



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

Α΄ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθυντής: Καθηγητής κ. Διακάκος

**«ΙΣΤΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΚΑΤΑΣΚΕΥΗΣ ΩΤΙΚΟΥ
ΕΝΘΕΜΑΤΟΣ ΑΠΟ ΑΥΤΟΛΟΓΟ ΧΟΝΔΡΙΚΟ ΙΣΤΟ»**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΤΟΥ

ΣΤΕΡΟΔΗΜΑ Κ. ΑΡΙΣΤΕΙΔΗ

ΠΛΑΣΤΙΚΟΥ ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΥ

ΑΘΗΝΑ 2019

ΟΡΚΟΣ

ΟΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ
ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ, ΙΣΤΟΡΑΣ
ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ
ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΣΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ' ΗΓΗΣΕΣΘΑΙ
ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΣΚΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗ;
ΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ
ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΕΣΘΑΙ, ΚΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΕΩΥΤΟΥ ΑΔΕΛ-
ΦΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝΕΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ ΚΑΙ ΔΙΔΑΣΚΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ
ΤΑΥΤΗΝ, ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΣΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΣΥΓ-
ΓΡΑΦΗΣ, ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ
ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΕΣΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣ
ΚΑΙ ΤΟΙΣ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΣΚΑΝΤΟΣ ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΗΣΙ ΣΥΓΓΕΓΡΑΜ-
ΜΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΟΡΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩ ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ.
ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ
ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗΝ, ΕΙΡΞΕΙΝ.
ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΤΙ-
ΜΟΝ ΟΥΔΕ ΥΠΗΓΗΣΟΜΑΙ ΣΥΜΒΟΥΛΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ' ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ
ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ. ΑΓΝΩΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΞΙΩΣ
ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ. ΟΥ ΤΕΜΕΩ
ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘΙΟΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙ
ΠΡΗΞΙΟΣ ΤΗΣΔΕ. ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΞΙΩ, ΕΞΕΛΕΥΣΟΜΑΙ
ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙ-
ΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ
ΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΤΕ ΚΑΙ
ΔΟΥΛΩΝ. Α ΔΕ ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑ, Η ΪΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ
ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑ-
ΛΕΙΣΘΑΙ ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ. ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙ-
ΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΕΟΝΤΙ, ΚΑΙ
ΜΗ ΣΥΓΧΕΟΝΤΙ, ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑ-
ΖΟΜΕΝΩ, ΠΑΡΑ ΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΙΣ ΤΟΝ ΑΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ'
ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ, ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

ΙΠΠΟΚΡΑΤΗΣ

ΟΡΚΟΣ

ΟΡΚΙΖΟΜΑΙ ΕΙΣ ΤΟΝ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΤΟΝ ΙΑΤΡΟΝ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΟΝ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΗΝ ΥΓΕΙΑΝ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΗΝ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΕΙΣ ΟΛΟΥΣ ΤΟΥΣ ΘΕΟΥΣ ΚΑΙ ΕΙΣ ΟΛΑΣ ΤΑΣ ΘΕΑΣ, ΕΠΙΚΑΛΟΥΜΕΝΟΣ ΑΥΤΟΥΣ ΩΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ, ΟΤΙ ΘΑ ΤΗΡΗΣ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΡΙΣΙΝ ΜΟΥ ΑΥΤΟΝ ΕΔΩ ΤΟΝ ΟΡΚΟΝ ΚΑΙ ΑΥΤΗΝ ΕΔΩ ΤΗΝ ΕΓΓΡΑΦΟΝ ΣΥΜΦΩΝΙΑΝ. ΘΑ ΘΕΩΡΩ ΜΕΝ ΕΚΕΙΝΟΝ. Ο ΟΠΟΙΟΣ ΜΕ ΕΔΙΔΑΞΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΑΥΤΗΝ, ΙΣΟΝ ΠΡΟΣ ΤΟΥΣ ΓΟΝΕΙΣ ΜΟΥ ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΝ ΚΑΜΩ ΚΟΙΝΩΝΟΝ ΤΟΥ ΒΙΟΥ ΜΟΥ ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΝ ΒΟΗΘΩ, ΟΤΑΝ ΕΥΡΙΣΚΕΤΑΙ ΕΙΣ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗΝ ΑΝΑΓΚΗΝ, ΚΑΙ ΘΑ ΘΕΩΡΩ ΤΟΥΣ ΑΠΟΓΟΝΟΥΣ ΤΟΥ ΩΣ ΑΔΕΛΦΟΥΣ ΜΟΥ ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΥΣ ΔΙΔΑΣΚΩ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΑΥΤΗΝ. ΕΑΝ ΘΕΛΟΥΝ ΝΑ ΤΗΝ ΜΑΘΟΥΝ, ΧΩΡΙΣ ΑΜΟΙΒΗΝ ΚΑΙ ΕΓΓΡΑΦΟΝ ΣΥΜΦΩΝΙΑΝ, ΘΑ ΠΑΡΕΧΩ ΔΕ ΣΥΜΒΟΥΛΑΣ, ΕΙΔΙΚΑ ΠΡΟΦΟΡΙΚΑ ΜΑΘΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΟΛΑΣ ΤΑΣ ΥΠΟΛΟΙΠΟΥΣ ΓΝΩΣΕΙΣ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΑ ΠΑΙΔΙΑ ΜΟΥ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΑ ΠΑΙΔΙΑ ΤΟΥ ΔΙΔΑΣΚΑΛΟΥ ΜΟΥ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΟΥΣ ΜΑΘΗΤΑΣ, ΟΙ ΟΠΟΙΟΙ ΚΑΙ ΕΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙ ΕΙΝΑΙ ΚΑΙ ΕΧΟΥΝ ΔΩΣΕΙ ΟΡΚΟΝ ΣΥΜΦΩΝΩΣ ΠΡΟΣ ΤΟΝ ΙΑΤΡΙΚΟΝ ΝΟΜΟΝ. ΕΙΣ ΚΑΝΕΝΑ ΔΕ ΑΛΛΟΝ.

ΘΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΩ ΔΕ ΤΗΝ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗΝ ΑΓΩΓΗΝ ΠΡΟΣ ΩΦΕΛΕΙΑΝ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΡΙΣΙΝ ΜΟΥ. ΘΑ ΠΡΟΛΑΜΒΑΝΩ ΔΕ ΒΛΑΒΗΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΔΙΚΙΑΝ, ΔΕΝ ΘΑ ΔΩΣΩ ΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΘΑΝΑΤΗΦΟΡΟΝ ΕΙΣ ΚΑΝΕΝΑ, ΟΥΤΕ ΚΑΙ ΕΑΝ ΜΟΥ ΖΗΤΗΣΗ, ΚΑΙ ΟΥΤΕ ΘΑ ΔΩΣΩ ΤΟΙΑΥΤΗΝ ΣΥΜΒΟΥΛΗΝ, ΩΣ ΑΥΤΟΣ ΟΥΤΕ ΕΙΣ ΕΓΚΥΟΝ ΓΥΝΑΙΚΑ ΘΑ ΔΩΣΩ ΕΚΤΡΩΤΙΚΟΝ ΦΑΡΜΑΚΟΝ, ΘΑ ΔΙΑΤΗΡΩ ΔΕ ΤΟΝ ΒΙΟΝ ΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΜΟΥ ΚΑΤΑ ΤΡΟΠΟΝ ΑΓΝΟΝ ΚΑΙ ΣΥΜΦΩΝΟΝ ΠΡΟΣ ΤΟΝ ΘΕΙΟΝ ΝΟΜΟΝ. ΑΚΟΜΗ ΔΕ ΔΕΝ ΘΑ ΧΕΙΡΟΥΡΓΩ ΟΥΤΕ ΚΑΙ ΤΟΥΣ ΠΑΣΧΟΝΤΑΣ ΑΠΟ ΛΙΘΙΑΣΙΝ, ΑΛΛΑ ΘΑ ΤΟΥΣ ΠΑΡΑΠΕΜΠΩ ΕΙΣ ΑΝΔΡΑΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΥΣ, ΕΙΔΙΚΟΥΣ ΔΙΑ ΤΟ ΕΡΓΟΝ ΤΟΥΤΟ. ΕΙΣ ΘΕΑΣ ΔΕ ΟΙΚΙΑΣ ΜΕΤΑΒΑΙΝΩ, ΘΑ ΕΙΣΕΡΧΟΜΑΙ ΠΡΟΣ ΒΟΗΘΕΙΑΝ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ, ΑΠΕΧΩΝ ΠΑΣΗΣ ΕΚΟΥΣΙΑΣ ΑΔΙΚΙΑΣ ΚΑΙ ΑΛΛΗΣ ΔΙΑΦΘΟΡΑΣ ΚΑΙ ΣΑΡΚΙΚΩΝ ΣΧΕΣΕΩΝ ΜΕΤΑ ΓΥΝΑΙΚΩΝ Η ΑΝΔΡΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ.

ΟΣΑ ΔΕ ΙΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑΝ Η ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΝ ΜΟΥ ΜΕΤΑ ΤΩΝ ΑΛΛΩΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ ΕΙΣ ΤΗΝ ΚΑΘΗΜΕΡΙΝΗΝ ΤΟΥΣ ΖΩΗΝ, ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΔΕΝ ΠΡΕΠΕΙ ΠΟΤΕΝΑ ΑΝΑΚΟΙΝΩΘΟΥΝ ΕΙΣ ΤΟΥΣ ΑΛΛΟΥΣ, ΘΑ ΚΡΑΤΩ ΜΥΣΤΙΚΑ ΠΙΣΤΕΥΩΝ ΟΤΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ ΕΙΝΑΙ ΑΠΟΡΡΗΤΑ. ΕΦ' ΟΣΟΝ ΜΕΝ, ΛΟΙΠΟΝ, ΤΗΡΩ ΑΥΤΟΝ ΕΔΩ ΤΟΝ ΟΡΚΟΝ ΚΑΙ ΔΕΝ ΤΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙΝΩ, ΕΙΘΕ ΝΑ ΑΠΟΛΑΥΩ ΚΑΙ ΤΗΣ ΖΩΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΤΕΧΝΗΣ, ΕΚΤΙΜΩΜΕΝΟΣ ΕΞΑΕΙ ΑΠΟ ΟΛΟΥΣ ΤΟΥΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥΣ· ΕΑΝ ΟΜΩΣ ΠΑΡΑΒΩ ΑΥΤΟΝ ΚΑΙ ΓΙΝΩ ΕΠΙΟΡΚΟΣ, ΝΑ ΠΑΘΩ ΤΑ ΑΝΤΙΘΕΤΑ ΤΟΥΤΩΝ.

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ : **κ.Μιχαήλ Κοντός**, Επίκουρος καθηγητής Χειρουργικής

ΜΕΛΗ: **κ.Σωτήριος Γεωργόπουλος**, Καθηγητής Χειρουργικής

κ.Αλέξανδρος Παπαλάμπρος, Επίκουρος Καθηγητής Χειρουργικής

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

- 1. κ. Διακάκος Θεόδωρος - Κωνσταντίνος**, Καθηγητής Χειρουργικής
- 2. κ. Πικουλής Εμμανουήλ** Καθηγητής Χειρουργικής
- 3. κ. Γεωργόπουλος Σωτήριος**, Καθηγητής Χειρουργικής
- 4. κ. Κόντζογλου Κωνσταντίνος**, Καθηγητής Χειρουργικής
- 5. κ. Καραβοκύρος Ιωάννης**, Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής
- 6. κ. Κοντός Μιχαήλ**, Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής
- 7. κ. Παπαλάμπρος Αλέξανδρος-Λουκάς**, Επίκουρος Καθηγητής Χειρουργικής

Αφιερώνεται στους Γονείς μου Κωνσταντίνο και Αικατερίνη Στεροδήμα, στη Σύζυγό μου Δρ. Βεατρίκη Νικαρέττα, στα παιδιά μου Κωνσταντίνο και Αικατερίνη Στεροδήμα, στη νονά μου Καθηγήτρια Δρ. Ελευθερία Ρώμα-Γιαννίκου και στους Καθηγητές μου Δρ. Ivo Pitanguy, Δρ. Yves Gerard Illouz και Δρ. Luiz Haroldo Pereira, για την πολύτιμη υποστήριξή τους στον δύσκολο δρόμο της μάθησης.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	10
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	11
ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ.....	12
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	32
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	33
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΟΥΣ.....	40
1.1 Ανατομία εξωτερικού ωτός.....	40
1.2 Εμβρυολογία εξωτερικού ωτός	42
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΜΙΚΡΩΤΙΑ	44
2.1 Ορισμός μικρωτίας.....	44
2.2 Κατηγοριοποίηση	45
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΜΙΚΡΩΤΙΑΣ	47
3.1 Αυτόλογη αποκατάσταση μικρωτίας.....	47
3.2 Αλλοπλαστική αποκατάσταση μικρωτίας	50
3.3 Προσθετική ωτός.....	52
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΩΤΙΚΗ ΙΣΤΟΜΗΧΑΝΙΚΗ	54
4.1 Ορισμός ωτικής ιστομηχανικής.....	54
4.2 Τεχνικές ωτικής ιστομηχανικής.....	54
4.3 Μεσεγγηματικά βλαστοκύτταρα – ιστομηχανική ωτικού χόνδρου.....	55
4.4 Δημιουργία δομών ωτικού χόνδρου	56

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	59
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	60
5.1 Στόχοι διατριβής.....	60
5.2 Πειραματόζωα	61
5.3 Σχεδιασμός μελέτης.....	61
5.3.1 Δημιουργία ωτικού ικριώματος.....	61
5.3.1.1 Συλλογή Δεδομένων.....	61
5.3.1.2 Σχεδιασμός και κατασκευή ωτικού καλουπιού	62
5.3.1.3 Τρισδιάστατη λέιζερ επιφανειακή εκτύπωση.....	62
5.3.1.4 Προετοιμασία και ανάλυση σχήματος ωτικού ικριώματος	64
5.3.2 Μονοστρωματική ανάπτυξη καλλιέργειας.....	65
5.3.3 In Vitro Κατασκευή χόνδρου σε τρισδιάστατες μήτρες.....	68
5.3.4 Εμφύτευση ωτικής κατασκευής	70
5.3.5 Αξιολόγηση ωτικού μοντέλου.....	73
5.3.5.1 Μηχανική δομική και ιδιότητες ωτικής κατασκευής	73
5.3.6 Στατιστική	74
5.3.7 Ηθική αντίληψη.....	74
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	75
6.1 Ιστολογικές, ανοσοιστοχημικές, οπτικές αναλύσεις και εξέταση ευελιξίας – ελαστικότητας των ωτικών πλαισίων	75
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	106
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΕΙΣ	115
Περίληψη	117

ABSTRACT	119
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ	121
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	131
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	134

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η ολική αποκατάσταση του έξω ωτός (περυγίου ωτός) με αυτογενή χόνδρο παραμένει ένα εκ των δυσκολότερων προβλημάτων στον τομέα της πλαστικής και επανορθωτικής χειρουργικής. Παρά το γεγονός ότι οι ερευνητές αναφέρουν σε πρόσφατες μελέτες τους ότι οι κατασκευασμένοι χόνδροι μπορούν να παραχθούν σε προκαθορισμένο σχήμα και σε πολύπλοκες τρισδιάστατες δομές, όπως του ανθρώπινου ωτός, με τη χρήση κυτταρικής μεταμόσχευσης, παραμένουν πολλά άλυτα προβλήματα. Τα κρίσιμα θέματα για την ιστομηχανική του ωτός περιλαμβάνουν την αναζήτηση κατάλληλης κυτταρικής καλλιέργειας, την επιλογή των σωστών πολυμερών, την καλλιέργεια των χονδροκυττάρων, τη μελέτη των ωτικών πλαισίων σε αποδεκτό ανοσοσυμβατό ζωϊκό μοντέλο («πραγματικό μοντέλο δοκιμής»), καθώς και την μακρόχρονη διατήρηση του ωτικού πλαισίου. Επί του παρόντος, σε ασθενείς με δυσμορφία του περυγίου του ωτός χρησιμοποιούνται μοσχεύματα υάλινου χόνδρου ή επιλέγεται προσθετική με χρήση σιλικόνης για την αποκατάσταση του έξω ωτός. Αρκετές μέθοδοι μηχανικής ωτικού χόνδρου χρησιμοποιούν τεχνικές ιστομηχανικής. Παρά ταύτα, δεν έχει αναφερθεί κάποια ιδανική μέθοδος ιστομηχανικής του ωτικού χόνδρου μέχρι σήμερα.

Ο σκοπός της ιστομηχανικής του ωτός είναι να δημιουργήσει ανατομικά αποδεκτές χόνδρινες κατασκευές εξατομικευμένες για κάθε ασθενή, σε συνθήκες εκτός του ζώντος οργανισμού (ex vivo), τέτοιο ώστε ο χειρουργός απλώς να εμφυτεύει την ωτική κατασκευή με μια απλή χειρουργική επέμβαση.

Ο σκοπός αυτής της μελέτης- διατριβής είναι η χρήση της τρισδιάστατης κυτταρικής εκτύπωσης για τη κατασκευή ενός ιστομηχανικού ωτικού μοσχεύματος και η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων μετά την εμφύτευση τους σε ανοσοσυμβατό ζωϊκό μοντέλο. Η καθιέρωση μεθόδων ιστομηχανικής του ωτός θα μπορούσε μελλοντικά να μειώσει την ανάγκη λήψης ιστών από το δότη, μειώνοντας τις επιπλοκές της δότηριας περιοχής, επιτυγχάνοντας τη μεταμόσχευση εξατομικευμένων ωτικών μοσχευμάτων.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Πρωτίστως, επιθυμώ να ευχαριστήσω τον κων Όθωνα Παπαδόπουλο, Καθηγητή της Πλαστικής και Επανορθωτικής Χειρουργικής του Πανεπιστημίου Αθηνών για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου με την ανάθεση του συγκεκριμένου θέματος, καθώς επίσης και για την αμέριστη συμπαράσταση προκειμένου να ολοκληρωθεί η συγκεκριμένη διδακτορική διατριβή.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τους κκ. Ηλία Μπαστούνη και Ευστάθιο Παπαλάμπρο, Ομότιμους Καθηγητές Χειρουργικής για την καταλυτική συμβολή στη διαμόρφωση του ερευνητικού πρωτοκόλλου και τη συμμετοχή τους στη δημιουργία των πειραματικών προτύπων.

Τα πειράματα της συγκεκριμένης διατριβής έγιναν στο Πρότυπο Πειραματικό Κέντρο Ερευνών του Καθολικού Πανεπιστημίου του Ρίο ντε Τζανέιρο σε συνεργασία με το Excellion Servicos Biomédicos SA, με έδρα το Ρίο ντε Τζανέιρο της Βραζιλίας. Την επίβλεψη της πραγματοποίησης του ερευνητικού πρωτοκόλλου είχε η διευθύντρια του κέντρου Excellion Servicos Biomédicos SA, βιοτεχνολόγος κ. Leandra Baptista. Θα ήθελα ιδιαιτέρως να ευχαριστήσω τον Δρ. Ronaldo Amaral, την Δρ. Carolina Pedrosa, την Δρ. Karina Ribeiro, καθώς και τον Καθηγητή κ. Radovan Borojenic για την αμέριστη συμπαράσταση στην πραγματοποίηση των πειραματικών προτύπων.

Ευχαριστώ θερμά τους συναδέλφους πλαστικούς χειρουργούς Δρ. Jose de Faria, Δρ. Wanda Elizabeth, Δρ. Fabio Bornia και Δρ. Henrique Cintra για τις συμβουλές τους και την ενεργό συμμετοχή τους προκειμένου να ολοκληρωθεί η συγκεκριμένη διδακτορική διατριβή.

Τέλος θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στον κ. Μιχαήλ Κοντό, Επίκουρο Καθηγητή Χειρουργικής, επιβλέποντα τη συγκεκριμένη διδακτορική διατριβή, καθώς και στους κκ. Σωτήριο Γεωργόπουλο Καθηγητή Χειρουργικής και Αλέξανδρο Παπαλάμπρο Επίκουρο Καθηγητή Χειρουργικής, μέλη της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής που υποστήριξαν την προσπάθεια ολοκλήρωσης της παρούσας διδακτορικής διατριβής.

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΑΡΙΣΤΕΙΔΗΣ ΣΤΕΡΟΔΗΜΑΣ M.D. MSc PhD ARCS

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Όνομα ΑΡΙΣΤΕΙΔΗΣ ΣΤΕΡΟΔΗΜΑΣ

Ημερομηνία Γεννήσεως 10 Οκτώβριου 1974

Διεύθυνση Δημοσθένους 5, Αγία Παρασκευή, Αθήνα, Τ.Κ. 153 43

Τηλέφωνο 2106000277

Ηλεκτρονικό ταχυδρομείο aris@sterodimas.com

Υπηκοότητα Ελληνική

ΜΕΛΟΣ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΩΝ ΣΥΛΛΟΓΩΝ

- Παγκόσμιος Σύλλογος Αισθητικής Πλαστικής Χειρουργικής (ISAPS Μάρτιος 2012
- Παγκόσμιος Σύλλογος Πλαστικών & Επανορθωτικών Χειρουργών (IPRAS) Ιούλιος 2009
- Ελληνική Εταιρία Πλαστικής & Επανορθωτικής Χειρουργικής Ιούλιος 2009, Αριθμός Μητρώου: 0246
- Σύλλογος Αποφοίτων Imperial College Σεπτέμβριος 2005, Αριθμός Μητρώου: 389327
- Ιατρικός Σύλλογος Ρίο Ιανερνιου, Βραζιλία Μάρτιος 2005, Αριθμός Μητρώου: 10046131
- Βασιλικό Κολλέγιο Χειρουργών Μεγάλης Βρετανίας Σεπτέμβριος 2003, Αριθμός Μητρώου: 039127
- Ιατρικός Σύλλογος Μεγάλης Βρετανίας Ιούνιος 2000, Αριθμός Μητρώου: 4702076
- Ιατρικός Σύλλογος Αθηνών, Ιούνιος 2000, Αριθμός Μητρώου: 048219

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΑ ΠΡΟΣΩΝΤΑ

- Τίτλος Ιατρικής Ειδικότητας Πλαστικής Χειρουργικής Ιούλιος 2009, Αριθμός Απόφασης: 3861/09
- Μεταπτυχιακό Δίπλωμα στη Χειρουργική (MSc) 2003- 2005 Imperial College & University of London, Λονδίνο, Μεγάλη Βρετανία
- ΔΙΚΑΤΣΑ Αναγνώριση Ισοτιμίας 2000 Αθήνα, Ελλάδα
- Πτυχίο Ιατρικής 1993-1999 SEMMELWEIS University of Medicine, Βουδαπέστη, Ουγγαρία

ΠΡΟΥΠΗΡΕΣΙΑ-ΔΙΟΡΙΣΜΟΙ

Απρίλιος 2018-Σήμερα	Διευθυντής Τμήματος Πλαστικής & Επανορθωτικής Χειρουργικής METROPOLITAN General Αθήνα, Ελλάδα
Νοέμβριος 2015- Μάρτιος 2018	Διευθυντής Τμήματος Πλαστικής & Επανορθωτικής Χειρουργικής ΙΑΣΩ General Αθήνα, Ελλάδα
Ιούλιος 2009-Νοέμβριος 2015	Επιμελητής Τμήματος Πλαστικής & Επανορθωτικής Χειρουργικής ΙΑΣΩ Genera Αθήνα, Ελλάδα
Ιούλιος 2008- Δεκέμβριος 2008	Ειδικευόμενος στη Παιδιατρική Χειρουργική Pontifical Catholic University Carlos Chagas Medical Institute Ρίο Ιανέριο, Βραζιλία
Ιανουάριος 2008- Ιούνιος 2008	Ειδικευόμενος στη Ωτορινολαρυγγολογία Pontifical Catholic University Carlos Chagas Medical Institute Ρίο Ιανέριο, Βραζιλία

Μάρτιος 2005- Δεκέμβριος 2007	Ειδικευόμενος στη Πλαστική & Επανορθωτική Χειρουργική Ivo Pitanguy Institute Pontifical Catholic University Carlos Chagas Medical Institute Ρίο Ιανέριο, Βραζιλία
Οκτώβριος 2004- Φεβρουάριος 2005	Ερευνητικός συνεργάτης Γενικής Χειρουργικής Mount Vernon Hospital The Imperial College & UCL Λονδίνο, Μεγάλη Βρετάνια
Απρίλιος 2004- Σεπτέμβριος 2004	Ειδικευόμενος στη Πλαστική & Επανορθωτική Χειρουργική The Frenchay Hospital The Bristol University Μπρίστολ, Μεγάλη Βρετάνια
Αύγουστος 2003-Μάρτιος 2004	Ειδικευόμενος στην Αγγειοχειρουργική The Hillingdon Hospital The Imperial College & UCL Λονδίνο, Μεγάλη Βρετάνια
Αύγουστος 2002-Αυγουστος 2003	Ειδικευόμενος στη Γενική Χειρουργική Mount Vernon Hospital The Imperial College & UCL Λονδίνο, Μεγάλη Βρετάνια
Απρίλιος 2002- Αύγουστος 2002	Ειδικευόμενος στη Πλαστική & Επανορθωτική Χειρουργική Radcliffe Infirmary The Oxford University Οξφόρδη, Μεγάλη Βρετάνια

Δεκέμβριος 2001-Μαρτίος 2002
Ειδικευόμενος στη Πλαστική &
Επανορθωτική Χειρουργική
401 Γενικό Στρατιωτικό Νοσοκομείο
Αθήνα, Ελλάδα

Δεκέμβριος 2000-Δεκεμβριος 2001
Ειδικευόμενος στη Γενική Χειρουργική
492 Γενικό Στρατιωτικό Νοσοκομείο
Αλεξανδρούπολη, Ελλάδα

ΠΡΟΫΠΗΡΕΣΙΑ

Μάρτιος 1999-Απριλιος 1999
Εσωτερικός βοηθός στη Πλαστική &
Επανορθωτική Χειρουργική
Massachusetts General Hospital
The Harvard Medical School
Βοστώνη, ΗΠΑ

Οκτώβριος 1998
Εσωτερικός βοηθός στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας
Mount Sinai Hospital The New York University
Νέα Υόρκη, ΗΠΑ

Σεπτέμβριος 1998-Οκτωβριος 1998
Εσωτερικός βοηθός στη Πλαστική &
Επανορθωτική Χειρουργική
Swedish Covenant Hospital
Σικάγο, ΗΠΑ

Αύγουστος 1998-Σεπτεμβριος 1998
Εσωτερικός βοηθός στην Ορθοπεδική Χειρουργική
Swedish Covenant Hospital
Σικάγο, ΗΠΑ

ΣΥΝΕΔΡΙΑ ΩΣ ΟΜΙΛΗΤΗΣ

Μάρτιος 2019	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής Plastic Surgery at Red Sea Ειλάτ, Ισραήλ
Ιανουάριος 2019	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής IMCAS Παρίσι, Γαλλία
Δεκέμβριος 2018	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής IFATS Λας Βέγκας, ΗΠΑ
Νοέμβριος 2018	Ημερίδα Πλαστικής Χειρουργικής ISAPS Αθήνα, Ελλάδα
Οκτώβριος 2018	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής ISAPS Μαιάμι, ΗΠΑ
Σεπτέμβριος 2018	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής Aesthetic Istanbul Κωνσταντινούπολη, Τουρκία
Ιανουάριος 2018	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής IMCAS Παρίσι, Γαλλία
Δεκέμβριος 2017	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής Regenerative Surgery Ρώμη, Ιταλία

Νοέμβριος 2017	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής Ελληνική Εταιρία Πλαστικής Χειρουργικής Αθήνα, Ελλάδα
Ιανουάριος 2017	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής IMCAS Παρίσι, Γαλλία
Νοέμβριος 2016	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής SBCP Φορταλέζα, Βραζιλία
Ιούνιος 2016	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής ISAPS Μύκονος, Ελλάδα
Φεβρουάριος 2016	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής American- Brazilian Meeting Μπούζιος, Βραζιλία
Δεκέμβριος 2015	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής Regenerative Surgery Ρώμη, Ιταλία
Δεκέμβριος 2015	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής ISPRES Πεκίνο, Κίνα
Νοέμβριος 2015	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής Ελληνική Εταιρία Πλαστικής Χειρουργικής Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

Δεκέμβριος 2014	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής WCPS Μόντε Κάρλο, Μονακό
Δεκέμβριος 2014	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής Regenerative Surgery Ρώμη, Ιταλία
Νοέμβριος 2014	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής SBCP Μπραζιλία, Βραζιλία
Αυγουστος 2014	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής Jornada Carioca SBCP-RJ Ρίο Ιανέριο, Βραζιλία
Ιανουάριος 2014	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής Cutting Age Κωνσταντινούπολη, Τουρκία
Νοέμβριος 2013	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής SBCP Ρίο Ιανέριο, Βραζιλία
Αυγουστος 2013	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής Korean plastic Surgery Society Σεούλ, Ν. Κορέα
Ιούνιος 2013	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής ISPRES Βερολίνο, Γερμανία

Απρίλιος 2013	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής AMWC Μόντε Κάρλο, Μονακό
Ιανουάριος 2013	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής IMCAS Παρίσι, Γαλλία
Ιούλιος 2012	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής IMCAS Σαγκάη, Κίνα
Απρίλιος 2012	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής Cutting Age Γενεύη, Ελβετία
Φεβρουάριος 2012	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής Cell Society Meeting Σαν Ντιέγκο, ΗΠΑ
Νόεμβριος 2011	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής SBCP Γκοιάνια, Βραζιλία
Σεπτέμβριος 2011	Πανευρωπαϊκό Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής 11 ESPRAS Meeting Ρόδος, Ελλάδα
Άυγουστος 2011	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής Jornada Carioca SBCP-RJ Ρίο Ιανέριο, Βραζιλία

Ιούλιος 2011	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής IMCAS Σγκαπούρη
Μάιος 2011	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής ICAS 2011 Κωνσταντινούπολη, Τουρκία
Ιανουάριος 2011	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής IMCAS Παρίσι, Γαλλία
Δεκέμβριος 2010	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής Βενετία, Ιταλία
Άγουστος 2010	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής Jornada Carioca SBCP-RJ Ρίο Ιανέριο, Βραζιλία
Ιανουάριος 2010	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής IMCAS Παρίσι, Γαλλία
Άγουστος 2009	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής Jornada Carioca SBCP-RJ Ρίο Ιανέριο, Βραζιλία
Μάιος 2008	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής Αμερικάνικη Εταιρία Πλαστικής Χειρουργικής Σαν Ντιέγκο, ΗΠΑ
Μάρτιος 2008	Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής Σάο Πάολο, Βραζιλία SBCP

- Σεπτέμβριος 2007 Σεμινάριο Επιπλοκών Χειρουργικής Προσώπου
Κολλέγιο Χειρουργών Βραζιλίας
Ρίο Ιανέριο, Βραζιλία
- Μάιος 2007 Σεμινάριο Χειρουργικής Μαστού
Κολλέγιο Χειρουργών Βραζιλίας
Ρίο Ιανέριο, Βραζιλία
- Οκτώβριος 2006 Σεμινάριο Ρινοπλαστικής
Ρίο Ιανέριο, Βραζιλία
- Ιούνιος 2006 Σεμινάριο Ενδοσκοπικής Χειρουργικής
Βραζιλιάνικη Εταιρία Πλαστικής Χειρουργικής
Ρίο Ιανέριο, Βραζιλία
- Οκτώβριος 2005 Σεμινάριο Επανορθωτικής Χειρουργικής
Βραζιλιάνικη Εταιρία Πλαστικής Χειρουργικής
Ρίο Ιανέριο, Βραζιλία
- Αύγουστος 2005 Σεμινάριο Χειρουργικής Αποκατάστασης Μαστού
Βραζιλιάνικη Εταιρία Πλαστικής Χειρουργικής
Ρίο Ιανέριο, Βραζιλία
- Ιούνιος 2005 Σεμινάριο Χειρουργικής Αποκατάστασης Τραύματος
Βραζιλιάνικη Εταιρία Πλαστικής Χειρουργικής
Ρίο Ιανέριο, Βραζιλία
- Απρίλιος 2005 Σεμινάριο Χειρουργικής
Βραζιλιάνικη Εταιρία Πλαστικής Χειρουργικής
Ρίο Ιανέριο, Βραζιλία
- Ιούνιος 2004 Βασικές αρχές χειρουργικής άκρας χειρός
The Bristol University
Μπρίστολ, Μεγάλη Βρετανία

- Απρίλιος 2004 Βασικές αρχές στη Πλαστική Χειρουργική
Βασιλικό Κολλέγιο Χειρουργών
Λονδίνο, Μεγάλη Βρετανία
- Μάιος 2003 Σεμινάριο ALS
The Harefield Hospital NHS Trust
Λονδίνο, Μεγάλη Βρετανία
- Δεκέμβριος 2002 Βασικές Αρχές Ενδοσκοπικής Χειρουργικής
St Mary's Hospital NHS Trust
Λονδίνο, Μεγάλη Βρετανία
- Οκτώβριος 2002 Βασικές αρχές Γενικής Χειρουργικής
The Hillingdon Hospital NHS Trust
Λονδίνο, Μεγάλη Βρετανία
- Οκτώβριος 1998 Βασικές αρχές Εντατικής Θεραπείας
Mount Sinai Hospital
The New York University
Νέα Υόρκη, ΗΠΑ

ΔΙΕΘΝΕΙΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

1. **Sterodimas A,** Boriani F, Nicaretta B, Pereira LH.
Hand rejuvenation by stromal enriched lipograft.
J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2018 Oct;71(10):1507-
1517
2. **Sterodimas A,** Boriani F, Nicaretta B, Pereira LH.
Revision Abdominoplasty with Truncal Liposculpting:
A 10-Year Experience.
Aesthetic Plast Surg. 2019 Feb;43(1):155-162

- Agha RA, Pidgeon TE, Borrelli MR, Dowlut N, Orkar TK, Ahmed M, Pujji O, Orgill DP; **VOGUE Group**.
Validated Outcomes in the Grafting of Autologous Fat to the Breast: The VOGUE Study. Development of a Core Outcome Set for Research and Audit.
Plast Reconstr Surg. 2018 May;141(5):633e-638e.
- 3.
- Sterodimas A**, Nicaretta B, Boriani F.
Modified round block mastopexy versus traditional round block mastopexy.
Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2015;19(3):350-6
- 4.
- Sterodimas A**.
Stromal enriched lipograft for rhinoplasty refinement.
Aesthet Surg J. 2013 May 1;33(4):612-4.
- 5.
- Sterodimas A, de Faria J**
Human auricular tissue engineering in an immunocompetent animal model.
Aesthet Surg J. 2013 Feb 1;33(2):283-9.
- 6.
- Sterodimas A, Boriani F, Magarakis E, Nicaretta B, Pereira LH, Illouz YG**.
Thirtyfour years of liposuction: past, present and future.
Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2012 Mar;16(3):393-406.
- 7.
- Pereira LH, Nicaretta B, Sterodimas A**.
Bilateral calf augmentation for aesthetic purposes.
Aesthetic Plast Surg. 2012 Apr;36(2):295-302.
- 8.
- Sterodimas A, de Faria J, Nicaretta B, Boriani F**.
Autologous fat transplantation versus adipose-derived stem cell-enriched lipografts: a study.
- 9.

Aesthet Surg J. 2011 Aug;31(6):682-93.

Pereira LH, Nicaretta B, Sterodimas A.

9. Correction of liposuction sequelae by autologous fat transplantation.
Aesthetic Plast Surg. 2011 Dec;35(6):1000-8.

Levy S, Gomes FR, Sterodimas A.

10. Macroscopic anatomic changes of subcutaneous fat tissue in massive-weight-loss patients.
Aesthetic Plast Surg. 2011 Oct;35(5):814-9.

Sterodimas A, Radwanski HN, Pitanguy I.

11. Ethical issues in plastic and reconstructive surgery.
Aesthetic Plast Surg. 2011 Apr;35(2):262-7.

de Faria J, Sterodimas A.

12. Monoblock thoracobrachioplasty in males: a proposed technique mimicking the pectoral fold.
Aesthetic Plast Surg. 2011 Apr;35(2):225-9.

Nicaretta B, Pereira LH, Sterodimas A, Illouz YG.

13. Autologous gluteal lipograft.
Aesthetic Plast Surg. 2011 Apr;35(2):216-24.

Sterodimas A, de Faria J, Nicaretta B, Papadopoulos O, Papalambros E, Illouz YG.

14. Cell-assisted lipotransfer.
Aesthet Surg J. 2010 Jan;30(1):78-81.

Sterodimas A.

15. Cartilage-fascia grafts for tip and labiocolumellar augmentation.
Plast Reconstr Surg. 2010 Apr;125(4):158e-159e.

16. **Sterodimas A, de Faria J, Nicaretta B, Pitanguy I.**
Tissue engineering with adipose-derived stem cells
(ADSCs): current and future applications.
J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2010 Nov;63(11):1886-92.
17. **Citarella ER, Sterodimas A, Condé-Green A.**
Endoscopically assisted limited-incision rhytidectomy: a
10-year prospective study.
J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2010 Nov;63(11):1842-8.
18. **Sterodimas A, Boriani F, Bogetti P, Radwanski HN,
Bruschi S, Pitanguy I.**
Junior plastic surgeon's confidence in aesthetic surgery
practice: A comparison of two didactic systems.
J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2010 Aug;63(8):1335-7.
19. **Pereira LH, Sterodimas A.**
Transaxillary Breast Augmentation: A Prospective
Comparison of Subglandular, Subfascial, and
Submuscular Implant Insertion.
Aesthetic Plast Surg. 2009 Sep;33(5):752-9.
20. **Illouz YG, Sterodimas A.**
Autologous Fat Transplantation to the Breast: A Personal
Technique with 25 Years of Experience.
Aesthetic Plast Surg. 2009 Sep;33(5):706-15.
21. **Pereira LH, Sterodimas A.**
Autologous Fat Transplantation and Delayed Silicone
Implant Insertion in a Case of Mycobacterium avium
Breast Infection.
Aesthetic Plast Surg. 2010 Feb;34(1):1-4

22. Siqueira MA, Sterodimas A, Boriani F, Pitanguy I.
A 10-year experience with the surgical treatment of radial polydactyly.
Ann Ital Chir. 2008 Nov-Dec;79(6):441-4.
23. Pereira LH, Sterodimas A.
Macroscopic and microscopic proof of long-term survival of gluteal fat transplantation.
Plast Reconstr Surg. 2009 Apr;123(4):162e-163e.
24. Santana KP, Pereira LH, Sabatovich O, Sterodimas A.
Foreign body granulomas caused by polymethyl methacrylate microspheres (PMMA): Successful correction by autologous fat transplantation.
J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2010 Feb;63(2):e139-41.
25. Pereira LH, Sterodimas A.
Composite Body Contouring
Aesthetic Plast Surg. 2009 Jul;33(4):616-24
26. Pereira LH, Sterodimas A.
Long-term fate of transplanted autologous fat in the face
J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2010 Jan;63(1):e68-9.
27. Santana KP, Pereira LH, Sterodimas A.
Sad Umbilicus: Prevention and Treatment.
Aesthetic Plast Surg. 2009 May;33(3):471-2. Epub 2009 Feb 26.
28. Sterodimas A, de Faria J, Correa WE, Pitanguy I.

