

©І. М. ДЕЙКАЛО, А. В. МАХНІЦЬКИЙ, Т. В. ДАЦКО, Р. Я. КУШНІР

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

Зміна морфологічної структури дермального імпланту шкіри свині після імплантації “on lay” в експерименті

Мета роботи: оцінити в експерименті рівень васкуляризації та інтеграції з розвитком грануляційної тканини ацелюлярного дермального матриксу свині після імплантації на передню черевну стінку “on lay” в різні терміни (7-ма, 14-та, 21-ша доби).

Матеріали і методи. Експеримент проведено на 6 свинках породи українська біла. Під загальним знеболенням піддослідним було імплантовано на передню черевну стінку в просвіт між підшкірною жировою клітковиною та апоневрозом (“on lay”) ацелюлярний перфорований дермальний матрикс свині виробництва ТОВ “Інститут біомедичних технологій” (гол. директор проф. В. В. Бігуняк). Оцінювали якість приживлення швидкість/ступінь ангиогенезу, стан грануляційної тканини та структури трансплантата. Післяопераційний період перебігав без ускладнень, піддослідні отримали 1 дозу препарату “Цефтріаксон” 1,0 внутрішньом’язово. Надалі у 2 піддослідних забір матеріалу проводили на 7-му добу, ще у 2 – на 14-ту добу, та у 2-х на 21-шу добу після імплантації. Патоморфологічні дослідження проводили на базі лабораторії ТНМУ імені І. Я. Горбачевського МОЗ України. Зрізи імплантованого матеріалу забарвленні гематоксиліном-еозином оцінювали за реактивністю місцевого запалення на стороннє тіло, рівень васкуляризації та заміщення грануляційною тканиною.

Результати досліджень та їх обговорення. У результаті досліджень встановлено, що безклітинний шкірний матрикс після імплантації “on lay” викликає гостре запалення з повільною васкуляризацією в ранньому періоді з помірним наростанням до 14-ї і 21-ї доби. Імплант виконує роль бази для підтримки міграції природних клітин і заміщення в подальшому грануляційною тканиною як результат зміцнення даної ділянки. Ознак інфікування, що дає надію на використання імплантів в попередньо інфікованих середовищах після ускладнень внаслідок імплантації сіток з штучних матеріалів не спостерігали.

У подальшому передбачено подальші дослідження щодо інтеграції біологічного імпланта на різні рівні черевної стінки – “sub lay”, preperitoneal.

Ключові слова: ацелюлярний дермальний матрикс свині; імплантація “on lay”; рівень васкуляризації; розвиток грануляційної тканини.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень та публікацій. Альтернативні до синтетичних сіток матеріали, які можна використовувати в реконструктивній хірургії черевної стінки, завжди викликали інтерес у науковців та практичних хірургів [1]. Це питання стало наріжним після публікації багатьох досліджень стосовно ускладнень від імплантів на синтетичній основі в ранньому та пізньому післяопераційному періодах [2, 3]. Сподівання на зменшення відсотка ускладнень з’явилася з впровадженням у практику біологічних імплантів [3]. Особливе зацікавлення викликав так званий ацелюлярний дермальний матрикс свині [4–6]. Проте недостатньо даних про реакцію місцевих тканин на імплант, рівень васкуляризації та інтеграції, з розвитком грануляційної тканини в різні періоди після імплантації [6–9].

Мета роботи: оцінити в експерименті рівень васкуляризації та інтеграції з розвитком грануляційної тканини ацелюлярного дермального матриксу свині після імплантації на передню черевну стінку “on lay” в різні терміни (7-ма, 14-та, 21-ша доба).

Матеріали і методи. Експеримент проведено на 6 свинках породи українська біла. Під загальним знеболенням піддослідним було імплантовано на

передню черевну стінку в просвіт між підшкірною жировою клітковиною та апоневрозом (“on lay”) ацелюлярний перфорований дермальний матрикс свині виробництва ТОВ “Інститут біомедичних технологій” (гол. директор проф. В. В. Бігуняк). Оцінювали якість приживлення швидкість/ступінь ангиогенезу, стан грануляційної тканини та структури трансплантата.

Післяопераційний період перебігав без ускладнень, піддослідні отримали 1 дозу препарату “Цефтріаксон” 1,0 внутрішньом’язово. Надалі у 2 піддослідних забір матеріалу проводили на 7-му добу, ще у 2 на 14-ту добу, та у останніх 2-х на 21-шу добу після імплантації.

