, M., Takahata, T., Itoh, J., Umezawa, A., Kijima, H., Fukuda, S., & Saijo, Y. (2011). Mesenchymal stromal cells promote tumor growth through the enhancement of neovascularization. *Molecular medicine (Cambridge, Mass.)*, *17*(7-8), 579–587. <https://doi.org/10.2119/molmed.2010.00157>
105. Szadvari I, Krizanova O, Babula P. (2016) Athymic nude mice as an experimental model for cancer treatment. *Physiological Research*; 65 Suppl 4:S441–53.
106. Szaniszló P, Fennwald SM, Qiu S, Kantara C, Shilagard T, Vargas G, et al. (2014) Temporal characterization of lymphatic metastasis in an orthotopic mouse model of oral cancer. *Head Neck*;36(11):1638–47.
107. Teo, G. S., Ankrum, J. A., Martinelli, R., Boetto, S. E., Simms, K., Sciuto, T. E., Dvorak, A. M., Karp, J. M., & Carman, C. V. (2012). Mesenchymal stem cells transmigrate between and directly through tumor necrosis factor- α -activated endothelial cells via both leukocyte-like and novel mechanisms. *Stem cells (Dayton, Ohio)*, *30*(11), 2472–2486. <https://doi.org/10.1002/stem.1198>
108. Tögel, F., Yang, Y., Zhang, P., Hu, Z., & Westenfelder, C. (2008). Bioluminescence imaging to monitor the in vivo distribution of administered mesenchymal stem cells in acute kidney injury. *American journal of physiology. Renal physiology*, *295*(1), F315–F321. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00098.2008>
109. Torre, L. A., Bray, F., Siegel, R. L., Ferlay, J., Lortet-Tieulent, J., & Jemal, A. (2015). Global cancer statistics, 2012. *CA: a cancer journal for clinicians*, *65*(2), 87–108. <https://doi.org/10.3322/caac.21262>
110. Uchibori, R., Tsukahara, T., Mizuguchi, H., Saga, Y., Urabe, M., Mizukami, H., Kume, A., & Ozawa, K. (2013). NF- κ B activity regulates mesenchymal stem cell accumulation at tumor sites. *Cancer research*, *73*(1), 364–372. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-0088>
111. Valdez, J. A., & Brennan, M. T. (2018). Impact of Oral Cancer on Quality of Life. *Dental clinics of North America*, *62*(1), 143–154. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2017.09.001>

112. Varela-Centelles, P., Seoane, J., Lopez-Cedrun, J. L., Fernandez-Sanroman, J., García-Martin, J. M., Takkouche, B., Alvarez-Novoa, P., & Seoane-Romero, J. M. (2018). The length of patient and primary care time interval in the pathways to treatment in symptomatic oral cancer. A quantitative systematic review. *Clinical otolaryngology : official journal of ENT-UK ; official journal of Netherlands Society for Oto-Rhino-Laryngology & Cervico-Facial Surgery*, *43*(1), 164–171. <https://doi.org/10.1111/coa.12919>
113. Villa, A., & Akintoye, S. O. (2018). Dental Management of Patients Who Have Undergone Oral Cancer Therapy. *Dental clinics of North America*, *62*(1), 131–142. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2017.08.010>
114. Wang, S., Qu, X., & Zhao, R. C. (2012). Clinical applications of mesenchymal stem cells. *Journal of hematology & oncology*, *5*, 19. <https://doi.org/10.1186/1756-8722-5-1>
115. Ward, M. C., Shah, C., Adelstein, D. J., Geiger, J. L., Miller, J. A., Koyfman, S. A., & Singer, M. E. (2017). Cost-effectiveness of nivolumab for recurrent or metastatic head and neck cancer. *Oral oncology*, *74*, 49–55. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2017.09.017>
116. Warnakulasuriya S. (2009). Causes of oral cancer--an appraisal of controversies. *British dental journal*, *207*(10), 471–475. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2009.1009>
117. Warner BM, Casto BC, Knobloch TJ, Accurso BT, Weghorst CM. (2014) Chemoprevention of oral cancer by topical application of black raspberries on high at-risk mucosa. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology*;118(6):674–83.
118. Wong, T., & Wiesenfeld, D. (2018). Oral Cancer. *Australian dental journal*, *63* Suppl 1, S91–S99. <https://doi.org/10.1111/adj.12594>
119. Workman, P., Aboagye, E. O., Balkwill, F., Balmain, A., Bruder, G., Chaplin, D. J., Double, J. A., Everitt, J., Farningham, D. A., Glennie, M. J., Kelland, L. R., Robinson, V., Stratford, I. J., Tozer, G. M., Watson, S., Wedge, S. R., Eccles, S. A., & Committee of the National Cancer Research Institute (2010). Guidelines for the welfare and use of animals in cancer research. *British journal of cancer*, *102*(11), 1555–1577. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605642>