Tissue engineering in Plastic Surgery: An up to date
review of the current literature.

Ann Plast Surg. 2009 Jan;62(1):97-103.

- Sterodimas A, Radwanski HN, Pitanguy I.**
Aesthetic plastic surgery: junior plastic surgeons' confidence in a training program.
Aesthetic Plast Surg. 2009 Jan;33(1):131-2. Epub 2008 Dec 31.
- 29.
- Sterodimas A, de Faria J, Correa WE, Pitanguy I.**
Tissue engineering and auricular reconstruction. A review
J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2009 Apr;62(4):447-52.
Epub 2008 Dec 27.
- 30.
- Pereira LH, Sterodimas A.**
Treatment of Iatrogenic Abdominal Contour Irregularities.
Aesthetic Plast Surg. 2010 Apr;34(2):129-35.
- 31.
- Citarella RE, Sterodimas A, Green CA**
Minimally invasive treatment of dynamic horizontal forehead lines.
Plast Reconstr Surg. 2009 Dec;124(6):438e-9e.
- 32.
- Baptista LS, Pedrosa CS, da Silva KR, do Amaral R, Kochem M, Menezes H, Sterodimas A, de Faria J, de Oliveira M, Borojevic R**
Fibroin-Based Material from Natural Silk Can Be Associated with Alginate And Mesenchymal Progenitor Cells
Key Engineering Materials Vols. 396-398 pp 437-440
- 33.
- Pereira LH, Sterodimas A.**
Correction for the Iatrogenic Form of Banana Fold and Sensuous Triangle Deformity.
- 34.

Aesthetic Plast Surg. 2008 Nov;32(6):923-7. Epub 2008
Jul 29

- Citarella RE, Sterodimas A, Green CA
35. Lip rejuvenation using perioral myotomies and orbicularis oculi muscle as autologous filler.
Plast Reconstr Surg. 2009 Dec;124(6):446e-8e.
- Sterodimas A, Huanquipaco JC, de Souza Filho S, Bornia FA, Pitanguy I.
36. Autologous fat transplantation for the treatment of Parry-Romberg syndrome.
J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2009 Nov;62(11):e424-6.
- Sterodimas A, Pineda E, Meirelles V, Pitanguy I.
37. Maximizing nipple graft survival after performing free nipple-areolar complex reduction mammoplasty.
J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2008 Aug;61(8):971-2.
- Citarella RE, Sterodimas A, Green CA, Sinder R, Pitanguy I.
38. The use of triple convergence polypropylene thread™ for the aesthetic correction of partial facial paralysis: Case reports
Aesthetic Plast Surg. 2008 Jul;32(4):688-91. Epub 2008 Apr 24
Pereira LH, Sabatovich O, Santana KP, Picanço R, Sterodimas A.
39. Surgical correction of Poland's syndrome in males - a purposely designed implant.
J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2008;61(4):393-9. Epub 2007 Jan
Pereira LH, Sterodimas A.
40. Free fat transplantation for the aesthetic correction of mild pectus excavatum.
Aesthetic Plast Surg. 2008 Mar-Apr;32(2):393-6.

41. **Sterodimas A, Vargas A, Radwanski HN, Pitanguy I.**
The use of buflomedil in reduction mammoplasty for a
previously irradiated breast: A case report.
Aesthetic Plast Surg. 2008 Mar-Apr;32(2):383-5.
42. **Pereira LH, Sterodimas A.**
Poland syndrome: Aesthetic result after late seroma and
implant removal without replacement
Aesthetic Surgery Journal 2008 Jan-Feb; 28(1):101-103
43. **Haroldo Pereira L, Sterodimas A.**
Aesthetic restoration of axillary contour deformity after
lymph
node dissection.
J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2008;61(2):231-2. Epub
2007 Nov
44. **Pereira LH, Sterodimas A.**
Definite size of the augmented breast could be up to a
breast cup smaller than the early postoperative size.
Aesthetic Plast Surg. 2007 Nov-Dec;31(6):759. Epub
2007 Sep10
45. **Pereira LH, Sterodimas A.**
Rupture of high-cohesive silicone implant after gunshot
injury.
Ann Plast Surg. 2007 Feb;58(2):228-9.
46. **Sterodimas A, Radwanski HN, Pitanguy I.**
Body contouring after weight loss
BL Plastic and Cosmetic Surgery 2005 Dec;18:10-13.

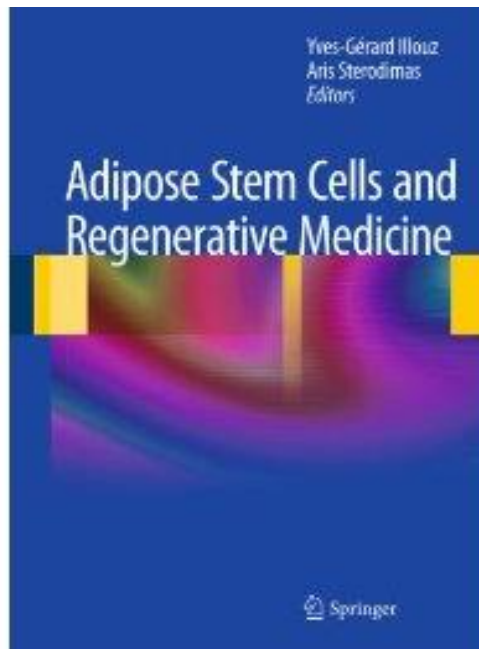
- Nicolaou M, Sterodimas A, Swan MC, Paes TR.
47. Is the internet the best resource for blushers?
Clin Auton Res. 2003 Dec;13 Suppl 1:I71-3.
- Sterodimas A, Nicolaou M, Paes TR.
48. Botulinum toxin injection for forehead hyperhidrosis: a quality-of-life study.
Br J Dermatol 2003; 149 (Suppl. 64): 107
- Sterodimas A, Nicolaou M, Paes TR.
49. Successful use of Botulinum toxin-A for the treatment of neck and anterior chest wall flushing.
Clin Exp Dermatol. 2003 Nov;28(6):592-4.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΑ ΚΕΦΑΛΑΙΑ ΣΕ ΒΙΒΛΙΑ

- Pereira LH, Sterodimas A.
- MASTOPEXY WITH EXTENDED CHEST
WALL-BASED FLAP AFTER MASSIVE
WEIGHT LOSS
1. In : **Body Contouring: Art, Science and Clinical Practise** by Melvin . A. Shiffman and Alberto Di Giuseppe Eds.2009: Springer-Verlag Berlin Heidenberg.
New York, USA

- Pereira LH, Nicaretta, B, Sterodimas A.
FACIAL REJUVENATION BY AUTOLOGOUS
FAT TRANSPLANTATION
2. In : **Cirurgia Plastica** by Jose Marcus Melega,
Fausto Viterbo and Flavio Mendes Eds. 2009:
Guanabara-Koogan Sao Paulo pg 130-145
Sao Paulo, Brazil
- Pereira LH, Sterodimas A.
FAT TRANSFER FOR MILD PECTUS
EXCAVATUM
3. In: **Autologous Fat Transfer: Art, Science, and
Practice** by Melvin . A. Shiffman Eds.2009:
Springer-Verlag Berlin Heidenberg.
New York, USA
- Pereira LH, Sterodimas A.
BODY CONTOURING
4. In: Body Contouring & liposuction by P. Rubin, CO
Uebel Eds.2013: Elsevier NY, USA
- Pereira LH, Sterodimas A.
FAT GRAFTING: CLINICAL APPLICATIONS
5. In : **Cirurgia Plastica** by Jose Marcus Melega, Fausto
Viterbo and Flavio Mendes Eds. 2009: Guanabara-Koogan
Sao Paulo pg 130-145
Rio de Janeiro, Brazil

ΣΥΓΓΡΑΦΕΑΣ ΒΙΒΛΙΟΥ



Ο καθηγητής Dr. Yves Gerard Illouz και ο Dr. Aris Sterodimas είναι οι συγγραφείς του βιβλίου ‘Adipose Stem Cells and Regenerative Medicine’ το οποίο εκδόθηκε το Νόεμβριο του 2011 από τον εκδοτικό οίκο Springer-Verlag. Το βιβλίο έχει μεταφραστεί και κυκλοφορήσει στη Κινέζικη γλώσσα και θα είναι σύντομα διαθέσιμο στα Γερμανικά, Γαλλικά και Πορτογαλικά. Σύμφωνα με τον εκδοτικό οίκο Springer-Verlag, το συγκεκριμένο βιβλίο είναι ανάμεσα στο top 25% των πωλήσεων ιατρικών βιβλίων παγκοσμίως, το 2015.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ολική ωτική αποκατάσταση αποτελεί μία από τις μεγαλύτερες προκλήσεις για τον πλαστικό και επανορθωτικό χειρουργό [1]. Η ικανότητα να κατασκευαστεί ένα πλήρως ικανοποιητικό και ολοκληρωμένο έξω ους είναι δύσκολος στόχος [2]. Στον τομέα της πλαστικής και επανορθωτικής χειρουργικής υπάρχει τεράστια ανάγκη για μοσχεύματα για την αποκατάσταση και συγγενών και επίκτητων ανωμαλιών του χόνδρου. Διάφοροι τύποι ωτικής δυσμορφίας λόγω συγγενών ανωμαλιών, τραυμάτων ή εγκαυμάτων παραμένουν δύσκολοι να αντιμετωπιστούν [4-6].

Πρόσφατα υπήρξαν προσπάθειες να κατασκευασθεί το ανθρώπινο ους στο εργαστήριο από ερευνητικές ομάδες που σχετίζονται με τη κατασκευή ακουστικών βοηθημάτων, λαμβάνοντας υπ' όψιν τα ανατομικά χαρακτηριστικά του ωτός. Η έλικα καταλαμβάνει το κέντρο του ωτός, από την κορυφή και μέχρι το λοβό. Η περιοχή του τράγου συνεχίζει ως επέκταση της καμπύλης του λοβού. Το μεγαλύτερο μέρος που αφορά στο περίγραμμα του σχήματος του ωτός καθορίζεται από μία μόνο καμπύλη. Η ανθέλικα περιστρέφεται από τον λοβό, διέρχεται σχεδόν παράλληλα προς την έλικα, στρέφεται στην ανώτερη περιοχή του ωτός και καταλήγει με κατεύθυνση σχεδόν κάθετη σε αυτή της άνω έλικας. Το σχήμα και η κατεύθυνση της ανθέλικας, διέρχεται από το σημείο του λοβού και κατόπιν περιστρέφεται προς την ανώτερη περιοχή του ωτός, ακολουθώντας το φυσικό σχήμα της ανθέλικας. Εφόσον η ανθέλικα και η έλικα διέρχονται σχεδόν παράλληλα προς την πλευρά του ωτός, το αρχικό τμήμα της καμπύλης της ανθέλικας είναι συγγραμικό με την καμπύλη της περιοχής του λοβού. Ένα άλλο θέμα που πρέπει να ληφθεί υπ' όψιν όταν κατασκευάζεται το μοντέλο του ωτός είναι το στοιχείο του βάθους. Αυτό μπορεί να διαφοροποιείται σημαντικά στο ένα και επίσης μεταξύ των δύο ώτων. Για να πραγματοποιηθεί αυτό υπάρχουν δύο διαθέσιμες επιλογές: να μεταβάλλουμε το βάθος και να καθορίσουμε κάθε διατομή σχεδόν στο ίδιο ύψος ή να διατηρήσουμε ένα σταθερό βάθος, και να μεταβάλλουμε το ύψος κάθε διατομής αναλόγως. Στη συγκεκριμένη μελέτη επιλέχθηκε να αλλάξει μόνο το ύψος των διατομών και εκτιμήθηκε ότι επικεντρώνοντας μόνο στην αλλαγή του ύψους των διατομών, θα μπορούσε να διατηρηθεί καλύτερος έλεγχος ως προς τη διαφοροποίηση του βάθους του ωτός.

Ο ωτικός χόνδρος είναι ένας ελαστικός χόνδρος με δίκτυο κολλαγόνου τύπου-II και υψηλά ποσοστά θειϊκής γλυκοζαμινογλυκάνης (sGAG) [7]. Παρά το γεγονός ότι ο

ωτικός χόνδρος έχει εξαιρετική μηχανική αντοχή, όταν τραυματιστεί, λόγω απουσίας εγγενούς αυτοθεραπείας και αναγεννητικής ικανότητας, καθίσταται δύσκολη η αυτοθεραπεία του.

Η αυτόλογη ωτική αποκατάσταση θεωρείται μία από τις πιο απαιτητικές επεμβάσεις στην επανορθωτική χειρουργική κυρίως λόγω της πολύπλοκης τρισδιάστατης ανατομίας του εξωτερικού ωτός [8]. Η εργασία ορόσημο του Tanzer, ο οποίος περιέγραψε πρώτος τη χρήση του αυτόλογου πλευρικού χόνδρου για τη δημιουργία ενός τρισδιάστατου ωτικού πλαισίου, είχε σημαντική επίδραση στις τεχνικές αποκατάστασης που χρησιμοποιήθηκαν τα τελευταία 25 έτη [9,10]. Σημαντικές εργασίες που δημοσιεύθηκαν μετέπειτα έπαιξαν καθοριστικό ρόλο στη βελτίωση των χειρουργικών τεχνικών για την ανάπλαση του εξωτερικού ωτός [11-14]. Η ολική ωτική αποκατάσταση δύο σταδίων αποτελεί τώρα τη συνήθη διαδικασία στην Ευρωπαϊκή Ένωση και τις Ηνωμένες Πολιτείες [15]. Μέχρι σήμερα, ο πλευρικός χόνδρος αποδείχτηκε η μόνη πηγή χόνδρου σε επαρκή ποσότητα. Για τη κατασκευή του ωτικού πλαισίου συνήθως απαιτούνται τρία έως τέσσερα τμήματα πλευρικού χόνδρου, τα οποία μπορούν να αφαιρεθούν ομόπλευρα ή ετερόπλευρα, παρέχοντας μία ιστοσυμβατή λύση για την αποκατάσταση του εξωτερικού ωτίου. Η χειρουργική επέμβαση ενός σταδίου με τη χρήση της τρισδιάστατης απεικόνισης και δημιουργίας ωτικού προσχεδίου για την καλύτερη δυνατή αντιστοιχία με το μητρικό ουσ έχει αναφερθεί σε επιστημονικές εργασίες [16-18]. Οι χειρουργικές επιπλοκές μετά από τέτοιες πολύπλοκες επεμβάσεις περιλαμβάνουν μόλυνση στη δότρια περιοχή, αιμορραγία, δύσμορφες ουλές, νέκρωση του μοσχεύματος, μετατόπιση του μοσχεύματος, ασυμμετρία και πνευμονοθώρακα κατά τη αφαίρεση του πλευρικού χόνδρου.

Ο αυτόλογος πλευρικός χόνδρος που χρησιμοποιείται στην αυτόλογη ωτική αποκατάσταση μπορεί να απορροφηθεί με την πάροδο του χρόνου. Αυτό σημαίνει ότι το αποκατεστημένο ουσ μπορεί να μειωθεί σε πλάτος και σε μήκος, να γίνει άκαμπτο, με συνέπεια ένα απρόβλεπτο τελικό αισθητικό αποτέλεσμα. Ο χόνδρινος ιστός της δότριας περιοχής είναι επίσης εγγενώς διαφορετικός ως προς την ελαστικότητα και την αντοχή σε σχέση με τον ελαστικό χόνδρο από τον οποίο αποτελείται το φυσιολογικό εξωτερικό ουσ[19-20]. Οι υπερτροφικές ουλές είναι μία ακόμα επιπλοκή, ιδιαιτέρως συνηθισμένη σε αυτήν την ομάδα ασθενών, παρά το ότι η τοποθέτηση των χειρουργικών τομών μπορεί να τις καταστήσει λιγότερο ορατές. Είναι πολύ σημαντική

η εμπειρία του χειρουργού έτσι ώστε η θέση που θα επιλεγεί για την τοποθέτηση της κατασκευής να μην προκαλέσει ισχαιμία του δέρματος, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε στένωση και ενδέχεται να παραμορφώσει περαιτέρω το επιδιωκόμενο τελικό σχήμα [21-23]. Επι πλέον, η νέκρωση του δερματικού πτερυγίου ή οι μετεγχειρητικές μολύνσεις μπορεί να οδηγήσουν στο σοβαρό πρόβλημα της απόρριψης.

Η διαμόρφωση των ωτικών κατασκευών με το σχεδιασμό των καμπυλοτήτων, από πλευρικό χόνδρο, ο οποίος είναι περιορισμένος λόγω της διαθεσιμότητάς του, καθιστά την αποκατάσταση του εξω ωτός από αυτόλογο χόνδρο μία εξαιρετικά δύσκολη χειρουργική πράξη. Συχνά η συγκεκριμένη αποκατάσταση δεν επιτυγχάνει τέλεια αποτελέσματα και ο ασθενής μπορεί να χρειαστεί να υποβληθεί σε συμπληρωματικές χειρουργικές επεμβάσεις, ενώ οι προσδοκίες του ασθενούς, των γονέων και του χειρουργού πρέπει να είναι ρεαλιστικές. Ακόμα και στα χέρια των πλέον έμπειρων χειρουργών, και εφόσον δε παρουσιαστούν επιπλοκές, τα αισθητικά αποτελέσματα αποκατάστασης των ωτικών ελλειμάτων πάντα υπολείπονται [24].

Τα πλεονεκτήματα της αυτόλογης ωτικής αποκατάστασης σε σύγκριση με τις επιλογές αλλογενών υλικών όπως η σιλικόνη ή το πορώδες πολυαιθυλένιο (Medpor®; Stryker, Kalmanzoo, MI, Η.Π.Α.) είναι η υψηλή βιοσυμβατότητα, η μακροπρόθεσμη σταθερότητα, η ισοσυμβατότητα και το χαμηλότερο ποσοστό επιπλοκών [25-28].

Στη δεκαετία του 1990, ο Cronin δημοσίευσε στοιχεία για την αποκατάσταση του ωτός με αλλοπλαστικά υλικά με τη χρήση μη βιολογικών εμφυτευμάτων σιλικόνης. Αυτά τα εμφυτεύματα, που προωθούσαν τον σχηματισμό κάψας, παρείχαν κακή αιμάτωση για τα ωτικά πτερύγια του υπερκείμενου ιστού καθώς και για τα δερματικά μοσχεύματα και είχαν υψηλά ποσοστά απόρριψης [25-29].

Ο Reinisch περιέγραψε τη χρήση του πορώδους πολυαιθυλενίου το 1994. Τα πρώτα αποτελέσματα έδειξαν μεγάλο ποσοστό αποτυχίας στην αποκατάσταση του ωτός με το συγκεκριμένο υλικό. Οι μετέπειτα βελτιώσεις του Medpor της τεχνικής μείωσαν το ποσοστό επιπλοκών με την τοποθέτηση ενός κροταφοβρεγματικού κρημνού για την κάλυψη. Η αποκατάσταση με τη μέθοδο Medpor ακόμα και σήμερα χρησιμοποιείται επιτυγχάνοντας κάποιες φορές συμμετρία σε σχέση με το ετερόπλευρο φυσιολογικό αυτί [30].

Οι πιο συχνές επιπλοκές της μεθόδου Medpor περιλαμβάνουν τη δημιουργία αιματώματος, τη μόλυνση και την απώλεια του πτερυγίου. Τα αιματώματα μπορούν να παροχετευθούν εφόσον διαγνωστούν εγκαίρως και στην περίπτωση νέκρωσης του

πτερυγίου, το εμφύτευμα πρέπει να αφαιρεθεί. Η μόλυνση του εμφυτεύματος, δημιουργεί ένα βιο-υμένιο γύρω από το εμφύτευμα, το οποίο συνήθως είναι αδιαπέραστο στην ενδοφλέβια και στην από του στόματος αντιβίωση. Σε αυτή την περίπτωση πρέπει να γίνει αφαίρεση του εμφυτεύματος. Η πιο συχνή μακροχρόνια επιπλοκή είναι η θραύση της ωτικής κατασκευής και απαιτείται αφαίρεση με άμεση διαμόρφωση και τοποθέτηση νέου εμφυτεύματος.

Η Ιστομηχανική είναι ένας πολλά υποσχόμενος τομέας για την επιδιόρθωση ή την αντικατάσταση όλων των ειδών των ιστών του ανθρώπινου οργανισμού. Η ιστομηχανική συνδυάζει τις αρχές της μηχανικής και των βιοεπιστημών για την παραγωγή ιστικών δομών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αποκατάσταση συγγενών και επίκτητων ανωμαλιών [31]. Πρόσφατα ερευνητές ανέφεραν ότι ο ωτικός χόνδρος μπορεί να συσταθεί σε ένα προκαθορισμένο σχήμα και σε πολύπλοκες τρισδιάστατες δομές, όπως ένα ανθρώπινο ούς, με τη χρήση κυτταρικής μεταμόσχευσης σε πολυμερείς κατασκευές.

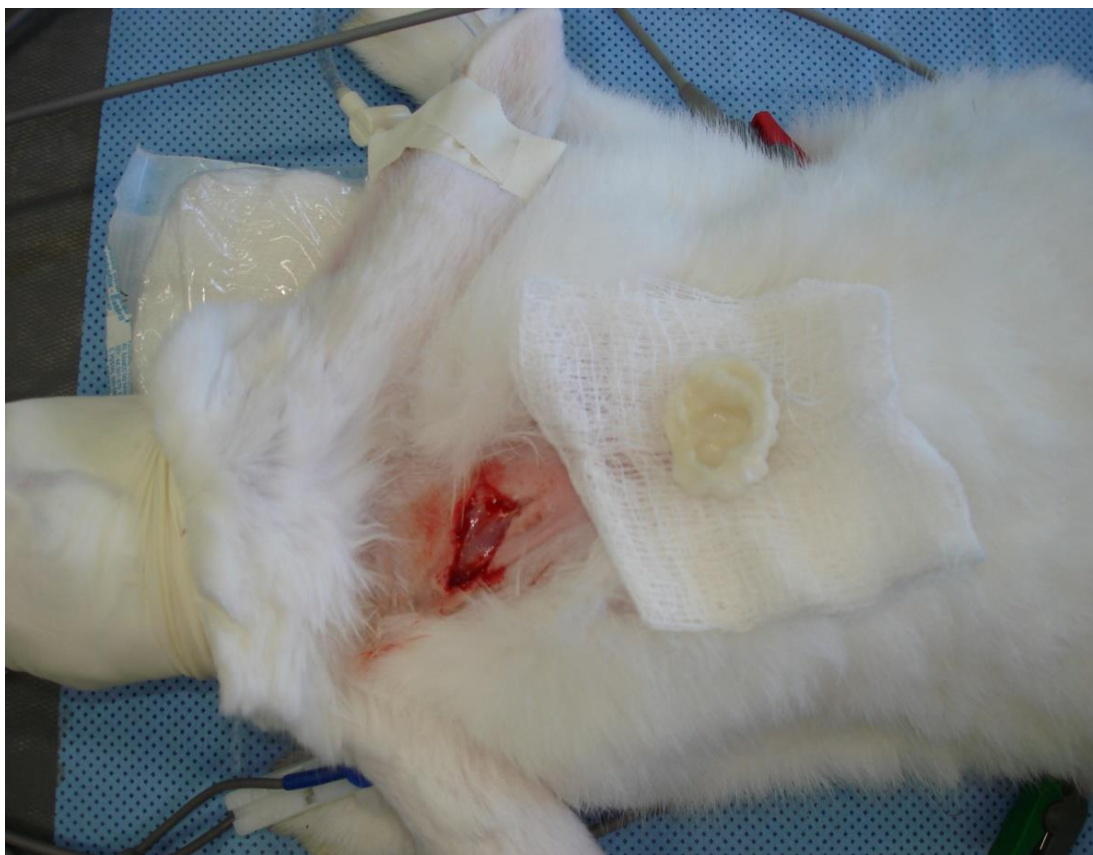
Τα κρίσιμα θέματα για την ιστομηχανική του ωτός περιλαμβάνουν τη δημιουργία του κατάλληλου περιβάλλοντος κυτταρικής καλλιέργειας, την επιλογή των πολυμερών υλικών, την καλλιέργεια των χονδροκυττάρων, τη μελέτη των δομών των πολυμερών σε αποδεκτό ζωϊκό μοντέλο, καθώς και τη μακρόχρονη δομική ακεραιότητα της ωτικής κατασκευής. Για τη δημιουργία του ωτικού χόνδρου η πιο συνηθισμένη προσέγγιση είναι η χρήση κατασκευών κυτταρικής μήτρας (Εικόνα 1).



Εικόνα 1. Ιστομηχανική κατασκευή ωτικού χόνδρου.

Κάθε ιστός υφίσταται συνεχή αναδιαμόρφωση και πρακτικά τα κύτταρα μπορούν να αναδιοργανωθούν μέσα σε οποιοδήποτε ιστό, όταν τοποθετούνται στις κατάλληλες συνθήκες κυτταρικής καλλιέργειας και όταν βρίσκονται εντός μίας μήτρας που επιτρέπει τη διάχυση αυξητικών παραγόντων και οξυγόνου. Τα αυτόλογα κύτταρα που απομονώνονται και αναπτύσσονται μετά από βιοψία οποιουδήποτε ιστού εισάγονται σε ικρίωματα, τα οποία βοηθούν στην ανάπτυξη του νέου ιστού παρέχοντας δομική υποστήριξη και κατάλληλο τρισδιάστατο περιβάλλον. Συνήθως τα ικρίωματα κατασκευάζονται είτε από συνθετικά ή από φυσικά βιοδιασπώμενα και βιοσυμβατά πολυμερή που σταδιακά αντικαθίστανται από τον αναγεννημένο ιστό. Όταν τα κύτταρα προσφυηθούν στις μήτρες και αναπαραχθούν, η κυτταρική αναδιοργάνωση προκαλείται μέσω των κατάλληλων ουσιών ανάπτυξης των ιστών, όπως οι ορμόνες και

οι αυξητικοί παράγοντες. Μετά από τον σχηματισμό του επιθυμητού ιστού, οι κυτταρικές μήτρες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για μεταμοσχεύσεις (Εικόνα 2).



Εικόνα 2. Μεταμόσχευση ιστομηχανικής κατασκευής ωτικού χόνδρου.

Οι κατασκευές ιστών αποτελούν τρισδιάστατα πρότυπα συστήματα που χρησιμοποιούνται για τη βασική έρευνα σε τεχνητό (in vitro), αλλά και σε φυσικό (in vivo) περιβάλλον (ζώντες οργανισμοί). Παρά το γεγονός ότι η ιστομηχανική είναι μία πολλά υποσχόμενη μέθοδος για την επιδιόρθωση και την αποκατάσταση των ανωμαλιών του ωτικού χόνδρου, ο χόνδρος με τρισδιάστατη δομή, όπως αυτή του ανθρώπινου αυτιού, παραμένει μια μεγάλη πρόκληση για τους επιστήμονες δεδομένης της ιδιάζουσας αρχιτεκτονικής του [1, 32, 33].

Οι Green και Dickens περιέγραψαν την πρώτη καλλιέργεια χόνδρου το 1972. Έκτοτε, διάφορες ερευνητικές ομάδες παγκοσμίως επικεντρώθηκαν στην ιστομηχανική κατασκευή χόνδρου [34]. Οι πρώτες ιστομηχανικές κατασκευές σε σχήμα ωτός, που κατασκευάστηκαν από χονδροκύτταρα βοοειδών και βιοσυμβατά ικρίωματα από την ομάδα Vacanti, ήταν επιρρεπείς σε παραμόρφωση, όταν μεταμοσχεύθηκαν σε ανοσοκατεσταλμένα ποντίκια [35]. Από τότε που η ερευνητική ομάδα του Cao et al.

κατασκεύασε το χόνδρο σε σχήμα ανθρώπινου ωτός, πολλοί ερευνητές προσπάθησαν να ερευνήσουν τις περαιτέρω εξελίξεις αυτού του συστήματος ιστομηχανικής, αλλά ελάχιστοι κατάφεραν τη δημιουργία παρόμοιας κατασκευής χόνδρου σε τεχνητό περιβάλλον με πλήρη και ανατομικά αποδεκτή ωτική δομή [36-43]. Το ικρίωμα ωτικού χόνδρου πρέπει να έχει δομή και σύνθεση παρόμοια με αυτήν του μητρικού ιστού. Η μηχανική του ωτικού χόνδρου πρέπει να αναπτυχθεί με βάση μία πολύπλοκη τρισδιάστατη αρχιτεκτονική δομή και στις περισσότερες περιπτώσεις δεν μπορεί να διατηρήσει την αρχική αρχιτεκτονική δομή, όταν μεταμοσχευθεί σε τεχνητό περιβάλλον.

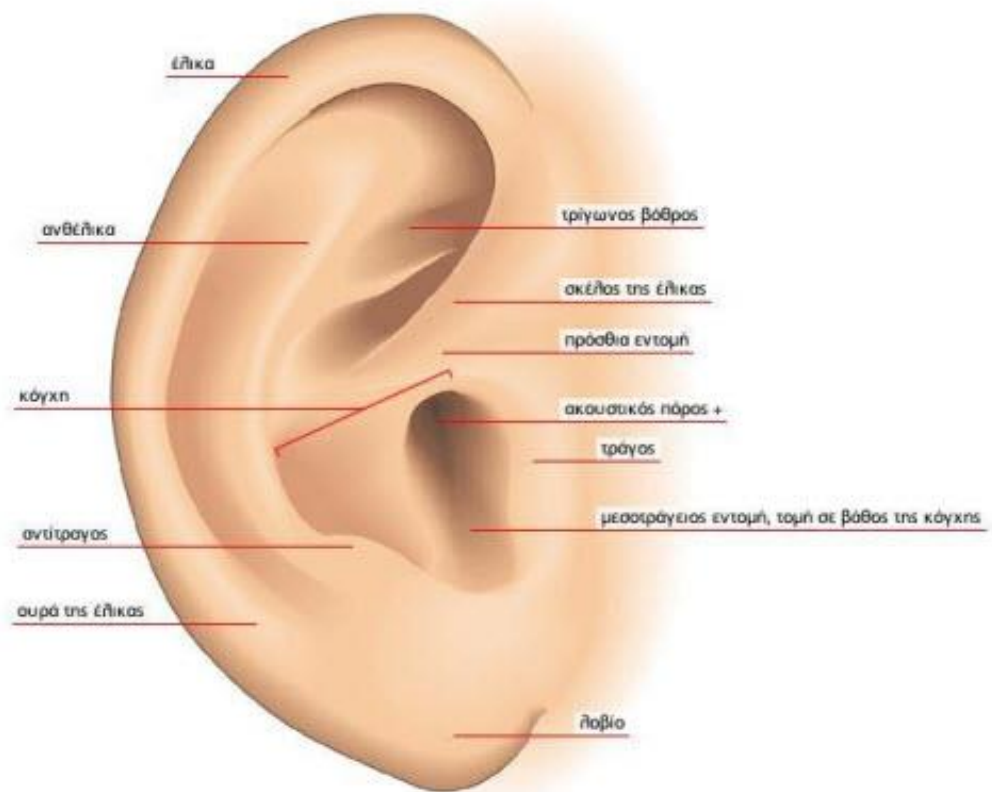
Πολλές ομάδες χρησιμοποίησαν βλαστοκύτταρα από μυελό των οστών, βλαστοκύτταρα από το λιπώδη ιστό και αρχέγονα μεσεγχυματικά κύτταρα του αίματος [44-46]. Οι έρευνες στην ιστομηχανική των ιστών έχουν δείξει ότι για τη δημιουργία πιστών αντιγράφων ιστών, χρειάζονται συγκεκριμένα είδη βλαστοκυττάρων. Οι σχετικές μελέτες έχουν αποδείξει ότι κυτταρικές πηγές από πλευρικά και ρινο-διαφραγματικά χονδροκύτταρα, σε σχέση με χόνδρο που προέρχεται από το ίδιο το ούς, έχει ως αποτέλεσμα τη παραγωγή χόνδρου που δεν περιέχει ελαστίνη με αποτέλεσμα οι μηχανικές ιδιότητες να διαφέρουν σημαντικά [47]. Για παράδειγμα, ο πλευρικός χόνδρος, που χρησιμοποιείται ευρέως στην αυτόλογη ωτική αποκατάσταση, έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ασβεστοποιημένου χόνδρου, δημιουργώντας ένα μη αποδεκτό αισθητικό τελικό αποτέλεσμα. Η χρήση συγκεκριμένων πηγών βλαστοκυττάρων για την ιστομηχανική κατασκευή του ωτικού χόνδρου είναι καίριας σημασίας, διότι μπορούν δημιουργήσουν ακόμα και το περιχόνδριο που παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της ομαλής ανάπτυξης και διατήρησης ενός εμφυτεύματος.

Η κλινική εφαρμογή των ωτικών ικριωμάτων με μακροχρόνια διατήρηση της σταθερότητας του σχήματος και τη συνεχή αγγείωση των καλλιεργημένων κατασκευών για την παροχή θρεπτικών ουσιών και οξυγόνου είναι περιορισμένη. Ο κύριος λόγος που οδηγεί στην αποτυχία κατασκευής ωτικού χόνδρου στο εργαστήριο (in vitro), με επαρκή έλεγχο στο σχήμα και στη δομή, είναι η έλλειψη κατάλληλων ικριωμάτων [48]. Το ικρίωμα για την κατασκευή ωτικού χόνδρου θα πρέπει να υφίσταται επεξεργασία σε συγκεκριμένο προκαθορισμένο σχήμα και να έχει επαρκή μηχανική αντοχή, για να διατηρήσει το προσχεδιασμένο σχήμα κατά τη διαδικασία της χονδρογένεσης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΟΥΣ

1.1 ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΕΞΩ ΩΤΟΣ

Για να επιτύχουμε μία ωτική κατασκευή μέσω της ιστομηχανικής, η οποία να μπορεί να αντικαταστήσει το μητρικό ους, πρέπει να μελετηθεί και να αναλυθεί η ανατομία του ωτός. Το ους θεωρείται ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά της εμφάνισης του προσώπου. Εκείνο που κοινώς αναφέρεται ως «αυτί», είναι στην πραγματικότητα το πτερύγιο του ωτός και εκ της φύσεώς του είναι υπεύθυνο για να συλλέγει ηχητικά κύματα και να τα διοχετεύει στον τυμπανικό υμένα. Το ους περιλαμβάνει το αισθητήριο όργανο της ακοής και της ισορροπίας του σώματος και χωρίζεται σε ένα περιφερικό και ένα κεντρικό τμήμα. Το περιφερικό περιλαμβάνει το έξω ους, το μέσο ους, το έσω ους και το στατικοακουστικό νεύρο με τις δύο μοίρες. Το κεντρικό περιλαμβάνει την κεντρική ακουστική οδό, τα υποφλοιώδη και φλοιώδη ακουστικά κέντρα και την κεντρική αιθουσαία οδό. Το έξω ους αποτελείται από το πτερύγιο του ωτός και τον έξω ακουστικό πόρο. Περιέχει αδένες που εκκρίνουν κυψελίδα, μια κηροειδή ουσία η οποία προστατεύει το ους. Η αγγείωση του έξω ωτός γίνεται από κλάδους της έξω καρωτίδας. Το πτερύγιο αποτελείται από χόνδρινο πέταλο που περιβάλλεται από δέρμα. Το κάτω άκρο του ονομάζεται λοβίο, περιέχει λίπος και στερείται χόνδρου. Η έξω επιφάνεια του πτερυγίου εμφανίζει κατά το πρόσθιο χείλος του έξω ακουστικού πόρου μικρό έπαρμα, τον τράγο. Πίσω και ελαφρά προς τα κάτω από το στόμιο του έξω ακουστικού πόρου υπάρχει ένα άλλο μικρό έπαρμα, ο αντίτραγος που χωρίζεται από τον τράγο με τη μεσοτράγιο εντομή. Το πτερύγιο βοηθά στον εντοπισμό των ήχων και τα επάρματα και οι σχισμές του ωτός μεταδίδουν ηχητικά κύματα μέσα στο ους, σε διάταξη που εξαρτάται από την πηγή τους και τα οποία κατόπιν αποκωδικοποιούνται από τον εγκέφαλο. Το ανθρώπινο πτερύγιο του ωτός είναι μία εξαιρετικά πολύπλοκη τρισδιάστατη κατασκευή, που περιέχει πολυάριθμα επιμέρους χαρακτηριστικά. Τα κύρια ανατομικά χαρακτηριστικά του πτερυγίου απεικονίζονται στην Εικόνα 3.



Εικόνα 3. Ανατομικά χαρακτηριστικά του ωτικού περυγίου.

Η εξωτερική στεφάνη του ωτός αναφέρεται ως έλικα, η οποία μοιάζει με πηνίο ή σπείρα. Στο μέσον της έλικας, διέρχεται παράλληλα ένα δεύτερο έπαρμα, η ανθέλικα, η οποία δημιουργεί καμπύλη γύρω από το άνω μέρος του ωτός και συστρέφεται προς τα κάτω, προς το λοβό. Ο λοβός είναι μαλακός και παχύς σε αντίθεση με το υπόλοιπο μέρος του ωτός, το οποίο αποτελείται από χόνδρο. Το έξω ους αποτελείται από δύο στενά τοποθετημένες προεξοχές, η άνω πρόσθια προεξοχή καλείται τράγος και η αντίστοιχή της αντιτράγος. Ο τράγος, έχει ως κύρια αποστολή να προστατεύει τον ακουστικό πόρο. Η κοιλότητα κοντά στον ακουστικό πόρο είναι η κόγχη. Η έλικα διέρχεται επάνω από τον τράγο προς την ανθέλικα σε ωοειδές σχήμα, περιλαμβάνοντας ανιόντα, οριζόντια και κατιόντα τμήματα. Ένα εσωτερικό έπαρμα, που λέγεται ανθέλικα, διέρχεται παράλληλα με το κατιόν τμήμα της έλικας, και συνδέεται με τον αντιτράγο. Η ανθέλικα περιέχει επίσης δύο σκέλη, τα οποία διέρχονται κάθετα προς την ανιούσα και την οριζόντια έλικα. Αυτές οι δομές είναι μοναδικές σε κάθε άτομο. Ο εντοπισμός, η επεξεργασία και ο φυσικός διαχωρισμός του ήχου είναι μια πολύπλοκη

διαδικασία που είναι χαρακτηριστική σε κάθε άνθρωπο. Το έξω ους αποτελείται από ένα λεπτό στρώμα ελαστικού χόνδρου που περιβάλλεται από αγγεία και ένα επιθηλιακό περίβλημα και παρά το ότι η σύνθεσή του αποτελείται από διαφορετικούς κυτταρικούς τύπους, η τρισδιάστατη ανατομική του πολυπλοκότητα και ο ελαστικός χόνδρινος πυρήνας του είναι τα χαρακτηριστικά που προσδίδουν μοναδικά ανατομικά χαρακτηριστικά. Ο έξω ακουστικός πόρος είναι ο οστεοχόνδρινος σωλήνας ο οποίος εκτείνεται από την κοιλότητα της κόγχης μέχρι την τυμπανική μεμβράνη. Έχει μήκος 25mm περίπου κατά το οπίσθιο και άνω τοίχωμα, ενώ λόγω της λοξής φοράς του το πρόσθιο και το κάτω τοίχωμα είναι κατά 6mm περίπου μακρύτερα. Συνίσταται από δύο μοίρες, την έξω που είναι χόνδρινη και την έσω που είναι οστέινη. Η χόνδρινη μοίρα έχει μήκος 8mm και αποτελείται από αυλακοειδή χόνδρο, οποίος αποτελεί την έσω μοίρα του περυγιάιου χόνδρου. Η οστέινη μοίρα έχει μήκος 16mm, αποτελεί δηλαδή τα 2/3 του συνολικού έξω ακουστικού πόρου και ποικίλει σημαντικά σε μέγεθος και σχήμα. Η αγγείωση επιτελείται από κλάδους της επιπολής κροταφικής αρτηρίας, από την οπίσθια ωτιαία αρτηρία και την τυμπανική αρτηρία. Η αισθητική νεύρωση προέρχεται από το τρίδυμο νεύρο, το μείζον ωτιαίο νεύρο και το πνευμονογαστρικό.