Патоморфологічні дослідження проводили на базі лабораторії ТНМУ імені І. Я. Горбачевського МОЗ України. Зрізи імплантованого матеріалу, забарвленні гематоксиліном-еозином, оцінювали за реактивністю місцевого запалення на стороннє тіло, рівень васкуляризації та заміщення грануляційною тканиною.

Результати досліджень та їх обговорення. Гістологічні прояви в структурах передньої черевної стінки після імплантації ксенотрансплантата “on lay” через 7 днів.

У досліджуваній тканині через 7 діб після імплантації ксенотрансплантата виявлено прояви гострого запалення, які характеризувалися вираженою лейкоцитарною інфільтрацією (рис. 1).

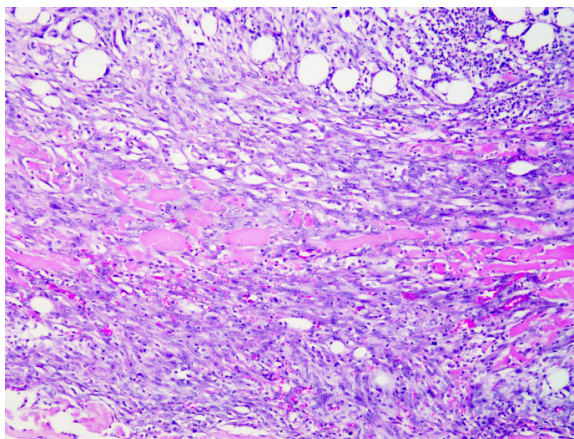


Рис. 1. Структура ділянки тканини із застосуванням ксенотрансплантата шкіри свині за методикою “on lay” через 7 діб. Поширення поліморфноядерних лейкоцитів у жирову тканину. Виражена запальна інфільтрація. Забарвлення гематоксилином та еозином. $\times 200$

В запальному інфільтраті візуалізувалась помірна кількість макрофагів, лімфоцитів та плазматичних клітин. Запалення поширювалося в жирову тканину (рис. 1) у вигляді скупчень поліморфноядерних лейкоцитів. Візуалізувалось зростання площі екстрацелюлярного матриксу, що супроводжувалося проліферацією ендотеліальних клітин, фібробластів, формуванням капілярів – збільшення кількості грануляцій. Пухка сполучна тканина була представлена пучками колагенових волокон, які переважно хаотично розташовувались та значною часткою аморфного матриксу. Кількість судин мікроциркуляторного русла була значною, просвіти капілярів виводили еритроцитами, навколо них візуалізувались запальні інфільтрати (рис. 2). Капіляри частково проникали в структуру трансплантата, в ділянках інфільтрації візуалізувались прояви гострої запальної реакції та формувались дрібні вогнища лімфоїдних інфільтратів. Поряд із цим з’являлися макрофаги та базофіли.

Дослідження структур ділянки апоневрозу через 14 діб після проведення імплантації ксенотрансплантатом виявлено різке зменшення проявів гострого запалення в структурі сформованої грануляційної тканини. Гістологічно візуалізувались поодинокі ділянки поліморфноклітинної лейкоцитарної інфільтрації навколо судин переважно в ділянці контакту із жировою тканиною (рис. 3). Було вияв-

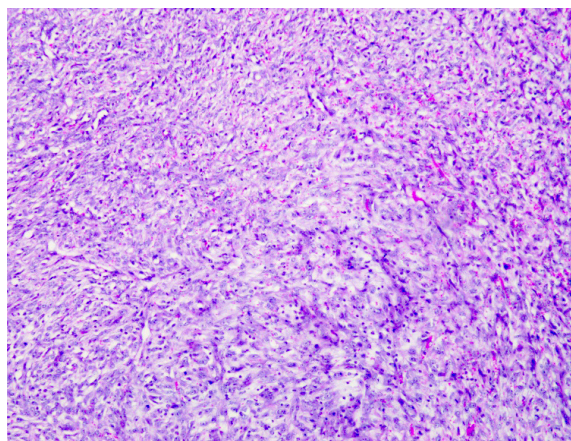


Рис. 2. Структура ділянки тканини із застосуванням ксенотрансплантата шкіри свині за методикою “on lay” через 7 діб. Дифузна поліморфноклітинна інфільтрація, формування грануляційної тканини. Забарвлення гематоксилином та еозином. $\times 200$

