

HANNA GERBER-LESZCZYSZYN¹, JAROSŁAW LESZCZYSZYN², MICHAŁ JELEN³, IGOR ŁEBSKI⁴,
MAREK SKOCZYLAS⁴, RAFAŁ PANKAŁA⁴

Zastosowanie biomateriału SIS do odtworzenia zwieracza odbytu – badanie doświadczalne

Application of SIS Biomaterial in Anal Sphincter Reconstruction – Animal Study

¹ Katedra i Klinika Chirurgii Szcękowo-Twarzowej AM we Wrocławiu

² Zakład Fizjoterapii w Chirurgii AWF we Wrocławiu

³ Katedra i Zakład Anatomii Patologicznej AM we Wrocławiu

⁴ EMC Instytut Medyczny SA, Wrocław

Streszczenie

Wprowadzenie. Biomateriał SIS pochodzi z błony podśluzowej jelita cienkiego świni. Jego podstawową cechą jest zdolność do pobudzanego przez tkankowe czynniki wzrostu odtwarzania budowy histologicznej tkanki w miejscu wszczepienia niezależnie od jej rodzaju (tzw. *smart remodelling*). Liczne badania doświadczalne przeprowadzone na modelach zwierzęcych oraz kliniczne wykazały zdolność SIS do rekonstrukcji pełnowartościowych histologicznie i funkcjonalnie tkanek.

Cel pracy. Ocena możliwości odtworzenia ciągłości mięśnia zwieracza zewnętrznego odbytu u owiec, po jego przecięciu, z zastosowaniem implantu z biomateriału SIS.

Materiał i metody. Badanie przeprowadzono na 15 owcach – samicach, podzielonych na 3 grupy po 5 zwierząt w każdej grupie. W grupie A po wszczepieniu SIS – zwierzęta obserwowano przez 4 tygodnie; w grupie B – przez 6 tygodni, a w grupie C (kontrolnej, w której zwierzęta operowano bez wszczepiania SIS) – obserwowano przez 4 tygodnie. We wszystkich grupach dokonywano przecięcia zwieracza zewnętrznego odbytu. U zwierząt w grupach A i B wytwarzano tunel między zwieraczem zewnętrznym odbytu a tkankami otaczającymi. Do tej przestrzeni wprowadzano pasek siatki SIS tak, aby pokrywał ubytek. Po upływie ustalonego czasu obserwacji pobierano materiał do badania histopatologicznego. Preparaty oceniano pod kątem obecności w obrębie ubytku mięśnia zwieracza zewnętrznego tkanki łącznej i mięśniowej poprzecznie prążkowanej. Do oceny nasilenia poszukiwanych cech obrazu mikroskopowego blizny histopatolog stosował wizualną skalę analogową (VAS).

Wyniki. W grupie A w żadnym preparacie nie uwidoczniło elementów strukturalnych biomateriału SIS. We wszystkich preparatach obwodowo zaobserwowano więcej włókien tkanki mięśniowej poprzecznie prążkowanej, a centralnie więcej tkanki łącznej włóknistej. W grupie B stwierdzono we wszystkich preparatach obecność tkanki mięśniowej poprzecznie prążkowanej o układzie włókien równoległym do włókien zwieracza odbytu. Włókna mięśniowe przeplatały się w całym przekroju z tkanką łączną włóknistą. W grupie kontrolnej (C) w miejscu ubytku stwierdzono we wszystkich preparatach wyłącznie obecność tkanki łącznej włóknistej, nie stwierdzono natomiast w miejscu ubytku obecności włókien mięśniowych poprzecznie prążkowanych.

Wnioski. Implantowany w miejscu ubytku zwieracza zewnętrznego odbytu biomateriał SIS, pozostając w kontakcie z tkanką mięśniową poprzecznie prążkowaną, może stymulować jej wzrost, doprowadzając do rozplemienia włókien mięśniowych poprzecznie prążkowanych w miejscu ubytku. Wzrost grubości warstwy tkanki mięśniowej w porównaniu do grubości tkanki łącznej w obrębie ubytku w kolejnych obserwacjach pozwala przypuszczać, że końcowym efektem działania SIS może być pełnościenne wypełnienie ubytku przez tkankę mięśniową poprzecznie prążkowaną i częściowe odtworzenie ciągłości mięśnia (Adv Clin Exp Med 2005, 14, 5, 869–874).

Słowa kluczowe: zwierzęta, histopatologia, biomateriały, zwieracz zewnętrzny odbytu.

Abstract

Background. SIS biomaterial is derived from pig small intestine submucosa. SIS has a unique potential of “smart remodelling” – induced by tissue growth factors histological reconstruction of implantation site specific tissue of

any kind. Numerous animal and preclinical studies proved SIS ability for reconstruction of histological compatible and functionally competent tissues.

Objectives. The aim of the paper was to evaluate ability of SIS to reconstruct transected external anal sphincter (EAS) at sheep.