1.2 ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑ ΕΞΩ ΩΤΟΣ

Το έξω και το μέσο ους αναπτύσσονται από τα πρώτα και τα δεύτερα φαρυγγικά τόξα και την μεταξύ τους αύλακα. Η πρώτη αύλακα σχηματίζει τον έξω ακουστικό πόρο και το εξωτερικό τμήμα της τυμπανικής μεμβράνης. Ο έξω ακουστικός πόρος προέρχεται από το εξώδερμα της πρώτης βραγχιακής σχισμής. Επίσης, το πρώτο φαρυγγικό εκκόλπωμα είναι στην αντίθετη πλευρά της αύλακας εσωτερικά και εκτείνεται για να δημιουργήσει την ευσταχιανή σάλπιγγα και τον βλεννογόνο υμένα του μέσου ωτός. Κάθε φαρυγγικό τόξο αποτελείται από μεσεγχυματικό πυρήνα ο οποίος καλύπτεται εξωτερικά με εξώδερμα και εσωτερικά με ενδόδερμα. Στην πρώιμη ανάπτυξη, πριν το σχηματισμό του χόνδρου, ταχέως πολλαπλασιαζόμενα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα, με την επίδραση παραγόντων όπως TGF- β , (Τροποποιητικός Αυξητικός Παράγοντας βήτα), BMP (Μορφογενετική Πρωτεΐνη Ιστών) και FGF (Αυξητικός Παράγοντας Ινοβλαστών) προκαλούν το σχηματισμό προχόνδρινων οζιδίων [49]. Κατά την περαιτέρω διαφοροποίηση, αυτά τα οζίδια γίνονται χόνδρινα στον πυρήνα τους και μετά σχηματίζουν τον ωτικό σκελετό.

Παρά το γεγονός ότι η συγκεκριμένη διαδικασία σχηματισμού χόνδρου είναι συνήθης για το σχηματισμό του υαλώδους χόνδρου, πιστεύεται ότι το ίδιο ισχύει και για την ανάπτυξη του ελαστικού χόνδρου του ωτός. Έτσι μπορεί να εξηγηθεί ότι το έσω ους είναι φυσιολογικό στις περισσότερες περιπτώσεις μικρωτίας σε συνδυασμό με την υποπλασία του έξω ακουστικού πόρου. Το μέσο ους προέρχεται από το ενδόδερμα από τις φαρυγγικές αύλακες. Σε μία πρόσφατη μελέτη, έχει αποδειχτεί ότι το επιθήλιο του μέσου ωτός προέρχεται από ενδοδερμικά κύτταρα που φέρουν μικροσκοπικές τριχοειδείς προσεκβολές, οι οποίες προφυλάσσουν από τις μολύνσεις του μέσου ωτός [49]. Αυτά τα προερχόμενα από ενδόδερμα κύτταρα βρίσκονται στην ευσταχιανή σάλπιγγα και επεκτείνονται ελαφρώς πέρα από τον τυμπανικό υμένα. Στο μεσαίο τοίχωμα και τον επιτυμπάνιο χώρο, ο βλεννογόνος προέρχεται από νευρικό ακρολοφίο και είναι μη βλεφαριδοφόρος. Έτσι, ο βλεννογόνος του μέσου ωτός είναι διπλής προέλευσης. Το ωτίο αναπτύσσεται από έξι λοφίσκους που εμφανίζονται στην εξωτερική εξωδερμική επιφάνεια των πρώτων και δεύτερων ωτικών τόξων κατά την πέμπτη εβδομάδα της κύησης. Οι πρόσθιοι ή κοιλιακοί λοφίσκοι προέρχονται από το πρώτο φαρυγγικό τόξο και καλούνται τράγος, έλικα και κούλο μέρος της κόγχης (cymba concha). Οι οπίσθιοι ή ραχιαίοι λοφίσκοι προέρχονται από το δεύτερο φαρυγγικό τόξο και καλούνται ανθέλικα, αντιτράγος και κόγχη [50]. Ο ελαστικός χόνδρος είναι ένας πυκνός ακανόνιστος συνδετικός ιστός που συνήθως βρίσκεται στο έξω ους, στην ευσταχιανή σάλπιγγα του μέσου ωτός καθώς επίσης και στην επιγλωττίδα και προσφέρει την ευκαμψία και την αντοχή που απαιτείται, για να διατηρήσουν αυτές οι δομές τη λειτουργία τους. Η παρουσία της ελαστίνης σε αυτόν τον τύπο του χόνδρου τον διακρίνει από τους άλλους τύπους του χόνδρου: υαλώδης και ινοχόνδρινος. Ο υαλώδης και ο ινώδης χόνδρος είναι μηχανικά δυνατοί και μπορούν να αντέχουν βαριά φορτία, ενώ ο ελαστικός χόνδρος χρησιμοποιείται κυρίως για την ευκαμψία του. Ομοίως προς τον υαλώδη χόνδρο, ο ελαστικός έχει υψηλή σύσταση κολλαγόνου II, χαμηλά επίπεδα κολλαγόνου τύπου I και πολύ υψηλά επίπεδα θειικών γλυκοζαμινογλυκανών (sGAGs), και αντίθετα με τον υαλώδη και τον ινώδη χόνδρο, ο ελαστικός χόνδρος έχει άφθονη παρουσία λειτουργικών ελαστικών ινών, παρέχοντας στον ιστό την ευκαμψία που δεν παρατηρείται στους άλλους δύο τύπους χόνδρου.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΜΙΚΡΩΤΙΑ

2.1. ΟΡΙΣΜΟΣ

Μικρωτία σημαίνει μικρό ους εκ γενετής με ή χωρίς δομικές ανωμαλίες. Η ανωτία είναι μία ακραία περίπτωση μικρωτίας, όπου δεν υπάρχουν καθόλου ωτικές δομές. Υπάρχει ένα ευρύ φάσμα σχετικά με το μέγεθος και το σχήμα του φυσιολογικού ανθρώπινου ωτός, συνεπώς ένα ελαφρώς μικρό ους χωρίς ανατομικές αποκλίσεις δεν μπορεί να χαρακτηριστεί ως μικρωτία. Επίσης μικρές δυσπλασίες, αφεστώτα ότα, μεμονωμένες ανωμαλίες του τράγου και του λοβού δεν μπορούν να χαρακτηριστούν ως μικρωτία. Οι περισσότερες περιπτώσεις μικρωτίας αφορούν τη μία πλευρά (79-91%) με επικρατούσα τη δεξιά πλευρά [51]. Ο χόνδρος στη μικρωτία διατηρεί ανατομική οργάνωση παρόμοια με αυτή του υγιούς ελαστικού χόνδρου. Το 2009, ο Hunter περιέγραψε ένα σύστημα κατηγοριοποίησης για τη μικρωτία [52]. Αυτή η κατηγοριοποίηση είναι ένας συνδυασμός αυτών που είχαν περιγράψει οι Marx και Meurman [53]. Έχουν αναφερθεί πολλοί παράγοντες κινδύνου για τη μικρωτία, όπως περιβαλλοντικοί και γενετικοί παράγοντες που μπορεί να δημιουργήσουν προδιάθεση για μικρωτία. Φάρμακα, όπως τα ρετινοειδή, η θαλιδομίδη, η μυκοφαινολάτη, είναι γνωστά ως παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση μικρωτίας. Ο ακριβής μηχανισμός δεν είναι γνωστός. Η λήψη φυλλικού οξέος στη διάρκεια της εγκυμοσύνης φαίνεται ότι μειώνει τον κίνδυνο μικρωτίας σε μη παχύσαρκες γυναίκες. Το Οφθαλμικό – Πτερύγιο – Σπονδυλικό Φάσμα (OAVS) είναι ένα σύμπλεγμα κλινικών ευρημάτων που χαρακτηρίζεται από ασυμμετρία του προσώπου, μικρωτία, θηλώματα στο αυτί και στο πρόσωπο, επιβολβικά δερμοειδή στους οφθαλμούς, μικροφθαλμία και μερικές φορές μακροστομία. Η ημιπροσωπική μικροσωμία (HFM) και το σύνδρομο Goldenhar θεωρείται ότι απεικονίζουν διαφορετικές βαθμίδες αυτού του φάσματος και συνοδεύονται από την εμφάνιση μικρωτίας. Το σύνδρομο Treacher Collins είναι μία κρανιοπροσωπική διαταραχή που εμφανίζει μικρωτία και το Treacher Collins-Franceschetti 1 γονίδιο (TCOF1) κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη που λέγεται Treacle και μπορεί να ευθύνεται για την εμφάνιση μικρωτίας. Το Βράγχιο – Ωτο – Ρινικό σύνδρομο (BOR) είναι μία γενετική διαταραχή που χαρακτηρίζεται από ανωμαλίες των βραγχιακών σχισμών, ωτικές ανωμαλίες και ρινικές δυσμορφίες. Έχουν περιγραφεί επίσης χρωμοσωμικές ανωμαλίες που σχετίζονται με τη μικρωτία, όπως η τρισωμία των χρωμοσωμάτων 13, 18 και 22.

2.2. ΚΑΤΗΓΟΡΙΟΠΟΙΗΣΗ

Η κατηγοριοποίηση της μικρωτίας συνήθως απλουστεύεται αξιολογώντας μόνο το βαθμό των εξωτερικών ωτικών δυσμορφιών κατά Hunter.

1. Βαθμός I – Ελαφρά έλλειψη στην ανάπτυξη του πτερυγίου. Όλα τα κύρια δομικά στοιχεία υπάρχουν σε κάποιο βαθμό και η αποκατάσταση δεν απαιτεί μεταμόσχευση ιστού.
2. Βαθμός II – Μερική έλλειψη στην ανάπτυξη του πτερυγίου. Υπάρχει ανεπάρκεια ιστού και η χειρουργική αποκατάσταση απαιτεί πρόσθετο χόνδρο και δέρμα.
3. Βαθμός III – Παρατηρείται μεγάλη έλλειξη στην ανάπτυξη του πτερυγίου, καθώς επίσης και κλείσιμο του ακουστικού πόρου. Οι παραμορφώσεις φέρουν ελάχιστα ή μη αναγνωρίσιμα χαρακτηριστικά του ωτός, παρότι ο λοβός συνήθως υπάρχει και είναι πρόσθια τοποθετημένος. Ο Βαθμός III αποτελεί την επικρατέστερη μορφή μικρωτίας. Λόγω της ακραίας υποανάπτυξης του έξω ωτός και της απόφραξης του ακουστικού πόρου, που σχετίζεται με αυτό, απαιτείται πολύπλοκη χειρουργική επέμβαση.
4. Βαθμός IV – Συνήθως αναφέρεται ως Ανωτία και συνεπάγεται την πλήρη απουσία ολοκλήρου του ωτός. (Johns, Lucash, Im & Lewin, 2015). (Εικόνα 4)



Εικόνα 4. Κατηγοριοποίηση της μικρωτίας

<http://craniofacialteamtexas.com/congenital-ear-deformity-microtia-and-anotia/>

Η κατηγοριοποίηση Nagata χρησιμοποιείται επίσης σε ορισμένες περιπτώσεις, γιατί σχετίζεται με τη χειρουργική προσέγγιση της αποκατάστασης του εξωτερικού ωτός και είναι η εξής:

- Λοβιακού Τύπου: Οι ασθενείς έχουν υποπλαστικό ους και δυστοπία του λοβού, χωρίς την παρουσία ακουστικού πόρου ή τράγου.
- Κογχιακού Τύπου: Οι ασθενείς έχουν υποπλαστικό ους, δυστοπία του λοβού, της κόγχης (με ή χωρίς ακουστικό πόρο), του τράγου και του αντιτράγου.
- Τύπος μικρής κόγχης: Υπάρχει υποπλαστικό ους, δυστοπία του λοβού και μία μικρή εσοχή αντί για κόγχη.
- Ανωτία: Πλήρης απουσία ή παρουσία μόνο πολύ μικρού υποπλαστικού ωτός.
- Άτυπη μικρωτία: Αυτοί οι ασθενείς παρουσιάζουν δυσμορφίες που δεν κατατάσσονται σε καμία από τις προηγούμενες κατηγορίες.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΜΙΚΡΩΤΙΑΣ

3.1 ΑΥΤΟΛΟΓΗ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΤΗΣ ΜΙΚΡΩΤΙΑΣ

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, ο Ιταλός χειρουργός Tagliacozzi περιέγραψε για πρώτη φορά και απεικόνισε την επιδιόρθωση ωτικών δυσμορφιών το 1957 [54]. Η πρώτη αναφορά της χρήσης πλευρικού χόνδρου στην ωτική αποκατάσταση έγινε το 1908 από τον Schmieden [55]. Η δημοσίευση από τον H. D. Gillies για την αποκατάσταση ωτικών δυσμορφιών βασίζεται κυρίως σε περιστατικά από τραύματα στο πρόσωπο μετά από τραυματισμό. Ο Gillies ανέφερε ότι σε 30 περιπτώσεις μικρωτίας χρησιμοποίησε πλευρικό χόνδρο που έλαβε από τη μητέρα του ασθενούς. Τα αλλομοσχεύματα αυτά αποδείχτηκαν ότι απορροφώνται σταδιακά [56].

Η καθιερωμένη μέθοδος επιλογής για την αποκατάσταση της μικρωτίας βασίζεται στην επέμβαση με μόσχευμα αυτολόγου πλευρικού χόνδρου που περιγράφηκε από τον RC Tanzer το 1959 [5]. Η μέθοδός του αποτέλεσε τη βάση για τις μετέπειτα και πλέον ευρέως χρησιμοποιημένες μεθόδους που δημοσιεύτηκαν από τους Burt Brent και Satoru Nagata [6, 9, 11]. Ο Brent ανέπτυξε μία μέθοδο αποκατάστασης που περιλαμβάνει τα ακόλουθα 4 στάδια:

1. Λήψη του πλευρικού χόνδρου, δημιουργία του πλαισίου του πτερυγίου και εισαγωγή του χόνδρου κάτω από το ωτικό δέρμα
2. Μετάθεση του λοβού
3. Κάλυψη της οπίσθιας επιφάνειας του ωτικού πλαισίου με δερματικό μόσχευμα που λαμβάνεται από την περιοχή του μηρού
4. Κατασκευή του τράγου.

Το χρονικό διάστημα που μεσολαβεί μεταξύ αυτών των σταδίων είναι 12-24 μήνες [57].

Ο Nagata χρησιμοποιεί τη τεχνική των δύο σταδίων κατά την οποία το πρώτο στάδιο περιλαμβάνει τη λήψη του πλευρικού χόνδρου, την κατασκευή του τρισδιάστατου πλαισίου και την εισαγωγή του πλαισίου κάτω από το δέρμα στην τελική του θέση. Το δεύτερο στάδιο περιλαμβάνει την ανύψωση του πτερυγίου. Αντί για ελεύθερο δερματικό μόσχευμα, ο Nagata χρησιμοποιεί μερικού πάχους κροταφοβρεγματικό κρημνό περιτονίας για να καλύψει την εκτεθειμένη οπίσθια περιοχή του πτερυγίου [6]. Εκτός από τους Brent και Nagata, πολλοί άλλοι χειρουργοί έκαναν αρκετές τροποποιήσεις αυτών των τεχνικών. Η κατάλληλη ηλικία για την

αποκατάσταση της μικρωτίας ποικίλλει, αλλά πρέπει να λαμβάνονται υπ' όψιν συγκεκριμένοι σωματικοί και ψυχολογικοί παράγοντες. Συνήθως υπάρχει επαρκής πλευρικός χόνδρος, διαθέσιμος για αποκατάσταση στην ηλικία των έξι ετών, εάν ο χειρουργός χρησιμοποιήσει την τεχνική Brent. Η πιο ενδεδειγμένη ηλικία για την έναρξη της επέμβασης είναι στα 6-7 έτη για τη τεχνική Brent. Το ους φτάνει σχεδόν στο μέγεθος του ενηλίκου περίπου στην ηλικία των 10 ετών. Στην Ιαπωνία, η ηλικία των 10 ετών είναι η προτεινόμενη για να ξεκινήσουν οι επεμβάσεις αποκατάστασης. Η ποσότητα του πλευρικού χόνδρου για την τεχνική Nagata θεωρείται επαρκής σε αυτή την ηλικία.

Σε περιπτώσεις ήπιων και μέτριων ωτικών δυσμορφιών (Βαθμός I & II Μικρωτίας), χρειάζεται πρόσθετο δέρμα και πλευρικός χόνδρος για την αποκατάσταση. Ο ακουστικός πόρος και το μέσω ους είναι ως επί το πλείστον φυσιολογικά. Σε ορισμένες περιπτώσεις δυσμορφιών δευτέρου βαθμού, το νέο ους μπορεί να συρραφεί στον εναπομείναντα ωτικό χόνδρο, ειδικότερα στο κατώτερο τμήμα του ωτός. Επίκτητες απώλειες της ελικοειδούς στεφάνης ποικίλουν από μικρές ατέλειες έως την απουσία των κύριων τμημάτων της έλικας. Η τεχνική αποκατάστασης εξαρτάται πρώτα από την αποδέσμευση ολόκληρης της έλικας από την σκάφο (δηλ. την καμπύλη που διαχωρίζει την έλικα από την ανθέλικα) μέσω μίας τομής στην ελικοειδή αύλακα που εκτείνεται μέσω του χόνδρου. Το ωτικό δέρμα της οπίσθιας περιοχής διαχωρίζεται χειρουργικά, με τομή μόνο επιφανειακά στο περιχόνδριο μέχρις ότου να αιωρείται όλη η έλικα ως χονδροδερμικός κρημνός στο δέρμα της οπίσθιας περιοχής. Εάν λείπει μόνο η ελικοειδής στεφάνη, ένας κρημνός οπισθοωτικού δέρματος μπορεί να χρησιμοποιηθεί με ικανοποιητικά αποτελέσματα. Οι διαθέσιμες τεχνικές για την επανόρθωση των ωτικών δυσμορφιών είναι οι εξής: τοπικά δερματικά μοσχεύματα, μόσχευμα ετερόπλευρου κογχικού χόνδρου, χονδροδερμικό σύνθετο μόσχευμα και μόσχευμα πλευρικού χόνδρου καλυμμένο με κροταφοβρεγματικό κρημνό. Έχουν περιγραφεί διάφορες τεχνικές για την αποκατάσταση των ανωμαλιών του ωτικού λοβού και οι πιο αποτελεσματικές είναι αυτές που περιλαμβάνουν στήριξη από χόνδρο, παρά το γεγονός ότι ο φυσιολογικός λοβός δεν περιέχει χόνδρο. Όμως, ένας αναπλασμένος λοβός διατηρεί καλύτερα το σχήμα του, εάν φέρει χόνδρο.

Η αποκατάσταση του τρίτου βαθμού μικρωτίας είναι ένα δύσκολο έργο για τους πλαστικούς χειρουργούς του προσώπου και απαιτεί τις περισσότερες φορές ολική ωτική αποκατάσταση. Η απόφαση, για το αν η αποκατάσταση θα γίνει με τη χρήση

αυτολόγου πλευρικού μοσχεύματος ή πλαισίων πορώδους πολυαιθυλενίου, εξαρτάται από τον χειρουργό και την εμπειρία του με τις συγκεκριμένες τεχνικές. Η χειρουργική τεχνική δύο σταδίων περιλαμβάνει αρχικώς τη δημιουργία ενός μοντέλου, το οποίο δημιουργείται πριν την αποκατάσταση χρησιμοποιώντας το έτερο ούς ως οδηγό [58]. Οι αποστάσεις από την έλικα ως τον εξωτερικό κανθό και από τον λοβό στην άκρη του στόματος χρησιμοποιούνται για να σχεδιαστεί η ακριβής θέση για την τοποθέτηση του ωτός. Κατά το πρώτο στάδιο λαμβάνονται οι ομόπλευροι πλευρικοί χόνδροι για να κατασκευαστούν όλα τα ανατομικά τμήματα του ωτός. Μία ελαφρά πλάγια τομή γίνεται ακριβώς πάνω από το πλευρικό τοίχωμα, ο μυς διαχωρίζεται και αφαιρείται χόνδρος από το 6-8 επίπεδο. Ο χόνδρος που χρησιμοποιείται για να κατασκευαστεί η έλικα αφαιρείται με το περιχόνδριο, ενώ το υπόλοιπο τμήμα αφαιρείται αφήνοντας το περιχόνδριο, για να υπάρξει αναγέννηση του χόνδρου και να αποφευχθούν οι αισθητικές ανωμαλίες στον θώρακα. Τοποθετείται παροχέτευση αφ' ενός για να προληφθεί ο σχηματισμός αιματώματος και αφ' ετέρου για την έγχυση των αναισθητικών φαρμάκων για την αναλγησία. Το πλαίσιο του χόνδρου, που λαμβάνεται από τμήμα της βάσης του έκτου και έβδομου πλευρικού χόνδρου, σμιλεύεται για να σχηματιστεί η ανθέλικα, η σκάφος και ο τριγωνικός βόθρος. Κατόπιν το τρισδιάστατο πλαίσιο τελειοποιείται περαιτέρω με τη χρήση του μοντέλου από το έτερο φυσιολογικό ούς. Τα τμήματα του χόνδρου ενώνονται με λεπτά ράμματα. Αν υπάρχει περίσσεια του χόνδρου, αποθηκεύεται στον υποδόριο ιστό της δότριας περιοχής για το δεύτερο στάδιο της επέμβασης. Η δερματική τομή της Firmin μπορεί να επεκταθεί οπισθίως στη μαστοειδή περιοχή, εάν είναι αναγκαίο να μετατοπιστεί ο λοβός πιο πίσω.[59] Είναι σημαντικό να γίνει συρραφή του ταύματος χωρίς πίεση, αποφεύγοντας τον κίνδυνο δερματικής νέκρωσης και απώλειας τμήματος ή όλου του χόνδρου. Η καλή αιμόσταση είναι επιβεβλημένη για την αποφυγή σχηματισμού αιματώματος. Δύο παροχετεύσεις αναρρόφησης κενού τοποθετούνται βαθειά μέσα στην κόγχη και γύρω από την έλικα αντίστοιχα. Μετά το συρραφή του δέρματος, οι ανατομικές λεπτομέρειες του πλαισίου είναι άμεσα ορατές. Ένας συμπιεστικός επίδεσμος εφαρμόζεται με γάζα παραφίνης για να διατηρηθεί το ωτικό σχήμα. Οι παροχετεύσεις διατηρούνται μέχρι την τέταρτη έως έκτη μετεγχειρητική ημέρα. Το δεύτερο στάδιο αποκατάστασης γίνεται συνήθως έξι μήνες μετά το πρώτο. Η επέμβαση έχει ως στόχο την αύξηση της προεξοχής του αποκατεστημένου ωτός και τη δημιουργία οπισθοωτικής αύλακας. Γίνεται μία δερματική τομή 3 έως 5 χιλ., καθ' όλο το μήκος της έλικας. Το ούς ανυψώνεται για να

λάβει τη σωστή ωτικο-μαστοειδή γωνία και ο αποθηκευμένος χόνδρος του πρώτου σταδίου εισάγεται σε ημισεληνοειδές σχήμα κάτω από το πλαίσιο και σταθεροποιείται με ράμματα. Δερματικό μόσχευμα, μερικού πάχους που έχει ληφθεί από το παρακείμενο δέρμα της κεφαλής, τοποθετείται στην οπίσθια επιφάνεια του ωτός. Το μόσχευμα συρράπτεται στην ενδεδειγμένη θέση με πολλαπλά εσωτερικά ράμματα υπό τάση (quilting sutures), για να αποφευχθεί διάσπαση.

3.2 ΑΛΛΟΠΛΑΣΤΙΚΗ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΤΗΣ ΜΙΚΡΩΤΙΑΣ

Εκτός από τα αυτόλογα υλικά, τα αλλοπλαστικά υλικά χρησιμοποιούνται επίσης για τη κατασκευή ωτικών πλαισίων. Το αλλοπλαστικό ους κατασκευάζεται από σιλικόνη και μπορεί να σχηματιστεί ως ανεστραμμένος καθρέπτης του ετέρου ακεραίου ωτός. Η σιλικόνη εμφανίστηκε στη δεκαετία του 1950 και ήταν το πρώτο αλλοπλαστικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε ευρέως. Η σιλικόνη παρουσιάζει χαρακτηριστικά ιδανικού υλικού για την ωτική αποκατάσταση. Είναι μη πορώδης, αδρανής και δεν μεταβάλλεται το σχήμα της με το χρόνο. Παρά ταύτα μετά την εμφύτευση, η σιλικόνη σχηματίζει μία πυκνή κάψουλα ινώδους ιστού που τις περισσότερες φορές έχει ως αποτέλεσμα τη εξέλκωση του εμφυτεύματος. Είναι σύνηθες οι μικροτραυματισμοί στη περιοχή που μπορεί να προκαλέσουν διάσπαση του δέρματος και νέκρωση. Λόγω των συχνών επιπλοκών, εγκαταλείφθηκε η χρήση της σιλικόνης για τη κατασκευή ωτικών πλαισίων. Τα τελευταία 20 έτη, για την ωτική αποκατάσταση χρησιμοποιείται ένα πλαίσιο κατασκευασμένο από πορώδους πολυαιθυλένιο υψηλής πυκνότητας (Medpor®). (Εικόνα 5)



Εικόνα 5 Α Πλαίσιο πορώδους πολυαιθυλενίου υψηλής πυκνότητας (Medpor®) και Β. Εμφύτευση του Medpor® σε ασθενή με μικρωτία.

Με τον κατάλληλο σχεδιασμό του εμφυτεύματος και την πλήρη κάλυψή του με επαρκές δέρμα και περιτονία, το ποσοστό επιπλοκών έχει μειωθεί και τα μακροπρόθεσμα αποτελέσματα είναι άκρως ικανοποιητικά. Το Medpor® χρησιμοποιείται ευρέως στην περιοχή του προσώπου, όπως στη μύτη, στη γνάθο και στην οφθαλμική κόγχη. Το πορώδες υλικό βραχυπρόθεσμα αγγειώνεται και εναποτίθεται κολλαγόνο στις επιφάνειες του.

Το πορώδες πολυαιθυλένιο μπορεί να προκαλέσει κάποιου μικρού βαθμού φλεγμονή, αλλά σύμφωνα με τη βιβλιογραφία το ποσοστό των επιπλοκών είναι αποδεκτό και συγκρίσιμο με αυτό της αποκατάστασης με τη χρήση πλευρικού χόνδρου. Με τη χρήση συνθετικών υλικών, ο χειρουργικός χρόνος μειώνεται και η κατασκευή του πλαισίου είναι ευκολότερη και πιο τυποποιημένη. Μερικές κλινικές προτιμούν τον πλευρικό χόνδρο, ενώ άλλες αποδέχονται τα συνθετικά υλικά, κυρίως το Medpor®, ως καλή εναλλακτική λύση για την αποκατάσταση της μικρωτίας [60]. Είναι σημαντικό να σημειώσουμε ότι οι προσθέσεις πρέπει να αντικαθίστανται ανά 10-12 χρόνια και, ως εκ τούτου, η προσθετική αποκατάσταση είναι πιο ακριβή μακροπρόθεσμα από την αυτογενή αποκατάσταση. Η μόνη απόλυτη ένδειξη για προσθετική αποκατάσταση σε

ένα παιδί με μικρωτία είναι η αποτυχημένη αυτογενής αποκατάσταση και η ανεπάρκεια χόνδρου. Σε τέτοιον ασθενή, η προσθετική με τη χρήση Medpor® μπορεί να αποτελεί τη μόνη διαθέσιμη σωτήρια επέμβαση.

Σε ασθενείς με ημιπροσωπική μακροσωμία το δερματικό έλλειμμα περιορίζει το αποτέλεσμα που θα μπορούσε να επιτευχθεί με την αυτογενή αποκατάσταση, συνεπώς ενδείκνυται η αλλοπλαστική αποκατάσταση.

3.3 ΠΡΟΣΘΕΤΙΚΗ ΩΤΟΣ

Σε περίπτωση ολικής απουσίας του εξωτερικού ωτός ή μέρος αυτού, μπορεί να αντικατασταθεί με προσθετικό μέλος. (Εικόνα 6)



*Εικόνα 6. Προσθετικό μέλος εξωτερικού ωτός κατασκευασμένο από σιλικόνη
Τμήμα Πλαστικής και Επανορθωτικής Χειρουργικής Pontifical University Rio de
Janeiro, Brazil.*

Το προσθετικό μέλος δεν αφορά εμφύτευμα και δεν είναι ευάλωτο σε βιοανοσοσυμβατούς παράγοντες. Ως εκ τούτου, τα υλικά της προσθετικής επιλέγονται με γνώμονα την ανθεκτικότητα. Ο συνδυασμός σιλικόνης, ακρυλικών και

πολυουρεθάνης είναι τα πιο συνηθισμένα σε χρήση υλικά. Η σιλικόνη αποτελεί το κύριο σώμα της πρόθεσης και τα άλλα υλικά προστίθενται, για να στηρίξουν την ενσωμάτωση και την επικάλυψη που θα ενισχύσει την αντοχή του προθέματος. Το προσθετικό μέλος του ωτός μπορεί να συνδεθεί με τη χρήση εμφυτευμάτων τιτανίου. Τα εμφυτεύματα τιτανίου απαιτούν χειρουργική επέμβαση. Το προσδόκιμο ζωής των προσθετικών μελών είναι επί του παρόντος μερικά έτη, λόγω της φθοράς του χρώματος, απελασματοποίησης της εξωτερικής επένδυσης και ρωγμών από πιθανά ατυχήματα. Ένα πλεονέκτημα του προσθετικού ωτός είναι η καλή ανατομική αντιγραφή του φυσιολογικού ωτός. Η εγχείρηση δεν είναι πολύπλοκη, είναι ενός σταδίου και το ποσοστό επιπλοκών πολύ χαμηλό [61,62]. Σε περιπτώσεις που υπάρχει ανεπιτυχής ωτική αποκατάσταση με μόσχευμα χόνδρου η προσθετική αποκατάσταση αποτελεί τις περισσότερες φορές τη μέθοδο επιλογής. Παρά ταύτα, η οστεοενσωμάτωση της γέφυρας τιτανίου για την προσθετική ωτός προκαλεί ουλές και μπορεί να παρεμποδίσει μία μελλοντική αποκατάσταση με χόνδρο και δερματικούς κρημνούς. Στα κέντρα αποκατάστασης που διαθέτουν εκτεταμένη εμπειρία στην αποκατάσταση ωτός με πλευρικό χόνδρο, η προσθετική εμφυτεύματος με οστεοενσωμάτωση εφαρμόζεται σαν δεύτερη επιλογή.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΩΤΙΚΗ ΙΣΤΟΜΗΧΑΝΙΚΗ

4.1 ΟΡΙΣΜΟΣ ΩΤΙΚΗΣ ΙΣΤΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ

Η ιστομηχανική στοχεύει στο να χρησιμοποιήσει το συνδυασμό κυττάρων, μηχανικών υλικών και κατάλληλων βιοχημικών παραγόντων, έτσι ώστε να σχηματίσει ιστικές κατασκευές που θα χρησιμοποιηθούν για να αντικαταστήσουν τους απόντες κατεστραμμένους ιστούς. Προκειμένου να δημιουργηθεί μία αξιόλογη κατασκευή στο εργαστήριο, πρέπει τα κύτταρα που απομονώνονται από μια μικρή βιοψία να αναπαραχθούν και να αποδώσουν έναν ικανό αριθμό κυττάρων ώστε να καταστεί εφικτός ο σχηματισμός της κατασκευής. Αυτό το στάδιο αποτελεί την πιο θεμελιώδη πρόκληση σε αυτό τον τομέα, καθώς έχει παρατηρηθεί ότι η κυτταρικός πολλαπλασιασμός στο εργαστήριο μειώνει την ικανότητα σχηματισμού ελαστικού χόνδρου. Η αφετηρία για οποιαδήποτε προσπάθεια είναι η επιλογή του καταλλήλου κυτταρικού τύπου που θα μπορεί να αποδώσει στην κυτταρική καλλιέργεια και που θα μπορεί να διατηρήσει τα λειτουργικά χαρακτηριστικά του, έτσι ώστε να επιτευχθεί το επιθυμητό τελικό αποτέλεσμα.

4.2 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΩΤΙΚΗΣ ΙΣΤΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ

Οι τεχνικές καλλιέργειας που χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία της κατασκευής, πρέπει να παρέχουν ιδανικές συνθήκες για την αναπαραγωγή και διαφοροποίηση των κυττάρων. Η ωτική ιστομηχανική χρησιμοποιεί επί του παρόντος την έγχυση ή εμφύτευση του αιωρήματος κυττάρων σε ικριώματα. Η τεχνική της καλλιέργειας σε βιοαντιδραστήρες αναφέρεται ότι βελτιώνει χωροταξικά την ομοιόμορφη κυτταρική κατανομή και αποτρέπει την καταστροφή των κυττάρων. Η καλλιέργεια των κυτταρικών εμπωτισμένων κατασκευών πρέπει να γίνει με τέτοιο τρόπο, ώστε οι επιθυμητές συγκεντρώσεις των θρεπτικών ουσιών στο καλλιεργήσιμο μέσο να διατηρηθούν και να παρέχεται η μεταφορά επαρκών παραγόντων στον αναπτυσσόμενο ιστό. Τα χονδροκύτταρα αποτελούν την πηγή κυττάρων που έχει χρησιμοποιηθεί και μελετηθεί περισσότερο για την ιστομηχανική ωτικού χόνδρου μέχρι σήμερα. Ο χόνδρος περιβάλλεται από ένα ινώδες στρώμα, το περιχόνδριο, το οποίο αποτελείται από πρόδρομα κύτταρα του χόνδρου με υψηλό ποσοστό αναπαραγωγής, και δυναμικής πολυγραμμικής διαφοροποίησης με έκφραση του δείκτη βλαστοκυττάρων CD44 και CD90 [63]. Μέχρι σήμερα, οι περισσότερες μελέτες

για τη λήψη χονδροκυττάρων από ιστό χόνδρου δεν συγκεκριμενοποιούν τον διαχωρισμό του περιχονδρίου από το χόνδριο, οπότε οι κυτταρικοί πληθυσμοί που απομονώνονται πιθανώς περιέχουν και τους δυο πληθυσμούς αυτών των πρόδρομων κυττάρων. Τα χονδροκύτταρα που υπόκεινται καλλιέργεια δύναται να χάσουν την χονδρογονική τους συμπεριφορά και την έκφραση συγκεκριμένων χονδροκυτταρικών δεικτών, όπως ο SOX 9, το κολλαγόνο τύπου II, την πρωτεΐνη αγγρεκάνης και την ελαστίνη, ενώ μπορεί να παρατηρηθεί αύξηση των δεικτών ινοβλαστών, όπως το κολλαγόνο τύπου I. Ένα τρισδιάστατο πορώδες ικρίωμα είναι απαραίτητο για να παρέχει το κατάλληλο περιβάλλον για τη χονδρογένεση και το σχηματισμό νέου χόνδρου-ειδικής εξωκυτταρικής μήτρας (ECM).

4.3 ΜΕΣΕΓΧΥΜΑΤΙΚΑ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΑ ΣΤΗΝ ΙΣΤΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΩΤΙΚΟΥ ΧΟΝΔΡΟΥ

Μία από τις συνηθέστερα χρησιμοποιούμενες πηγές μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων για την ιστομηχανική χόνδρου είναι ο μυελός των οστών. Τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα που προέρχονται από μυελό των οστών (BM-MSC) είναι άφθονα, εύκολα στη λήψη και ιδιαιτέρως αναπαραγωγικά και αποτελούν μία σημαντική πηγή κυττάρων για την ιστομηχανική του χόνδρου. Τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα από μυελό των οστών έχουν την ικανότητα πολυγραμμικής διαφοροποίησης και χρειάζεται η χρήση ειδικών παραγόντων διαφοροποίησης για τη χονδρογένεση. Συνεπώς, η βελτίωση των συνθηκών καλλιέργειας είναι αυτό που ενδεχομένως χρειάζεται για τα BM-MSC κύτταρα, έτσι ώστε να παράγουν καλύτερης ποιότητας χόνδρο και για αυτό διεξάγονται μελέτες έτσι ώστε να εντοπιστούν οι κατάλληλοι παράγοντες. Παρά τη δυναμική της, η τρέχουσα χρήση των κυττάρων BM-MSC για την παραγωγή κλινικά αποδεκτών ωτικών ιστικών δομών είναι αρκετά περιορισμένη. Τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα που προέρχονται από το λιπώδη ιστό, είναι μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα ικανά να υποστούν χονδρογένεση με τη χρήση των κατάλληλων παραγόντων διαφοροποίησης. Σε μία μελέτη σύγκρισης των κυττάρων από τον λιπώδη ιστό σε σχέση με τα κύτταρα από το μυελό των οστών για την ιστομηχανική χόνδρου, διαπιστώθηκαν σχεδόν παρόμοια αποτελέσματα στην δημιουργία και επιβίωση των ωτικών κατασκευών [64]. Τα προερχόμενα από λιπώδη ιστό κύτταρα καθώς και τα κύτταρα από το μυελό των οστών υστερούν σε σχέση με τα κύτταρα που προέρχονται από το χόνδρο, λόγω του ότι η διαφοροποίηση για αυτούς

τους πολυδύναμους κυτταρικούς πληθυσμούς είναι δύσκολη σε σχέση με τα προερχόμενα από χόνδρο κύτταρα.