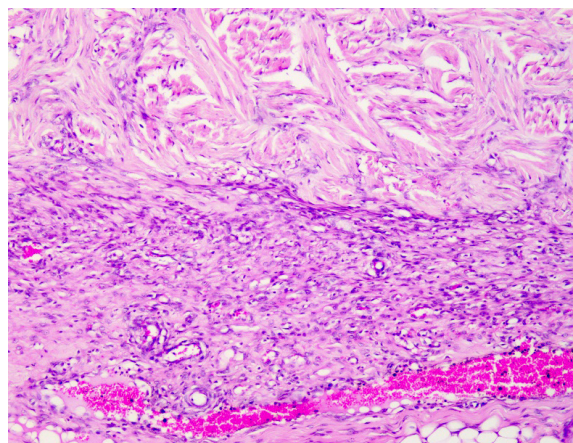


Рис. 3. Структура ділянки тканини із застосуванням ксенотрансплантата шкіри свині за методикою “on lay” через 14 діб. Добре виражена грануляційна тканина, незначні прояви запальної реакції, проростання трансплантата судинами МЦР, помірна запальна інфільтрація в ділянці контакту із жировою тканиною. Забарвлення гематоксилином та еозином. $\times 200$

лено судини мікроциркуляторного русла, які проростали із грануляційної тканини. Спостерігалось різке зменшення макрофагальної активності, проте в поодиноких ділянках запальної інфільтрації також візуалізувались дрібні лімфоцитарні інфільтрати.

Екстрацелюлярний матрикс у навколишній тканині навколо ксенотрансплантата був представлений частково сформованими колагеновими волокнами із значною кількістю судин мікроциркуляторного русла, в просвітах більшості яких візуалізувалася помірна кількість еритроцитів. У периваскулярних просторах набряк не спосте-

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

рігається, різко зменшувалась кількість лейкоцитів. Кількість фіброblastів залишалась значною, пучки колагенових волокон ставали однонаправленими, кількість аморфної речовини різко зменшувалась. Загальна щільність судин мікроциркуляторного русла залишалась значною.

У структурі трансплантата візуалізувались капіляри із незначними периваскулярним набряком, дрібновогнищевими клітинними інфільтратами та спостерігався помірний набряк навколо волокон, проте гострої запальної інфільтрації та макрофагальної інфільтрації не виявлено. Лімфоцитарна інфільтрація була мізерною (рис. 4, 5).

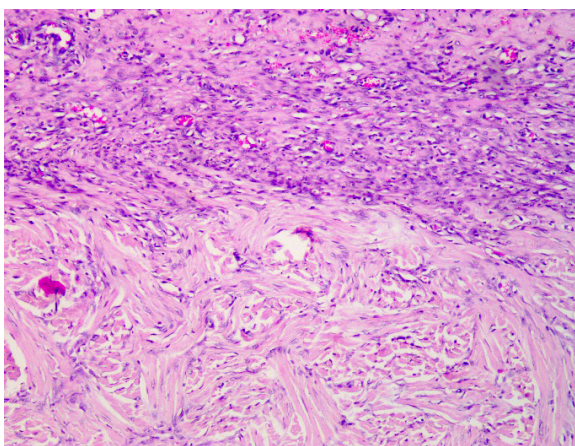


Рис. 4. Структура ділянки тканини із застосуванням ксенотрансплантата шкіри свині за методикою “op lau” через 14 діб. Грануляційна тканина навколо трансплантата. Васкуляризація трансплантата, вогнищева запальна інфільтрація його структури. Забарвлення гематоксилином та еозином. $\times 200$

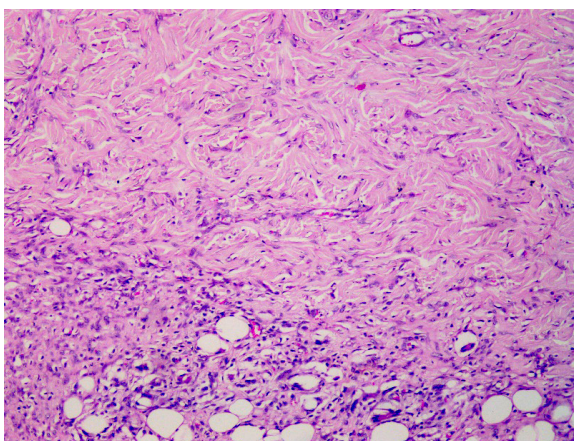


Рис. 5. Структура ділянки тканини із застосуванням ксенотрансплантата шкіри свині за методикою “op lau” через 14 діб. Проростання судинами трансплантата, дрібновогнищева лімфоцитарна інфільтрація. Помірна запальна інфільтрація в жировій тканині. Забарвлення гематоксилином та еозином. $\times 200$

