

Klinichna khirurgiia. 2019 February;86(2):74-78.
DOI: 10.26779/2522-1396.2019.02.74

Перспективы применения в нейрорегенеративной хирургии обогащенного тромбоцитами фибринового матрикса

В. И. Цымбалюк, И. Г. Васильева

Институт нейрохирургии имени А. П. Ромоданова НАМН Украины, г. Киев

Perspectives of application of the fibrin matrix, enhanced by thrombocytes, in neuroregenerative surgery

V. I. Tsybalyuk, I. G. Vasylieva

Institute of Neurosurgery named after A. P. Romodanov NAMS of Ukraine, Kyiv

Целью современной хирургии является снижение инвазивности и ускорение процесса восстановления. В последние годы в научной литературе введен термин «регенеративная хирургия» и обозначились технологии нового направления. Среди существующих инструментов необходимо выделить матрикс, клетки, биологически активные факторы. В нейрорегенеративной хирургии эффективные матрикс особенно важны. Их использование позволяет заполнять полости с заселением клеток. Они служат проводниками для прорастания нервов. В настоящее время разработано множество матриксов на основе природных и искусственных материалов. Однако в нейрохирургии эти продукты не нашли широкого применения из-за недостаточной биосовместимости. Функционализации материалов для нейрорегенерации посвящено много работ. Хорошие результаты дает сополимеризация матриксов с природными компонентами экстраклеточной среды.

Получившие в последнее время популярность обогащенные тромбоцитами биоматериалы лишены многих недостатков искусственных матриксов. Наиболее широко представлены обогащенный тромбоцитами фибрин (ОТФ), обогащенная тромбоцитами плазма (ОТП) и обогащенная факторами роста плазма (ОФРП). Эти материалы биосовместимы, неиммуногенны, легко биодеградируют, не содержат в своем составе чужеродных молекул. Среди их преимуществ также простота получения, что снижает возможность ошибки оператора. Тромбоциты, входящие в состав этих материалов, градиентно высвобождают в экстраклеточную среду биоактивные молекулы, которые способствуют регенерации ткани. Биологически активные молекулы присутствуют в необходимых концентрациях и необходимых сочетаниях, что обеспечивает формирование функционально полноценной ткани. ОТФ можно использовать как наполнитель хирургических полостей, обладающий свойством адгезировать целевые молекулы. Этот матрикс перед использованием можно заселить клетками, насытить факторами дифференцировки или лекарственными препаратами.

Целью настоящей работы является анализ свойств матрикса на основе ОТФ, отличающих его от других природных и искусственных биополимеров и определяющих преи-

мущества его использования для нейрорегенерации, а также анализ работ, посвященных применению ОТФ в экспериментальных исследованиях и в клинике.

Недостаточная биосовместимость синтетических матриксов – ограничение к применению в нейрорегенеративной медицине. Актуальным вопросом нейрорегенеративной медицины является создание эффективных матриксов. В настоящее время разработаны матриксы на основе природных материалов – полисахаридов: алгинатов, хитина, хитозана, гепарина, хондроитина; протеогликанов и протеинов: коллагена, желатина, фибрина, кератина, шелкового фиброина, мембраны яичной скорлупы. С использованием методов электро- и магнитоформования получены новые полимерные материалы микро/наноприфириллы на основе полигликолевой, полимолочной, полиакриловой кислот, поли-ε-капролактона, поливинилпирролидона, поливинилового спирта, полиэтиленгликоля [1, 2].

Несмотря на множество существующих матриксов в нейрорегенеративной медицине, их применение ограничено и необходимо их дальнейшее усовершенствование. Основное ограничение к применению – недостаточная биосовместимость. Синтетические матриксы при внутримышечном и подкожном введении через 1 год после имплантации генерируют массивную реакцию на инородное тело, включая и присутствие мультиядерных фагоцитов. Матрикс на основе L-ПЛА и L-ПЛА с сополимерами способствуют накоплению инфильтрата. Воспалительный процесс также характеризуется вращением сосудов и формированием фиброзной ткани в порах матрикса. При имплантации матриксов подкожно и внутримышечно частицы полимера обнаруживаются внутри фагоцитирующих клеток. Остатки матрикса могут обнаруживаться и через 1 год после трансплантации [3].