4.4 ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΔΟΜΩΝ ΩΤΙΚΟΥ ΧΟΝΔΡΟΥ

Η βάση για τη δημιουργία μίας τυποποιημένης ιστικής κατασκευής στο εργαστήριο είναι τα κύτταρα και οι τρισδιάστατες μήτρες. Τα ικρίωματα συνθετικού πολυμερούς πρέπει να διασφαλίζουν τις συνθήκες συνεχούς τρισδιάστατης κυτταρικής καλλιέργειας. Η καλλιέργεια των κυττάρων σε συνδυασμό με τα πολυμερή υλικά, επιλέγοντας τις κατάλληλες συνθήκες που αποδεδειγμένα έχουν αποδώσει αποτελέσματα σε άλλους ιστούς, μπορεί να βοηθήσει στην ωτική ιστομηχανική. Για παράδειγμα, η μέθοδος καλλιέργειας και η χρήση καινοτόμων συνθετικών πολυμερών μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τις ιδιότητες των ωτικών κατασκευών. Για να παραχθεί τρισδιάστατος ιστός, συνήθως χρησιμοποιούνται βιο-αντιδραστήρες που έχουν την ικανότητα να απομάκρυνουν τα κυτταρικά απόβλητα και να αυξήσουν τη παροχή των διαθεσίμων θρεπτικών ουσιών, παρέχοντας συνεχή ροή για την κυτταρική ανάπτυξη. Η ομάδα των Giardini-Rosa et al. διερεύνησε τα αποτελέσματα ενός συστήματος βιο-αντιδραστήρα συνεχούς ροής σε πρωτογενή ωτικά χονδροκύτταρα κουνελιού με πολύ καλά αποτελέσματα [65].

Το περιστρεφόμενο Σύστημα Κυτταρικής Καλλιέργειας (RCCS), το οποίο επιτρέπει το εναιώρημα συμπαγούς μάζας κυττάρων μέσα σε περιστρεφόμενο δοχείο, ενώ οξυγονώνεται μέσω μίας μεμβράνης σιλικόνης μεταφοράς αερίου, έχει επίσης εξεταστεί. Το Σύστημα RCCS είναι ιδιαίτερος χρήσιμο για το ελεύθερο εναιώρημα των τρισδιάστατων σύμπλοκων κυτταρικών δομών και είναι ιδανικό για την αναγέννηση του ωτικού ιστού. Τα αποτελέσματά του όμως στη χονδρογένεση φαίνεται ότι ποικίλλουν ανάλογα με τις συνθήκες καλλιέργειας. Προηγούμενες μελέτες που διερεύνησαν τον ρόλο των συνθηκών καλλιέργειας μικροβαρύτητας στην χονδρογένεση, παρήγαγαν αντιφατικά αποτελέσματα. Επί του παρόντος, η συνήθης μέθοδος για τη δημιουργία δομών ωτικού χόνδρου συγκεκριμένου σχήματος είναι με τη χρήση πορωδών ικριωμάτων. Τα χονδροκύτταρα εισάγονται σε πορώδες βιοσυμβατό/βιοδιασπώμενο ικρίωμα και μεταμοσχεύονται υποδόρια σε ανοσοκατασταλμένα πειραματόζωα για 3-6 μήνες με σκοπό την παραγωγή χόνδρινων δομών [64]. Αυτή θεωρείται επί του παρόντος η πιο δημοφιλής μέθοδος για την ωτική ιστική αναγέννηση λόγω της ευκολίας της στη δημιουργία τρισδιάστατων δομών, όπως

αυτές του έξω ωτός. Τα ικρίωματα, τα οποία χρησιμοποιούνται για την ιστομηχανική του ωτός, υποβάλλονται σε επεξεργασία με τη χρήση φυσικών ή συνθετικών βιοδιασπώμενων πολυμερών. Ιδανικά, η χονδρογένεση και η ωρίμανση της ωτικής κατασκευής θα επέλθει με τον ίδιο ρυθμό, όπως της αποδόμησης του ικρίωματος, έχοντας ως αποτέλεσμα τη διατήρηση της αρχικής δομής του ικρίωματος. Η κατασκευή των ικριωμάτων που παρέχουν όλα τα χαρακτηριστικά βιοσυμβατότητας, απαραίτητα για τη χρήση τους στην ιστομηχανική του ωτίου, καθώς και η τεκμηριωμένη παρουσίαση του ακριβούς χρόνου αποδόμησης, αποτελεί δύσκολη εργασία. Φυσικώς απαντώμενα πολυμερή χρησιμοποιούνται με τη μορφή γέλης και σπόγγου κολλαγόνου, μίγμα πρωτεΐνης Matrigel, άλας αλγινικού οξέος συνδεδεμένο με το πεπτίδιο RGD κυτταρικής συγκόλλησης και ικρίωματα με βάση το υαλουρονικό οξύ τροποποιημένο με εστεροποίηση (Hyaff).

Ένα άλλο σημαντικό στοιχείο για τη χρήση οποιουδήποτε συνθετικού πολυμερούς στην ιστομηχανική είναι τα προϊόντα αποδόμησης του. Για παράδειγμα, είναι γεγονός ότι το Πολυγαλακτικό Οξύ (PLA) έχει προϊόντα υψηλής όξινης αποδόμησης, τα οποία μπορεί να είναι επιβλαβή για την ωτική κατασκευή καθώς και για τον περιβάλλοντα ιστό [66]. Ως εκ τούτου, παρα το ότι βοηθούν τους επιστήμονες να δημιουργήσουν σταθερές ωτικές κατασκευές χόνδρου, η χρήση τους στους ασθενείς δεν είναι ασφαλής.

Σε μία πρόσφατη μελέτη της ομάδας Reiffel et al., χρησιμοποιήθηκε τρισδιάστατη φωτοαποτύπωση για να δημιουργήσει αντίγραφο του ανθρώπινου ωτός. Κατόπιν σε αυτό το τρισδιάστατο καλούπι που δημιουργήθηκε έγινε εισαγωγή καλλιεργημένων χονδροκυττάρων με τη χρήση ικρίωματος κολλαγόνου τύπου I. Μετά από μερικές ημέρες κυτταρικής καλλιέργειας, αυτές οι κατασκευές εμφυτεύθηκαν στη ράχη αθυμικών ποντικών. Οι κατασκευές αφαιρέθηκαν 1 έως 3 μήνες αργότερα και εξετάστηκαν οι ιστολογικές και οι μηχανικές ιδιότητες τους. Δημιουργήθηκε μία βιοσυμβατή και ανατομικά εξατομικευμένη κατασκευή με κατάλληλες βιομηχανικές ιδιότητες.

Τα κύτταρα χόνδρου που λαμβάνονται από το ους, μπορούν να καλλιεργηθούν σε κατάλληλα μέσα κυτταρικής καλλιέργειας με αυξητικούς παράγοντες και να υποστηριχθούν από βιοσυμβατό ικρίωμα πολυμερούς [67]. Λόγω της δυσκολίας στη λήψη δειγμάτων ανθρώπινου χόνδρινου ιστού, οι μελέτες για την αναπαραγωγή ανθρώπινου ωτικού χόνδρου είναι ελάχιστες. Κατά την τελευταία δεκαετία οι προσεγγίσεις της ιστομηχανικής που έχουν αναπτυχθεί στο εργαστήριο, άρχισαν να

έχουν κλινική εφαρμογή. Χονδροκύτταρα από ωτικό χόνδρο αναπτύχθηκαν στο εργαστήριο (in vitro) με τη χρήση αυτόλογου ιστού και της πολυστρωματικής τεχνικής. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι σε αυτές τις κλινικές μελέτες, η ομάδα του Yanaga δεν στηρίχθηκε στη χρήση κάποιου ικριώματος για να σχηματίσει τον ιστό [68]. Σε πρόσφατη αναφορά, η ομάδα του Yanaga εξήγησε λεπτομερώς τη μέθοδο καλλιέργειας και εμφύτευσης που ακολούθησε [68]. Τα χονδροκύτταρα μεταμοσχεύθηκαν στον κοιλιακό υποδόριο ιστό, και ο νέος χόνδρος αναπτύχθηκε σε διάστημα 6 μηνών μετά τη μεταμόσχευση. Σε δυναμικές μετρήσεις, ο χόνδρος είχε την ίδια ελαστικότητα με αυτήν του φυσιολογικού ωτικού χόνδρου. Σε 12 ασθενείς με μικρωτία έχει εμφυτευθεί το συγκεκριμένο ωτικό πλαίσιο, το οποίο έχει κατασκευασθεί από ιστομηχανικό νέο χόνδρο και στην εξαετή περίοδο μετεγχειρητικής παρακολούθησης, ο νέος χόνδρος έχει διατηρήσει το σχήμα του, χωρίς να παρατηρηθεί απορρόφηση. Η συγκεκριμένη τεχνική καλλιέργειας και εμφύτευσης μπορεί να έχει πολλαπλές εφαρμογές στην επανορθωτική και κρανιοπροσωπική χειρουργική [69]. Η ιστολογική και ανοσοϊστοχημική ανάλυση των συγκεκριμένων ιστικών κατασκευών έδειξε εξαιρετική αρχιτεκτονική και δομική ομοιότητα με τον κανονικό ωτικό χόνδρο, με άφθονη παρουσία γλυκοζαμινογλυκανών (GAGs), κολλαγόνου τύπου II και ελαστίνης.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

5.1. ΣΤΟΧΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Ελάχιστες δημοσιεύσεις περιγράφουν τη δημιουργία αυτόλογου ωτικού χόνδρου σε ανοσοσυμβατά πειραματόζωα. Στην πλειονότητα των περιπτώσεων η ποιότητα του νέου χόνδρου είναι κακή και δεν διατηρείται η σταθερότητά του μακροχρόνια. Ένας άλλος περιορισμός που υπάρχει στη ωτική κατασκευή είναι η έλλειψη επαρκούς αριθμού κυττάρων του χόνδρου. Η χαμηλή κυτταρική απόδοση από την καλλιέργεια μέσω της βιοψίας του χόνδρου, η χαμηλή κυτταροβρίθεια του χόνδρου και ο μεγάλος αριθμός κυττάρων που είναι απαραίτητος για τη κατασκευή των ωτικών πλαισίων δυσκολεύουν το έργο των επιστημόνων που ασχολούνται με το συγκεκριμένο τομέα.

Εξ όσων γνωρίζουμε μέχρι σήμερα, δεν έχει κατασκευασθεί ωτικό πλαίσιο που να διατηρεί μακροχρόνια σταθερό το μέγεθος και το σχήμα του ανθρωπίνου ωτός και να είναι κατασκευασμένο από αυτόλογα χονδροκύτταρα.

Ο σκοπός της ωτικής ιστομηχανικής είναι η δημιουργία ανατομικά αποδεκτής χόνδρινης κατασκευής εξατομικευμένης για τον κάθε ασθενή, με διαδικασία εκτός του ζώντος οργανισμού (ex vivo), έτσι ώστε ο χειρουργός απλώς να εμφυτεύει την ωτική κατασκευή υποδόρια με μια απλή χειρουργική επέμβαση. Αυτή η μέθοδος θα ήταν πιθανόν να εξαλείψει την ανάγκη λήψης αυτόλογων ιστών, μειώνοντας τις επιπλοκές της δότριας περιοχής, και επιτυγχάνοντας τη κατασκευή εξατομικευμένων ωτικών μοσχευμάτων για τον ασθενή, σε κυτταρικό, μηχανικό και ανατομικό επίπεδο. Συνεπώς, η παρούσα πειραματική μελέτη επικεντρώνεται στην προσπάθεια δημιουργίας ενός προτύπου συστήματος κατασκευής ωτικού πλαισίου που θα διατηρεί μακροχρόνια σταθερό το μέγεθος και το σχήμα του ανθρωπίνου ωτός.

Για την επίτευξη του εξατομικευμένου ωτικού πλαισίου, κρίθηκε αναγκαίο να πληρούνται συγκεκριμένοι στόχοι:

- I. Δημιουργία καταλλήλων συνθηκών καλλιέργειας για τρισδιάστατη κυτταρική καλλιέργεια
- II. Δημιουργία συνεκτικών χονδροκυτταρικών κατασκευών με διατήρηση των ιδιοτήτων και χαρακτηριστικών του χόνδρου υπό φυσιολογικές συνθήκες σε ζώντες οργανισμούς (in vivo).
- III. Διερεύνηση της τρισδιάστατης κατασκευής στα προτεινόμενα συνθετικά πολυμερή σε σχέση με την καταλληλότητά τους για ωτική ιστομηχανική.
- IV. Έλεγχος των βραχύχρονων και μακρόχρονων αποτελεσμάτων.

5.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΖΩΑ

Η μελέτη διεξήχθη στο Εργαστήριο Πειραματικών Σπουδών, στο Καθολικό Πανεπιστήμιο του Ρίο ντε Τζανέιρο στη Βραζιλία. Δεκαοκτώ ενήλικα λευκά κουνέλια Νέας Ζηλανδίας με βάρος μεταξύ 3-4 κιλών χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη. Κάθε κουνέλι τοποθετήθηκε σε ξεχωριστό κλουβί. Αφού προσαρμόστηκαν στο περιβάλλον, διεξήχθη η μελέτη. Τα ζώα παρακολουθούνταν καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης.

5.3. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

5.3.1. Δημιουργία του Ωτικού Ικριώματος

5.3.1.1 Συλλογή Δεδομένων

Για να κατασκευασθεί ένα γεωμετρικό μοντέλο ωτικής κατασκευής, είναι αναγκαία τα ακόλουθα στάδια επεξεργασίας: (1) τμηματοποίηση της δομής της εικόνας του προτύπου (μοντέλου), (2) υπολογισμός του επιφανειακού προτύπου, (3) κατασκευή του γεωμετρικού μοντέλου με βάση τα δεδομένα από την εικόνα του προτύπου και (4) μεταρτοπή των γεωμετρικών δεδομένων σε στερεολιθογραφική μορφή δεδομένων. Μετά την εισαγωγή των δεδομένων της αξονικής τομογραφίας (CT) σε μορφή αρχείου DICOM, έγινε η τρισδιάστατη διαδικασία απεικόνισης καθώς και η εξαγωγή των δεδομένων αυτών σε στερεολιθογραφική μορφή (STL). Αυτή η μέθοδος δίνει τη δυνατότητα υπολογισμού όλων των απαραίτητων δεδομένων που καθορίζουν την ανατομία και το σχήμα του ωτός. Η καταχώρηση των δεδομένων επιτυγχάνει να εντοπιστεί σωστά η θέση της κάθε διατομής, ενώ οι συντεταγμένες κάθε διατομής πρέπει πρόσθετα να υπολογισθούν με ειδικό λογισμικό. Το αποτέλεσμα είναι μία σειρά από συντεταγμένες που αντιπροσωπεύουν τη σαρωμένη επιφάνεια. Κάθε διατομή περιλαμβάνει κατά μέσο όρο 300 τιμές συντεταγμένων και ο συγκεκριμένος αριθμός των συντεταγμένων δημιουργεί μία πολύ καλή προσέγγιση για το τελικό σχήμα της ωτικής κατασκευής. Για τη συγκεκριμένη διατριβή το τμήμα ιστομηχανικής του Καθολικού Πανεπιστημίου του Ρίο ντε Τζανέιρο έλαβε εικόνες υψηλής ευκρίνειας με τη χρήση αξονικής τομογραφίας του αυτιού από δεκαοκτάχρονη εθελόντρια γυναίκα κατόπιν συναίνεσης της.

5.3.1.2 Σχεδιασμός και κατασκευή ωτικού καλουπιού

Προκειμένου να δημιουργηθεί ανατομικά ιστός ωτικού σχήματος, πρέπει να κατασκευαστεί ένα εξατομικευμένο για κάθε ασθενή καλούπι και θα πρέπει να παρέχει τις κατάλληλες συνθήκες καλλιέργειας των κυττάρων. Το 75% των περιπτώσεων μικρωτίας αφορά τη μία πλευρά, ενώ η έτερη πλευρά του ωτός μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη δημιουργία ψηφιακού τρισδιάστατου αντιγράφου του φυσιολογικού ωτός με τη χρήση λογισμικού, όπως το Cyberware Rapid 3D Digitizer (3030 Digitizer, Monterey, CA). Αυτό το ψηφιακό αντίγραφο του ωτός των ασθενών μπορεί να μετατραπεί σε τρισδιάστατο εκτυπώσιμο αρχείο και τελικώς σε τρισδιάστατη εκτύπωση ενός βιοσυμβατού σύνθετου καλουπιού, που ακολούθως μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την κατασκευή της ωτικής κατασκευής. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι αυτή η τρισδιάστατη εκτυπωμένη κατασκευή θα πρέπει να ενσωματωθεί με την κυτταρική καλλιέργεια, εφόσον έχουν επιτευχθεί επαρκή επίπεδα χονδρογένεσης.

5.3.1.3 Τρισδιάστατη λέιζερ επιφανειακή εκτύπωση

Η τρισδιάστατη εκτύπωση δημιουργεί αντικείμενα με βάση ένα ψηφιακό μοντέλο με τη χρήση της διαδοχικής επίστρωσης με υλικό που επιλέγεται, με αποτέλεσμα να υπάρχει πλήρης έλεγχος της εσωτερικής και εξωτερικής αρχιτεκτονικής δομής της κατασκευής. Μπορεί να αποδώσει εξατομικευμένα για τον κάθε ασθενή καλούπια, στα οποία η υδρογέλη σε συνδυασμό με τη κυτταρική καλλιέργεια μπορεί στη συνέχεια να δημιουργήσει εκμαγείο για τη κατασκευή εμφυτευμάτων σε πολύπλοκα σχήματα, όπως αυτά που πρέπει να χρησιμοποιηθούν για την αποκατάσταση των ωτικών δυσμορφιών. Αρκετές μελέτες στο παρελθόν επικεντρώθηκαν στην εξέλιξη της τρισδιάστατης εκτύπωσης σε συνδυασμό με την πρόοδο που έχει σημειωθεί στον τομέα της ιστομηχανικής για να δημιουργήσουν μια ωτική κατασκευή που να μιμείται τον ανθρώπινο ωτικό ιστό. Η χρήση εξειδικευμένων προγραμμάτων με τη βοήθεια υπολογιστών (CAD/CAM) είναι αναγκαία για τη κατασκευή της τρισδιάστατης αρχιτεκτονικής του ικριώματος [70-72]. (Εικόνα 7 A,B)



Εικόνα 7Α. Κατασκευή τρισδιάστατης αρχιτεκτονικής ικριώματος του εξωτερικού ωτός.



Εικόνα 7Β. Κατασκευή τρισδιάστατης αρχιτεκτονικής ικριώματος του εξωτερικού ωτός.

5.3.1.4 Προετοιμασία και ανάλυση σχήματος του ωτικού ικριώματος

Μίγμα αποτελούμενο από άλας αλγινικού οξέος, κυττοσύνη, υαλουρονικό οξύ και μετάξι, χρησιμοποιήθηκε για την προετοιμασία ικριώματος ανθρώπινου ωτικού σχήματος. Προκειμένου να προετοιμαστεί το ικρίωμα σε σχήμα που να είναι όμοιο συμμετρικά με το φυσιολογικό αυτί, κατασκευάστηκε μια σειρά από αρνητικά καλούπια σε πλήρες μέγεθος του ωτός (Εικόνα 8 Α,Β), σύμφωνα με πανομοιότυπη εικόνα του φυσιολογικού ωτός.



Εικόνα 8Α. Κατασκευή τρισδιάστατης αρχιτεκτονικής ικριώματος εξωτερικού ωτός σε μορφή αρνητικού καλουπιού.



Εικόνα 8Β. Κατασκευή τρισδιάστατης αρχιτεκτονικής ικριώματος εξωτερικού ωτός σε μορφή αρνητικού καλουπιού.

5.3.2 Μονοστρωματική ανάπτυξη καλλιέργειας

Έγινε χειρουργική τομή του ωτικού χόνδρου λευκών κουνελιών Νέας Ζηλανδίας. Ελήφθη σύνθετος ιστός τετράγωνου σχήματος του ωτός, 1 x 1 . (Εικόνα 9)



Εικόνα 9. Εκτομή ιστού του εξωτερικού ωτός λευκού κουνελιού Νέας Ζηλανδίας.

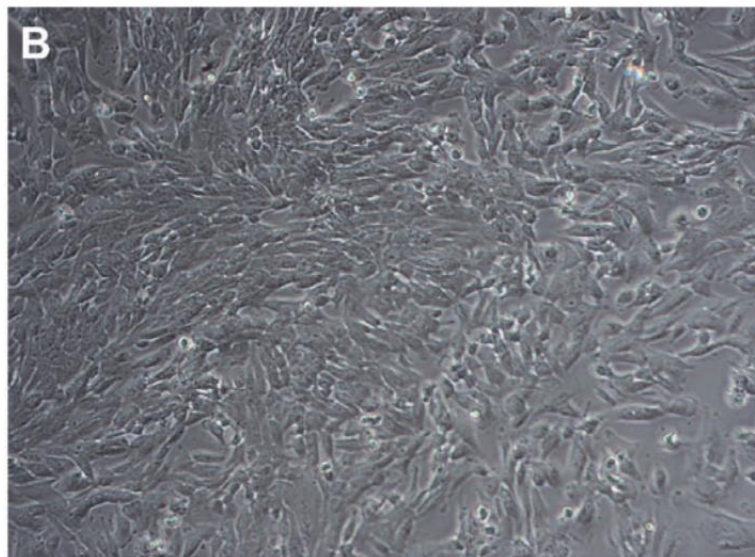
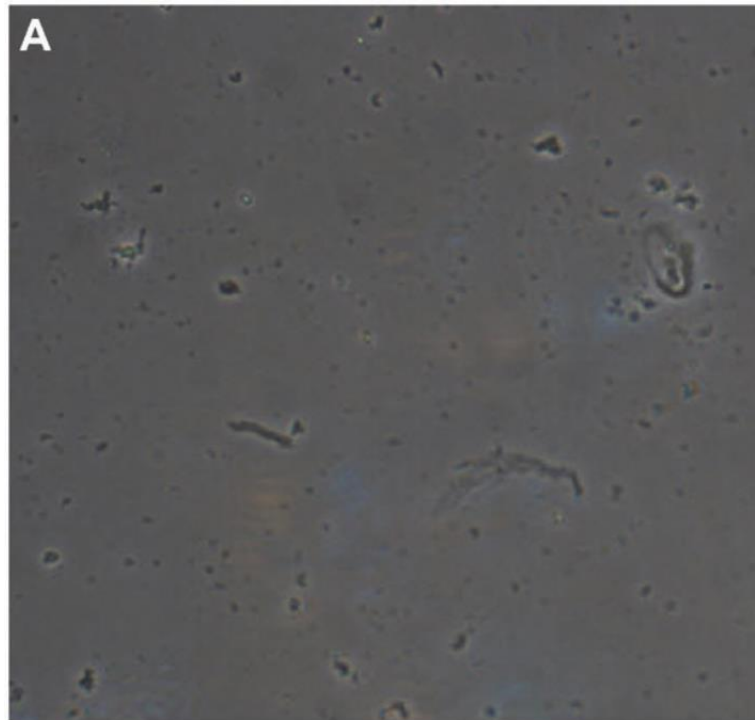
Κάθε δείγμα τοποθετήθηκε σε φυσιολογικό ορό NaCl 0.9% για διάστημα 6-12 ωρών και στη συνέχεια, έγινε πλύση με ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών ιόντων που περιείχε 2% FBS. Κατόπιν το δείγμα διαχωρίστηκε σε τεμαχίδια και με τη χρήση κολλαγενάσης 2mg/mL έγινε διαχωρισμός των κυττάρων. Στη συνέχεια, έγινε χρήση τροποποιημένου κατά Dulbecco θρεπτικού μέσου (DMEM) στους 37 βαθμούς Κελσίου για 3 ώρες, για την απομόνωση των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων (MSC). Η απενεργοποίηση της δράσης της κολλαγενάσης έγινε με την προσθήκη DMEM και FBS. Το επακόλουθο κυτταρικό εναιώρημα φυγοκεντρήθηκε στις 2000 rpm για 15 λεπτά. Μετά την τελική φυγοκέντρηση, το κυτταρικό σφαιρίδιο απομονώθηκε και αναλύθηκε για την μέτρηση του αριθμού των κυττάρων. Η βιωσιμότητα των κυττάρων καθορίστηκε με τη χρήση της χρωστικής του κυανού του τρυπανίου. Τα κύτταρα καλλιεργήθηκαν με τη χρήση DMEM, 20% ορού εμβρύου βοός (CULTILAB,

Campinas-SP, Βραζιλία), πενικιλίνη και στρεπτομυκίνη [64]. Όλες οι καλλιέργειες διατηρήθηκαν σε επωαστήρα CO₂ 5%. (Εικόνα 10)



Εικόνα 10. Καλλιέργειες κυττάρων σε επωαστήρα CO₂.

Τα κύτταρα που καλλιεργήθηκαν υπέστησαν επεξεργασία με τροποποιητικό παράγοντα μετασχηματισμού (TGF)-β₃ (10 ng/mL) και μορφογενετική πρωτεΐνη οστών 2 (BMP-2, 100 ng/mL). Στην εικόνα 11 A,B παρουσιάζεται η τεκμηρίωση της περιχονδροκυτταρικής και χονδροκυτταρικής μονοστρωματικής καλλιέργειας σε 2 και 14 ημέρες υπό μικροσκοπική μεγέθυνση Η συγκέντρωση των κυττάρων ήταν 2 έως 5 x 10⁴/cm².



Εικόνα 11 Περιχονδροκυτταρική και χονδροκυτταρική μονοστρωματική καλλιέργεια μετά από 2 ημέρες (A) και 14 ημέρες (B) υπό μικροσκοπική μεγέθυνση.

5.3.3 In vitro κατασκευή χόνδρου σε τρισδιάστατες μήτρες

Έγινε κατασκευή μικροπορωδών τρισδιαστάτων κυτταρικών ικριωμάτων με τη χρήση άλατος αλγινικού οξέος, κυττοσύνης, υαλουρονικού οξέος και μεταξιού. Τα κουκούλια από μεταξοσκώληκα *Bombyx mori* υποβλήθηκαν σε βρασμό για 20 λεπτά με απεσταγμένο νερό και η σερίκίνη αφαιρέθηκε με υδατικό διάλυμα 0.1M NaOH στους 70 βαθμούς Κελσίου. (Εικόνα 12).



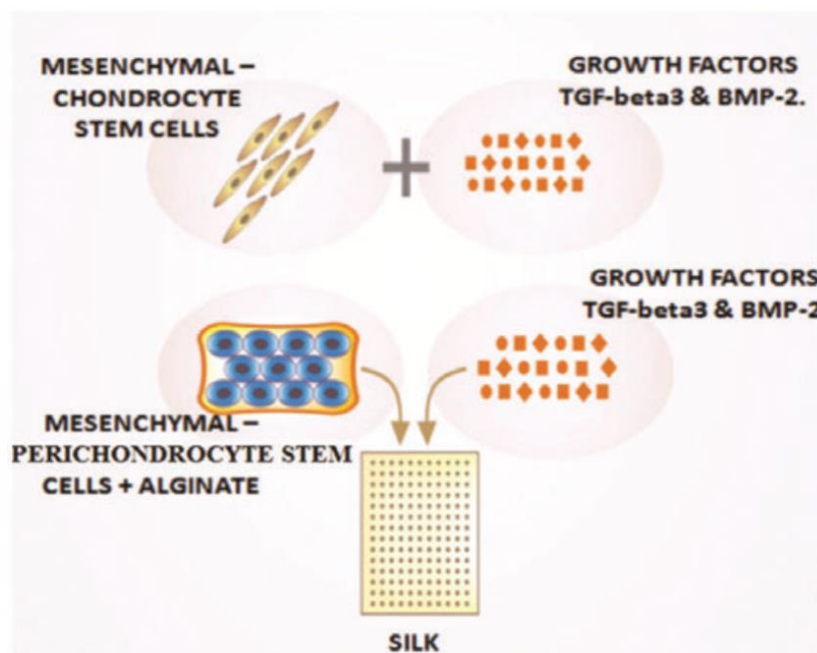
Εικόνα 12. Προετοιμασία μικροπορωδών τρισδιαστάτων κυτταρικών ικριωμάτων από τα κουκούλια μεταξοσκώληκα *Bombyx mori*.

Το άλας αλγινικού οξέος διασταυρώνεται με δισθενή κατιόντα, συνήθως Ca^{2+} και μπορεί να στηρίξει την χονδρογένεση σε ποικίλα τρισδιάστατα σχήματα (σφαιρίδια και δίσκους). Οι υδρογέλες με βάση το υαλουρονικό οξύ αποτελούν ένα από τα πιο εκτενώς μελετημένα φυσικά υλικά για την ιστομηχανική του χόνδρου. Το υαλουρονικό οξύ είναι ένας γραμμικός πολυσακχαρίτης που βρίσκεται εγγενώς στον ωτικό χόνδρο των ενηλίκων και σχετίζεται με πολλές κυτταρικές διαδικασίες, συμπεριλαμβανομένης της μορφογένεσης του ωτικού χόνδρου [73]. Οι υδρογέλες υαλουρονικού οξέος στηρίζουν την εναπόθεση χονδροκυτταρικής μήτρας και την χονδρογονική διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων.

Οι αυξητικοί παράγοντες έχουν ουσιώδη επίδραση στην κυτταρική συμπεριφορά, κατά την αρχική ανάπτυξη αλλά πίσσης και κατά την μακροπρόθεσμη διατήρηση του

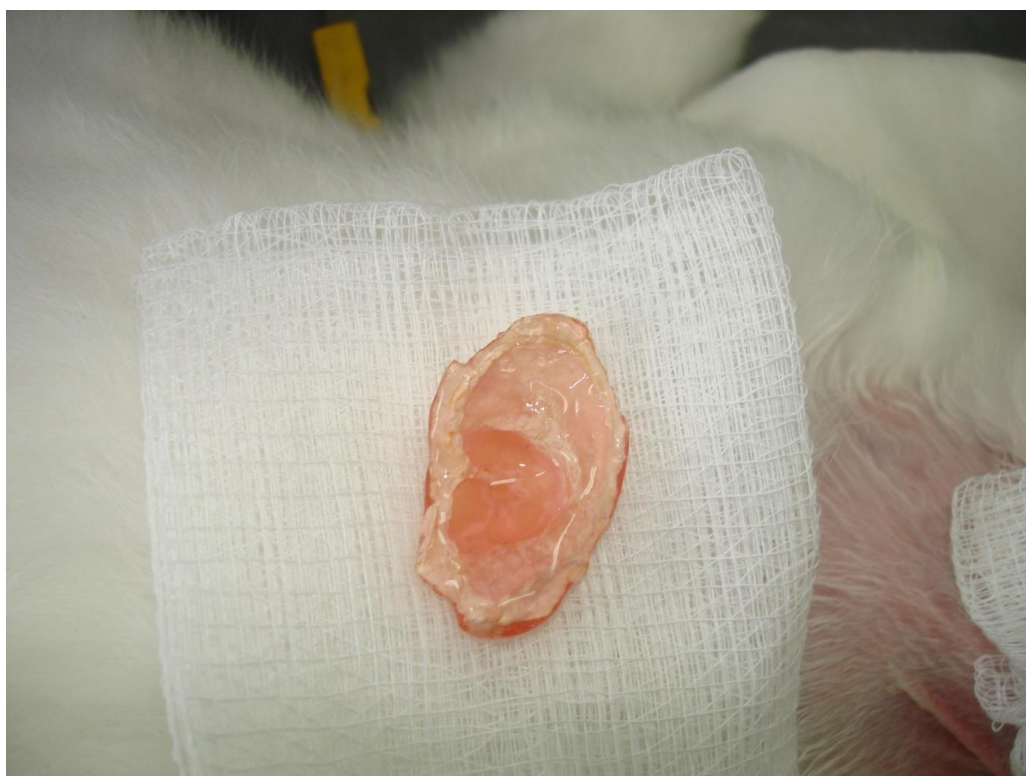
σχήματος και της δομής του ιστού. Ειδικότερα για τον χόνδρο, πολλοί αυξητικοί παράγοντες χρησιμοποιούνται για να βελτιωθεί η χονδρογένεση, συμπεριλαμβανομένων και των ισομορφών του Τροποποιητικού Αυξητικού Παράγοντα βήτα (TGFβ) και της Μορφογενετικής Πρωτεΐνης Ιστών (BMP) [74]. Παρά το ότι η καλλιέργεια στο εργαστήριο (in vitro) μπορεί εύκολα να συμπληρωθεί με εξωγενή Τροποποιητικό Αυξητικό Παράγοντα βήτα για να προκληθεί χονδρογένεση, αυτό είναι δυσκολότερο σε ζώντες οργανισμούς (in vivo), καθώς οι υδρογέλες πρέπει να τροποποιηθούν ή να υποστούν πλήρωση με υψηλή συγκέντρωση του Τροποποιητικού Αυξητικού Παράγοντα βήτα έτσι ώστε να επιτευχθεί παρατεταμένη αποδέσμευση.[75]

Τα μεσεγχυματικά περιχονδροκύτταρα και χονδροκύτταρα εναποτέθηκαν σε 20 μL άλατος αλγινικού οξέος 1% (Sigma Fluka, St. Louis, MO) σε συνδυασμό με χλωριούχο ασβέστιο (CaCl₂) και μετάξι. Τα χονδροκύτταρα παραμένουν βιώσιμα και παράγουν χόνδρινη μήτρα με υψηλή απόδοση σε κολλαγόνο Τύπου II και αγγρεκάνη, όταν εμπεριέχουν υδρογέλη που περιέχει υαλουρονικό οξύ και κυττοσύνη. (Εικόνα 13)



Εικόνα 13. Τα κύτταρα που καλλιεργήθηκαν σε σφαιρίδια υπέστησαν επεξεργασία με τροποποιητικό παράγοντα μετασχηματισμού (TGF)-β3 και μορφογενετική πρωτεΐνη οστών 2 και εισήχθησαν σε ικρίώματα που περιέχουν άλας αλγινικού οξέος, κυττοσύνη, υαλουρονικό οξύ και μετάξι.

Χονδροκυτταρικό εναιώρημα ποσότητας 5ml με πυκνότητα 50×10^6 κύτταρα/mL εισήχθει σε ικρίωμα ωτικού σχήματος. Οι ωτικές κατασκευές αφαιρέθηκαν από τα καλούπια και καλλιεργήθηκαν για 3-5 ημέρες σε διάλυμα αποτελούμενο από DMEM, 10% ορό εμβρύου βοός (Gemini Bio Products, Sacramento, CA), 100 $\mu\text{g/mL}$ πενικιλίνη (Mediatech, Inc), 100 $\mu\text{g/mL}$ στρεπτομυκίνη (Mediatech, Inc), 0.1 mM αμινοξέων (Gibco, Grand Island, NY), 50 $\mu\text{g/mL}$ ασκορβικό οξύ (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) και 0.4 mM 1-προλίνη (Sigma-Aldrich) πριν την εμφύτευση. (Εικόνα 14). Σε αυτή τη μελέτη, δημιουργήθηκαν συνολικά 18 ωτικές κατασκευές



Εικόνα 14. Ωτική κατασκευή για εμφύτευση.

5.3.4. Εμφύτευση ωτικής κατασκευής

Εμφύτευση των κατασκευών

Όλες οι κατασκευές κυτταρικού ικρίωματος διατήρησαν σε μεγάλο βαθμό το αρχικό ωτικό σχήμα, κατά την καλλιέργεια στο εργαστήριο (in vitro) και η ομοιότητα του σχήματος των ιστομηχανικών ωτικών μοσχεύματων διατηρήθηκε σε επίπεδο 99.2% στις 4 εβδομάδες σε σύγκριση με το θετικό καλούπι, υποδεικνύοντας ότι η μηχανική αντοχή των ικριωμάτων ήταν αρκετά ισχυρή για να διατηρηθεί το ωτικό σχήμα καθ' όλη την περίοδο της καλλιέργειας στο εργαστήριο.

Η κυτταρική κατασκευή ινοΐνης μεταξιού – άλατος αλγινικού οξέος – υαλουρονικού οξέος – κυττοσύνης κατέστη δυνατό να λάβει ένα ωτικό σχήμα όπως φαίνεται στην Εικόνα 15.



Εικόνα 15. Η κυτταρική κατασκευή ινοΐνης μεταξιού, άλατος αλγινικού οξέος, υαλουρονικού οξέος, κυττοσύνης και χονδροκυτταρικού εναιωρήματος προς εμφύτευση.

Τα ανοσοσυμβατά κουνέλια υπέστησαν γενική αναισθησία πριν την επέμβαση. Το πειραματόζωο ναρκώθηκε με ενδομυϊκή ένεση 4.4. mg/kg τελαζόλης και μετά την ενδοτραχειακή διασωλήνωση η νάρκωση διατηρήθηκε με τη χρήση 2% ισοφλουρανίου σε οξυγόνο καθόλη τη διάρκεια της επέμβασης. Μία προεγχειρητική δόση 0.3 mg/kg βουπρενορφίνης χορηγήθηκε ενδομυϊκώς για αναλγησία. Έγινε μία μικρή δερματική τομή στη ράχη των κουνελιών. Δημιουργήθηκαν ατομικοί υποδόριοι θύλακες μέσω διατομής του υποδορίου και μία ωτική κατασκευή εμφυτεύθηκε σε κάθε θύλακα (Εικόνα 16 A,B).



Εικόνα 16 Α. Δημιουργία υποδορίων θυλάκων και εμφύτευση ωτικής κατασκευής



Εικόνα 16 Β. Δημιουργία υποδορίων θυλάκων και εμφύτευση ωτικής κατασκευής.

Οι ωτικές κατασκευές αφαιρέθηκαν σε διάστημα 4-36 εβδομάδων μετά την εμφύτευση. Όλα τα πειραματόζωα αντιμετωπίστηκαν σύμφωνα με τον «Οδηγό για τη Φροντίδα και τη Χρήση των Εργαστηριακών Πειραματόζωων». Οι τομές συρράφθηκαν με τη χρήση απορροφήσιμων ραμμάτων Monocryl 3/0. Η μετεγχειρητική αναλγησία επιτεύχθηκε με τη χρήση φλουνιζίνης 1 mg/Kg για 72 ώρες μετεγχειρητικώς.

5.3.5 Αξιολόγηση του Ωτικού Μοντέλου

Η αξιολόγηση αποτελεί βασικό στοιχείο κάθε πειραματικής εργασίας. Στη συγκεκριμένη διατριβή ήταν αναγκαίο να καθορισθεί μια μέθοδος, με την οποία μπορεί να επιτευχθεί η κατασκευή ενός μοντέλου που να προσεγγίζει την εικόνα του ανθρωπίνου ωτός. Η οπτική εμφάνιση του ωτός είναι ένας σημαντικός παράγοντας που θα πρέπει να αναλυθεί στην αξιολόγηση του ωτικού μοντέλου. Ιδανικά, η αξιολόγηση της ωτικής κατασκευής θα περιελάμβανε μία ομάδα ειδικών που θα συνέκριναν μία σειρά μοντέλων αποτελούμενη από πραγματικά και από ιστομηχανικά ώτα.