Дослідження структур ділянки апоневрозу через 21 добу після проведення імплантації ксенотрансплантатом виявлено мінімальні прояви гострого запалення в структурі грануляційної тканини. Просвіти капілярів МЦР практично не містили еритроцитів, периваскулярний набряк не спостерігали, поліморфні лейкоцити не візуалізувались. Проте спостерігалась інфільтрація лімфо- та гістіоцитами, поодинокими макрофагами (рис. 6). Навколо судин візуалізувались колагенові волокна сформованої сполучної тканини. Більшість волокон мала рівний хід. Серед волокон спостерігали значну кількість фіброblastів.

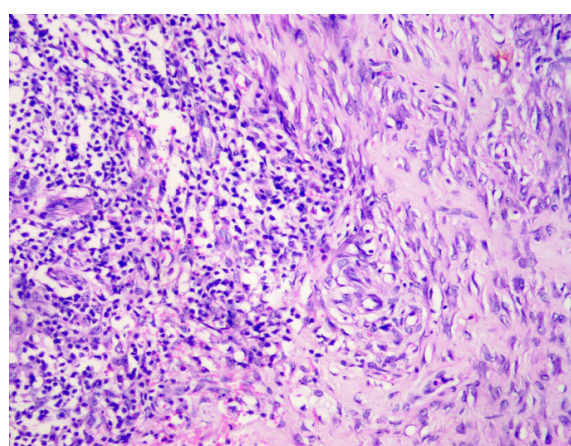


Рис. 6. Структура ділянки тканини із застосуванням ксенотрансплантата шкіри свині за методикою “op lau” через 21 добу. Просвіти МЦР переважно не містять еритроцитів. Виражена лімфо-гістіоцитарна інфільтрація. Забарвлення гематоксилином та еозином. $\times 200$

У жировій тканині виявлено помірну кількість капілярів із незначною лімфо-гістіоцитарною інфільтрацією та із проявами помірної макрофагальної активності. Гостра запальна реакція не візуалізувалась.

Екстрацелюлярний матрикс оточуючої трансплантат тканини сформований колагеновими волокнами із помірною кількістю судин мікроциркуляторного русла. У периваскулярних просторах набряк не спостерігали. Кількість фіброblastів залишалась значною.

У структурі трансплантата добре візуалізуються капіляри. Їх просвіти дещо розширені, проте не містили еритроцитів. В периваскулярних ділянках набряк не спостерігали, проте виявлено значну кількість лімфо-та гістіоцитів (рис. 7). Гостра запальна інфільтрація та макрофагальна інфільтрація відсутня.

За ходом волокон візуалізується незначний набряк та дрібноклітинна інфільтрація.

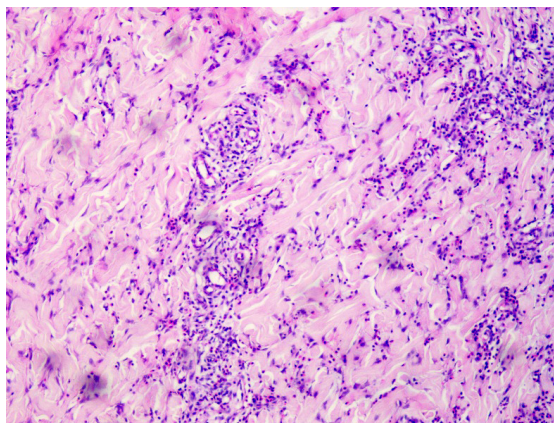


Рис. 7. Структура ділянки тканини із застосуванням ксенотрансплантата шкіри свині за методикою “on lay” через 21 добу. Виражена периваскулярна лімфо- та гістіоцитарна інфільтрація в структурі трансплантата. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$

Таким чином, при використанні ксенотрансплантата за методикою за “on lay” в ділянці апоневрозу через 7 днів виявлено виражену запальну інфільтрацію, помірну макрофагальну інфільтрацію та формування грануляційної тканини. Грануляції поширювалися на жирову тканину та тканину трансплантата. Через 14 днів у ділянці грануляцій та жи-

ровій тканині зменшувалась запальна інфільтрація. В трансплантаті спостерігали проростання судин із грануляційної тканини, незначну периваскулярну лімфо-гістіоцитарну інфільтрацію.