Биосовместимость матриксов значительно повышается, если они сополимеризуются с компонентами нативного экстраклеточного матрикса – ламинином, коллагеном, желатином. Присутствие компонентов естественного экстраклеточного матрикса в искусственном материале на основе полимолочной кислоты кардинально влияет на пролиферацию, дифференциацию и рост стволовых нейрональных

клеток, а также синтез этими клетками NGF и VEGF в эксперименте. Функционализация матрикса значительно активизирует элонгацию отростков [4]. Заселение матрикса клетками также улучшает его свойства как тканевой конструкции. При создании пор в полимолочном полимере путем импрегнации клетками слизистой оболочки наблюдается более активное его заселение хондроцитами пульпозного ядра и их пролиферация [5].

Задача нейрорегенерации состоит в необходимости не только обеспечить биомеханическое восстановление и количественное внесение недостающих клеточных элементов, их приживление и функционирование, но и их интегрирование в существующие нейрональные взаимодействия и, соответственно, восполнение недостающих звеньев функционирования. Проведенные исследования определили требования к идеальным матриксам. Матрицы должны быть биосовместимыми, биодegradирующими, иммуноинертными, способными обеспечить диффузию всех молекул, обычно присутствующих в экстраклеточной жидкости, а также локомоцию нейрональных клеток и формирование адекватной нейрональной ткани для замещения тканевого дефекта и восстановления функции [6].

Обогащенный тромбоцитами фибрин – биосовместимый аутоматрикс. ОТФ является новой революционной концепцией применения тромбоцитов в составе фибринового геля [7] и может быть аутологичным материалом, приготовленным непосредственно перед употреблением без химических и биохимических манипуляций. Процедура получения проста и экономически эффективна. Не требуется использование белков животного происхождения. Отсутствуют иммуноконфликты [8]. Структура фибринового геля не препятствует движению экстраклеточной жидкости и содержащихся в ней макромолекул [9]. ОТФ может быть получен и заселен аутоклетками в течение нескольких часов непосредственно при полимеризации, а среда может быть насыщена факторами направленной дифференцировки [10]. Пептидные связи фибрина при росте отростков или локомоции клеток разрушаются секретруемыми протеазами [11]. В состав фибрина входит широкий спектр аминокислот, в том числе и незаменимые – изолейцин, лейцин, лизин, метионин, треонин, триптофан, фенилаланин. Эти аминокислоты после протеолитического расщепления фибрина включаются в анаболический метаболизм клеток [12]. Фибриновый матрикс, в отличие от искусственных полимерных матриксов, обладает специфическими адгезивными свойствами, что способствует привлечению потенциальных нейрональных предшественников [13].

В отсутствие антикоагулянта плазма, обогащенная тромбоцитами, используется как инъекционный обогащенный тромбоцитами фибрин (и–ОТФ). Освобождающиеся после активации тромбоцитов биологически активные компоненты распространяются в транзитном трехмерном фибриновом матриксе [14]. И–ОТФ вводится интранеурально в качестве жидкого инъекционного матрикса, ОТФ используется в виде полимеризованного гибкого вязкого материала для обертывания вокруг разрывов нервов, возможно также применение этих материалов одновременно [15]. Тканевой фибринолиз расщепляет фибрин, тем самым способствуя высвобождению биологически активных молекул, таких как NGF, BDNF, IGF–1, PDGF, VEGF, HGF, фибронектин, витронектин [16].

Биоактивирующие свойства ОТФ. Многие свойства ОТФ определяются присутствием в его составе тромбоцитов – депо биоактивных молекул. Тромбоциты являются транспортерами более 1500 биомолекул, обеспечивающих привлечение нужных для репарации клеток, их активацию и пролиферацию. К ним относятся митогены, нейротрофины, факторы роста: BDNF, NGF, FGF, EGF, PDGF, VEGF, IGF, CTGF, BMP, HGF, а также цитокины, хемокины, адгезивные протеины, протеазы и антипротеазы, ферменты, факторы транскрипции, аденозиндифосфат, серотонин, гистамин [17]. Важно, что эти компоненты присутствуют в биологически обоснованных соотношениях. Для многих биоактивных молекул тромбоцитов известно нейрогенное и нейропротекторное действие в центральной нервной системе взрослого организма. Сигналы BDNF, NGF, FGF, EGF, PDGF, VEGF, IGF, CTGF, BMP, HGF проходят через PI3K/Akt/Nf–kB, MAPK, STAT, PLC и другие эффекторные сигнальные пути. Для каждого фактора не существует уникального гена, который бы он активировал. Активация экспрессии того или иного гена зависит от типа клетки и стадии ее дифференцировки [18].