5.3.5.1 Μηχανική δοκιμή και ιδιότητες της ωτικής κατασκευής

Προκειμένου να συγκρίνουμε τη μηχανική σταθερότητα του ιστομηχανικού ωτός με αυτή του μητρικού ιστού, αναλύθηκαν και συνεκρίθησαν ποσοτικές παράμετροι που υπολογίζουν τις μηχανικές ιδιότητες του μητρικού, αλλά και της ωτικής κατασκευής. Η πυκνότητα των ιστικών κατασκευών προσδιορίστηκε με τη χρήση ψηφιακού παχύμετρου σε τρία τυχαία σημεία των ωτικών κατασκευών. Η μηχανική δοκιμή του μητρικού ωτικού χόνδρου και του ιστομηχανικού έγινε με τη χρήση του ELF 3200 της Bose Corporation, ειδικής πλατφόρμας ακριβείας για μηχανικές δοκιμές. Ο βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) των ωτικών κατασκευών προσδιορίστηκε αυτόματα [77].



*Εικόνα 17. Μοντέλο ELF 3200 της Bose Corporation
Τμήμα Ιστομηχανικής Pontifical University Rio de Janeiro, Brazil.*

5.3.6 Στατιστική

Όλα τα μηχανικά δεδομένα και οι μετρήσεις αναλύθηκαν με τη μέθοδο ANOVA. Χρησιμοποιήθηκε το t-test για τη σύγκριση των μεγεθών των προ-εμφυτευμένων και των εκφυτευμένων κατασκευών. Η τιμή $p < 0.05$ χρησιμοποιήθηκε ως όριο στατιστικής σημαντικότητας.

5.3.7 Ηθική αντίληψη

Τα πειράματα έγιναν σύμφωνα με τον «Οδηγό για τη Φροντίδα και τη Χρήση των Εργαστηριακών Πειραματοζώων» και εγκρίθηκαν από το Καθολικό Πανεπιστήμιο του Ρίο ντε Τζανέιρο και την Επιτροπή για τη Φροντίδα και τη Χρήση των Πειραματοζώων (Πρωτόκολλο Αριθ. 2010-0023).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

6.1 ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΕΣ, ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΕΣ, ΟΠΤΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΚΑΙ ΕΞΕΤΑΣΗ ΕΥΕΛΙΞΙΑΣ-ΕΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΩΤΙΚΩΝ ΠΛΑΙΣΙΩΝ

Φάση 1:

Μετά από 1 μήνα *in vivo*, αφαιρέθηκαν τα ωτικά πλαίσια των δύο πρώτων κουνελιών. Έγιναν ιστολογικές, ανοσοϊστοχημικές και οπτικές εξετάσεις προκειμένου να εξετασθεί ο σχηματισμός του χόνδρου, το μέγεθος και η ελαστικότητα του.

Η οπτική εξέταση έγινε από τρεις ανεξάρτητους παρατηρητές, προκειμένου να διαπιστωθεί ο σχηματισμός του χόνδρου, το μέγεθος και η ελαστικότητά του. Στη συγκεκριμένη φάση εξαγωγής των δύο πρώτων ωτικών πλαισίων παρατηρήθηκε μια αύξηση στο ύψος των ωτικών πλαισίων (0,11 και 0,23) καθώς επίσης και στο πλάτος (0,08 και 0,06) αυτών. (Πίνακας 1) Οι δύο από τους τρεις παρατηρητές διαπίστωσαν μείωση της ελαστικότητας και της ποιότητας στο εξαχθέν προϊόν σε σχέση με αυτό της εμφύτευσης. Ο τρίτος παρατηρητής διαπίστωσε ότι τα ωτικά πλαίσια πριν την εμφύτευσή τους παρουσίαζαν παρόμοια χαρακτηριστικά με το εξαχθέν υλικό. (Εικόνα 18)



Εικόνα 18. Εξαγωγή ωτικού πλαισίου 1 μήνα μετά από την εμφύτευση.

Πρίν εμφύτευση	1	2
d 1 (cm)	6,34	6,43
d 2 (cm)	2,93	2,95

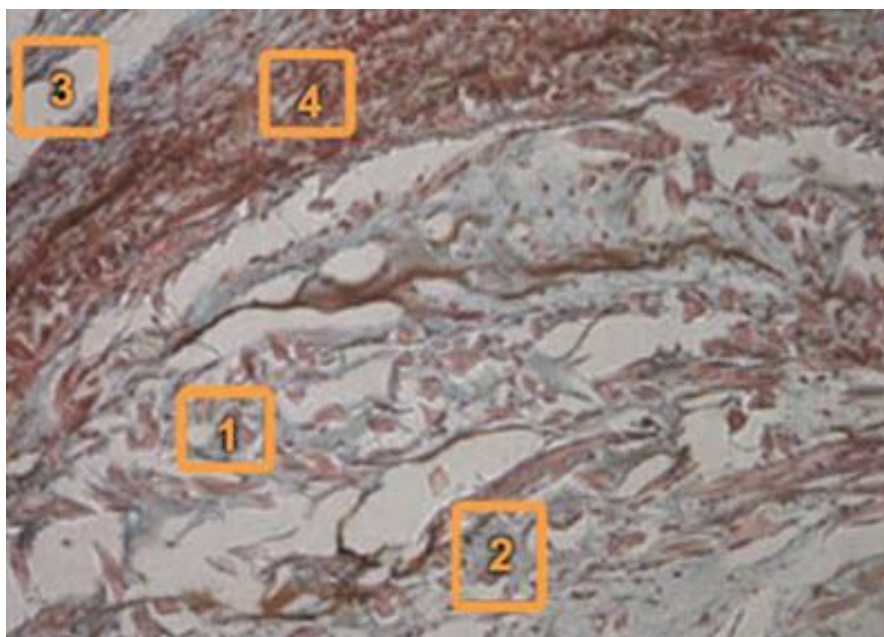
1 μήνα μετά εμφύτευση	1	2
d 1 (cm)	6,42 (+0,08)	6,52 (+0,12)
d 2 (cm)	2,98 (+0,05)	2,97 (+0,02)

d1= ύψος ωτικού πλαισίου d2= πλάτος ωτικού πλαισίου.

Πίνακας 1. Τεχνικά χαρακτηριστικά ωτικών πλαισίων πριν την εμφύτευση και μετά την εξαγωγή

Η ιστολογική, μικροσκοπική ανοσοϊστοχημική εξέταση και η εξέταση με μικροσκόπιο φθορισμού, για τη βιωσιμότητα των κυττάρων, έδειξαν ήπιας μορφής τοπική άσηπτη φλεγμονή και στα δύο εξαχθέντα ωτικά πλαίσια καθώς και την παρουσία των υλικών (άλας αλγινικού οξέος και μετάξι), που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή των ωτικών πλαισίων. Ο ανοσοφθορισμός επιτυγχάνει την ανίχνευση αντιγόνων ή αντισωμάτων στους ιστούς, στα κύτταρα ή σε ολόκληρους οργανισμούς. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στη σήμανση του στόχου με αντισώματα σεσημασμένα με φθορίζουσες ουσίες. Η πρόσδεση των σεσημασμένων αντισωμάτων στο στόχο γίνεται ορατή με τη βοήθεια του μικροσκοπίου φθορισμού. Τα μόρια, τα οποία παράγουν φθορισμό διεγείρονται με φως ενός συγκεκριμένου μήκους κύματος και εκπέμπουν φως χαμηλότερης ενέργειας, δηλ. φως μακρύτερου μήκους κύματος. Η εξέταση με μικροσκόπιο φθορισμού έδειξε ποσοστό επιβίωσης 82% - 84% των κυττάρων των ωτικών πλαισίων. Στην ανοσοϊστοχημική ανάλυση, αντισώματα κατευθύνονται προς ένα ειδικό αντιγόνο-στόχο και μια χημική αντίδραση λαμβάνει χώρα για να καταστήσει ορατό το σύμπλεγμα αντιγόνου-αντισώματος, εφόσον είναι παρόν. Οι ωτικές κατασκευές περιέχουν χόνδρο και περιχόνδριο. Το κολλαγόνου τύπου I υπάρχει

σε όλο το εσωτερικό στρώμα του χόνδρου και υψηλά επίπεδα κολλαγόνου τύπου II ανευρίσκονται σε όλο το περιχόνδριο, όμοια με αυτά του μητρικού ιστού. Το περιεχόμενο της εξωκυτταρικής μήτρας ήταν όμοιο μεταξύ των ωτικών κατασκευών όταν έγινε χρήση της χρώσης Alcian blue και κατέδειξε την παρουσία θειωδών γλυκοζαμινογλυκανών σε τμήμα του χόνδρου και απουσία τους στην περιφέρεια των ωτικών κατασκευών, πανομοιότυπα με αυτή του μητρικού ιστού. Τα χονδροκύτταρα έδειξαν παρόμοια μορφολογία και κατανεμήθηκαν ομοιόμορφα στη μήτρα. (Εικόνα 19)



Εικόνα 19. Η ιστολογική εξέταση του ωτικού πλαισίου από τον υποδόριο χώρο της ράχης ενός κουνελιού μετά από 1 μήνα από την εμφύτευσή του. [1]: μεταξύ [2]: άλας αλγινικού οξέος [3]: μεταξύ [4]: άσηπτος φλεγμονώδης ιστός

Για να δοκιμασθεί η ευελιξία-ελαστικότητα του ωτικού πλαισίου και η μηχανική απόκρισή του σε εξωτερική πίεση, χρησιμοποιήθηκε ειδική πλατφόρμα ακριβείας για μηχανικές δοκιμές (Μοντέλο ELF 3200 της Bose Corporation). Η μηχανική απόκριση των δυο ωτικών πλαισίων μετρήθηκε πριν από την εμφύτευση τους και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους. (Πίνακας 2) Ο βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) του ανθρώπινου ωτός ποικίλει μεταξύ 0.45 to 0.80 Mpa.

	1	2
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) πριν την εμφύτευση	1.10 Mpa	1.20 Mpa
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) μετά την εξαγωγή	1.14 Mpa	1.25 Mpa

Πίνακας 2. Μηχανική απόκριση των δυο ωτικών πλαισίων που μετρήθηκε πριν από την εμφύτευσή τους (1) και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους (2).

Φάση 2:

Μετά από 3 μήνες in vivo, τα ωτικά πλαίσια των δύο επομένων κουνελιών αφαιρέθηκαν. Οι ιστολογικές, ανοσοϊστοχημικές και οπτικές εξετάσεις έγιναν προκειμένου να εξετασθεί ο σχηματισμός του χόνδρου, το μέγεθος και η ελαστικότητά του.

Η οπτική εξέταση προκειμένου να ελεγχθεί ο σχηματισμός του χόνδρου, ο έλεγχος του μεγέθους και της ελαστικότητάς του έγινε από τρεις ανεξάρτητους παρατηρητές. Στη συγκεκριμένη φάση εξαγωγής των δύο ωτικών πλαισίων παρατηρήθηκε μείωση στο ύψος των ωτικών πλαισίων (0,70 και 0,44), καθώς επίσης και στο πλάτος (0,12 και 0,35) αυτών (Πίνακας 3). Η συγκεκριμένη μείωση στο μέγεθος των ωτικών πλαισίων μπορεί να οφείλεται σε μικρού βαθμού απορρόφηση αυτών. Οι τρεις παρατηρητές διαπίστωσαν μείωση της ελαστικότητας και της ποιότητας στο εξαχθέν προϊόν σε σχέση με αυτό της εμφύτευσης. (Εικόνα 20)



Εικόνα 20. Εξαγωγή ωτικού πλαισίου 3 μήνες μετά από την εμφύτευση.

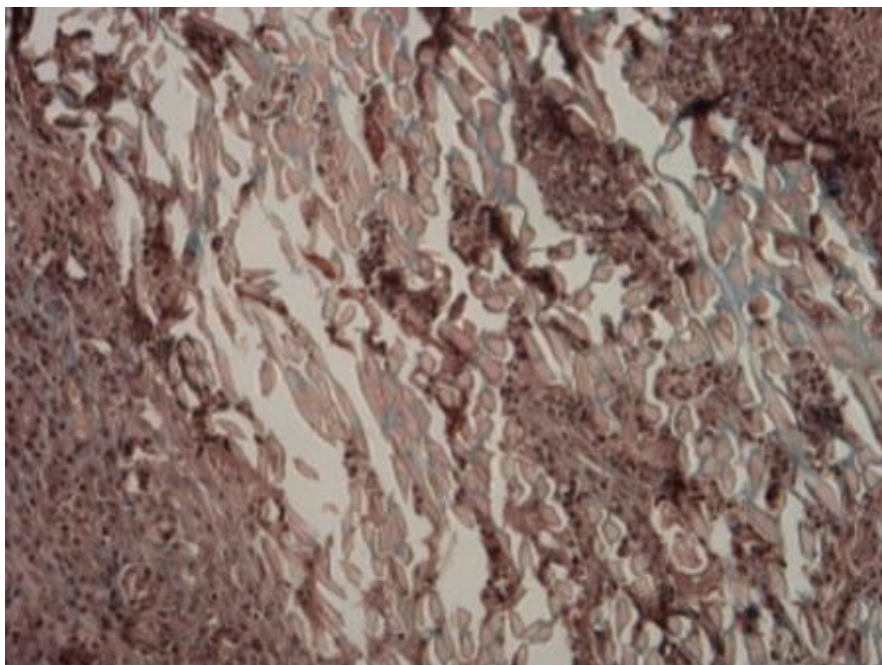
Πρίν εμφύτευση	3	4
d 1 (cm)	6,40	6,39
d 2 (cm)	2,78	2,83

3 μήνες μετά εμφύτευση	3	4
d 1 (cm)	5,70 (-0,70)	5,95 (-0,44)
d 2 (cm)	2,66 (-0,12)	2,48 (-0,35)

d1= ύψος ωτικού πλαισίου d2= πλάτος ωτικού πλαισίου.

Πίνακας 3. Τεχνικά χαρακτηριστικά ωτικών πλαισίων πρίν την εμφύτευση και μετά την εξαγωγή

Η ιστολογική, μικροσκοπική ανοσοϊστοχημική εξέταση και η εξέταση με μικροσκόπιο φθορισμού, για τον έλεγχο της βιωσιμότητας των κυττάρων, έδειξαν μέτριας μορφής τοπική άσηπτη φλεγμονή και στα δύο εξαχθέντα ωτικά πλαίσια και παρουσία των υλικών (άλας αλγινικού οξέος και μετάξι), σε μικρότερη όμως αναλογία σε σχέση με την ποσότητα που χρησιμοποιήθηκε για την κατασκευή των ωτικών πλαισίων. Παρατηρήθηκε σχηματισμός ωτικού χόνδρου και περίξ αυτού άσηπτη φλεγμονώδης αντίδραση. Η εξέταση με μικροσκόπιο φθορισμού έδειξε ποσοστό επιβίωσης 79%-85% των κυττάρων των ωτικών πλαισίων. Στη συγκεκριμένη φάση εξαγωγής δεν παρατηρήθηκε μερική ή πλήρης απόρριψη των ωτικών πλαισίων. (Εικόνα 21)



Εικόνα 21. Η ιστολογική εξέταση του ωτικού πλαισίου από τον υποδόριο χώρο της ράχης ενός κουνελιού μετά από 3 μήνες από την εμφύτευσή του.

Για να δοκιμασθεί η ευελιξία-ελαστικότητα του ωτικού πλαισίου και η μηχανική απόκρισή του σε εξωτερική πίεση, χρησιμοποιήθηκε ειδική πλατφόρμα ακριβείας για μηχανικές δοκιμές (Μοντέλο ELF 3200 της Bose Corporation). Η μηχανική απόκριση των δυο ωτικών πλαισίων μετρήθηκε πριν από την εμφύτευσή τους και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους (Πίνακας 4). Ο βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) του ανθρώπινου ωτός ποικίλει μεταξύ 0.45 και 0.80 Mpa.

	3	4
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) πριν την εμφύτευση	1.05 Mpa	1.13 Mpa
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) μετά την εξαγωγή	0.95 Mpa	0.91 Mpa

Πίνακας 4. Η μηχανική απόκριση των δυο ωτικών πλαισίων μετρήθηκε πριν από την εμφύτευσή τους (3) και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους (4).

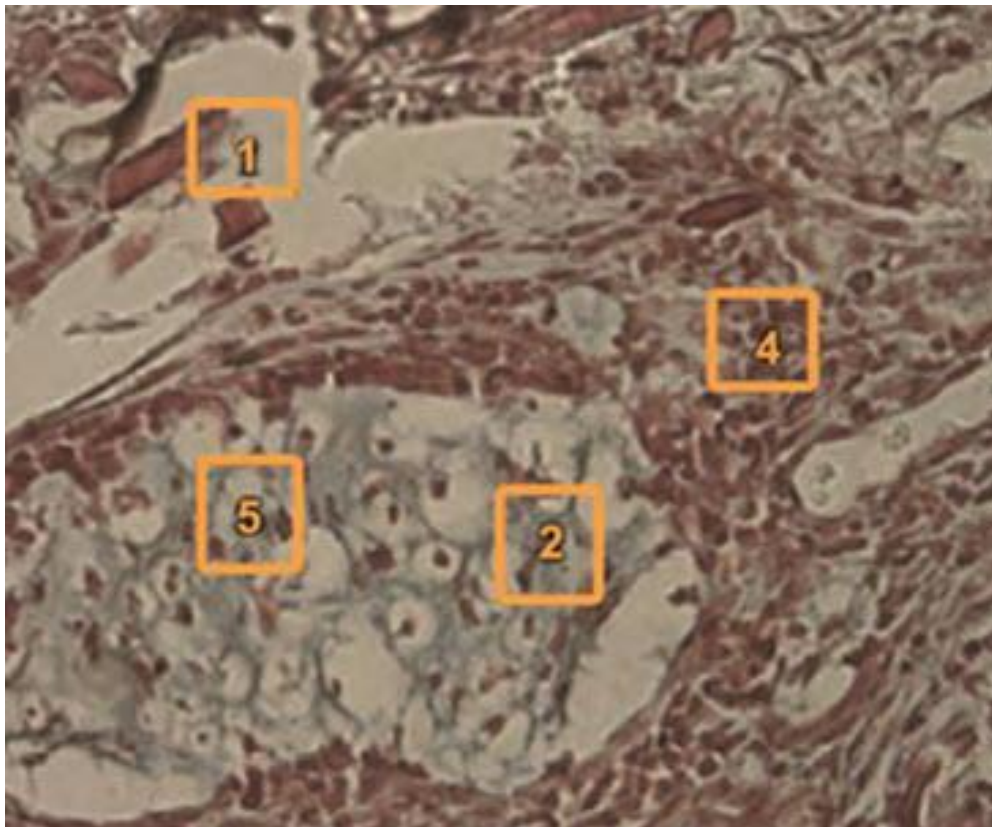
Φάση 3:

Μετά από 6 μήνες in vivo, αφαιρέθηκαν τα ωτικά πλαίσια των δύο επομένων κουνελιών. Οι ιστολογικές, ανοσοϊστοχημικές και οπτικές εξετάσεις πραγματοποιήθηκαν προκειμένου να εξετασθεί ο σχηματισμός του χόνδρου, το μέγεθος και η ελαστικότητά του.

Η οπτική εξέταση προκειμένου να ελεγχθεί ο σχηματισμός του χόνδρου, η εξέταση του μεγέθους και της ελαστικότητάς τους έγινε από τους τρεις ανεξάρτητους παρατηρητές. Στη συγκεκριμένη φάση εξαγωγής των δύο ωτικών πλαισίων παρατηρήθηκε μια μεγαλύτερη μείωση στο ύψος των ωτικών πλαισίων (1,14 και 1,13), καθώς επίσης και στο πλάτος (0,62 και 0,67) αυτών. (Πίνακας 5) Οι δύο παρατηρητές διαπίστωσαν αύξηση της ελαστικότητας και βελτίωση της ποιότητας στο εξαχθέν προϊόν σε σχέση με αυτό της εμφύτευσης. Ο τρίτος παρατηρητής διαπίστωσε ότι το ένα από τα δύο ωτικά πλαίσια παρουσίαζε μεγαλύτερη ελαστικότητα και καλύτερη ποιότητα σε σχέση με το έτερο εξαχθέν ωτικό πλαίσιο. Η συγκεκριμένη μείωση στο μέγεθος των ωτικών πλαισίων μπορεί να οφείλεται στη μερική απορρόφηση του βιολογικού υλικού που χρησιμοποιήθηκε για την κατασκευή των ωτικών πλαισίων.

Οι κατασκευές υποβλήθηκαν σε ιστολογική και ανοσοϊστοχημική ανάλυση. Τα συστατικά των εξωκυτταρικών μητρών που αναλύθηκαν ήταν κολλαγόνο τύπου I, κολλαγόνο τύπου II, θειώδεις γλυκοζαμινογλυκάνες και ελαστικές ίνες. Η ιστολογική, μικροσκοπική ανοσοϊστοχημική εξέταση και η εξέταση με μικροσκόπιο φθορισμού για την εξέταση βιωσιμότητας των κυττάρων έδειξαν ήπιας μορφής τοπική άσηπτη φλεγμονή και στα δύο εξαχθέντα ωτικά πλαίσια και παρουσία των υλικών (άλας αλγινικού οξέος και μετάξι), που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή των ωτικών πλαισίων. Οι ωτικές κατασκευές περιείχαν χόνδρο και περιχόνδριο. Το κολλαγόνου τύπου I υπήρχε σε όλο το εσωτερικό στρώμα του χόνδρου και υψηλά επίπεδα

κολλαγόνου τύπου II ανευρέθηκαν σε όλο το περιχόνδριο, όμοια με αυτά του μητρικού ιστού. Το περιεχόμενο της εξωκυτταρικής μήτρας ήταν όμοιο μεταξύ των ωτικών κατασκευών, όταν έγινε χρήση της χρώσης Alcian blue και κατέδειξε την παρουσία θειωδών γλυκοζαμινογλυκανών σε τμήμα του χόνδρου και απουσία τους στην περιφέρεια των ωτικών κατασκευών, πανομοιότυπα με αυτή του μητρικού ιστού. Τα χονδροκύτταρα έδειξαν παρόμοια μορφολογία και κατανεμήθηκαν ομοιόμορφα στη μήτρα. Αυτά τα αποτελέσματα απεικονίζονται στην Εικόνα 22.



Εικόνα 22. Η ιστολογική εξέταση του ωτικού πλαισίου από τον υποδόριο χώρο της ράχης ενός κουνελιού μετά από 6 μήνες από την εμφύτευσή του. [1]: μεταξύ [2]: άλας αλγινικού οξέος [4]: [5]: μεσεγγυματικού τύπου χονδροκύτταρα.

Πρίν εμφύτευση	5	6
d 1 (cm)	6,32	6,42
d 2 (cm)	2,85	2,86

6 μήνες μετά εμφύτευση	5	6
d 1 (cm)	5,28 (-1,14)	5,29 (-1,13)
d 2 (cm)	2,23 (-0,62)	2,19 (-0,67)

d1= ύψος ωτικού πλαισίου d2= πλάτος ωτικού πλαισίου.

Πίνακας 5. Τεχνικά χαρακτηριστικά ωτικών πλαισίων πριν την εμφύτευση και μετά την εξαγωγή

Για να δοκιμαστεί η ευελιξία-ελαστικότητα του ωτικού πλαισίου και η μηχανική απόκρισή του σε εξωτερική πίεση, χρησιμοποιήθηκε ειδική πλατφόρμα ακριβείας για μηχανικές δοκιμές (Μοντέλο ELF 3200 της Bose Corporation). Η μηχανική απόκριση των δυο ωτικών πλαισίων μετρήθηκε πριν από την εμφύτευσή τους και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους (Πίνακας 6). Ο βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) του ανθρώπινου ωτός ποικίλει μεταξύ 0.45 και 0.80 Mpa.

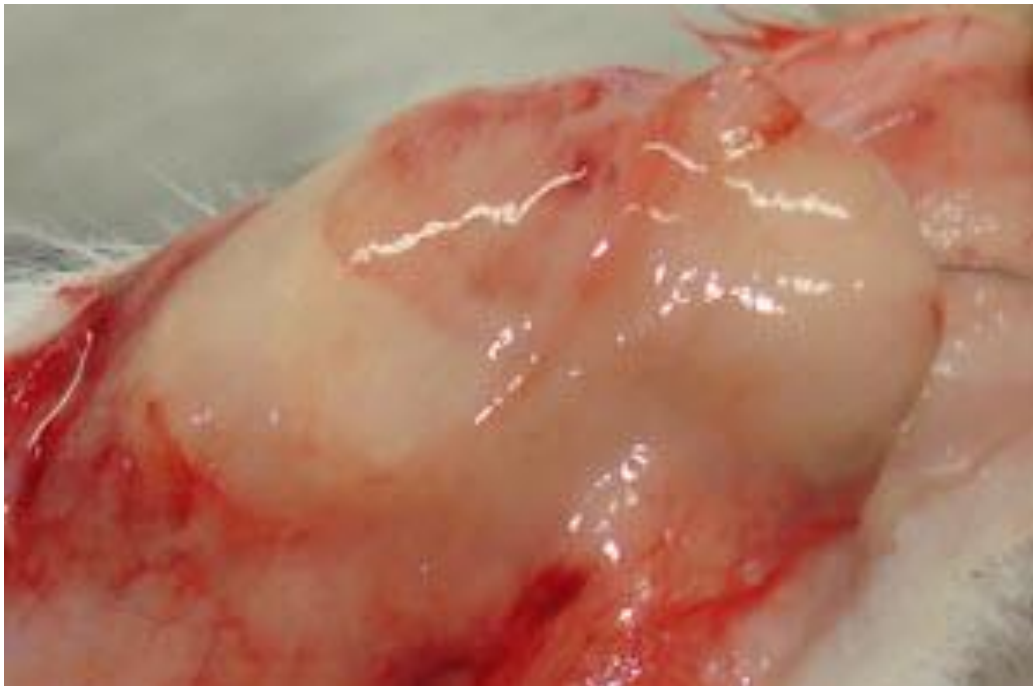
	5	6
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) πριν την εμφύτευση	1.15 Mpa	1.20 Mpa
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) μετά την εξαγωγή	0.72 Mpa	0.57 Mpa

Πίνακας 6. Η μηχανική απόκριση των δυο ωτικών πλαισίων μετρήθηκε πριν από την εμφύτευσή τους (5) και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους (6)

Φάση 4:

Μετά από 9 μήνες *in vivo*, αφαιρέθηκαν τα ωτικά πλαίσια των δύο επόμενων κουνελιών. Οι ιστολογικές, ανοσοϊστοχημικές και οπτικές εξετάσεις πραγματοποιήθηκαν προκειμένου να εξετασθεί ο σχηματισμός του χόνδρου, το μέγεθος και η ελαστικότητα του.

Η οπτική εξέταση προκειμένου να εξετασθεί ο σχηματισμός του χόνδρου, το μέγεθος και η ελαστικότητά του έγινε από τους τρεις ανεξάρτητους παρατηρητές. Στη συγκεκριμένη φάση εξαγωγής των δύο ωτικών πλαισίων παρατηρήθηκε σταθεροποίηση στη μείωση του ύψους των ωτικών πλαισίων (1,12 και 1,13) καθώς επίσης και στο πλάτος (0,65 και 0,64) αυτών σε σχέση με τις μετρήσεις των εξαχθέντων πλαισίων στους 6 μήνες (Πίνακας 7). Οι τρεις παρατηρητές διαπίστωσαν αύξηση της ελαστικότητας και της ποιότητας στο εξαχθέν προϊόν σε σχέση με αυτό της εμφύτευσης. (Εικόνα 23)



Εικόνα 23. Εξαγωγή ωτικού πλαισίου 9 μήνες μετά από την εμφύτευση.

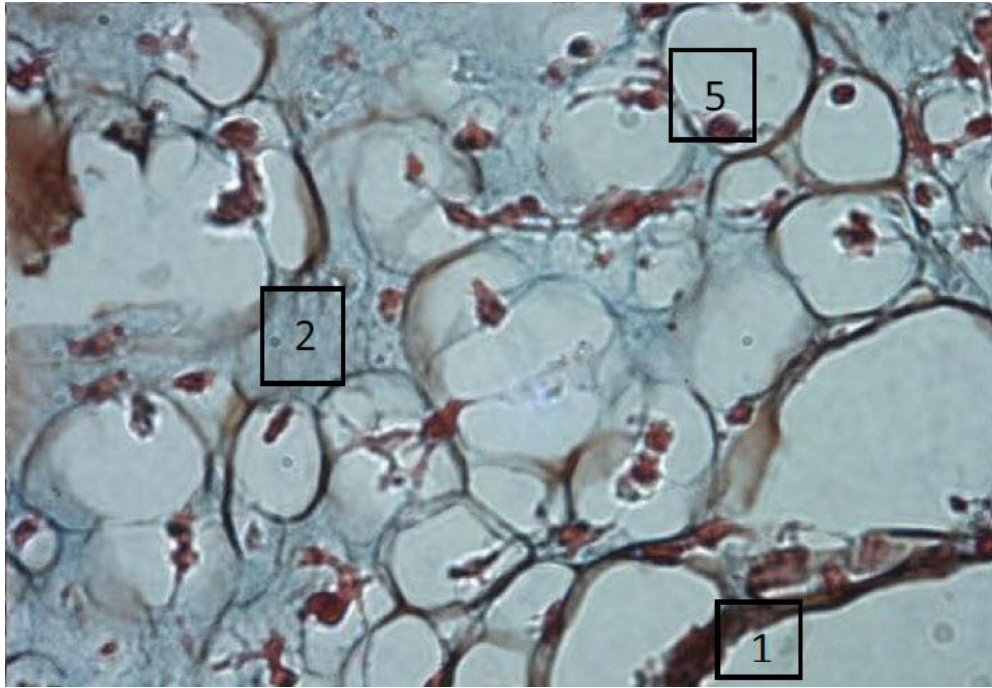
Πρίν εμφύτευση	7	8
d 1 (cm)	6,38	6,36
d 2 (cm)	2,84	2,78

9 μήνες μετά εμφύτευση	7	8
d 1 (cm)	5,26 (-1,12)	5,23 (-1,13)
d 2 (cm)	2,19 (-0,65)	2,20 (-0,64)

d1= ύψος ωτικού πλαισίου d2= πλάτος ωτικού πλαισίου.

Πίνακας 7. Τεχνικά χαρακτηριστικά ωτικών πλαισίων πριν την εμφύτευση και μετά την εξαγωγή

Οι κατασκευές υποβλήθηκαν σε ιστολογική και ανοσοϊστοχημική ανάλυση. Τα συστατικά των εξωκυτταρικών μητρών που αναλύθηκαν ήταν κολλαγόνο τύπου I, κολλαγόνο τύπου II, θειώδεις γλυκοζαμινογλυκάνες και ελαστικές ίνες. Η ιστολογική, μικροσκοπική ανοσοϊστοχημική εξέταση και η εξέταση με μικροσκόπιο φθορισμού για τον έλεγχο βιωσιμότητας των κυττάρων έδειξαν ήπιας μορφής τοπική άσηπτη φλεγμονή και στα δύο εξαχθέντα ωτικά πλαίσια και παρουσία των υλικών (άλας αλγινικού οξέος και μετάξι), που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή των ωτικών πλαισίων. Οι ωτικές κατασκευές περιείχαν χόνδρο και περιχόνδριο. Το κολλαγόνου τύπου I υπήρχε σε όλο το εσωτερικό στρώμα του χόνδρου και υψηλά επίπεδα κολλαγόνου τύπου II ανευρέθησαν σε όλο το περιχόνδριο, όμοια με αυτά του μητρικού ιστού. Το περιεχόμενο της εξωκυτταρικής μήτρας ήταν όμοιο μεταξύ των ωτικών κατασκευών όταν έγινε χρήση της χρώσης Alcian blue και κατέδειξε την παρουσία θειωδών γλυκοζαμινογλυκανών σε τμήμα του χόνδρου και απουσία τους στην περιφέρεια των ωτικών κατασκευών, πανομοιότυπα με αυτή του μητρικού ιστού. Τα χονδροκύτταρα έδειξαν παρόμοια μορφολογία και κατανεμήθηκαν ομοιόμορφα στη μήτρα. Αυτά τα αποτελέσματα απεικονίζονται στην Εικόνα 24.



Εικόνα 24. Η ιστολογική εξέταση του ωτικού πλαισίου από τον υποδόριο χώρο της ράχης ενός κουνελιού μετά από 9 μήνες από την εμφύτευσή του. [1]: μετάξι [2]: άλας αλγινικού [5]: μεσεγγυματικού τύπου χονδροκύτταρα.

Για να δοκιμασθεί η ευελιξία-ελαστικότητα του ωτικού πλαισίου και η μηχανική απόκρισή του σε εξωτερική πίεση χρησιμοποιήθηκε ειδική πλατφόρμα ακριβείας για μηχανικές δοκιμές (Μοντέλο ELF 3200 της Bose Corporation). Η μηχανική απόκριση των δύο ωτικών πλαισίων μετρήθηκε πριν από την εμφύτευσή τους και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους (Πίνακας 8). Ο βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) του ανθρώπινου ωτός ποικίλει μεταξύ 0.45 και 0.80 Mpa.

	7	8
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) πριν την εμφύτευση	1.12 Mpa	1.14 Mpa
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) μετά την εξαγωγή	0.62 Mpa	0.64 Mpa

Πίνακας 8. Η μηχανική απόκριση των δύο ωτικών πλαισίων μετρήθηκε πριν από την εμφύτευσή τους (7) και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους (8).

Φάση 5:

Μετά από 12 μήνες in vivo, αφαιρέθηκαν τα ωτικά πλαίσια των δύο επομένων κουνελιών. Οι ιστολογικές, ανοσοϊστοχημικές και οπτικές εξετάσεις πραγματοποιήθηκαν προκειμένου να εξετασθεί ο σχηματισμός του χόνδρου, το μέγεθος και η ελαστικότητα του.

Η οπτική εξέταση, προκειμένου να ελεγχθεί ο σχηματισμός του χόνδρου, και η εξέταση του μεγέθους και της ελαστικότητάς του έγινε από τρεις ανεξάρτητους παρατηρητές. Στη συγκεκριμένη φάση εξαγωγής των δύο ωτικών πλαισίων παρατηρήθηκε μια αναλογία στις μετρήσεις σχετικά με τη μείωση του ύψους (1,10 και 1,14) και του πλάτους (0,63 και 0,64) των ωτικών πλαισίων, σε σχέση με τις μετρήσεις στη φάση 4 (Πίνακας 9). Οι τρεις παρατηρητές διαπίστωσαν αύξηση της ελαστικότητας και της ποιότητας στο εξαχθέν προϊόν σε σχέση με αυτό της εμφύτευσης. (Εικόνα 25)



Εικόνα 25. Εξαγωγή ωτικού πλαισίου 12 μήνες μετά από την εμφύτευση.

Πρίν εμφύτευση	9	10
d 1 (cm)	6,32	6,40
d 2 (cm)	2,93	2,78

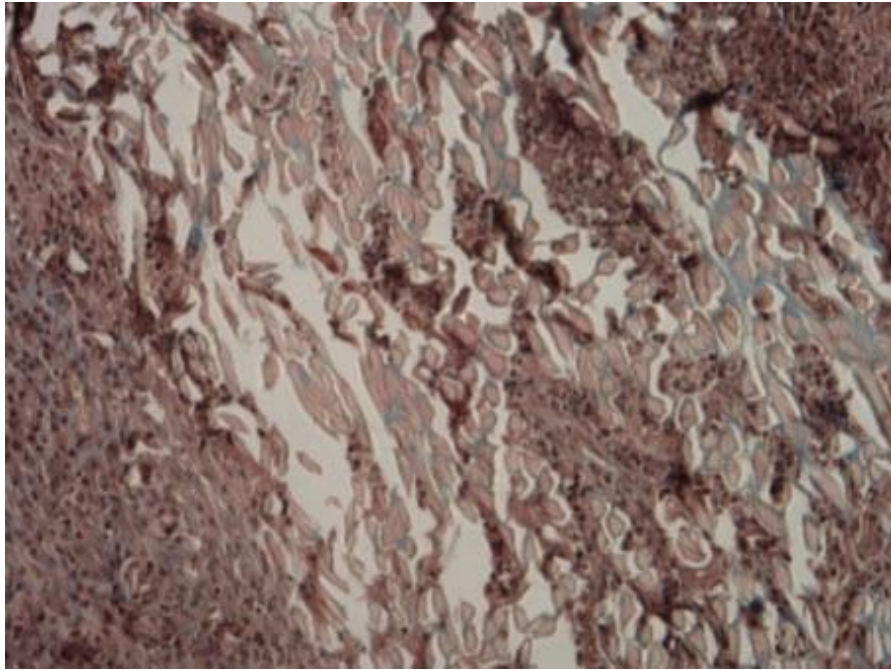
12 μήνες μετά εμφύτευση	9	10
d 1 (cm)	5,22 (- 1,10)	5,26 (-1,14)
d 2 (cm)	2,30 (-0,63)	2,14 (-0,64)

d1= ύψος ωτικού πλαισίου d2= πλάτος ωτικού πλαισίου.

Πίνακας 9. Τεχνικά χαρακτηριστικά ωτικών πλαισίων πρίν την εμφύτευση και μετά την εξαγωγή

Η εξέταση με μικροσκόπιο φθορισμού έδειξε ποσοστό επιβίωσης 80%- 84% των κυττάρων των ωτικών πλαισίων. Στη συγκεκριμένη φάση εξαγωγής δεν παρατηρήθηκε απόρριψη των ωτικών πλαισίων.

Οι κατασκευές υποβλήθηκαν σε ιστολογική και ανοσοϊστοχημική ανάλυση. Τα συστατικά των εξωκυτταρικών μητρών που αναλύθηκαν ήταν κολλαγόνο τύπου I, κολλαγόνο τύπου II, θειώδεις γλυκοζαμινογλυκάνες και ελαστικές ίνες. Η ιστολογική, μικροσκοπική ανοσοϊστοχημική εξέταση και η εξέταση με μικροσκόπιο φθορισμού για την εξέταση βιωσιμότητας των κυττάρων έδειξαν ήπιας μορφής τοπική άσηπτη φλεγμονή και στα δύο εξαχθέντα ωτικά πλαίσια και παρουσία των υλικών (άλας αλγινικού οξέος και μετάξι), που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή των ωτικών πλαισίων. Οι ωτικές κατασκευές περιείχαν χόνδρο και περιχόνδριο. Το κολλαγόνο τύπου I υπήρχε σε όλο το εσωτερικό στρώμα του χόνδρου και υψηλά επίπεδα κολλαγόνου τύπου II ανευρέθηκαν σε όλο το περιχόνδριο, όμοια με αυτά του μητρικού ιστού. Το περιεχόμενο της εξωκυτταρικής μήτρας ήταν όμοιο μεταξύ των ωτικών κατασκευών όταν έγινε χρήση της χρώσης Alcian blue και κατέδειξε την παρουσία θειωδών γλυκοζαμινογλυκανών σε τμήμα του χόνδρου και απουσία τους στην περιφέρεια των ωτικών κατασκευών, πανομοιότυπα με αυτή του μητρικού ιστού. Τα χονδροκύτταρα έδειξαν παρόμοια μορφολογία και κατανεμήθηκαν ομοιόμορφα στη μήτρα. Αυτά τα αποτελέσματα απεικονίζονται στην Εικόνα 26.