Через 21 добу експерименту в грануляційній тканині візуалізувалося формування добре сформованої колагенової строми, проте збільшувалася кількість периваскулярних лімфо-гістіоцитарних інфільтратів.

Висновки. 1. Безклітинний шкірний матрикс після імплантації “on lay” викликає гостре запалення з повільною васкуляризацією в ранньому періоді з помірним наростанням до 14 і 21 доби.

2. Імплант виконує роль бази для підтримки міграції природних клітин і заміщення в подальшому грануляційною тканиною як результат зміцнення даної ділянки.

3. Не спостерігали ознак інфікування, що дає надію на використання імплантів у попередньо інфікованих середовищах після ускладнень внаслідок імплантації сіток із штучних матеріалів.

Перспективи подальших досліджень. Перспективним є подальші дослідження щодо інтеграції біологічного імплантата на різні рівні черевної стінки – “sub lay”, preperitoneal.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Silverman R. P. Acellular dermal matrix in abdominal wall reconstruction / R. P. Silverman // *Aesthet. Surg. J.* – 2011. – Vol. 31 (Suppl. 7). – P. 24S–29S.
2. Analysis of tissue inflammatory response, fibroplasia, and foreign body reaction between the polyglactin suture of abdominal aponeurosis in rats and the intraperitoneal implant of polypropylene, polypropylene/polyglycaprone and polyester/porcine collagen meshes / W. G. Ribeiro, A. C. C. Nascimento, D. D. De Marchi [et al.] // *Acta Cir. Bras.* – 2021. – Vol. 36 (7). – Published online 2021 Sep 3.
3. Comparison of acellular dermal matrix and synthetic mesh for lateral chest wall reconstruction in a rabbit model / L. H. III Holton, T. Chung, R. P. Silverman [et al.] // *Plast. Reconstr. Surg.* – 2007. – Vol. 119. – P.1238–1246.
4. Freeze-dried acellular dermal matrix graft: effects of rehydration on physical, chemical, and mechanical properties / M. C. Bottino, M. V. Jose, V. Thomas [et al.] // *Dent. Mater.* – 2009. – Vol. 25. – P. 1109–1115.
5. Bioprosthetic tissue matrices in complex abdominal wall reconstruction / J. M. Broyles, N. B. Abt, J. M. Sacks, C. E. Butler

- // *Plast. Reconstr. Surg. Glob. Open.* – 2013. – Vol. 1. – P. 91–94.
6. Carlson T. L. Effect of cross-linked and non-cross-linked acellular dermal matrices on the expression of mediators involved in wound healing and matrix remodeling / T. L. Carlson, K. W. Lee, L. M. Pierce // *Plast. Reconstr. Surg.* – 2013. – Vol. 131. – P. 697–705.
7. The use of porcine acellular dermal matrix in a bridge technique for complex abdominal wall reconstruction: an outcome analysis / K. M. Patel, M. Y. Nahabedian, F. Albino, P. Bhanot // *Am. J. Surg.* – 2013. – Vol. 205. – P. 209–212.
8. Indications and outcomes following complex abdominal reconstruction with component separation combined with porcine acellular dermal matrix reinforcement / K. M. Patel, M. Y. Nahabedian, M. Gatti, P. Bhanot // *Ann. Plast. Surg.* – 2012. – Vol. 69. – P. 398.
9. A porcine-derived acellular dermal scaffold that supports soft tissue regeneration: removal of terminal galactose-alpha-(1,3)-galactose and retention of matrix structure / H. Xu, H. Wan, W. Zuo [et al.] // *Tissue Eng. Part A.* – 2009. – Vol. 15. – P. 1807–1819.