120. World Health Organisation (2019). Cancer fact sheets: lip, oral cavity. Author: <https://gco.iarc.fr/today/fact-sheets-cancers>
121. Wu TF, Chen L, Bu LL, Gao J, Zhang WF, Jia J. (2017) CD44+ cancer cell-induced metastasis: A feasible neck metastasis model. *European Journal of Pharmaceutical Science*.;101:243–50.
122. Xu, H., Zhou, Y., Li, W., Zhang, B., Zhang, H., Zhao, S., Zheng, P., Wu, H., & Yang, J. (2018). Tumor-derived mesenchymal-stem-cell-secreted IL-6 enhances resistance to cisplatin via the STAT3 pathway in breast cancer. *Oncology letters*, *15*(6), 9142–9150. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.8463>
123. Xu, Z., Xiong, D., Zhang, J., Zhang, J., Chen, X., Chen, Z., & Zhan, R. (2018). Bone marrow stromal cells enhance the survival of chronic lymphocytic leukemia cells by regulating HES-1 gene expression and H3K27me3 demethylation. *Oncology letters*, *15*(2), 1937–1942. <https://doi.org/10.3892/ol.2017.7450>
124. Yete, S., D'Souza, W., & Saranath, D. (2018). High-Risk Human Papillomavirus in Oral Cancer: Clinical Implications. *Oncology*, *94*(3), 133–141. <https://doi.org/10.1159/000485322>
125. Zhang, X., Zhang, L., Tan, X., Lin, Y., Han, X., Wang, H., Ming, H., Li, Q., Liu, K., & Feng, G. (2018). Systematic analysis of genes involved in oral cancer metastasis to lymph nodes. *Cellular & molecular biology letters*, *23*, 53. <https://doi.org/10.1186/s11658-018-0120-2>
126. Zhao, Z., Wang, Z., Li, Q., Li, W., You, Y., & Zou, P. (2012). The different immunoregulatory functions of mesenchymal stem cells in patients with low-risk or high-risk myelodysplastic syndromes. *PloS one*, *7*(9), e45675. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045675>
127. Zheng, Y., Wang, G., Chen, R., Hua, Y., & Cai, Z. (2018). Mesenchymal stem cells in the osteosarcoma microenvironment: their biological properties, influence on tumor growth, and therapeutic implications. *Stem cell research & therapy*, *9*(1), 22. <https://doi.org/10.1186/s13287-018-0780-x>
128. Zhou, C. K., Check, D. P., Lortet-Tieulent, J., Laversanne, M., Jemal, A., Ferlay, J., Bray, F., Cook, M. B., & Devesa, S. S. (2016). Prostate cancer incidence in 43 populations

- worldwide: An analysis of time trends overall and by age group. *International journal of cancer*, 138(6), 1388–1400. <https://doi.org/10.1002/ijc.29894>
129. Zhu, Y., Sun, Z., Han, Q., Liao, L., Wang, J., Bian, C., Li, J., Yan, X., Liu, Y., Shao, C., & Zhao, R. C. (2015). Human mesenchymal stem cells inhibit cancer cell proliferation by secreting DKK-1. *Leukemia*, 23(5), 925–933. <https://doi.org/10.1038/leu.2008.384>
130. Zong, C., Zhang, H., Yang, X., Gao, L., Hou, J., Ye, F., Jiang, J., Yang, Y., Li, R., Han, Z., & Wei, L. (2018). The distinct roles of mesenchymal stem cells in the initial and progressive stage of hepatocarcinoma. *Cell death & disease*, 9(3), 345. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0366-7>
131. დაავადებათა კონტროლის ეროვნული ცენტრი (2018). კიბოს პოპულაციური რეგისტრის სამი წლის შედეგები. საქართველო. 2015–2017. თბილისი, საქართველო. ავტორი <https://www.ncdc.ge/Handlers/GetFile.ashx?ID=8d23d768-d885-4756-b631-33f3c623057a>
132. საქართველოს ოკუპირებული ტერიტორიებიდან დევნილთა, შრომის, ჯანმრთელობისა და სოციალური დაცვის სამინისტრო (2014). პირხახის კიბოს რადიოთერაპია. პროტოკოლი. თბილისი, საქართველო. ავტორი <https://www.moh.gov.ge/ka/guidelines/>

გამოქვეყნებული ნაშრომების სია

1. Zurmukhtashvili, M., Machavariani, A., Dugashvili, G., Grdzelidze, T., Gogilashvili, K., Menabde, G., Abiatari, I., & Marks, L. (2020). Mesenchymal stem cell transplantation attenuates growth of chemotherapy treated oral squamous cell carcinoma in an animal model. *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*, 49(7), 655–664. <https://doi.org/10.1111/jop.13006>
2. Machavariani, A., Menabde, G., & Zurmukhtashvili, M. (2019). Guided regeneration of jaw bone defects with combination of osteoplastic materials and stem cells. *Georgian medical news*, (290), 131–135.
3. Karalashvili L, Chichua N, Menabde G, Zurmukhtashvili M (2017) Decellularized Bovine Bone Graft for Zygomatic Bone Reconstruction. *Med Case Rep* Vol.4 No.1:52. <https://doi.org/10.21767/2471-8041.100087>
4. Gogilashvili, K., Zurmukhtashvili, M., Tsiklauri, M., Imnadze, I., & Amiranashvili, I. (2013). Laser induced fluorescence spectroscopy for detection of erlikh adenocarcinoma (a pilot study). *Georgian medical news*, (223), 76–80.
5. Tsiklauri, M., Zurmukhtashvili, M., Kurashvili, T., Gogilashvili, K., & Amiranashvili, I. (2012). Characterization of oral squamous cell cancer in nude mice model. *Georgian medical news*, (203), 52–57.

მოხსენებები ნაშრომის თემაზე

1. “პირის ღრუს ლორწოვანი გარსის სიმსივნურ დაავადებათა დიფერენციალური დიაგნოსტიკის უახლესი პრინციპები “ - “დენტალ-თბილისობა 2019”, თბილისი, საქართველო, 2019
2. “ათიმურ თავგში პირის ღრუს სქუამოზური კიბოს მოდელის თავისებურებები” - თბილისის სტომატოლოგთა საერთაშორისო კონგრესი, თბილისი, საქართველო 2013
3. “პირის ღრუს ეპითელური კიბოს მკურნალობა კომბინირებული - ქიმიოთერაპიული და მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ტრანსპლანტაციის მეთოდებით- კვლევის წინასწარი შედეგები” - საქართველოს სტომატოლოგთა ასოციაციის საერთაშორისო კონგრესი, 2013 წელი ბათუმი, საქართველო