Εικόνα 26. Η ιστολογική εξέταση του ωτικού πλαισίου από τον υποδόριο χώρο της ράχης ενός κουνελιού 12 μήνες μετά από την εμφύτευσή του.

Για να δοκιμασθεί η ευελιξία-ελαστικότητα του ωτικού πλαισίου και η μηχανική απόκρισή του σε εξωτερική πίεση χρησιμοποιήθηκε η ειδική πλατφόρμα ακριβείας για μηχανικές δοκιμές (Μοντέλο ELF 3200 της Bose Corporation). Η μηχανική απόκριση των δυο ωτικών πλαισίων μετρήθηκε πριν από την εμφύτευσή τους και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους (Πίνακας 10). Ο βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) του ανθρώπινου ωτός ποικίλει μεταξύ 0.45 και 0.80 Mpa.

Πίνακας 10. Η μηχανική απόκριση των δυο ωτικών πλαισίων μετρήθηκε πριν από

	9	10
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) πριν την εμφύτευση	1.05 Mpa	1.09 Mpa
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) μετά την εξαγωγή	0,56 Mpa	0.67 Mpa

την εμφύτευσή τους και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους

Φάση 6:

Μετά από 18 μήνες *in vivo*, αφαιρέθηκαν τα ωτικά πλαίσια των δύο επομένων κουνελιών. Οι ιστολογικές, ανοσοϊστοχημικές και οπτικές εξετάσεις πραγματοποιήθηκαν, προκειμένου να εξετασθεί ο σχηματισμός του χόνδρου, το μέγεθος και η ελαστικότητα του.

Η οπτική εξέταση, προκειμένου να εξετασθεί ο σχηματισμός του χόνδρου, η εξέταση του μεγέθους και της ελαστικότητάς του έγινε από τρεις ανεξάρτητους παρατηρητές. Στη συγκεκριμένη φάση εξαγωγής των δύο ωτικών πλαισίων παρατηρήθηκε διατήρηση στις μετρήσεις σχετικά με το ύψος και το πλάτος των ωτικών πλαισίων σε σχέση με τις μετρήσεις στις φάσεις 4 και 5 (Πίνακας 11). Οι τρεις παρατηρητές διαπίστωσαν αύξηση της ελαστικότητας και της ποιότητας στο εξαχθέν προϊόν σε σχέση με αυτό της εμφύτευσης. Οι δύο εξ αυτών χαρακτήρισαν το ένα εκ των δύο ωτικών πλαισίων σχεδόν όμοιο σε χαρακτηριστικά με το φυσιολογικό ούς του κουνελιού από το οποίο έγινε η εξαγωγή του πλαισίου. (Εικόνα 27)



Εικόνα 27. Εξαγωγή ωτικού πλαισίου 18 μήνες μετά από την εμφύτευση.

Πρίν εμφύτευση	11	12
d 1 (cm)	6,35	6,41
d 2 (cm)	2,82	2,83

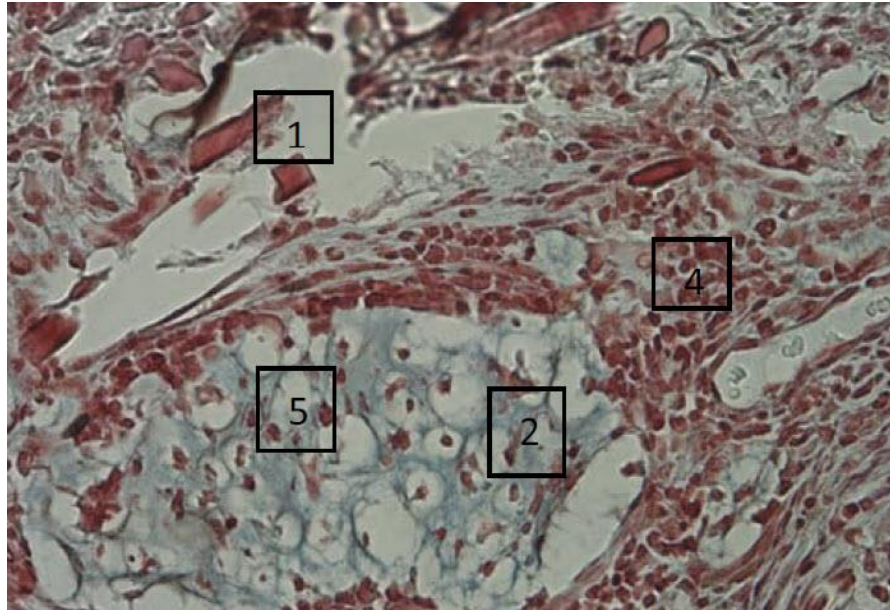
18 μήνες μετά εμφύτευση	11	12
d 1 (cm)	5,24 (-1,11)	5,31 (-1,10)
d 2 (cm)	2,20 (-0,62)	2,23 (-0,60)

d1= ύψος ωτικού πλαισίου d2= πλάτος ωτικού πλαισίου.

Πίνακας 11. Τεχνικά χαρακτηριστικά ωτικών πλαισίων πριν την εμφύτευση και μετά την εξαγωγή

Η εξέταση με μικροσκόπιο φθορισμού έδειξε ποσοστό επιβίωσης 80%- 84% των κυττάρων των ωτικών πλαισίων. Στη συγκεκριμένη φάση εξαγωγής δεν παρατηρήθηκε μερική ή ολική απόρριψη των ωτικών πλαισίων.

Οι κατασκευές υποβλήθηκαν σε ιστολογική και ανοσοϊστοχημική ανάλυση. Τα συστατικά των εξωκυτταρικών μητρών που αναλύθηκαν ήταν κολλαγόνο τύπου I, κολλαγόνο τύπου II, θειώδεις γλυκοζαμινογλυκάνες και ελαστικές ίνες. Η ιστολογική, μικροσκοπική ανοσοϊστοχημική εξέταση και η εξέταση με μικροσκόπιο φθορισμού για τη βιωσιμότητα των κυττάρων έδειξαν ήπιας μορφής τοπική άσηπτη φλεγμονή και στα δύο εξαχθέντα ωτικά πλαίσια και παρουσία των υλικών (άλας αλγινικού οξέος και μεταξι), που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή των ωτικών πλαισίων. Οι ωτικές κατασκευές περιείχαν χόνδρο και περιχόνδριο. Το κολλαγόνου τύπου I υπήρχε σε όλο το εσωτερικό στρώμα του χόνδρου και υψηλά επίπεδα κολλαγόνου τύπου II ανευρέθηκαν σε όλο το περιχόνδριο, όμοια με αυτά του μητρικού ιστού. Το περιεχόμενο της εξωκυτταρικής μήτρας ήταν όμοιο μεταξύ των ωτικών κατασκευών όταν έγινε χρήση της χρώσης Alcian blue και κατέδειξε την παρουσία θειωδών γλυκοζαμινογλυκάνων σε τμήμα του χόνδρου και απουσία τους στην περιφέρεια των ωτικών κατασκευών, πανομοιότυπα με αυτή του μητρικού ιστού. Τα χονδροκύτταρα έδειξαν παρόμοια μορφολογία και κατανεμήθηκαν ομοιόμορφα στη μήτρα. Αυτά τα αποτελέσματα απεικονίζονται στην Εικόνα 28.



Εικόνα 28. Η ιστολογική εξέταση του ωτικού πλαισίου από τον υποδόριο χώρο της ράχης ενός κουνελιού μετά από 18 μήνες από την εμφύτευσή του. [1]: μεταξύ [2]: άλας αλγινικού οξέως [3]: μεταξύ [4]: άσηπτος φλεγμονώδης ιστός [5] μεσεγγυματικού τύπου χονδροκύτταρα.

Για να δοκιμασθεί η ευελιξία-ελαστικότητα του ωτικού πλαισίου και η μηχανική απόκρισή του σε εξωτερική πίεση χρησιμοποιήθηκε ειδική πλατφόρμα ακριβείας για μηχανικές δοκιμές (Μοντέλο ELF 3200 της Bose Corporation). Η μηχανική απόκριση των δυο ωτικών πλαισίων μετρήθηκε πριν από την εμφύτευσή τους και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους (Πίνακας 12). Ο βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) του ανθρώπινου ωτός ποικίλει μεταξύ 0.45 και 0.80 Mpa.

	11	12
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) πριν την εμφύτευση	1.07 Mpa	1,09 Mpa
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) μετά την εξαγωγή	0,56 Mpa	0,58 Mpa

Πίνακας 12. Η μηχανική απόκριση των **δύο ωτικών** πλαισίων μετρήθηκε πριν από την εμφύτευση τους (11) και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους (12)

Φάση 7:

Μετά από 24 μήνες *in vivo*, τα ωτικά πλαίσια των δύο επόμενων κουνελιών αφαιρέθηκαν. Οι ιστολογικές, ανοσοϊστοχημικές και οπτικές εξετάσεις πραγματοποιήθηκαν προκειμένου να εξετασθεί ο σχηματισμός του χόνδρου, το μέγεθος και η ελαστικότητα του.

Η οπτική εξέταση, προκειμένου να εξεταστεί ο σχηματισμός του χόνδρου, η εξέταση του μεγέθους και της ελαστικότητάς του έγινε από τρεις ανεξάρτητους παρατηρητές. Στη συγκεκριμένη φάση εξαγωγής των δύο ωτικών πλαισίων παρατηρήθηκε διατήρηση στις μετρήσεις σχετικά με το ύψος και το πλάτος των ωτικών πλαισίων σε σχέση με τις μετρήσεις στις φάσεις 4, 5 και 6 (Πίνακας 13). Οι τρεις παρατηρητές διαπίστωσαν αύξηση της ελαστικότητας και της ποιότητας στο εξαχθέν προϊόν σε σχέση με αυτό της εμφύτευσης και χαρακτήρισαν και τα δυο ωτικά πλαίσια σχεδόν όμοια σε χαρακτηριστικά με το φυσιολογικό οθς των κουνελιών από τα οποία έγινε η εξαγωγή των πλαισίων (Εικόνα 29).



Εικόνα 29. Το ωτικό πλαίσιο στο υποδόριο στρώμα της ράχης ενός κουνελιού 24 μήνες μετά από την εμφύτευσή του.

Πρίν εμφύτευση	13	14
d 1 (cm)	6,37	6,39
d 2 (cm)	2,79	2,82

24 μήνες μετά εμφύτευση	13	14
d 1 (cm)	5,28 (-1,09)	5,27 (-1,12)
d 2 (cm)	2,19 (-0,60)	2,22 (-0,60)

d1= ύψος ωτικού πλαισίου d2= πλάτος ωτικού πλαισίου.

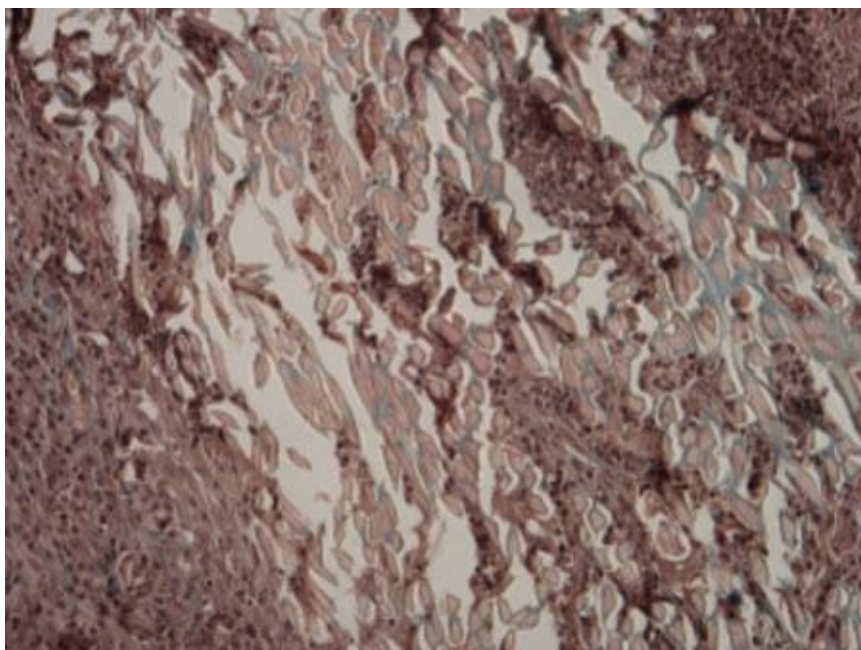
Πίνακας 13. Τεχνικά χαρακτηριστικά ωτικών πλαισίων πριν την εμφύτευση και μετά την εξαγωγή

Η εξέταση με μικροσκόπιο φθορισμού έδειξε ποσοστό επιβίωσης 77%- 82% των κυττάρων των ωτικών πλαισίων. Στη συγκεκριμένη φάση εξαγωγής δεν παρατηρήθηκε μερική ή ολική απόρριψη των ωτικών πλαισίων.

Η ιστολογική, μικροσκοπική ανοσοϊστοχημική εξέταση και η εξέταση με μικροσκόπιο φθορισμού για την εξέταση βιωσιμότητας των κυττάρων έδειξαν ήπιας μορφής τοπική άσηπτη φλεγμονή και στα δύο εξαχθέντα ωτικά πλαίσια και παρουσία των υλικών (άλας αλγινικού οξέος και μετάξι) που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή των ωτικών πλαισίων.

Οι κατασκευές υποβλήθηκαν σε ιστολογική και ανοσοϊστοχημική ανάλυση. Τα συστατικά των εξωκυτταρικών μητρών που αναλύθηκαν ήταν κολλαγόνο τύπου I, κολλαγόνο τύπου II, θειώδεις γλυκοζαμινογλυκάνες και ελαστικές ίνες. Η ιστολογική, μικροσκοπική ανοσοϊστοχημική εξέταση και η εξέταση με μικροσκόπιο φθορισμού για τον έλεγχο της βιωσιμότητας των κυττάρων έδειξαν ήπιας μορφής τοπική άσηπτη φλεγμονή και στα δύο εξαχθέντα ωτικά πλαίσια και παρουσία των υλικών (άλας αλγινικού οξέος και μετάξι), που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή των ωτικών πλαισίων. Οι ωτικές κατασκευές περιείχαν χόνδρο και περιχόνδριο. Το κολλαγόνου τύπου I υπήρχε σε όλο το εσωτερικό στρώμα του χόνδρου και υψηλά επίπεδα κολλαγόνου τύπου II ανευρίσκοντο σε όλο το περιχόνδριο, όμοια με αυτά του μητρικού ιστού. Το περιεχόμενο της εξωκυτταρικής μήτρας ήταν όμοιο μεταξύ των ωτικών κατασκευών όταν έγινε χρήση της χρώσης Alcian blue και κατέδειξε την παρουσία θειωδών γλυκοζαμινογλυκανών σε τμήμα του χόνδρου και απουσία τους στην

περιφέρεια των ωτικών κατασκευών, πανομοιότυπα με αυτή του μητρικού ιστού. Τα χονδροκύτταρα έδειξαν παρόμοια μορφολογία και κατανεμήθηκαν ομοιόμορφα στη μήτρα. Αυτά τα αποτελέσματα απεικονίζονται στην Εικόνα 30.



Εικόνα 30. Η ιστολογική εξέταση του ωτικού πλαισίου από τον υποδόριο χώρο της ράχης ενός κουνελιού μετά από 24 μήνες από την εμφύτευσή του.

Για να δοκιμασθεί η ευελιξία-ελαστικότητα του ωτικού πλαισίου και η μηχανική απόκρισή του σε εξωτερική πίεση χρησιμοποιήθηκε ειδική πλατφόρμα ακριβείας για μηχανικές δοκιμές (Μοντέλο ELF 3200 της Bose Corporation). Η μηχανική απόκριση των δυο ωτικών πλαισίων μετρήθηκε πριν από την εμφύτευση τους και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους (Πίνακας 14). Ο βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) του ανθρώπινου ωτός ποικίλει μεταξύ 0.45 και 0.80 Mpa.

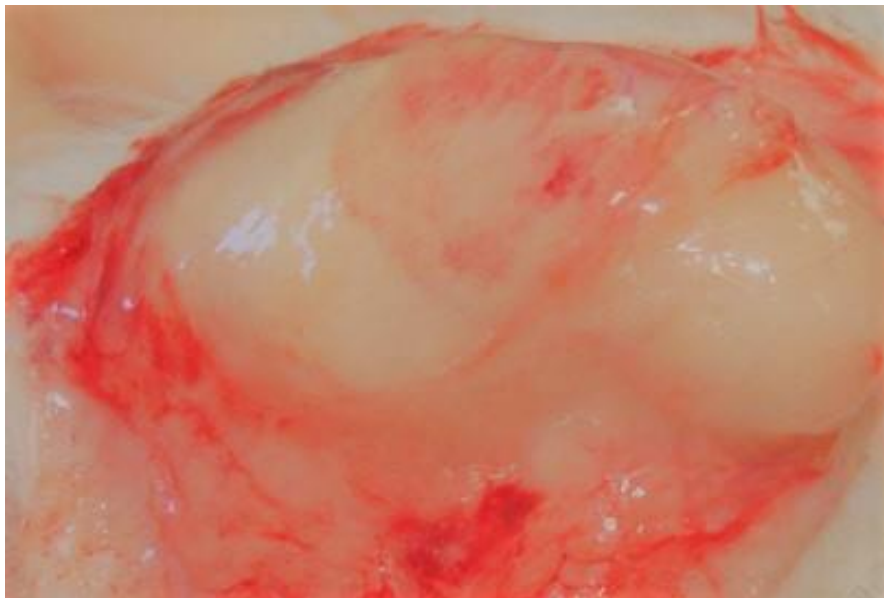
	13	14
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) πριν την εμφύτευση	1,07 Mpa	1,13 Mpa
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) μετά την εξαγωγή	0,55 Mpa	0,53 Mpa

Πίνακας 14. Η μηχανική απόκριση των δυο ωτικών πλαισίων μετρήθηκε πριν από την εμφύτευση τους (13) και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους (14)

Φάση 8:

Μετά από 30 μήνες in vivo, αφαιρέθηκαν τα ωτικά πλαίσια των δύο επόμενων κουνελιών. Οι ιστολογικές, ανοσοϊστοχημικές και οπτικές εξετάσεις πραγματοποιήθηκαν, προκειμένου να εξετασθεί ο σχηματισμός του χόνδρου, το μέγεθος και η ελαστικότητα του.

Ένα από τα κουνέλια της φάσης 8 προσεβλήθη από ασθένεια και κατέληξε στους 28 μήνες. Δεν υπάρχουν δεδομένα για το συγκεκριμένο ωτικό πλαίσιο. Η οπτική εξέταση, προκειμένου να ελεγχθεί ο σχηματισμός του χόνδρου, το μέγεθος και η ελαστικότητά του έγινε από τρεις ανεξάρτητους παρατηρητές. Στη συγκεκριμένη φάση εξαγωγής του ενός ωτικού πλαισίου παρατηρήθηκε διατήρηση στις μετρήσεις σχετικά με το ύψος και το πλάτος σε σχέση με τις μετρήσεις στις φάσεις 4, 5, 6 και 7. (Πίνακας 15) Οι τρεις παρατηρητές διαπίστωσαν αύξηση της ελαστικότητας και της ποιότητας στο εξαχθέν προϊόν, σε σχέση με αυτό της εμφύτευσης και χαρακτήρισαν το ωτικό πλαίσιο σχεδόν όμοιο σε χαρακτηριστικά με το φυσιολογικό ούς του κουνελιού, από το οποίο έγινε η εξαγωγή του πλαισίου. (Εικόνα 31)



Εικόνα 31. Εξαγωγή ωτικού πλαισίου 30 μήνες μετά από την εμφύτευση.

Πρίν εμφύτευση	15	16
d 1 (cm)	6,40	6,35
d 2 (cm)	2,78	2,81

30 μήνες μετά εμφύτευση	15	16
d 1 (cm)	5,39 (-1,01)	Μη διαθέσιμα
d 2 (cm)	2,21 (-0,57)	Μη διαθέσιμα

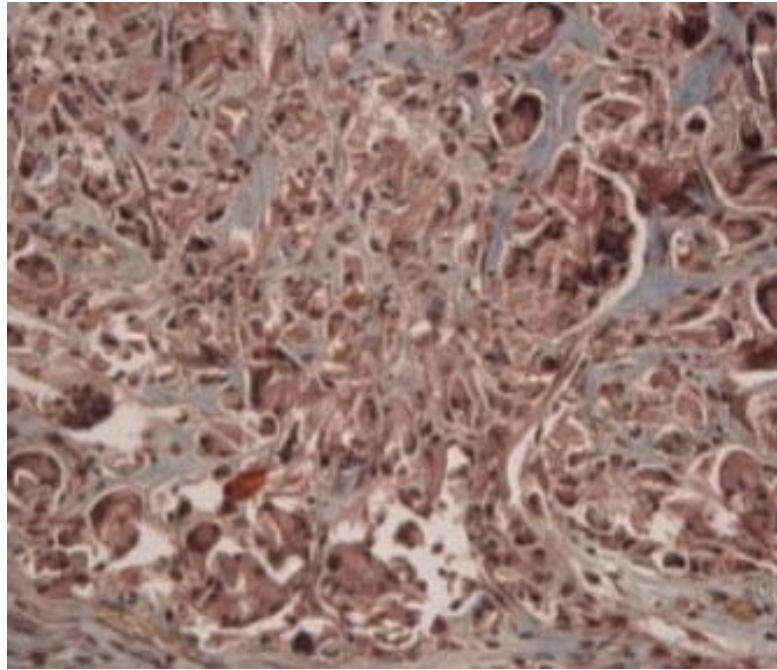
d1= ύψος ωτικού πλαισίου d2= πλάτος ωτικού πλαισίου.

Πίνακας 15. Τεχνικά χαρακτηριστικά ωτικών πλαισίων πριν την εμφύτευση και μετά την εξαγωγή.

Η εξέταση με μικροσκόπιο φθορισμού έδειξε ποσοστό επιβίωσης 78%- 80% των κυττάρων στο ωτικό πλαίσιο. Στη συγκεκριμένη φάση εξαγωγής δεν παρατηρήθηκε μερική ή ολική απόρριψη του ωτικού πλαισίου.

Η ιστολογική, μικροσκοπική ανοσοϊστοχημική εξέταση και η εξέταση με μικροσκόπιο φθορισμού για τον έλεγχο της βιωσιμότητας των κυττάρων έδειξαν ήπιας μορφής τοπική άσηπτη φλεγμονή και στο εξαχθέν ωτικό πλαίσιο και παρουσία των υλικών (άλας αλγινικού οξέος και μετάξι) που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή του.

Η ωτική κατασκευή υποβλήθηκε σε ιστολογική και ανοσοϊστοχημική ανάλυση. Τα συστατικά της εξωκυτταρικής μήτρας που αναλύθηκαν ήταν κολλαγόνο τύπου I, κολλαγόνο τύπου II, θειώδεις γλυκοζαμινογλυκάνες και ελαστικές ίνες. Η ωτική κατασκευή περιείχε χόνδρο και περιχόνδριο. Το κολλαγόνου τύπου I υπήρχε σε όλο το εσωτερικό στρώμα του χόνδρου και υψηλά επίπεδα κολλαγόνου τύπου II ανευρίσκοντο σε όλο το περιχόνδριο, όμοια με αυτά του μητρικού ιστού. Το περιεχόμενο της εξωκυτταρικής μήτρας ήταν όμοιο όταν έγινε χρήση της χρώσης Alcian blue και κατέδειξε την παρουσία θειωδών γλυκοζαμινογλυκανών σε τμήμα του χόνδρου και απουσία τους στην περιφέρεια της ωτικής κατασκευής, πανομοιότυπα με αυτή του μητρικού ιστού. Τα χονδροκύτταρα έδειξαν παρόμοια μορφολογία και κατανεμήθηκαν ομοιόμορφα στη μήτρα. Αυτά τα αποτελέσματα απεικονίζονται στην Εικόνα 32.



Εικόνα 32. Η ιστολογική εξέταση του ωτικού πλαισίου από τον υποδόριο χώρο της ράχης ενός κουνελιού μετά από 30 μήνες από την εμφύτευσή του.

Για να δοκιμασθεί η ευελιξία-ελαστικότητα του ωτικού πλαισίου και η μηχανική απόκρισή του σε εξωτερική πίεση χρησιμοποιήθηκε ειδική πλατφόρμα ακριβείας για μηχανικές δοκιμές (Μοντέλο ELF 3200 της Bose Corporation). Η μηχανική απόκριση των δυο ωτικών πλαισίων μετρήθηκε πριν από την εμφύτευσή τους και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους (Πίνακας 16). Ο βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) του ανθρώπινου ωτός ποικίλει μεταξύ 0.45 και 0.80 Mpa.

	15	16
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) πριν την εμφύτευση	1,10 Mpa	
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) μετά την εξαγωγή	0,58 Mpa	

Πίνακας 16. Η μηχανική απόκριση των δυο ωτικών πλαισίων μετρήθηκε πριν από την εμφύτευση τους (15) και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους (16).

Φάση 9:

Μετά από 36 μήνες *in vivo*, τα ωτικά πλαίσια των δύο επόμενων κουνελιών αφαιρέθηκαν. Οι ιστολογικές, ανοσοϊστοχημικές και οπτικές εξετάσεις πραγματοποιήθηκαν προκειμένου να εξετασθεί ο σχηματισμός του χόνδρου, το μέγεθος και η ελαστικότητα του.

Η οπτική εξέταση προκειμένου να εξετασθεί ο σχηματισμός του χόνδρου, ο έλεγχος του μεγέθους και της ελαστικότητάς του έγινε από τρεις ανεξάρτητους παρατηρητές. Στη συγκεκριμένη φάση εξαγωγής των δυο ωτικών πλαισίων παρατηρήθηκε διατήρηση στις μετρήσεις σχετικά με το ύψος και το πλάτος, σε σχέση με τις μετρήσεις στις φάσεις 4-8 (Πίνακας 17). Οι τρεις παρατηρητές διαπίστωσαν αύξηση της ελαστικότητας και της ποιότητας στο εξαχθέν προϊόν σε σχέση με αυτό της εμφύτευσης και χαρακτήρισαν το ωτικό πλαίσιο σχεδόν όμοιο σε χαρακτηριστικά με το φυσιολογικό ους του κουνελιού, από το οποίο έγινε η εξαγωγή του πλαισίου. (Εικόνα 33)



Εικόνα 33. Εξαγωγή ωτικού πλαισίου 36 μήνες μετά από την εμφύτευση.

Πρίν εμφύτευση	17	18
d 1 (cm)	6,39	6,23
d 2 (cm)	2,65	2,75

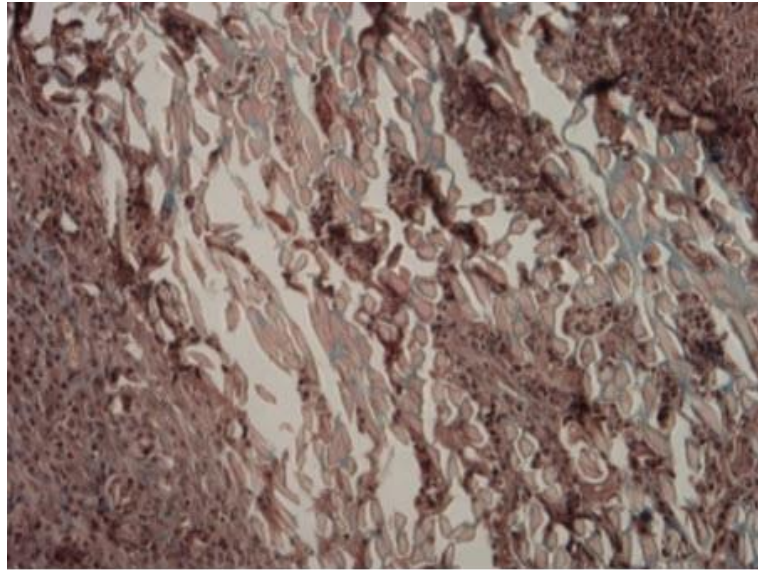
24 μήνες μετά εμφύτευση	17	18
d 1 (cm)	5,32 (-1,07)	5,43 (-0,8)
d 2 (cm)	2,30 (-0,35)	2,32 (-0,43)

d1= ύψος ωτικού πλαισίου d2= πλάτος ωτικού πλαισίου.

Πίνακας 17. Τεχνικά χαρακτηριστικά ωτικών πλαισίων πριν την εμφύτευση και μετά την εξαγωγή

Η εξέταση με μικροσκόπιο φθορισμού έδειξε ποσοστό επιβίωσης 77%- 82% των κυττάρων των ωτικών πλαισίων. Στη συγκεκριμένη φάση εξαγωγής δεν παρατηρήθηκε μερική ή ολική απόρριψη των ωτικών πλαισίων.

Η ιστολογική, μικροσκοπική ανοσοϊστοχημική εξέταση και η εξέταση με μικροσκόπιο φθορισμού για την εξέταση βιωσιμότητας των κυττάρων, έδειξαν ήπιας μορφής τοπική άσηπτη φλεγμονή και στα δύο εξαχθέντα ωτικά πλαίσια και παρουσία των υλικών (άλας αλγινικού οξέος και μετάξι) που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή των ωτικών πλαισίων. Οι κατασκευές υποβλήθηκαν σε ιστολογική και ανοσοϊστοχημική ανάλυση. Τα συστατικά των εξωκυτταρικών μητρών που αναλύθηκαν ήταν κολλαγόνο τύπου I, κολλαγόνο τύπου II, θειώδεις γλυκοζαμινογλυκάνες και ελαστικές ίνες. Οι ωτικές κατασκευές περιείχαν χόνδρο και περιχόνδριο. Το κολλαγόνο τύπου I υπήρχε σε όλο το εσωτερικό στρώμα του χόνδρου και υψηλά επίπεδα κολλαγόνου τύπου II ανευρέθηκαν σε όλο το περιχόνδριο, όμοια με αυτά του μητρικού ιστού. Το περιεχόμενο της εξωκυτταρικής μήτρας ήταν όμοιο μεταξύ των ωτικών κατασκευών όταν έγινε χρήση της χρώσης Alcian blue και κατέδειξε την παρουσία θειωδών γλυκοζαμινογλυκανών σε τμήμα του χόνδρου και απουσία τους στην περιφέρεια των ωτικών κατασκευών, πανομοιότυπα με αυτή του μητρικού ιστού. Τα χονδροκύτταρα έδειξαν παρόμοια μορφολογία και κατανεμήθηκαν ομοιόμορφα στη μήτρα. Αυτά τα αποτελέσματα απεικονίζονται στην Εικόνα 34.



Εικόνα 34. Η ιστολογική εξέταση του ωτικού πλαισίου από τον υποδόριο χώρο της ράχης ενός κουνελιού μετά από 36 μήνες από την εμφύτευσή του.

Για να δοκιμασθεί η ευελιξία-ελαστικότητα του ωτικού πλαισίου και η μηχανική απόκριση του σε εξωτερική πίεση χρησιμοποιήθηκε ειδική πλατφόρμα ακριβείας για μηχανικές δοκιμές (Μοντέλο ELF 3200 της Bose Corporation). Η μηχανική απόκριση των δυο ωτικών πλαισίων μετρήθηκε πριν από την εμφύτευση τους και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους (Πίνακας 18). Ο βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) του ανθρώπινου ωτός ποικίλει μεταξύ 0.45 και 0.80 Mpa.

	17	18
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) πριν την εμφύτευση	1,09 Mpa	1,12 Mpa
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) μετά την εξαγωγή	0,52 Mpa	0,50 Mpa

Πίνακας 18. Η μηχανική απόκριση των δυο ωτικών πλαισίων μετρήθηκε πριν από την εμφύτευσή τους (17) και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους (18).

Στον παρακάτω συγκεντρωτικό πίνακα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της μελέτης (πίνακας 19)

ΦΑΣΗ 1		
Πρίν εμφύτευση	1	2
d 1 (cm)	6,34	6,43
d 2 (cm)	2,93	2,95
1 μήνα μετά την εμφύτευση	1	2
d 1 (cm)	6,42 (+0,08)	6,52 (+0,12)
d 2 (cm)	2,98 (+0,05)	2,97 (+0,02)
	1	2
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) πριν την εμφύτευση	1.10 Mpa	1.20 Mpa
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) μετά την εμφύτευση	1.14 Mpa	1.25 Mpa

ΦΑΣΗ 2		
Πρίν εμφύτευση	3	4
d 1 (cm)	6,40	6,39
d 2 (cm)	2,78	2,83
1 μήνα μετά την εμφύτευση	3	4
d 1 (cm)	5,70 (-0,70)	5,95 (-0,44)
d 2 (cm)	2,66 (-0,12)	2,48 (-0,35)
	3	4
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) πριν την εμφύτευση	1.05 Mpa	1.13 Mpa
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) μετά την εμφύτευση	0.95 Mpa	0.91 Mpa

ΦΑΣΗ 3		
Πρίν εμφύτευση	5	6
d 1 (cm)	6,32	6,42
d 2 (cm)	2,85	2,86
1 μήνα μετά την εμφύτευση	5	6
d 1 (cm)	5,28 (-1,14)	5,29 (-1,13)
d 2 (cm)	2,23 (-0,62)	2,19 (-0,67)
	5	6
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) πριν την εμφύτευση	1.15 Mpa	1.20 Mpa
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) μετά την εμφύτευση	0.72 Mpa	0.57 Mpa

ΦΑΣΗ 4		
Πρίν εμφύτευση	7	8
d 1 (cm)	6,38	6,36
d 2 (cm)	2,84	2,78
1 μήνα μετά την εμφύτευση	7	8
d 1 (cm)	5,26 (-1,12)	5,23 (-1,13)
d 2 (cm)	2,19 (-0,65)	2,20 (-0,64)
	7	8
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) πριν την εμφύτευση	1.12 Mpa	1.14 Mpa
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) μετά την εμφύτευση	0.62 Mpa	0.64 Mpa

ΦΑΣΗ 5		
Πρίν εμφύτευση	9	10
d 1 (cm)	6,32	6,40
d 2 (cm)	2,93	2,78
1 μήνα μετά την εμφύτευση	9	10
d 1 (cm)	5,22 (-1,10)	5,26 (-1,14)
d 2 (cm)	2,30 (-0,63)	2,14 (-0,64)
	9	10
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) πριν την εμφύτευση	1.05 Mpa	1.09 Mpa

Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) μετά την εμφύτευση	0.56 Mpa	0.67 Mpa
---	----------	----------

ΦΑΣΗ 6		
Πρίν εμφύτευση	11	12
d 1 (cm)	6,35	6,41
d 2 (cm)	2,82	2,83
1 μήνα μετά την εμφύτευση	11	12
d 1 (cm)	5,24 (-1,11)	5,31 (-1,10)
d 2 (cm)	2,20 (-0,62)	2,23 (-0,60)
	11	12
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) πριν την εμφύτευση	1.07 Mpa	1.09 Mpa
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) μετά την εμφύτευση	0.56 Mpa	0.58 Mpa

ΦΑΣΗ 7		
Πρίν εμφύτευση	13	14
d 1 (cm)	6,37	6,39
d 2 (cm)	2,79	2,82
1 μήνα μετά την εμφύτευση	13	14
d 1 (cm)	5,28 (-1,09)	5,27 (-1,12)
d 2 (cm)	2,19 (-0,60)	2,22 (-0,60)
	13	14
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) πριν την εμφύτευση	1.07 Mpa	1.13 Mpa
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) μετά την εμφύτευση	0.55 Mpa	0.53 Mpa

ΦΑΣΗ 8		
Πρίν εμφύτευση	15	16
d 1 (cm)	6,40	6,35
d 2 (cm)	2,78	2,81
1 μήνα μετά την εμφύτευση	15	16
d 1 (cm)	5,39 (-1,01)	Μη διαθέσιμα
d 2 (cm)	2,21 (-0,57)	Μη διαθέσιμα
	15	16
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) πριν την εμφύτευση	1.10 Mpa	

Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) μετά την εμφύτευση	0.58 Mpa	
---	----------	--

ΦΑΣΗ 9		
Πρίν εμφύτευση	17	18
d 1 (cm)	6,39	
d 2 (cm)	2,65	
1 μήνα μετά την εμφύτευση	17	18
d 1 (cm)	5,32 (-1,07)	5,43 (-0,8)
d 2 (cm)	2,30 (-0,35)	2,32 (-0,43)
	17	18
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) πριν την εμφύτευση	1.09 Mpa	1.12 Mpa
Βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) μετά την εμφύτευση	0.52 Mpa	0.50 Mpa

d1: ύψος ωτικού πλαισίου d2: πλάτος ωτικού πλαισίου

Πίνακας 19: Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων της μελέτης

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η πολυπλοκότητα κάθε εξατομικευμένης ωτικής κατασκευής, καθιστά το εξωτερικό τους ένα πολύ ιδιαίτερο χαρακτηριστικό του ανθρώπινου σώματος και είναι ένας από τους λόγους που η αποκατάσταση του έξω ωτός θεωρείται εξαιρετικά δύσκολη [78].

Η ωτική αποκατάσταση είναι ιδιαίτερα πολύπλοκη που απαιτεί ιδιαίτερο προεγχειρητικό σχεδιασμό, χειρουργική ικανότητα και επιδεξιότητα, ενώ συνοδεύεται από πολλές σοβαρές επιπλοκές του θωρακικού τοιχώματος στην περίπτωση λήψης πλευρικού χόνδρου. Οι συνδυασμένες προσπάθειες των κυτταροβιολόγων, ιστομηχανικών και επανορθωτικών χειρουργών, λόγω των προσφάτων εξελίξεων στην αναγεννητική ιατρική, έχουν τη δυνατότητα να αντικαταστήσουν το εξωτερικό τους με ωτική κατασκευή, η οποία είναι ανώτερη σε σχέση με παλαιότερες προσπάθειες αντικατάστασης του ωτικού χόνδρου. Τα αυτόλογα μοσχεύματα παραμένουν προβληματικά λόγω της μακροχρόνιας απορρόφησης του μοσχεύματος. Τα αλλομοσχεύματα, ενώ είναι ελκυστικά λόγω της εύκολης κατασκευής τους και του μειωμένου εγχειρητικού χρόνου για την εισαγωγή τους, εξακολουθούν να παρουσιάζουν μη αποδεκτά επίπεδα φλεγμονής και απόρριψης. Ως εκ τούτου, οι μελέτες και προσπάθειες των τελευταίων χρόνων έχουν αφιερωθεί στην ανάπτυξη ενός μοντέλου για τη δημιουργία χόνδρου στο εργαστήριο (in vitro) αλλά και σε ζώντες οργανισμούς (in vivo).