REFERENCES

1. Silverman, R.P. (2011). Acellular dermal matrix in abdominal wall reconstruction. *Aesthet. Surg. J.*, 31(Suppl. 7), 24S-29S.
2. Ribeiro, W.G., Nascimento, A.C.C., De Marchi, D.D., Rego, G.M., Maeda, C.T., Barros Silva, G.E., Artigiani, R. et al. (2021). Analysis of tissue inflammatory response, fibroplasia, and foreign body reaction between the polyglactin suture of abdominal aponeurosis in rats and the intraperitoneal implant of polypropylene, polypropylene/polyglycaprone and polyester/porcine collagen meshes. *Acta Cir. Bras.*, 36 (7), e360706. *Published online*, Sep 3. doi: 10.1590/ACB360706
3. Holton, L.H.III, Chung, T., Silverman, R.P., Haerian, H., Goldberg, N.H., Burrows, W.M., Gobin, A., & Butler, C.E. (2007). Comparison of acellular dermal matrix and synthetic mesh for lateral chest wall reconstruction in a rabbit model. *Plast. Reconstr. Surg.*, 119, 1238-1246.
4. Bottino, M.C., Jose, M.V., Thomas, V., Dean, D.R., & Janowski, G.M. (2009). Freeze-dried acellular dermal matrix graft: effects of rehydration on physical, chemical, and mechanical properties. *Dent Mater*, 25, 1109-1115.
5. Broyles, J.M., Abt, N.B., Sacks, J.M., & Butler, C.E. (2013). Bioprosthetic tissue matrices in complex abdominal wall reconstruction. *Plast Reconstr. Surg. Glob. Open*, 1, e91.
6. Carlson, T.L., Lee, K.W., & Pierce, L.M. (2013). Effect of cross-linked and non-cross-linked acellular dermal matrices on the expression of mediators involved in wound healing and matrix remodeling. *Plast Reconstr. Surg.*, 131, 697-705.
7. Patel, K.M., Nahabedian, M.Y., Albino, F., & Bhanot, P. (2013). The use of porcine acellular dermal matrix in a bridge technique for complex abdominal wall reconstruction: an outcome analysis. *Am. J. Surg.*, 205, 209-212.
8. Patel, K.M., Nahabedian, M.Y., Gatti, M., & Bhanot, P. (2012). Indications and outcomes following complex abdominal reconstruction with component separation combined with porcine acellular dermal matrix reinforcement. *Ann. Plast. Surg.*, 69, 394-398.
9. Xu, H., Wan, H., Zuo, W., Sun, W., Owens, R.T., Harper, J.R., Ayares, D.L., & McQuillan, D.J. (2009). A porcine-derived acellular dermal scaffold that supports soft tissue regeneration: removal of terminal galactose- α -(1,3)-galactose and retention of matrix structure. *Tissue Eng. Part A*, 15, 1807-1819.

Отримано 01.03.2022

Електронна адреса для листування: mahnitkyj@tdmu.edu.ua

I. M. DEIKALO, A. V. MAKHNITSKYI, T. V. DATSKO, R. YA. KUSHNIR

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University

CHANGE OF MORPHOLOGICAL STRUCTURE OF DERMAL IMPLANT FROM PIG SKIN AFTER “ON LAY” IMPLANTATION IN EXPERIMENT

The aim of the work: to evaluate the level of vascularization and integration in the experiment, with the development of granulation tissue of the acellular dermal matrix of pigs after implantation on the anterior abdominal wall “on lay” in the early and late period (7, 14, 21 days).

Materials and Methods. The experiment was performed on 6 pigs of the Ukrainian White breed. Under general anesthesia, acellular perforated dermal matrix of pig produced by “Institute of Biomedical Technologies” (Chief Director Prof. Bihuniak V. V.) were implanted on the anterior abdominal wall in the space between the subcutaneous fat and aponeurosis (“on lay”) The quality of engraftment, speed/degree of angiogenesis, condition of granulation tissue, adipose tissue and graft structure were estimated. The postoperative period was uncomplicated, every pig received 1 dose of ceftriaxone 1.0 intramuscularly. From 2 pigs the material was collected on the 7th day, another 2 on the 14th day, and in the last 2 on the 21st day after implantation. Pathomorphological researches were done in laboratory of I. Horbachevsky TNMU. Sections of the implanted material colored with hematoxylin-eosin were evaluated concerning reactivity of local inflammation, the level of vascularization and replacement by granulation tissue.

Results and Discussion. Studies have shown that acellular dermal matrix after implantation “on lay” causes acute inflammation with slow vascularization in the early period with a moderate increase to 14 and 21 days. The implant acts as a base to support the migration of natural cells and subsequent replacement by granulation tissue as a result of strengthening this area.

Further research is planned concerning integration of biological implants on different levels of the abdominal wall – “sub lay”, preperitoneal.

Key words: acellular dermal matrix of pigs; onlay implantation; level of vascularization; development of granulation tissue