EGF, FGF – митогены влияют на пролиферативную активность в нейрогенных зонах [19, 20]; IGF–I активизирует пролиферацию и дифференцировку нейрональных стволовых клеток по нейронному и глиальному пути [21]; HGF оказывает влияние на подвижность недифференцированных нейронов на ранних стадиях [22]. PDGF экспрессируется во многих нейрональных клетках, активация его сигнальных путей защищает клетку от апоптоза [23]. CTGF (фактор роста соединительной ткани), опосредующий действие TGF–beta, фиброгенный пептид, кодируемый немедленно ранними генами, имеет значение в регенерации ткани, в частности в поддержании функции гематоэнцефалического барьера и ангиогенеза [24]. VEGF имеет особое значение в защите клеток взрослого мозга от ишемии. BMP участвует в динамическом регулировании нейрогенеза взрослого мозга сигналами исходящих от микроокружения нервных стволовых клеток [25]. BMP – морфоген, который действует на близком расстоянии, осуществляя тонкую настройку процесса нейрогенеза, экспансии прогениторов и ускорения дифференцирования прогениторов [26].

NGF и BDNF (факторы роста нервов) активизируют G–белки семейства RAS, RAPI, G–белки семейства RHO – CDC42 –RAC, сигнальные пути MAPK и PI3K. В результате генерируются различные биологические установки, зависящие от типа клетки и особенностей эффекторных молекул. Сигналы факторов роста нервов определяют жизнеспособность и пролиферацию нейрональных предшественников, рост аксонов, дендритов и синаптогенез, экспрессию функционально важных протеинов [18]. BDNF – нейротрофин во взрослом мозге определяет метаболические установки, способствующие выживанию нейронов, поддержанию функций синапсов, выброса нейромедиаторов, росту аксонов в центральной и периферической нервных системах взрослого организма. Рецептор BDNF TRKB экспрессируется в нейронах руброспинального, ретикулоспинального, вестибулоспинального трактов спинного мозга, таким образом, BDNF является генеральным индуктором роста и миелинизации аксонов [27].

Комплекс биоактивных молекул делает ОТФ не только пассивным материалом, обеспечивающим механическую поддержку нервным клеткам, но и активатором их жизне-

применения новой технологии также наблюдали регенерацию костной ткани [42].

Выводы

Предварительные исследования применения биоматериалов, обогащенных тромбоцитами, подтверждают перспективность их использования для нейрорегенерации. Это решит многие проблемы, над которыми работают биотехнологи: биосовместимость, неиммуногенность, биodeградируемость. Эти материалы легко приготовить по заданным параметрам незадолго до использования. Они могут быть полностью аутологичными, что снимает этические проблемы. Нет необходимости насыщать их искусственными продуктами, стимулирующими биопроцессы. Входящие в состав ОТФ тромбоциты – природные депо факторов репарации нейрогенеза и регуляции функций. Однако еще должна быть выполнена значительная работа по стандартизации режимов получения, хранения, концентрации и введения биологически активных факторов, а также определению показаний и противопоказаний к их использованию.

Підтвердження

Фінансування

Це дослідження є фрагментом НДР «Дослідити молекулярно-клітинні взаємодії стовбурових мезенхімальних та нейрональних клітин з компонентами фібринового матриксу in vitro для активізації нейрорегенеративних процесів». Фінансування за рахунок бюджету.

Інформація про внесок кожного учасника

В. І. Цимбалюк – концепція та дизайн огляду літератури, редагування тексту. І. Г. Васильєва – збір та опрацювання матеріалу, написання тексту.

Всі автори прочитали і схвалили остаточний варіант рукопису.

Конфлікт інтересів

Автори, які взяли участь в цьому дослідженні, заявили, що у них немає конфлікту інтересів щодо цього рукопису.

Згода на публікацію

Всі автори дали згоду на публікацію цього рукопису.