Τα βλαστοκύτταρα παίζουν σημαντικό ρόλο στην αποκατάσταση των κατεστραμμένων ιστών ή οργάνων. Όταν σχεδιάζεται ένα ωτικό εμφύτευμα για κλινική εφαρμογή, υπάρχουν πολλά βασικά χαρακτηριστικά του υλικού που πρέπει να αναλυθούν. Οι ιδιότητες της επιφάνειας του συνθετικού υλικού πρέπει να είναι οι κατάλληλες για την καλή ενσωμάτωση και την αγγειογένεση του ιστού. Όταν μελετάμε τις ιδιότητες του υλικού, ένα σημαντικό χαρακτηριστικό είναι οι μηχανικές του ιδιότητες. Είναι γνωστό ότι για να αποφύγουμε τη μηχανική αναντιστοιχία, ένα συνθετικό υλικό πρέπει να έχει παρόμοιο συντελεστή ελαστικότητας σε σχέση με τον ιστό που αντικαθιστά. Έχει παρατηρηθεί ότι οι ωτικές κατασκευές που εμφυτεύτηκαν σε ανοσοσυμβατά ζωικά μοντέλα υπέστησαν φλεγμονή, ίωση και αντίδραση ξένου σώματος. Αυτό είναι ιδιαιτέρως προβληματικό με τα ικρίωματα πολυμερών όπως αυτά του πολυγαλακτικού οξέος ή του πολυγλυκοτικού οξέος, των οποίων τα αποδομήσιμα

προϊόντα προκαλούν αντίδραση *in vivo*. Τα ιδανικά βιοϋλικά, για τη δημιουργία τρισδιάστατου σε ωτικό σχήμα χόνδρου, πρέπει να έχουν επαρκή ελαστικότητα, ευκαμψία, μηχανική αντοχή και φυσική σταθερότητα για να διατηρήσουν το σχήμα τους [79]. Εκτός από αυτά τα χαρακτηριστικά χρειάζεται επίσης η απαραίτητη βιοσυμβατότητα, βιοαπορροφησιμότητα και ικανό ποσοστό πόρωσης, έτσι ώστε τα ικριώματα να διατηρήσουν την κυτταρική πρόσφυση, την εσωτερική χονδρογένεση και να προωθήσουν τη παραγωγή νέου ιστού [80]. Για να παρακαμφθούν αυτά τα προβλήματα, πολλοί ερευνητές προσπάθησαν να κατασκευάσουν ελαστικό χόνδρο με τη χρήση βιοϋλικών και κυττάρων, χωρίς μέχρι σήμερα να έχει επιτευχθεί αυτός ο στόχος.

Στη συγκεκριμένη μελέτη παρατηρήσαμε ότι τα μεσεγγυματικά βλαστοκύτταρα (MSCs), που ελήφθησαν από το περιχόνδριο και τον ωτικό χόνδρο των κουνελιών, εκδήλωσαν δείκτες χονδρογένεσης. Παρότι προηγούμενες μελέτες είχαν δείξει ότι η απόδοση σε χονδροκύτταρα και εξωκυτταρική μήτρα από τα μεσεγγυματικά βλαστοκύτταρα (MSCs) δεν ήταν επαρκής για να στηρίζει τρισδιάστατα ωτικά ικριώματα, στη δική μας μελέτη, το ποσοστό απόδοσης ήταν επαρκές για την κατασκευή ενός τρισδιάστατου ωτικού μοντέλου [40,81,82]. Συγκρίνοντας και δοκιμάζοντας τις διάφορες πιθανές κυτταρικές πηγές για την κατασκευή αυτού του συγκεκριμένου ωτικού μοντέλου, ο συνδυασμός των μεσεγγυματικών βλαστοκυττάρων (MSCs) από το περιχόνδριο και το χόνδρο φαίνεται ότι είναι ο πλέον κατάλληλος. Μία πρόσφατη μελέτη επίσης επιβεβαίωσε ότι τα μεσεγγυματικά βλαστοκύτταρα (MSCs) είναι εξαιρετική πηγή για την ιστομηχανική του ωτικού χόνδρου, όταν λαμβάνονται από το περιχόνδριο και το χόνδρο και έχουν υψηλή δυναμική χονδρογένεσης [83,84].

Στους 6-36 μήνες οι κατασκευές διατήρησαν τις δομές του λοβού και της ελικοειδούς δομής του εξωτερικού ωτός. Οι ωτικές κατασκευές δεν έδειξαν σημάδια νεκρωτικών πυρήνων και παρουσίασαν υγιή ιστό με πλήρη πυκνότητα του ωτικού ιστού. Αυτές οι διαπιστώσεις έγιναν από τρεις ανεξάρτητους παρατηρητές που εργάζονται στον τομέα της ιστομηχανικής σε διαφορετικά ινστιτούτα. Τα μεγέθη των ωτικών κατασκευών ήταν ελαφρώς διαφοροποιημένα σε σχήμα και δομή μεταξύ 3 – 36 μηνών. Τα μήκη και τα πλάτη κατά τους χρόνους εμφύτευσης παρουσίασαν μικρές διαφορές. Τα μήκη κυμαίνονταν από 6.32 έως 6.41 εκ. και τα πλάτη από 2.65 έως 2.93 εκ. κατά την εμφύτευση. Κατά τους χρόνους εκφύτευσης το μήκος εκυμαίνοντο από 5.24 έως 5.70 εκ. και το πλάτος από 2.14 έως 2.66 εκ. Όταν όλες οι εκφυτευμένες

κατασκευές συνεκρίθησαν με αυτές πριν την εμφύτευση, τα εμφυτευμένα αυτιά συρρικνώθηκαν κατά 12-19% από το μήκος του προ-εμφυτευμένου αυτιού, ενώ τα πλάτη συρρικνώθηκαν κατά 10-23% από το αρχικό πλάτος.

Τα βιοϋλικά χρησιμοποιούνται για να κατευθύνουν την οργάνωση, την ανάπτυξη και τη διαφοροποίηση των κυττάρων κατά τη διαδικασία σχηματισμού λειτουργικού ιστού [85]. Πρέπει να είναι προσεκτικά επιλεγμένα για να επέλθει η αναπαραγωγή των κυττάρων και ιστικά αγωγή για να κατευθύνουν τη ανάπτυξη των κυττάρων. Ένα ικρίωμα το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη κλινική αποκατάσταση του χόνδρου πρέπει να έχει τα ακόλουθα χαρακτηριστικά: α) να είναι αξιόπιστο και αναπαραξιμο υπό φυσιολογικές συνθήκες, β) να έχει παρόμοιες ιδιότητες μηχανικές και ιστοχημικές σε σχέση με το μητρικό ιστό γ) κατά προτίμηση να μιμείται τα χαρακτηριστικά του χόνδρου, της εξωκυτταρικής μήτρας με υψηλή δυναμική χονδρογέννησης, δ) να είναι πλήρως βιοσυμβατό με την κυτταρική ανάπτυξη και την ιστική αναδιαμόρφωση, ε) να προσφύεται και ενσωματώνεται σθεναρά με τον περιβάλλοντα μητρικό χόνδρινο ιστό.

Στη συγκεκριμένη μελέτη, τα ικρίσματα και οι υδρογέλες από φυσικά πολυμερή, όπως το άλας αλγινικού οξέος και η ινοΐνη, σχηματοποιούνται σε καλούπια και έχουν υψηλή βιοσυμβατότητα, με αποτέλεσμα τα χονδροκύτταρα που περικλείονται στο άλας αλγινικού οξέος να μετατρέπονται σε χόνδρο, όπως έχει παρατηρηθεί σε προηγούμενες μελέτες. [86-89]. Επιπλέον, η χρήση άλατος αλγινικού οξέος μειώνει την ανοσοαντίδραση των κυττάρων και εμποδίζει την διάχυσή τους εκτός της ωτικής κατασκευής. Το άλας αλγινικού οξέος είναι ένα πολυανιονικό πολυμερές που μπορεί να διασταυρωθεί με δισθενή κατιόντα για να σχηματίσει σταθερές ιοντικά διασταυρωμένες γέλες. Το μετάξι αποτελείται κυρίως από ινώδη πρωτεΐνη, την ινοΐνη, η οποία μπορεί να κατασκευαστεί σε διάφορες μορφές και έχει δείξει ότι μπορεί να στηρίξει την πρόσφυση, αναπαραγωγή και διαφοροποίηση των βλαστοκυττάρων στο εργαστήριο και να προωθήσει την ανάπτυξη του ιστού σε ζώντες οργανισμούς (in vivo). Τα σφαιρίδια από άλας αλγινικού οξέος και οι υδρογέλες υαλουρονικού οξέος χρησιμοποιήθηκαν για να αναπτυχθούν χονδροκύτταρα μέσω της διαφοροποίησης των βλαστοκυττάρων [90]. Έχει περιγραφεί η χρήση του άλατος αλγινικού οξέος σε συνδυασμό με υλικό ινοΐνης για την αποκατάσταση του μικροπεριβάλλοντος του ωτικού χόνδρου στο εργαστήριο (in vitro) [91]. Η ινοΐνη μεταξίου έδειξε ότι μπορεί να υποστηρίξει την πρόσφυση, αναπαραγωγή και διαφοροποίηση των βλαστοκυττάρων

στο εργαστήριο και να προωθήσει την επανόρθωση του ωτικού ιστού σε ζώντες οργανισμούς (in vivo) [92].

Μία πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι ο συνδυασμός των ικριωμάτων με μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα κατευθύνει τη μορφολογία και τον προσανατολισμό των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων, καταδεικνύοντας την επίδραση της δομής του ικριώματος στη μηχανική των ωτικών ιστών [93].

Τα βιομόρια είναι βιολογικά υλικά που συμβάλουν στη δομική ενσωμάτωση των ιστομηχανικών κατασκευών και ταυτόχρονα ρυθμίζουν τα συστατικά τους. Οι αυξητικοί παράγοντες, οι παράγοντες διαφοροποίησης, και οι αγγειογενετικοί παράγοντες είναι τα κύρια συστατικά των βιομορίων. Για την καλλιέργεια στο εργαστήριο στη συγκεκριμένη μελέτη (in vitro), η προσθήκη του Τροποποιητικού Αυξητικού Παράγοντα βήτα-3 (TGFβ-3) και της Μορφογονικής Πρωτεΐνης Ιστών-2 (BMP-2) ενεργοποίησε τη χονδρογένεση σε σχέση με τη σύνθεση του συγκεκριμένου ικριώματος της μελέτης. Παρ' όλα αυτά, οι διαστάσεις του χόνδρου μειώθηκαν ελαφρώς σε σχέση με τα αρχικά ικριώματα που εμφυτεύθηκαν, και διατήρησαν το σχήμα και την ευκαμψία τους. Πρόσφατες μελέτες που έχουν γίνει αναλύουν το των χονδρογονικών παραγόντων, οι οποίοι θα ενισχύσουν την εναπόθεση εξωκυτταρικής μήτρας που θα βοηθήσει στη μηχανική σταθερότητα της ωτικής κατασκευής .

Προγενέστερες μελέτες έδειξαν ότι για την παραγωγή εξωκυτταρικής μήτρας στο εργαστήριο χρησιμοποιήθηκε το τροποποιημένο κατά Dulbecco θρεπτικό μέσο του Eagle (DMEM) ως βασικό μέσο. Ο συνδυασμός DMEM με πρόσθετους αυξητικούς παράγοντες βοηθά στη χονδρογένεση στο εργαστήριο (in vitro). Ίσως οι πιο σημαντικοί χονδρογονικοί παράγοντες που ενεργοποιούν την διαφοροποίηση των κυττάρων είναι ο Τροποποιητικός Αυξητικός Παράγοντας β1 και β3 [94]. Η δεξαμεθαζόνη ενισχύει τη χονδρογένεση των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων, όπως αποδεικνύεται από την αυξημένη ποσότητα κολλαγόνου τύπου II και γλυκοζαμινογλυκάνης σε πρόσφατη μελέτη [95]. Είναι γνωστό ότι τα άλατα ασκορβικού οξέος ρυθμίζουν την εναπόθεση κολλαγόνου για μακρά περίοδο, και το συμπληρωματικό πρόμιγμα με ινσουλίνη-τρανσφερίνη-σελήνιο (ITS) είναι συχνά αναγκαίο για να επιτευχθεί η καλλιέργεια των κυττάρων [96]. Τέλος, τα αντιβιοτικά και τα αντιμυκητιασικά φάρμακα συνήθως προστίθενται για να αποφευχθούν οι βακτηριακές και μυκητιασικές μολύνσεις των ωτικών κατασκευών. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι πολλές μελέτες αναφέρουν ότι εκτός από τη σύνθεση του

μέσου χονδρογονικής διαφοροποίησης, η επιλογή της χρονικής στιγμής που θα γίνει η προσθήκη αυτών των παραγόντων είναι επίσης αποφασιστικής σημασίας για τη χονδρογένεση. Πολλές ερευνητικές ομάδες κατέδειξαν ότι η παροδική συμπλήρωση του Τροποποιητικού Αυξητικού Παράγοντα βήτα (TGFβ) ενισχύει τη χονδρογένεση και την ωρίμανση της ωτικής κατασκευής [97]. Παρόλο που έχουν αναφερθεί και άλλοι παράγοντες που βοηθούν στην χονδρογένεση, κανένας εξ αυτών δεν έχει τόσο ευρεία χρήση όσο ο Τροποποιητικός Αυξητικός Παράγοντας βήτα (TGFβ). Ο Ινσουλινοειδής Αυξητικός Παράγοντας – 1 (IGF-1) έχει ταυτοποιηθεί ως βασικός παράγοντας για την ελαστογένεση, όπως στη περίπτωση των πνευμονικών ινοβλαστών και των καρδιακών κυττάρων λείου μυός. Οι μελέτες που ανέλυσαν το χονδρογονικό δυναμικό του Ινσουλινοειδούς Αυξητικού Παράγοντα – 1 αναφέρουν ότι ο IGF-1 ενισχύει την εναπόθεση της εξωκυτταρικής μήτρας [98]. Τα καλλιεργημένα κύτταρα χωρίς την παρουσία αυξητικών παραγόντων παράγουν νέο χόνδρο που είναι επιρρεπής σε αποδόμηση, ασβεστοποίηση με αποτέλεσμα να είναι εύθραυστος. Στη συγκεκριμένη μελέτη, παρά το ότι η καλλιέργεια στο εργαστήριο (in vitro) συμπληρώθηκε με εξωγενή Τροποποιητικό Αυξητικό Παράγοντα βήτα για να προκληθεί χονδρογένεση, αυτό είναι δυσκολότερο σε ζώντες οργανισμούς (in vivo), καθώς τα ικρίωματα πρέπει να τροποποιηθούν έτσι ώστε να περιέχουν υψηλή συγκέντρωση του Τροποποιητικού Αυξητικού Παράγοντα βήτα για παρατεταμένη αποδέσμευση. [99]

Ο συνδυασμός του Τροποποιητικού Αυξητικού Παράγοντα βήτα (TGFβ) και της Μορφογενετικής Πρωτεΐνης Ιστών (BMP) κατέδειξαν ότι έχουν μοναδικά αποτελέσματα στην αναπαραγωγή και την χονδρογένεση των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων (MSC) και έχει επίσης αποδειχθεί ότι μειώνουν την υπερτροφία του χόνδρου. Σε αντίθεση με άλλες μακροχρόνιες μελέτες, οι ωτικές κατασκευές στους 6-36 μήνες στη συγκεκριμένη μελέτη δεν έδειξαν σημεία νέκρωσης, σχηματισμού ινώδους χόνδρου ή αποδόμηση στην περιφέρεια της ωτικής κατασκευής. Στη συγκεκριμένη μελέτη επιτεύχθηκε επίσης η διατήρηση των βιοχημικών και μηχανικών ιδιοτήτων του μητρικού χόνδρου ακόμα και μετά τη πάροδο 36 μηνών εμφύτευσης.

Η μεγάλη πρόκληση για την εξέλιξη της ιστομηχανικής τεχνολογίας του ωτός είναι η αναπαραγωγή υψηλής ποιότητας ελαστικού χόνδρου σε ανοσοσυμβατά πειραματόζωα. Οι ανοσολογικές αντιδράσεις στη περίπτωση ανοσοσυμβατού ξενιστή επηρεάζουν αρνητικά την χονδρογένεση. [100] Επί του παρόντος, τα καλύτερα συστήματα που

έχουν περιγραφεί για τη δημιουργία ωτικής κατασκευής έχουν επιτευχθεί σε κριώματα πολυμερών μετά από υποδόρια εμφύτευση σε ξενιστή, παρά το ότι η διατήρηση του σχήματος είναι συνήθως ανεπαρκής λόγω της αποδόμησης του κριώματος καθώς και πιθανών φλεγμονωδών αντιδράσεων, που οδηγούν στην απόρριψη της κατασκευής [101,102]. Προκειμένου μία λειτουργική ωτική κατασκευή να ενσωματωθεί στον ξενιστή, απαιτείται η ύπαρξη περιχόνδριου [103]. Χωρίς το περιχόνδριο, η ενσωμάτωση καθυστερεί σημαντικά, και οδηγεί σε ανεπάρκεια της κατασκευής και τελικά σε αποτυχία. Προκειμένου να δημιουργηθούν χόνδρινες κατασκευές ωτός, απαιτούνται περίπου εκατό εκατομμύρια κύτταρα [104].

Τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης διατριβής έδειξαν ότι η ύπαρξη ελαστίνης στις ωτικές χονδροκυτταρικές καλλιέργειες είναι μείζονος σημασίας για τον τομέα της ιστομηχανικής, καθώς αποτελεί παράγοντα διατήρησης της δομής των ιστομηχανικών ωτικών κατασκευών. Αυτό δείχνει ότι η παρουσία ελαστικών ινών στις ωτικές κατασκευές και η απουσία τροποελαστίνης καθώς και άλλων παραγόντων που εμπλέκονται στην ελαστογένεση, όπως η πρωτεΐνη δέσμησης ελαστίνης (EBP) και η λυσολο-οξειδάση (LOX), αποδεικνύει τη μακροχρόνια διατήρηση των ωτικών κατασκευών στη συγκεκριμένη μελέτη. Είναι σημαντικό να αναφέρουμε ότι αυτό το πρόβλημα φαίνεται να υπάρχει αποκλειστικά στις εργαστηριακές (in vitro) ιστομηχανικές κατασκευές, καθώς ομάδες που ανέπτυξαν ωτικές κατασκευές υποδόρια, παρατήρησαν την παρουσία λειτουργικών ελαστικών ινών [105]. Συνεπώς, είναι προφανές ότι στην ανάπτυξη (in vitro) του ωτικού χόνδρου στο εργαστήριο πρέπει να χρησιμοποιηθούν παράγοντες που ενισχύσουν τη δομική σταθερότητα των κατασκευών πριν την εμφύτευση τους σε ασθενείς.

Η ιστολογική, μικροσκοπική ανοσοϊστοχημική εξέταση και η εξέταση με μικροσκόπιο φθορισμού για την εξέταση βιωσιμότητας των κυττάρων έδειξαν ήπιας μορφής τοπική άσηπτη φλεγμονή σε όλα τα εξαχθέντα ωτικά πλαίσια και παρουσία των υλικών (άλας αλγινικού οξέος και μετάξι), που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή των ωτικών πλαισίων. Στην ανοσοϊστοχημική ανάλυση, οι κατασκευές έδειξαν να περιέχουν συστατικά του μητρικού χόνδρου, και του περιχόνδριου και επέδειξαν ένα σχετικά χαμηλό επίπεδο κολλαγόνου τύπου I σε όλο το εσωτερικό στρώμα του χόνδρου και υψηλά επίπεδα κολλαγόνου τύπου II σε όλο το περιχόνδριο. Τα επίπεδα του κολλαγόνου τύπου II ήταν υψηλά σε όλες τις κατασκευές, όμοια με αυτά του μητρικού ιστού.

Πριν την εμφύτευση, οι ωτικές κατασκευές ήταν αρκετά ανθεκτικές, περισσότερο άκαμπτες σε σχέση με τον μητρικό ιστό με αποτέλεσμα να υπάρχει μεγάλη πιθανότητα να καταστραφούν εάν εκτίθεντο σε μεγάλο φορτίο. Θα πρέπει να τονισθεί ότι οι εμφυτεύσεις σε πειραματόζωα και η έκθεση των ωτικών κατασκευών διαφέρουν σε σχέση με την εμφύτευση στον ανθρώπινο οργανισμό. Προκαλεί επίσης ενδιαφέρον το γεγονός ότι γύρω από το σχηματισμένο χόνδρο, η ωτική κατασκευή παρουσιάζει ινώδες περιχόνδριο, το οποίο είναι εμπλουτισμένο με κολλαγόνο τύπου I, όπως ακριβώς και στο μητρικό ιστό.

Σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες, υπάρχουν περιορισμοί στη χρήση χονδροκυττάρων στην ιστομηχανική του ωτικού χόνδρου. Η ομάδα Erickson et al. προσφάτως έδειξε ότι ο σχηματισμός χόνδρου με καλλιέργεια εξαρτάται από την ηλικία του χονδροκυτταρικού δότη [106], περιορίζοντας τη χρήση χονδροκυττάρων από μεγαλύτερο ηλικιακά ασθενή. Η υπερτροφία του χόνδρου συνδέεται στενά με τις αλληλεπιδράσεις της κυτταρικής μήτρας και με τη κατάλληλη επιλογή των βιοϋλικών, μπορεί να σταθεροποιηθεί ο χονδροκυτταρικός φαινότυπος των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων [107]. Είναι αναγκαία η κατανόηση των ιδιοτήτων των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων, έτσι ώστε να επιτευχθεί υψηλό επίπεδο μηχανικής αντοχής του ωτικού χόνδρου και να μειωθεί η πιθανότητα αλλοίωσης του ιστού. Η καλλιέργεια των χονδροκυττάρων εμπεριέχει αλλαγές στην ενδοκυτταρική και την εξωκυτταρική δομή του ιστού, και έχει αποδειχθεί στερεομετρικά ότι η ωσμωτική διόγκωση των κυττάρων είναι υπεύθυνη για τις περισσότερες περιπτώσεις αύξησης του κυτταρικού όγκου. Η διόγκωση μπορεί να είναι αποτέλεσμα είτε αύξησης στην κυτταροπλάσματική ή μείωσης στην εξωκυτταρική συγκέντρωση του νερού [109]. Η χονδροκυτταρική υπερτροφική ανάπτυξη είναι μια διαδικασία που έχει ως αποτέλεσμα την ασβεστοποίηση του χόνδρου της εξωκυτταρικής μήτρας και περιλαμβάνει τρία στάδια: (1) το σχηματισμό κρυστάλλων υδραξιαπατίτη, (2) Οι κρύσταλλοι υδραξιαπατίτη διαπερνούν την εξωκυτταρική μήτρα και (3) το τελικό αποτέλεσμα είναι η ενδοχόνδρική οστεοποίηση, όπου συντελείται αποδόμηση της ασβεστοποιημένης μήτρας, και αγγειακή διήθηση μέσω του Αγγειακού Ενδοθηλιακού Αύξητικού Παράγοντα (VEGF) της ασβεστοποιημένης ζώνης.

Τα αποτελέσματα αυτής της διατριβής έδειξαν ότι οι ιστομηχανικές ωτικές κατασκευές διατήρησαν σε μεγάλο βαθμό την μορφολογική οντοτητά τους, ανέπτυξαν μικροδομή χόνδρου και διατήρησαν ή βελτίωσαν τις βιοχημικές και τις μηχανικές

ιδιότητες τους. Μετά από 36 μήνες σε ζώντες οργανισμούς, οι ωτικές κατασκευές παρουσίασαν δομική οργάνωση και ιδιότητες παρόμοιες με αυτές του μητρικού ωτικού ιστού. Για ένα εμφύτευμα αποκατάστασης, όπως αυτό του ωτός, από μηχανικό ιστό, είναι μείζονος σημασίας το σχήμα της κατασκευής να παραμείνει σταθερό για μακρά περίοδο στον ζώντα οργανισμό (in vivo) και να μην επέλθει αποδόμηση ή φλεγμονή. Επίσης, πρέπει να παρακολουθείται συνεχώς η ανάπτυξη και η διατήρηση των βασικών ιδιοτήτων του ωτικού χόνδρου καθόλη τη διάρκεια της μελέτης. Οι ωτικές κατασκευές διατήρησαν το σχήμα και τη δομή στους 6-36 μήνες, καθώς και τα εξατομικευμένα ωτικά εξωτερικά χαρακτηριστικά μετά από μακρόχρονη εμφύτευση.

Οι μηχανικές ιδιότητες του ωτικού χόνδρου είναι σημαντικές γιατί η απόκριση του ωτικού χόνδρου σε εξωτερική πίεση επηρεάζεται από δύο μηχανισμούς: τη δυναμική του βιοϋλικού που χρησιμοποιείται και την αρχιτεκτονική δομή του ικριώματος.[110] Η κατανομή και η μηχανική λειτουργία των ινών ελαστικής είναι μοναδικές για τον χόνδρο του ωτός.[111] Η συνεισφορά των ελαστικών ινών στην ευελιξία-ελαστικότητα του ωτικού πλαισίου καθιστά απαραίτητο ότι κατά το χρόνο εμφύτευσης της ωτικής κατασκευής έχουν σχηματιστεί επαρκώς. [112] Ο Brit και ο Roy ανέφεραν ότι η ευελιξία-ελαστικότητα του ωτικού πλαισίου και η μηχανική απόκρισή του σε εξωτερική πίεση μετρήθηκαν με την εφαρμογή περιοδικής άυξης φορτίου σε πολλαπλά σημεία του ωτικού χόνδρου με τη χρήση μηχανικού φασματόμετρου. [113-114] Παρά το γεγονός ότι οι μετρήσεις τους έγιναν σε πολλαπλά σημεία της ωτικής κατασκευής παρατήρησαν ότι η μηχανική απόκριση σε εξωτερική πίεση δεν ήταν πάντα σταθερή στις επαναλαμβανόμενες μετρήσεις. Για να δοκιμασθεί η ευελιξία-ελαστικότητα του ωτικού πλαισίου και η μηχανική απόκρισή του σε εξωτερική πίεση στη συγκεκριμένη μελέτη, επιλέξαμε να χρησιμοποιηθεί ειδική πλατφόρμα ακριβείας για μηχανικές δοκιμές (Μοντέλο ELF 3200 της Bose Corporation). Η μηχανική απόκριση των ωτικών πλαισίων μετρήθηκε πριν από την εμφύτευσή τους και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους. Ο βαθμός ελαστικότητας (Young's modulus) των ωτικών κατασκευών μετά την εξαγωγή τους ήταν παρόμοια με τον βαθμό ελαστικότητας (Young's modulus) του ανθρώπινου ωτός. Οι μετρήσεις έγιναν σε πολλαπλά σημεία των ωτικών κατασκευών και η μηχανική απόκριση σε εξωτερική πίεση ήταν πάντα σταθερή στις επαναλαμβανόμενες μετρήσεις.

Η παρούσα διατριβή αποτελεί διεθνώς την πρώτη προσπάθεια δημιουργίας ωτικού μοσχεύματος μετά από λήψη αυτόλογου ιστού από περιχόνδριο και χόνδρο, τα οποία

καλλιεργήθηκαν και εναποτέθηκαν σε ειδικό ικρίωμα κατασκευασμένο από άλας αλγινικού οξέος, κυττοσύνη, υαλουρονικό οξύ και μετάξι, σε σχήμα ανθρωπίνου ωτός. Για πρώτη φορά επιτεύχθηκε η δημιουργία ψηφιακού τρισδιάστατου αντιγράφου του φυσιολογικού ωτός με τη χρήση λογισμικού, όπως το Cyberware Rapid 3D Digitizer (3030 Digitizer, Monterey, CA) και η τρισδιάστατη εκτύπωση ενός βιοσυμβατού καλουπιού, που ακολούθως χρησιμοποιήθηκε για την δημιουργία της ωτικής κατασκευής. Σημαντικό επίσης επίτευγμα αποτελεί η δημιουργία αυτόλογου ωτικού μοσχεύματος και η επιτυχής μεταμοσχευσή του σε μη ανοσκατασταλμένο πειραματόζωο. Τα ευρήματα της συγκεκριμένης μελέτης θα μπορούσαν να αποτελέσουν μια καινούργια μέθοδο αποκατάστασης ωτικών δυσμορφιών στον άνθρωπο.

Υπάρχουν περιορισμοί στο σχεδιασμό της συγκεκριμένης μελέτης. Παρά το γεγονός ότι πρόκειται για μία από τις μεγαλύτερες και πιο μακρόχρονες μελέτες έως σήμερα για την κατασκευή του ωτικού χόνδρου, υπάρχουν θεμελιώδη επιστημονικά ερωτήματα που πρέπει να απαντηθούν, ώστε να επιτευχθεί η μακρόχρονη βιωσιμότητα, και σταθερότητα των συγκεκριμένων κατασκευών. Στη συγκεκριμένη διατριβή χρησιμοποιήθηκε το ούς ως παράδειγμα για να εξηγήσουμε πως ο συνδυασμός της αναγεννητικής ιατρικής με την τρισδιάστατη βιο-εκτύπωση έχει τη δυνατότητα να δημιουργήσει ιστομηχανικές κατασκευές, που μπορεί να αντικαταστήσει τη κλασσική μέθοδο επανόρθωσης συγγενών και επίκτητων ανωμαλιών, απεικονίζοντας την αλλαγή νοοτροπίας στην επανορθωτική χειρουργική. Όμως, είναι σημαντικό να αναγνωρισθεί ότι, για την επιτυχή εφαρμογή της προτεινόμενης μεθόδου προκειμένου να αποτελέσει μία διαδοδομένη εναλλακτική στην αυτόλογη αποκατάσταση ιστού στον ανθρώπινο οργανισμό, υπάρχουν ακόμη αρκετά εμπόδια που πρέπει να αντιμετωπιστούν, που αφορούν το κόστος και τη μακροχρόνια βιωσιμότητα του μοσχεύματος.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΕΙΣ

A. Συμπεράσματα

1. Κατασκευάστηκε τρισδιάστατη κυτταρική καλλιέργεια σε σχήμα ωτικού ικριώματος, από ινοΐνη μεταξιού – άλας αλγινικού οξέος – υαλουρονικό οξύ και κυττοσύνη σε συνδυασμό με περιχονδροκυτταρική και χονδροκυτταρική μονοστρωματική καλλιέργεια.
2. Όλες οι κατασκευές των ωτικών ικριωμάτων διατήρησαν σε μεγάλο βαθμό το αρχικό ωτικό σχήμα και εμφυτεύθηκαν σε δεκαοκτώ ενήλικα λευκά κουνέλια Νέας Ζηλανδίας .
3. Οι ωτικές κατασκευές αφαιρέθηκαν για να μελετηθούν έπειτα από 1 έως 36 μήνες από την εμφύτευση. Τα μεγέθη των ωτικών κατασκευών δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές κατά την εξαγωγή τους.
4. Η κατασκευή το ωτικού αυτού ικριώματος είχε ως αποτέλεσμα την επιτυχημένη δημιουργία ωτικής κατασκευής με επαρκή μηχανική αντοχή και βιοσυμβατότητα όταν συγκρίνεται με το ανθρώπινο ουσ.
5. Τα ιστομηχανικά ώτα που δημιουργήθηκαν σε αυτή την μελέτη προσφέρουν μία δυνητικά ανώτερη κλινική επιλογή στις τρέχουσες αυτόλογες και αλλοπλαστικές διαδικασίες ωτικής αποκατάστασης.

B. Μελλοντικές κατευθύνσεις

1. Η επιτυχής μεταγραφή της ιστομηχανικής, σε οποιοδήποτε τύπο αποκατάστασης, απαιτεί σημαντική υποδομή και αναβαθμισμένη τεχνολογία.
2. Η πιο βιώσιμη εμπορικά και η πιο διαδεδομένη χρήση είναι πιθανόν ότι θα προέλθει από προκατασκευασμένα ιστομηχανικά προϊόντα.
3. Υπάρχει μελλοντικά η δυνατότητα, η μικρομάζα που παράγεται από ωτικές κατασκευές χωρίς ικρίωμα, να μπορεί να εμφυτευτεί και να ολοκληρώσει τη διαδικασία ωρίμανσής της, καθώς και να υποστεί ελαστογένεση και αγγείωση, ώστε να δημιουργήσει επιτυχώς μία ωτική κατασκευή για τον κάθε ασθενή.

4. Οι βελτιώσεις στις τεχνικές της καλλιέργειας και διαφοροποίησης των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων μπορεί να αυξήσει τον αριθμό των αυτόλογων κυττάρων στο μέλλον.
5. Η εξατομίκευση της κλινικής εφαρμογής, και η εμπορευματοποίηση, συνεπάγονται ουσιαστικό χρόνο και κόστος και είναι σημαντικό για τους κλινικούς ιατρούς να αποκτήσουν γνώση και εμπειρία στο τομέα της αναγεννητικής ιατρικής.
6. Οι μελλοντικές έρευνες θα πρέπει να εστιάσουν στη παραγωγή εξατομικευμένων ωτικών κατασκευών με τη χρήση βιοϋλικών και μεθόδων που θα καθιστούν τη παραγωγή τους εύκολη, γρήγορη και οικονομικά συμφέρουσα.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η ολική αποκατάσταση του έξω ωτός με αυτόλογο χόνδρο παραμένει ένα εκ των δυσκολότερων προβλημάτων στον τομέα της πλαστικής και επανορθωτικής χειρουργικής. Τα κρίσιμα θέματα για την ιστομηχανική του ωτός περιλαμβάνουν την αναζήτηση κατάλληλης κυτταρικής καλλιέργειας, την επιλογή των σωστών πολυμερών, την καλλιέργεια των χονδροκυττάρων, τη μελέτη των ωτικών πλαισίων σε αποδεκτό ανοσοσυμβατό ζωϊκό μοντέλο («πραγματικό μοντέλο δοκιμής»), καθώς και τη μακρόχρονη διατήρηση του ωτικού πλαισίου. Επί του παρόντος, σε ασθενείς με δυσμορφία του περυγίου του ωτός χρησιμοποιούνται μοσχεύματα υάλινου χόνδρου ή επιλέγεται προσθετική με χρήση σιλικόνης για την αποκατάσταση του έξω ωτός. Αρκετές μέθοδοι μηχανικής ωτικού χόνδρου χρησιμοποιούν τεχνικές ιστομηχανικής. Παρά ταύτα, δεν έχει αναφερθεί κάποια ιδανική μέθοδος ιστομηχανικής του ωτικού χόνδρου μέχρι σήμερα.

Ο σκοπός αυτής της διατριβής είναι η χρήση της τρισδιάστατης κυτταρικής εκτύπωσης για τη κατασκευή ενός ιστομηχανικού ωτικού μοσχεύματος και η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων μετά την εμφύτευσή τους σε ανοσοσυμβατό ζωϊκό μοντέλο.

Υλικό και μέθοδοι: Η συγκεκριμένη μελέτη επικεντρώθηκε α. στην κατασκευή μιας τρισδιάστατης κυτταρικής καλλιέργειας σε σχήμα ωτικού ικρίωματος, από ινοΐνη μεταξιού – άλας αλγινικού οξέος – υαλουρονικό οξύ και κυττοσύνη σε συνδυασμό με περιχονδροκυτταρική και χονδροκυτταρική μονοστρωματική καλλιέργεια, β. στη διατήρηση της τρισδιάστατης αυτής κατασκευής με συνθετικά υλικά και γ. στη μελέτη των βραχυχρονίων και μακροχρονίων αποτελεσμάτων, μετά την εμφύτευσή τους σε δεκαοκτώ ενήλικα μη ανοσοκατασταλμένα λευκά κουνέλια Νέας Ζηλανδίας. Προκειμένου να δημιουργηθεί το ωτικό ικρίωμα σε σχήμα και μέγεθος ώστε να προσομοιάζει με ένα φυσιολογικό ούς, κατασκευάστηκε μια σειρά από αρνητικά καλούπια σύμφωνα με τα στοιχεία που συλλέχθηκαν από ένα φυσιολογικό ούς. Για όλα τα πειραματόζωα εφαρμόστηκαν οι καθευθυντήριες οδηγίες για την προστασία των ζώων που χρησιμοποιούνται για επιστημονικούς σκοπούς. Σε όλα τα εξαχθέντα ωτικά πλαίσια έγιναν ιστολογικές, ανοσοϊστοχημικές, οπτικές αναλύσεις και εξέταση της ευελιξίας-ελαστικότητας των ωτικών κατασκευών.

Αποτελέσματα: Όλες οι κατασκευές των ωτικών ικριωμάτων διατήρησαν σε μεγάλο βαθμό το αρχικό ωτικό σχήμα και εμφυτεύθηκαν σε δεκαοκτώ ενήλικα λευκά κουνέλια Νέας Ζηλανδίας. Οι ωτικές κατασκευές αφαιρέθηκαν για να μελετηθούν έπειτα από 1 έως 36 μήνες από την εμφύτευση. Η συγκεκριμένη κατασκευή ωτικού ικριώματος σε συνδυασμό με περιχονδροκυτταρική και χονδροκυτταρική μονοστρωματική καλλιέργεια είχε ως αποτέλεσμα την επιτυχημένη δημιουργία ωτικής κατασκευής με επαρκή μηχανική αντοχή και βιοσυμβατότητα όταν συγκρίνεται με το ανθρώπινου ουσ.

Τα μεγέθη των ωτικών κατασκευών δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές κατά την εξαγωγή τους. Κατά τη διαδικασία εμφύτευσης των ωτικών πλαισίων τα μήκη εκυμαίνοντο από 6.32 έως 6.41 εκ. και τα πλάτη από 2.65 έως 2.93 εκ. Κατά τη διαδικασία εξαγωγής των ωτικών πλαισίων το μήκος εκυμαίνεται από 5.24 έως 5.70 εκ. και το πλάτος από 2.14 έως 2.66 εκ. Όταν όλες οι εξαχθείσες ωτικές κατασκευές συγκρίθηκαν με τα εμφυτευμένα ώτα, διαπιστώθηκε ότι υπήρχε συρρίκνωση κατά 12-19% σε σχέση με το μήκος του προ-εμφυτευμένου αυτιού, ενώ το πλάτος συρρικνώθηκε κατά 10-23% σε σχέση με το αρχικό πλάτος.

Συμπέρασμα: Η κατασκευή του ωτικού ικριώματος σε συνδυασμό με περιχονδροκυτταρική και χονδροκυτταρική μονοστρωματική καλλιέργεια είχε ως αποτέλεσμα την επιτυχημένη κατασκευή ωτικού πτερυγίου με επαρκή μηχανική αντοχή και διατήρηση του μεγέθους. Η ιστομηχανική του ωτός προσφέρει τη δυνατότητα δημιουργίας αυτολόγου χόνδρου σε προκαθορισμένο με ακρίβεια σχήμα λόγω των εξελίξεων στην τρισδιάστατη εκτύπωση, τη χρήση νανοϊνών και τη χρήση βλαστοκυττάρων. Η επιτυχής πραγματοποίηση μιας κλινικής μελέτης, όπως η συγκεκριμένη που έγινε σε αποδεκτό ανοσοσυμβατό ζωϊκό μοντέλο («πραγματικό μοντέλο δοκιμής»), θα αποτελέσει μία ελπιδοφόρα προοπτική για τη μελλοντική κλινική εφαρμογή της ιστομηχανικής στην αποκατάσταση του ωτός σε ανθρώπους.

ABSTRACT

Introduction: Total restoration of the external ear with autologous cartilage remains one of the most difficult challenges in the field of plastic and reconstructive surgery. Major issues for the auricular tissue engineering include the search for the appropriate cell culture, selection of the right polymers, chondrocyte culture, the study of the ear scaffolds in an immune-compatible animal model ("real test model"), as well as the long-term maintenance of the auricular framework. Currently, patients with auricular deformities have to undergo hyaline cartilage transplantation or have to use silicone prostheses in order to restore their external ear. Several methods of mechanical rat cartilage use tissue engineering techniques. However, no ideal method of cartilage tissue engineering has been reported to date.

The purpose of this thesis is to use the 3D cellular printing for the construction of a tissue engineered ear scaffold and the evaluation of post-implantation results in a non-immunosuppressed animal model.

Material and Methods: This study focused on a. in the construction of a three-dimensional cell culture in the form of an ear scaffold, of silk fibroin - alginate - hyaluronic acid and cytosine in combination with perichondrocyte and chondrocytic monolayer culture; b. to maintain this three-dimensional construction with synthetic materials and c. to study the short-term and long-term effects after implantation in eighteen adult non-immunosuppressed white New Zealand rabbits. In order to create the ear scaffold in shape and size to resemble a normal ear, a series of negative molds was constructed according to the data collected from a normal auricle. The animal guidelines for scientific purposes have been followed for the protection of the lab rabbits. All the explanted ear frameworks were sent for histological, immunohistochemical, visual analyzes and examination of their flexibility-elasticity properties.

Results: All the ear scaffolds retained their original auricular shape and were implanted in the eighteen adult white New Zealand rabbits. Ear constructs were explanted to be analyzed after 1 to 36 months of implantation. This specific ear scaffold in combination with perichondrocyte and chondrocytic monolayer culture resulted in the successful

creation of an ear construct with adequate mechanical strength and biocompatibility when compared to the human ear.

The sizes of the explanted ear scaffolds did not show any significant size differences when compared with the preimplanted data. At the implantation procedure of the ear scaffolds their lengths ranged from 6.32 to 6.41 cm and their widths from 2.65 to 2.93 cm. At the explantation process of the ear scaffolds their length ranged from 5.24 to 5.70 cm and their width from 2.14 to 2.66 cm. When all explanted ear scaffolds were compared with the implanted scaffolds, it was found that there was a 12-19% length loss of the pre-implanted ear, while their width was shrunk by 10-23% relative to the original width.

Conclusion: The construction of the ear scaffold in combination with perichondrocyte and chondrocytic monolayer cultures resulted in the successful construction of an ear scaffold with sufficient mechanical strength and size maintenance. The auricular tissue engineering offers the possibility of creating autologous cartilage in a precisely predetermined shape due to the developments in the three-dimensional printing, the use of biomaterials and the use of stem cells. The successful completion of a clinical study, in a non-immunosuppressed animal model ("real test model") such the one presented in this thesis, provides a promising perspective for the future clinical application of tissue engineering for the restoration of auricle defects in humans.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Sterodimas A, de Faria J, Correa WE, Pitanguy I. Tissue engineering and auricular reconstruction: a review. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg.* 2009;62(4):447-452.
2. Renner G, Lane RV. Auricular reconstruction: an update. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2004;12(4):277-280.
3. Xue J., Feng B., Zheng R., Lu Y., Zhou G., Liu W., Cao Y., Zhang Y., Zhang W.J. Engineering ear-shaped cartilage using electrospun fibrous membranes of gelatin/polycaprolactone. *Biomaterials.* 2013;34:2624–2631
4. Brent B. Technical advances in ear reconstruction with autogenous rib cartilage grafts: personal experience with 1200 cases. *Plast Reconstr Surg.* 1999 Aug;104(2):319-34; discussion 335-8.
5. TANZER RC. Total reconstruction of the external ear. *Plast Reconstr Surg Transplant Bull.* 1959 Jan;23(1):1-15.
6. Nagata S. A new method of total reconstruction of the auricle for microtia. *Plast Reconstr Surg.* 1993 Aug;92(2):187-201.
7. Nimeskern L., Utomo L., Lehtoviita I., Fessel G., Snedeker J.G., van Osch G.J., Muller R., Stok K.S. Tissue composition regulates distinct viscoelastic responses in auricular and articular cartilage. *J. Biomech.* 2016;49:344–352.
8. Sterodimas A, de Faria J. Human auricular tissue engineering in an immunocompetent animal model. *Aesthet Surg J.* 2013 Feb;33(2):283-9.
9. Tanzer RC. Total reconstruction of the auricle: the evolution of a plan of treatment. *Plast Reconstr Surg.* 1971;47:523.
10. Tanzer RC. Microtia: a long-term follow-up of 44 reconstructed auricles. *Plast Reconstr Surg.* 1978;61:161.
11. Brent B. The correction of microtia with autogenous cartilage grafts I: the classic deformity. *Plast Reconstr Surg.* 1980;66:1.
12. Park C, Lee TJ, Shin KS, et al. A single-stage two-flap method of total ear reconstruction. *Plast Reconstr Surg.* 1991;88:404.
13. Nagata S. Modification of the stages in total reconstruction of the auricle: part III. Grafting the three-dimensional costal cartilage framework for small concha-type microtia. *Plast Reconstr Surg.* 1994;93:243

14. Firmin F. Ear reconstruction in cases of typical micro-tia: personal experience based on 352 microtic ear corrections. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.* 1998;32:35.
15. Luquetti DV, Leoncini E, Mastroiacovo P. Microtia-anotia: a global review of prevalence rates. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2011;91:813–22.
16. Fukuda O, Yamada A. Reconstruction of the microtic ear with autogenous cartilage. *Clin Plast Surg.* 1978;5(3):351–66
17. Park G, Wiseman JB, Clark W. Correction of congenital microtia using stereolithography for surgical planning. *Plastic Reconstr Surg.* 2000;105(4):1444–7.
18. Chen ZC, Chen PK, Hung KF, Lo LJ, Chen YR. Microtia reconstruction with adjuvant 3-dimensional template model. *Ann Plast Surg.* 2004;53(3):282–7.
19. Hiroki M, Tanaka K, Umeda T, Hata Y. Ear reconstruction in elderly patients: a two-part helix method in a framework. *Br J Plast Surg.* 2002;55(7):589–91.////Berghaus A, Toplak F. Surgical concepts for reconstruction of the auricle. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1986;112:388–97.
20. Fischer H, Gubisch W, Sinha V. Auricular reconstruction—our experience at marienhospital stuttgart, Germany. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg.* 2010;62(2):162–7.
21. Ohara K, Nakamura K, Ohta E. Chest wall deformities and thoracic scoliosis after cartilage graft harvesting. *Plast Reconstr Surg.* 1997;99:1030–6.
22. Wallace CG, Mao HY, Wang CJ, Chen YA, Chen PK, Chen ZC. Three-dimensional computed tomography reveals different donor-site deformities in adult and growing microtia patients despite total subperichondrial costal cartilage harvest and donor-site reconstruction. *Plast Reconstr Surg.* 2014;133(3):640.
23. Walton RL, Beahm EK. Auricular reconstruction for microtia: Part II. Surgical techniques. *Plast Reconstr Surg.* 2002;110:234–49
24. Romo T, Presti PM, Yalamanchili HR Medpor alternative for microtia repair. *Facial Plast Surg Clin North Am.* 2006 May;14(2):129-36, vi.
25. Cronin T D. Use of a silastic frame for total and subtotal reconstruction of the external ear: preliminary report. *Plast Reconstr Surg.* 1966;37(05):399–405.
26. Wellisz T. Reconstruction of the burned external ear using a Medpor porous polyethylene pivoting helix framework. *Plast Reconstr Surg.* 1993;91(5):811–8.

27. Reinisch JF, Lewin S. Ear reconstruction using a porous polyethylene framework and temporoparietal fascia flap. *Facial Plast Surg.* 2009;25(3):181–9
28. Shieh SJ, Terada S, Vacanti JP. Tissue engineering auricular reconstruction: in vitro and in vivo studies. *Biomaterials.* 2004;25:1545–57
29. Berghaus A, Stelter K, Naumann A, Hempel J M. Ear reconstruction with porous polyethylene implants. *Adv Otorhinolaryngol.* 2010;68:53–64
30. Thorne C H. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2014. Ear reconstruction; pp. 283–295
31. Sterodimas A, de Faria J, Nicaretta B, Pitanguy I. Tissue engineering with adipose-derived stem cells (ADSCs): current and future applications. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2010 Nov;63(11):1886-92
32. Ciorba A, Martini A. Tissue engineering and cartilage regeneration for auricular reconstruction. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2006 Sep;70(9):1507-15.
33. Park C1, Yoo YS, Hong ST. An update on auricular reconstruction: three major auricular malformations of microtia, prominent ear and cryptotia. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2010 Dec;18(6):544-9.
34. Green WT Jr, Dickens DR. Culture model for investigation of cartilage matrix formation. *Surg Forum.* 1972;23(0):453-5.
35. Cao Y, Vacanti JP, Paige KT, Upton J, Vacanti CA. Transplantation of chondrocytes utilizing a polymer-cell construct to produce tissue-engineered cartilage in the shape of a human ear. *Plast Reconstr Surg.* 1997;100:297–302.
36. Haisch A, Kläring S, Gröger A, Gebert C, Sittinger M. A tissue-engineering model for the manufacture of auricular-shaped cartilage implants. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2002 Jul;259(6):316-21
37. Isogai N1, Asamura S, Higashi T, Ikada Y, Morita S, Hillyer J, Jacquet R, Landis WJ. Tissue engineering of an auricular cartilage model utilizing cultured chondrocyte-poly(L-lactide-epsilon-caprolactone) scaffolds. *Tissue Eng.* 2004 May-Jun;10(5-6):673-87.
38. Kamil SH, Vacanti MP, Aminuddin BS, Jackson MJ, Vacanti CA, Eavey RD. Tissue engineering of a human sized and shaped auricle using a mold. *Laryngoscope.* 2004 May;114(5):867-70.
39. Neumeister MW1, Wu T, Chambers C. Vascularized tissue-engineered ears. *Plast Reconstr Surg.* 2006 Jan;117(1):116-22.

40. Shieh SJ, Terada S, Vacanti JP. Tissue engineering auricular reconstruction: in vitro and in vivo studies. *Biomaterials*. 2004 Apr;25(9):1545-57.
41. Reighard CL, Hollister SJ, Zopf DA. Auricular reconstruction from rib to 3D printing. *J 3D Print Med*. 2018 Jan;2(1):35-41.
42. Schroeder MJ, Lloyd MS. Tissue Engineering Strategies for Auricular Reconstruction. *J Craniofac Surg*. 2017 Nov;28(8):2007-2011
43. Melgarejo-Ramírez Y, Sánchez-Sánchez R, García-López J, Brena-Molina AM, Gutiérrez-Gómez C, Ibarra C, Velasquillo C. Characterization of pediatric microtia cartilage: a reservoir of chondrocytes for auricular reconstruction using tissue engineering strategies. *Cell Tissue Bank*. 2016 Sep;17(3):481-9.
44. Ma HL, Hung SC, Lin SY, Chen YL, Lo WH. Chondrogenesis of human mesenchymal stem cells encapsulated in alginate beads. *J Biomed Mater Res A*. 2003;64:273–81.
45. Li WJ, Tuli R, Huang X, Laquerriere P, Tuan RS. Multilineage differentiation of human mesenchymal stem cells in a three-dimensional nanofibrous scaffold. *Biomaterials*. 2005;26:5158–66.
46. Betre H, Ong SR, Guilak F, Chilkoti A, Fermor B, Setton LA. Chondrocytic differentiation of human adipose-derived adult stem cells in elastin-like polypeptide. *Biomaterials*. 2006;27:91–9.
47. Xu JW, Zaporozhan V, Peretti GM, Roses RE, Morse KB, Roy AK, et al. Injectable tissue-engineered cartilage with different chondrocyte sources. *Plast Reconstr Surg*. 2004;113:1361–71.
48. Duisit J, Amiel H, Wüthrich T, Taddeo A, Dedriche A, Destoop V, Pardoën T, Bouzin C, Joris V, Magee D, Vögelin E, Harriman D, Dessy C, Orlando G, Behets C, Rieben R, Gianello P, Lengelé B. Perfusion-decellularization of human ear grafts enables ECM-based scaffolds for auricular vascularized composite tissue engineering. *Acta Biomater*. 2018 Jun;73:339-354.
49. Thompson H1, Tucker AS. Dual origin of the epithelium of the mammalian middle ear. *Science*. 2013 Mar 22;339(6126):1453-6
50. Paxton CN1, Bleyl SB, Chapman SC, Schoenwolf GC. Identification of differentially expressed genes in early inner ear development. *Gene Expr Patterns*. 2010 Jan;10(1):31-43

51. Li Q, Zhou X, Wang Y, Qian J, Zhang Q. Auricular reconstruction of congenital microtia by using the modified Nagata method: Personal 10-Year experience with 1350 cases. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2018 Jun 19.
52. Hunter A, Frias JL, Gillessen-Kaesbach G, Hughes H, Jones KL, Wilson L. Elements of morphology: standard terminology for the ear. *Am J Med Genet A*. 2009 Jan;149A(1):40-60
53. Baluch N, Nagata S, Park C, Wilkes GH, Reinisch J, Kasrai L, Fisher D. Auricular reconstruction for microtia: A review of available methods. *Plast Surg (Oakv)*. 2014 Spring;22(1):39-43
54. Savoia P. Nature or Artifice? Grafting in Early Modern Surgery and Agronomy. *J Hist Med Allied Sci*. 2017 Jan 1;72(1):67-86
55. Schmieden V: Der Plastische Einsatz von traumatischen Defekten der Ohrmuschel. *Berl Klin Wschr* 1908;31:1433-1435
56. Bardsley AF, Mercer DM. The injured ear: a review of 50 cases. *Br J Plast Surg*. 1983 Oct;36(4):466-9.
57. Brent B. Microtia repair with rib cartilage grafts: a review of personal experience with 1000 cases. *Clin Plast Surg*. 2002 Apr;29(2):257-71, vii.
58. Balaji SM Two stage ear/microtia reconstruction using costal cartilage. *Ann Maxillofac Surg*. 2015 Jul-Dec;5(2):163-7.
59. Firmin F, Marchac A. A novel algorithm for autologous ear reconstruction *Semin Plast Surg*. 2011 Nov;25(4):257-64
60. Ali K, Trost JG, Truong TA, Harshbarger RJ 3rd., Total Ear Reconstruction Using Porous Polyethylene. *Semin Plast Surg*. 2017 Aug;31(3):161-172.
61. Federspil PA. Auricular Prosthesis in Microtia. *Facial Plast Surg Clin North Am*. 2018 Feb;26(1):97-104
62. Gumieiro EH1, Dib LL, Jahn RS, Santos Junior JF, Nannmark U, Granström G, Abrahão M. Bone-anchored titanium implants for auricular rehabilitation: case report and review of literature. *Sao Paulo Med J*. 2009;127(3):160-5.
63. Sart S, Schneider YJ, Agathos SN. Ear mesenchymal stem cells: an efficient adult multipotent cell population fit for rapid and scalable expansion. *J Biotechnol*. 2009 Feb 23;139(4):291-9. doi: 10.1016/j.jbiotec.2008.12.011. Epub 2008 Dec 25.

64. L. S. Baptista, Sterodimas A. Fibroin-Based Material from Natural Silk Can Be Associated with Alginate and Mesenchymal Progenitor Cells", *Key Engineering Materials*, Vols. 396-398, pp. 437-440, 2009
65. Giardini-Rosa R, Joazeiro PP, Thomas K, Collavino K, Weber J, Waldman SD. Development of scaffold-free elastic cartilaginous constructs with structural similarities to auricular cartilage. *Tissue Eng Part A*. 2014 Mar;20(5-6):1012-26.
66. von Burkersroda F1, Schedl L, Göpferich A. Why degradable polymers undergo surface erosion or bulk erosion. *Biomaterials*. 2002 Nov;23(21):4221-31.
67. Reiffel AJ1, Kafka C, Hernandez KA, Popa S, Perez JL, Zhou S, Pramanik S, Brown BN, Ryu WS, Bonassar LJ, Spector JA High-fidelity tissue engineering of patient-specific auricles for reconstruction of pediatric microtia and other auricular deformities. *PLoS One*. 2013;8(2):e56506
68. Yanaga H, Imai K, Fujimoto T, Yanaga K. Generating ears from cultured autologous auricular chondrocytes by using two-stage implantation in treatment of microtia. *Plast Reconstr Surg*. 2009 Sep;124(3):817-25.
69. Yanaga H, Imai K, Koga M, Yanaga K. Cell-engineered human elastic chondrocytes regenerate natural scaffold in vitro and neocartilage with neoperichondrium in the human body post-transplantation. *Tissue Eng Part A*. 2012 Oct;18(19-20):2020-9.
70. Gong Y.Y., Xue J.X., Zhang W.J., Zhou G.D., Liu W., Cao Y. A sandwich model for engineering cartilage with acellular cartilage sheets and chondrocytes. *Biomaterials*. 2011;32:2265–2273.
71. Mannoor M.S., Jiang Z., James T., Kong Y.L., Malatesta K.A., Soboyejo W.O., Verma N., Gracias D.H., McAlpine M.C. 3D printed bionic ears. *NANO Lett*. 2013;13:2634–2639.
72. Camarero-Espinosa S., Rothen-Rutishauser B., Weder C., Foster E.J. Directed cell growth in multi-zonal scaffolds for cartilage tissue engineering. *Biomaterials*. 2016;74:42–52.
73. Park H, Choi B, Hu J, Lee M. Injectable chitosan hyaluronic acid hydrogels for cartilage tissue engineering. *Acta Biomater*. 2013 Jan;9(1):4779-86.
74. Keller B, Yang T, Chen Y, Munivez E, Bertin T, Zabel B, Lee B. Interaction of TGF β and BMP signaling pathways during chondrogenesis. *PLoS One*. 2011 Jan 28;6(1):e16421

75. Toh WS, Foldager CB, Pei M, Hui JH. Advances in Mesenchymal Stem Cell-based Strategies for Cartilage Repair and Regeneration. *Stem Cell Rev.* 2014;10(5):686–696
76. Benders KE, van Weeren PR, Badylak SF, Saris DB, Dhert WJ, Malda J. Extracellular matrix scaffolds for cartilage and bone regeneration. *Trends Biotechnol.* 2013;31(3):169–176
77. Griffin MF, Premakumar Y, Seifalian AM, Szarko M, Butler PE. Biomechanical Characterisation of the Human Auricular Cartilages; Implications for Tissue Engineering. *Ann Biomed Eng.* 2016 Dec;44(12):3460-3467.
78. Nayyer L, Patel KH, Esmaili A, Rippel RA, Birchall M, O’toole G, Butler PE, Seifalian AM. Tissue engineering: revolution and challenge in auricular cartilage reconstruction. *Plast Reconstr Surg.* 2012 May;129(5):1123-37.
79. Liu Y., Zhang L., Zhou G., Li Q., Liu W., Yu Z., Luo X., Jiang T., Zhang W., Cao Y. In vitro engineering of human ear-shaped cartilage assisted with CAD/CAM technology. *Biomaterials.* 2010;31:2176–2183
80. Amadori S., Torricelli P., Panzavolta S., Parrilli A., Fini M., Bigi A. Highly porous gelatin reinforced 3D scaffolds for articular cartilage regeneration. *Macromol. Biosci.* 2015;15:941–952
81. Kusuhara H, Isogai N, Enjo M, et al. Tissue engineering a model for the human ear: assessment of size, shape, morphology, and gene expression following seeding of different chondrocytes. *Wound Repair Regen.* 2009;17(1):136-146.
82. Isogai N, Kusuhara H, Ikada Y, et al. Comparison of different chondrocytes for use in tissue engineering of cartilage model structures. *Tissue Eng.* 2006;12(4):691-703
83. Xu JW, Johnson TS, Motarjem PM, Peretti GM, Randolph MA, Yaremchuk MJ. Tissue-engineered flexible ear-shaped cartilage. *Plast Reconstr Surg.* 2005;115(6):1633-1641.
84. Togo T, Utani A, Naitoh M, et al. Identification of cartilage progenitor cells in the adult ear perichondrium: utilization for cartilage reconstruction. *Lab Invest.* 2006;86(5):445-457.
85. Sterodimas A. Adipose stem cell engineering: clinical applications in plastic and reconstructive surgery. In: *Adipose Derived Stem Cells and Regenerative Medicine.* New York, NY: Springer; 2011:165-180.

86. Bichara D.A., O'Sullivan N.-A., Pomerantseva I., Zhao X., Sundback C.A., Vacanti J.P., and Randolph M.A. The tissue-engineered auricle: past, present, and future. *Tissue Eng Part B Rev* 18, 51, 2012
87. Romo T., and Reitzen S.D. Aesthetic microtia reconstruction with Medpor. *Facial Plast Surg* 24, 120, 2008
88. Zhang L., He A., Yin Z., Yu Z., Luo X., Liu W., Zhang W., Cao Y., Liu Y., and Zhou G. Biomaterials regeneration of human-ear-shaped cartilage by co-culturing human microtia chondrocytes with BMSCs. *Biomaterials* 35, 4878, 2014
89. Cohen BP, Hooper RC, Puetzer JL, Nordberg R, Asanbe O, Hernandez KA, Spector JA, Bonassar LJ. Long-Term Morphological and Microarchitectural Stability of Tissue-Engineered, Patient-Specific Auricles In Vivo. *Tissue Eng Part A*. 2016 Mar;22(5-6):461-8
90. Xu J, Wang W, Ludeman M, et al. Chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells in 3D alginate gels. *Tissue Eng Part A*. 2008;14(5):667-680.]
91. Baptista LS, Pedrosa CS, da Silva KR, et al. Fibroin-based material from natural silk can be associated with alginate and mesenchymal progenitor cells. *Key Eng Materials*. 2008;396-398:437-440
92. Wang Y, Kim HJ, Vunjak-Novakovic G, Kaplan DL. Stem cell-based tissue engineering with silk biomaterials. *Biomaterials*. 2006;27(36):6064-6082.
93. Meinel AJ, Kubow KE, Klotzsch E, et al. Optimization strategies for electrospun silk fibroin tissue engineering scaffolds. *Biomaterials*. 2009;30(17):3058-3067.
94. Wang Y, Kim UJ, Blasioli DJ, Kim HJ, Kaplan DL. In vitro cartilage tissue engineering with 3D porous aqueous-derived silk scaffolds and mesenchymal stem cells. *Biomaterials*. 2005 Dec;26(34):7082-94.
95. Stewart AA, Byron CR, Ponden HC, Stewart MC. Effect of dexamethasone supplementation on chondrogenesis of equine mesenchymal stem cells. *Am J Vet Res*. 2008 Aug;69(8):1013-21.
96. Kisiday JD, Kurz B, DiMicco MA, Grodzinsky AJ. Evaluation of medium supplemented with insulin-transferrin-selenium for culture of primary bovine calf chondrocytes in three-dimensional hydrogel scaffolds. *Tissue Eng*. 2005 Jan-Feb;11(1-2):141-51.

97. Byers BA, Mauck RL, Chiang IE, Tuan RS. Transient exposure to transforming growth factor beta 3 under serum-free conditions enhances the biomechanical and biochemical maturation of tissue-engineered cartilage. *Tissue Eng Part A*. 2008 Nov;14(11):1821-34
98. Ng KW, O'Connor CJ, Kugler LE, Cook JL, Ateshian GA, Hung CT. Transient supplementation of anabolic growth factors rapidly stimulates matrix synthesis in engineered cartilage. *Ann Biomed Eng*. 2011 Oct;39(10):2491-500. doi: 10.1007/s10439-011-0356-8. Epub 2011 Jul 21.
99. Christophel JJ, Chang JS, Park SS. Transplanted tissue-engineered cartilage. *Arch Facial Plast Surg*. 2006;8(2):117-22.
100. Nayer L, Patel KH, Esmaili A. Tissue engineering: revolution and challenge in auricular cartilage reconstruction. *Plast Reconstr Surg*. 2012;129(5):1123-37.
101. Kusuhara H, Isogai N, Enjo M, Otani H, Ikada Y, Jacquet R, et al. Tissue engineering a model for the human ear: assessment of size, shape, morphology, and gene expression following seeding of different chondrocytes. *Wound Repair Regen*. 2009;17(1):136-46
102. Gilpin DA, Weidenbecher MS, Dennis JE. Scaffold-free tissue-engineered cartilage implants for laryngotracheal reconstruction. *Laryngoscope*. 2010 Mar;120(3):612-7
103. Giardini-Rosa R, Joazeiro PP, Thomas K, Collavino K, Weber J, Waldman SD. Development of scaffold-free elastic cartilaginous constructs with structural similarities to auricular cartilage. *Tissue Eng Part A*. 2014 Mar;20(5-6):1012-26. doi: 10.1089/ten.TEA.2013.0159. Epub 2014 Jan 21.
104. Saadeh PB, Brent B, Mehrara BJ, Steinbrech DS, Ting V, Gittes GK, Longaker MT. Human cartilage engineering: chondrocyte extraction, proliferation, and characterization for construct development. *Ann Plast Surg*. 1999 May;42(5):509-13.
105. Yanaga H, Imai K, Koga M, Yanaga K. Cell-engineered human elastic chondrocytes regenerate natural scaffold in vitro and neocartilage with neoperichondrium in the human body post-transplantation. *Tissue Eng Part A*. 2012 Oct;18(19-20):2020-9

106. Erickson IE, van Veen SC, Sengupta S, Kestle SR, Mauck RL. Cartilage matrix formation by bovine mesenchymal stem cells in three-dimensional culture is age-dependent. *Clin Orthop Relat Res*. 2011
107. Dreier R. Hypertrophic differentiation of chondrocytes in osteoarthritis: the developmental aspect of degenerative joint disorders. *Arthritis Res Ther*. 2010;12:216–227
108. Bush PG, Parisinos CA, Hall AC. The osmotic sensitivity of rat growth plate chondrocytes in situ; clarifying the mechanisms of hypertrophy. *J Cell Physiol*. 2008;214(3):621–629
109. Chao PH, West AC, Hung CT. Chondrocyte intracellular calcium, cytoskeletal organization, and gene expression responses to dynamic osmotic loading. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2006;291(4):C718–C725.
110. Little CJ, Bawolin NK, Chen X. Mechanical properties of natural cartilage and tissue-engineered constructs. *Tissue Eng Part B Rev*. 2011;17:213–227.
111. Nimeskern L, Pleumeekers MM, Pawson DJ, et al. Mechanical and biochemical mapping of human auricular cartilage for reliable assessment of tissue-engineered constructs. *J Biomech*. 2015;48:1721–1729.
112. Naumann A, Dennis JE, Awadallah A, et al. Immunochemical and mechanical characterization of cartilage subtypes in rabbit. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 2002;50:1049–1058.
113. Britt JC, Park SS. Autogenous tissue-engineered cartilage: evaluation as an implant material. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1998;124:671–677.
114. Roy R, Kohles SS, Zaporozhan V, et al. Analysis of bending behavior of native and engineered auricular and costal cartilage. *J Biomed Mater Res A*. 2004;68:597–602.

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

<i>Εικόνα 1. Ιστομηχανική κατασκευή ωτικού χόνδρου.</i>	<i>37</i>
<i>Εικόνα 2. Μεταμόσχευση ιστομηχανικής κατασκευής ωτικού χόνδρου.....</i>	<i>38</i>
<i>Εικόνα 3. Ανατομικά χαρακτηριστικά του ωτικού πτερυγίου.....</i>	<i>41</i>
<i>Εικόνα 4. Κατηγοριοποίηση της μικρωτίας.....</i>	<i>45</i>
<i>Εικόνα 5 Α. Πλαίσιο πορώδους πολυαιθυλενίου υψηλής πυκνότητας (Medpor®)</i>	
<i>Εικόνα 5 Β. Εμφύτευση του Medpor® σε ασθενή με μικρωτία.</i>	<i>51</i>
<i>Εικόνα 6. Προσθετικό μέλος εξωτερικού ωτός κατασκευασμένο από σιλικόνη.</i>	<i>52</i>
<i>Εικόνα 7Α. Κατασκευή τρισδιάστατης αρχιτεκτονικής ικριώματος εξωτερικού ωτός.....</i>	<i>63</i>
<i>Εικόνα 7Β. Κατασκευή τρισδιάστατης αρχιτεκτονικής ικριώματος εξωτερικού ωτός.....</i>	<i>63</i>
<i>Εικόνα 8Α. Κατασκευή τρισδιάστατης αρχιτεκτονικής ικριώματος εξωτερικού ωτός σε μορφή αρνητικού καλουπιού.</i>	<i>64</i>
<i>Εικόνα 8Β. Κατασκευή τρισδιάστατης αρχιτεκτονικής ικριώματος εξωτερικού ωτός σε μορφή αρνητικού καλουπιού.</i>	<i>64</i>
<i>Εικόνα 9. Εκτομή σύνθετου ιστού όλου του στρώματος του εξωτερικού ωτίου λευκού κουνελιού Νέας Ζηλανδίας.....</i>	<i>65</i>
<i>Εικόνα 10. Καλλιέργειες κυττάρων σε επωαστήρα CO2.</i>	<i>66</i>
<i>Εικόνα 11 Περιχονδροκυτταρική και χονδροκυτταρική μονοστρωματική καλλιέργεια μετά από 2 ημέρες (Α) και 14 ημέρες (Β) υπό μικροσκοπική μεγέθυνση.....</i>	<i>67</i>
<i>Εικόνα 12. Προετοιμασία μικροπορώδων τρισδιάστατων κυτταρικών ικριωμάτων από τα κουκούλια από μεταξοσκόληκα <i>Bombyx mori</i>.</i>	<i>68</i>
<i>Εικόνα 13. Τα κύτταρα που καλλιεργήθηκαν σε σφαιρίδια υπέστησαν επεξεργασία με τροποποιητικό παράγοντα μετασχηματισμού (TGF)-β3 και μορφογενετική πρωτεΐνη οστών 2 και εισήχθησαν σε ικριώματα που περιέχουν άλας αλγινικού οξέος, κυττοσύνη, υαλουρονικό οξύ και μετάξι.</i>	<i>69</i>
<i>Εικόνα 14. Ωτική κατασκευή για εμφύτευση.</i>	<i>70</i>

<i>Εικόνα 15. Η κυτταρική κατασκευή ινοΐνης μεταξιού, άλατος αλγινικού οξέος, υαλουρονικού οξέος, κυττοσύνης και χονδροκυτταρικού εναιωρήματος προς εμφύτευση.</i>	<i>71</i>
<i>Εικόνα 16 Α. Δημιουργία υποδόριων θυλάκων μέσω αμβλείας ανατομής και μία ωτική κατασκευή εμφυτεύθηκε σε κάθε θύλακα.....</i>	<i>72</i>
<i>Εικόνα 16 Β. Δημιουργία υποδόριων θυλάκων μέσω αμβλείας ανατομής και μία ωτική κατασκευή εμφυτεύθηκε σε κάθε θύλακα.....</i>	<i>72</i>
<i>Εικόνα 17. Μοντέλο ELF 3200 της Bose Corporation.....</i>	<i>73</i>
<i>Εικόνα 18. Εξαγωγή ωτικού πλαισίου 1 μήνα μετά από την εμφύτευση.</i>	<i>75</i>
<i>Εικόνα 19. Η ιστολογική εξέταση του ωτικού πλαισίου από τον υποδόριο χώρο της ράχης ενός κουνελιού μετά από 1 μήνα από την εμφύτευσή του. [1]: μετάξι [2]: άλας αλγινικού οξέως [3]: μετάξι [4]: άσηπτος φλεγμονώδης ιστός</i>	<i>77</i>
<i>Εικόνα 20. Εξαγωγή ωτικού πλαισίου 3 μήνες μετά από την εμφύτευση.</i>	<i>79</i>
<i>Εικόνα 21. Η ιστολογική εξέταση του ωτικού πλαισίου από τον υποδόριο χώρο της ράχης ενός κουνελιού μετά από 3 μήνες από την εμφύτευσή του.</i>	<i>80</i>
<i>Εικόνα 22. Η ιστολογική εξέταση του ωτικού πλαισίου από τον υποδόριο χώρο της ράχης ενός κουνελιού μετά από 24 μήνες από την εμφύτευσή του. [1]: μετάξι [2]: άλας αλγινικού οξέως [4]: [5]: μεσεγχυματικού τύπου χονδροκύτταρα.....</i>	<i>82</i>
<i>Εικόνα 23. Εξαγωγή ωτικού πλαισίου 9 μήνες μετά από την εμφύτευση.....</i>	<i>84</i>
<i>Εικόνα 24. Η ιστολογική εξέταση του ωτικού πλαισίου από τον υποδόριο χώρο της ράχης ενός κουνελιού μετά από 9 μήνες από την εμφύτευσή του. [1]: μετάξι [2]: άλας αλγινικού [5]: μεσεγχυματικού τύπου χονδροκύτταρα.....</i>	<i>86</i>
<i>Εικόνα 25. Εξαγωγή ωτικού πλαισίου 12 μήνες μετά από την εμφύτευση.....</i>	<i>87</i>
<i>Εικόνα 26. Η ιστολογική εξέταση του ωτικού πλαισίου από τον υποδόριο χώρο της ράχης ενός κουνελιού μετά από 12 μήνες από την εμφύτευσή του.</i>	<i>89</i>
<i>Εικόνα 27. Εξαγωγή ωτικού πλαισίου 18 μήνες μετά από την εμφύτευση.....</i>	<i>90</i>
<i>Εικόνα 28. Η ιστολογική εξέταση του ωτικού πλαισίου από τον υποδόριο χώρο της ράχης ενός κουνελιού μετά από 18 μήνες από την εμφύτευσή του. [1]: μετάξι [2]: άλας αλγινικού οξέως [3]: μετάξι [4]: άσηπτος φλεγμονώδης ιστός [5] μεσεγχυματικού τύπου χονδροκύτταρα.....</i>	<i>92</i>
<i>Εικόνα 29. Το ωτικό πλαίσιο στο υποδόριο στρώμα της ράχης ενός κουνελιού 24 μήνες μετά από την εμφύτευσή του.....</i>	<i>93</i>

<i>Εικόνα 30. Η ιστολογική εξέταση του ωτικού πλαισίου από τον υποδόριο χώρο της ράχης ενός κουνελιού μετά από 24 μήνες από την εμφύτευσή του.</i>	<i>95</i>
<i>Εικόνα 31. Εξαγωγή ωτικού πλαισίου 30 μήνες μετά από την εμφύτευση.</i>	<i>96</i>
<i>Εικόνα 32. Η ιστολογική εξέταση του ωτικού πλαισίου από τον υποδόριο χώρο της ράχης ενός κουνελιού μετά από 30 μήνες από την εμφύτευσή του.</i>	<i>98</i>
<i>Εικόνα 33. Εξαγωγή ωτικού πλαισίου 36 μήνες μετά από την εμφύτευση.</i>	<i>99</i>
<i>Εικόνα 34. Η ιστολογική εξέταση του ωτικού πλαισίου από τον υποδόριο χώρο της ράχης ενός κουνελιού μετά από 36 μήνες από την εμφύτευσή του.</i>	<i>101</i>

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

<i>Πίνακας 1. Τεχνικά χαρακτηριστικά ωτικών πλαισίων πριν την εμφύτευση και μετά την εξαγωγή.</i>	<i>76</i>
<i>Πίνακας 2. Η μηχανική απόκριση των δυο ωτικών πλαισίων μετρήθηκε πριν από την εμφύτευσή τους (1) και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους (2).</i>	<i>78</i>
<i>Πίνακας 3. Τεχνικά χαρακτηριστικά ωτικών πλαισίων πριν την εμφύτευση και μετά την εξαγωγή.</i>	<i>79</i>
<i>Πίνακας 4. Η μηχανική απόκριση των δυο ωτικών πλαισίων μετρήθηκε πριν από την εμφύτευσή τους (3) και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους (4).</i>	<i>81</i>
<i>Πίνακας 5. Τεχνικά χαρακτηριστικά ωτικών πλαισίων πριν την εμφύτευση και μετά την εξαγωγή.</i>	<i>83</i>
<i>Πίνακας 6. Η μηχανική απόκριση των δυο ωτικών πλαισίων μετρήθηκε πριν από την εμφύτευσή τους (5) και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους (6).</i>	<i>83</i>
<i>Πίνακας 7. Τεχνικά χαρακτηριστικά ωτικών πλαισίων πριν την εμφύτευση και μετά την εξαγωγή.</i>	<i>85</i>
<i>Πίνακας 8. Η μηχανική απόκριση των δυο ωτικών πλαισίων μετρήθηκε πριν από την εμφύτευσή τους (7) και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους (8).</i>	<i>86</i>
<i>Πίνακας 9. Τεχνικά χαρακτηριστικά ωτικών πλαισίων πριν την εμφύτευση και μετά την εξαγωγή.</i>	<i>88</i>
<i>Πίνακας 10. Η μηχανική απόκριση των δυο ωτικών πλαισίων μετρήθηκε πριν από την εμφύτευσή τους (9) και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους (10).</i>	<i>89</i>
<i>Πίνακας 11. Τεχνικά χαρακτηριστικά ωτικών πλαισίων πριν την εμφύτευση και μετά την εξαγωγή.</i>	<i>91</i>
<i>Πίνακας 12. Η μηχανική απόκριση των δυο ωτικών πλαισίων μετρήθηκε πριν από την εμφύτευσή τους (11) και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους (12)</i>	<i>92</i>

<i>Πίνακας 13. Τεχνικά χαρακτηριστικά ωτικών πλαισίων πριν την εμφύτευση και μετά την εξαγωγή.</i>	<i>94</i>
<i>Πίνακας 14. Η μηχανική απόκριση των δυο ωτικών πλαισίων μετρήθηκε πριν από την εμφύτευσή τους (13) και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους (14).</i>	<i>95</i>
<i>Πίνακας 15. Τεχνικά χαρακτηριστικά ωτικών πλαισίων πριν την εμφύτευση και μετά την εξαγωγή.</i>	<i>97</i>
<i>Πίνακας 16. Η μηχανική απόκριση των δυο ωτικών πλαισίων μετρήθηκε πριν από την εμφύτευσή τους (15) και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους (16).</i>	<i>98</i>
<i>Πίνακας 17. Τεχνικά χαρακτηριστικά ωτικών πλαισίων πριν την εμφύτευση και μετά την εξαγωγή.</i>	<i>100</i>
<i>Πίνακας 18. Η μηχανική απόκριση των δυο ωτικών πλαισίων μετρήθηκε πριν από την εμφύτευσή τους (17) και κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους (18).</i>	<i>101</i>
<i>Πίνακας 19: Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων της μελέτης.</i>	<i>102</i>