References

- Edgar L, McNamara K, Wong T, Tamburrini R, Katari R, Orlando G. Heterogeneity of Scaffold Biomaterials in Tissue Engineering. *Materials* (Basel). 2016 May 3;9(5). pii: E332. <http://doi.org/10.3390/ma9050332>.
- Bhattarai DP, Aguilar LE, Park CH, Kim CS. A Review on Properties of Natural and Synthetic Based Electrospun Fibrous Materials for Bone Tissue Engineering. *Membranes* (Basel). 2018 Aug 14; 8(3). pii: E62. <http://doi.org/10.3390/membranes8030062>.
- Beumer GJ, van Blitterswijk CA, Ponc M. Degradative behaviour of polymeric matrices in (sub)dermal and muscle tissue of the rat: a quantitative study. *Biomaterials*. 1994 Jun;15(7):551–9. PMID: 7918908
- Alessandri M, Lizzo G, Gualandi C, Mangano C, Giuliani A, Focarete ML, et al. Influence of biological matrix and artificial electrospun scaffolds on proliferation, differentiation and trophic factor synthesis of rat embryonic stem cells. *Matrix Biol*. 2014 Jan;33:68–76. <http://doi.org/10.1016/j.matbio.2013.08.001>.
- Kim SH, Song JE, Lee D, Khang G. Development of poly (lactide-co-glycolide) scaffold-impregnated small intestinal submucosa with pores that stimulate extracellular matrix production in disc regeneration. *J Tissue Eng Regen Med*. 2014 Apr;8(4):279–90. <http://doi.org/10.1002/term.1520>.
- Mosher CZ, Spalazzi JP, Lu HH. Stratified scaffold design for engineering composite tissues. *Methods*. 2015 Aug;84:99–102. <http://doi.org/10.1016/j.ymeth.2015.03.029>.
- Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006 Mar;101(3):e37–44. <http://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.008>
- Piccin A, Di Pierro AM, Canzian L, Primerano M, Corvetta D, Negri G, et al. Platelet gel: a new therapeutic tool with great potential. *Blood Transfus*. 2017 Jul;15(4):333–40. doi: 10.2450/2016.0038–16. Epub 2016 Jul 25.
- Schär MO, Diaz-Romero J, Kohl S, Zumstein MA, Nestic D. Platelet-rich concentrates differentially release growth factors and induce cell migration in vitro. *Clin Orthop Relat Res*. 2015 May;473(5):1635–43. <http://doi.org/10.1007/s11999-015-4192-2>.
- Bahmanpour S, Ghasemi M, Sadeghi-Naini M, Kashani IR. Effects of Platelet-Rich Plasma & Platelet-Rich Fibrin with and without Stromal Cell-Derived Factor-1 on Repairing Full-Thickness Cartilage Defects in Knees of Rabbits. *Iran J Med Sci*. 2016 Nov;41(6):507–17. PMID: 27853331
- Isobe K, Watanabe T, Kawabata H, Kitamura Y, Okudera T, Okudera H, et al. Mechanical and degradation properties of advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), concentrated growth factors (CGF), and platelet-poor plasma-derived fibrin (PPTF). *Int J Implant Dent*. 2017 Dec;3(1):17. <http://doi.org/10.1186/s40729-017-0081-7>.
- Xie X, Zhang C, Tuan RS. Biology of platelet-rich plasma and its clinical application in cartilage repair. *Arthritis Res Ther*. 2014 Feb 25;16(1):204. <http://doi.org/10.1186/ar4493>.
- Wu CL, Lee SS, Tsai CH, Lu KH, Zhao JH, Chang YC. Platelet-rich fibrin increases cell attachment, proliferation and collagen-related protein expression of human osteoblasts. *Aust Dent J*. 2012 Jun;57(2):207–12. <http://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2012.01686.x>.
- Wang X, Zhang Y, Choukroun J, Ghanati S, Miron RJ. Behavior of Gingival Fibroblasts on Titanium Implant Surfaces in Combination with either Injectable-PRF or PRP. *Int J Mol Sci*. 2017 Feb 4;18(2). pii: E331 <http://doi.org/10.3390/ijms18020331>.
- Sánchez M, Anitua E, Delgado D, Sanchez P, Prado R, Orive G, et al. Platelet-rich plasma, a source of autologous growth factors and biomimetic scaffold for peripheral nerve regeneration. *Expert Opin Biol Ther*. 2017 Feb;17(2):197–212. <http://doi.org/10.1080/14712598.2017.1259409>.
- Roh YH, Kim W, Park KU, Oh JH. Cytokine-release kinetics of platelet-rich plasma according to various activation protocols. *Bone Joint Res*. 2016 Feb;5(2):37–45. <http://doi.org/10.1302/2046-3758.52.2000540>.
- Mussano F, Genova T, Munaron L, Petrillo S, Erovigni F, Carossa S. Cytokine, chemokine, and growth factor profile of platelet-rich plasma. *Platelets*. 2016 Jul;27(5):467–71. <http://doi.org/10.3109/09537104.2016.1143922>.
- Huang EJ, Reichardt LF. Trk receptors: roles in neuronal signal transduction. *Annu Rev Biochem*. 2003 Mar 27;72:609–42. <http://doi.org/10.1146/annurev.biochem.72.121801.161629>
- Galvez-Contreras AY, Quiñones-Hinojosa A, Gonzalez-Perez O. The role of EGFR and ErbB family related proteins in the oligodendrocyte specification in germinal niches of the adult mammalian brain. *Front Cell Neurosci*. 2013 Dec 17;7:258. <http://doi.org/10.3389/fncel.2013.00258>.
- Woodbury ME, Ikezu T. Fibroblast growth factor-2 signaling in neurogenesis and neurodegeneration. *J Neuroimmune Pharmacol*. 2014 Mar;9(2):92–101. <http://doi.org/10.1007/s11481-013-9501-5>.
- Nieto-Estévez V, Defterali Ç, Vicario-Abejón C. IGF-I: A Key Growth Factor that Regulates Neurogenesis and Synaptogenesis from Embryonic to Adult Stages of the Brain. *Front Neurosci*. 2016 Feb 23;10:52. <http://doi.org/10.3389/fnins.2016.00052>.
- Cacci E, Salani M, Anastasi S, Perroteau I, Poiana G, Biagioni S, et al. Hepatocyte growth factor stimulates cell motility in cultures of the striatal progenitor cells ST14A. *J Neurosci Res*. 2003 Dec 1;74(5):760–8. <http://doi.org/10.1002/jnr.10799>
- Funa K, Sasahara M. The roles of PDGF in development and during neurogenesis in the normal and diseased nervous system. *J Neuroimmune Pharmacol*. 2014 Mar;9(2):168–81. <http://doi.org/10.1007/s11481-013-9479-z>.
- Schwab JM, Beschoner R, Nguyen TD, Meyermann R, Schluesener HJ. Differential cellular accumulation of connective tissue growth factor defines a subset of reactive astrocytes, invading fibroblasts, and endothelial cells following central nervous system injury in rats and humans. *J Neurotrauma*. 2001 Apr;18(4):377–88. <http://doi.org/10.1089/089771501750170930>
- Sun FY, Guo X. Molecular and cellular mechanisms of neuroprotection by vascular endothelial growth factor. *J Neurosci Res*. 2005 Jan 1–15;79(1–2):180–4. <http://doi.org/10.1002/jnr.20321>
- Choe Y, Pleasure SJ, Mira H. Control of Adult Neurogenesis by Short-Range Morphogenic-Signaling Molecules. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2015 Dec 4;8(3):a018887. <http://doi.org/10.1101/cshperspect.a018887>.

27. Keefe KM, Sheikh IS, Smith GM. Targeting Neurotrophins to Specific Populations of Neurons: NGF, BDNF, and NT-3 and Their Relevance for Treatment of Spinal Cord Injury. *Int J Mol Sci*. 2017 Mar 3;18(3). pii: E548. <http://doi.org/10.3390/ijms18030548>.
28. Kim JY, Jeon WJ, Kim DH, Rhyu IJ, Kim YH, Youn I, et al. An inside-out vein graft filled with platelet-rich plasma for repair of a short sciatic nerve defect in rats. *Neural Regen Res*. 2014;9:1351–1357. <http://doi.org/10.4103/1673-5374.137587>
29. Sabongi RG, De Rizzo LALM, Fernandes M, Valente SG, Gomes dos Santos JB, Faloppa F, et al. Nerve regeneration: is there an alternative to nervous graft? *J Reconstr Microsurg*. 2014 Nov;30(9):607–16. <http://doi.org/10.1055/s-0034-1372477>.
30. Lichtenfels M, Colomé L, Sebben AD, Braga-Silva J. Effect of Platelet Rich Plasma and Platelet Rich Fibrin on sciatic nerve regeneration in a rat model. *Microsurgery*. 2013 Jul;33(5):383–90. <http://doi.org/10.1002/micr.22105>.
31. Giannesi E, Coli A, Stornelli MR, Miragliotta V, Pirone A, Lenzi C, et al. An autologously generated platelet-rich plasma suturable membrane may enhance peripheral nerve regeneration after neurotomy in an acute injury model of sciatic nerve neurotmesis. *J Reconstr Microsurg*. 2014 Nov;30(9):617–26. <http://doi.org/10.1055/s-0034-1372483>.
32. Ye F, Li H, Qiao G, Chen F, Tao H, Ji A, et al. Platelet-rich plasma gel in combination with Schwann cells for repair of sciatic nerve injury. *Neural Regen Res*. 2012 Oct 15;7(29):2286–92. <http://doi.org/10.3969/j.issn.1673-5374.2012.29.007>.
33. Sariguney Y, Yavuzer R, Elmas C, Yenicesu I, Bolay H, Atabay K. Effect of platelet-rich plasma on peripheral nerve regeneration. *J Reconstr Microsurg*. 2008 Apr;24(3):159–67. <http://doi.org/10.1055/s-2008-1076752>.
34. Bertolini GRF, Kakiyama CMM, Peretti AL, Bernardino GR, Karvat J, Silva JLC, et al. Effects of the platelet-rich fibrin associated with physical exercise in a model of median nerve compression. *Motriz, Rio Claro*. 2017;23(4): e1017100. <http://doi.org/10.1590/S1980-6574201700040010>.
35. Chen NF, Sung CS, Wen ZH, Chen CH, Feng CW, Hung HC, et al. Therapeutic Effect of Platelet-Rich Plasma in Rat Spinal Cord Injuries. *Front Neurosci*. 2018 Apr 23;12:252. <http://doi.org/10.3389/fnins.2018.00252>.
36. Peden CS, Burger C, Muzyczka N, Mandel RJ. Circulating anti-wild-type adeno-associated virus type 2 (AAV2) antibodies inhibit recombinant AAV2 (rAAV2)-mediated, but not rAAV5-mediated, gene transfer in the brain. *J Virol*. 2004 Jun;78(12):6344–59. <http://doi.org/10.1128/JVI.78.12.6344-6359.2004>
37. Marshall E. Gene therapy. Second child in French trial is found to have leukemia. *Science*. 2003 Jan 17;299(5605):320. <http://doi.org/10.1126/science.299.5605.320>
38. Kuffler DP, Reyes O, Sosa IJ, Santiago-Figueroa J. Neurological recovery across a 12-cm-long ulnar nerve gap repaired 3.25 years post trauma: case report. *Neurosurgery*. 2011 Dec;69(6):E1321–6. <http://doi.org/10.1227/NEU.0b013e31822a9fd2>.
39. Malahias MA, Johnson EO, Babis GC, Nikolaou VS. Single injection of platelet-rich plasma as a novel treatment of carpal tunnel syndrome. *Neural Regen Res*. 2015 Nov;10(11):1856–9. <http://doi.org/10.4103/1673-5374.165322>.
40. Scala M, Mereu P, Spagnolo F, Massa M, Barla A, Mosci S, et al. The use of platelet-rich plasma gel in patients with mixed tumour undergoing superficial parotidectomy: a randomized study. *In Vivo*. 2014 Jan–Feb;28(1):121–4. PMID: 24425846.
41. Khojasteh A, Hosseinpour S, Nazeman P, Dehghan MM. The effect of a platelet-rich fibrin conduit on neurosensory recovery following inferior alveolar nerve lateralization: a preliminary clinical study. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2016 Oct;45(10):1303–8. <http://doi.org/10.1016/j.ijom.2016.06.003>.
42. Mendonça JJ, Juiz-Lopez P. Regenerative facial reconstruction of terminal stage osteoradionecrosis and other advanced craniofacial diseases with adult cultured stem and progenitor cells. *Plast Reconstr Surg*. 2010 Nov;126(5):1699–709. <http://doi.org/10.1097/PRS.0b013e3181f24164>.

Надійшла 19.12.2018