Material and Methods. 15 sheep were divided into 3 groups: A – 4 weeks of follow-up after SIS implantation; B – 6 weeks of follow-up after SIS implantation; C – control group – 4 weeks follow-up no SIS implanted. All animals had EAS completely transected. In groups A and B, a tunnel between EAS and surrounding tissues was made, and SIS was inserted in created space, covering both ends of transected EAS. Upon follow-up completion histopathological specimens for microscopic evaluation were obtained. Space of EAS defect was reviewed for presence of skeletal muscle tissue and connective tissue. To assess the intensity of selected elements, visual analog scale (VAS) was used.

Results. In group A no signs of SIS mesh structure were found. In peripheral part of the defect space larger number of skeletal muscle tissue was visible, in central part – connective tissue was prominent. In group B in defect space all specimens contained skeletal muscle tissue with fibers parallel to EAS fibers course. Muscle fibers were interlaced with connective tissue fibers. In control group C, in all specimens, defect was filled with connective tissue only; no presence of skeletal muscle tissue was noted.

Conclusions. SIS implanted do EAS defect, communicates with skeletal muscle tissue, stimulating it's growth, which leads to proliferation of skeletal muscle in defect space. The gain in skeletal muscle layer thickness compared to thickness of connective tissue layer in consecutive observations allows to assume, that final effect of SIS action could be a EAS whole wall thickness filling with skeletal muscle tissue and it's function recovery (*Adv Clin Exp Med* 2005, 14, 5, 869–874).

Key words: animals, histopathology, biomaterials, external and sphincter.

Biomateriał SIS (*small intestine submucosa*) opracowany na Uniwersytecie Purdue w USA w 1987 r. pochodzi z błony podśluzowej jelita cienkiego świni. Składa się z kolagenowej (kolagen typu I, III i V), bezkomórkowej matrycy (ECM) grubości 0,15–0,25 mm zawierającej na powierzchni włókien kolagenowych liczne czynniki wzrostu tkanek, m.in. transformujący czynnik wzrostu TGF- β , czynnik wzrostu fibroblastów FGF-2, czynnik wzrostu śródbłonna VEGF i glikoaminoglikany (siarczan heparyny, kwas hialuronowy, siarczan chondroityny A, siarczan dermatanu i heparyna), proteoglikany i glikoproteiny [1].

Podstawową cechą biomateriału SIS jest zdolność do pobudzanego przez tkankowe czynniki wzrostu odtwarzania budowy histologicznej tkanki w miejscu wszczepienia, niezależnie od jej rodzaju, tzw. *smart remodelling*. Innym istotnym czynnikiem sprzyjającym działaniu SIS jest jego pełna biokompatybilność, która wynika z braku właściwości antygenowych [1–5].

Liczne badania doświadczalne przeprowadzone na modelach zwierzęcych oraz badania kliniczne wykazały zdolność SIS do rekonstrukcji pełnowartościowych histologicznie i funkcjonalnie tkanek, takich jak: naczynia krwionośne, elementy ścian narządów (pęcherz moczowy, moczowód), elementy mechaniczne (ścięgna, więzadła, kości) [2–7]. W pojedynczym, dostępnym doniesieniu nie potwierdzono możliwości odbudowy tkanki mięśniowej poprzecznie prążkowanej [8]. W piśmiennictwie nie ma też doniesień o badaniach nad zastosowaniem SIS w rekonstrukcji uszkodzonego aparatu zwieraczowego odbytu będącego przyczyną nietrzymania gazów i stolca (n.s.).

Ocenia się, że częstość występowania nietrzymania stolca w populacji wynosi ok. 2,2% [9].

Jedną z najczęstszych przyczyn n.s. jest uszkodzenie zwieracza zewnętrznego odbytu podczas nacięcia krocza przy porodzie [10]. Ultrasonograficzne cechy uszkodzenia tego mięśnia stwierdza się u ok. 30% kobiet, które przeżyły nacięcie krocza. W grupie tej tylko u 1–13% kobiet występują objawy kliniczne n.s. [11, 12].

Inne przyczyny uszkodzenia aparatu zwieraczowego odbytu, które prowadzą do n.s., to jatrogenne uszkodzenia związane z zabiegami operacyjnymi lub urazami krocza o różnej etiologii, a także neuropatie nerwu sromowego prowadzące do osłabienia siły mięśniowej mięśni dna miednicy [10].

Leczenie n.s. wywołanego przecięciem lub przerwaniem zwieracza zewnętrznego odbytu polega na chirurgicznym zeszcyciu jego końców. U dużej części chorych dochodzi jednak do retrakcji mięśnia, co uniemożliwia chirurgiczne odtworzenie jego ciągłości.

Na podstawie dostępnego piśmiennictwa [1, 5, 8, 13–15] założono, że zastosowanie biomateriału SIS może być pomocne w wypełnieniu ubytku tkankowego tkanką mięśniową w przeciętym zwieraczu odbytu.

Celem pracy była ocena możliwości odtworzenia ciągłości mięśnia zwieracza zewnętrznego odbytu u owiec, po jego przecięciu, z zastosowaniem implantu z biomateriału SIS.

Material i metody

Projekt badania uzyskał pozytywną opinię właściwej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na

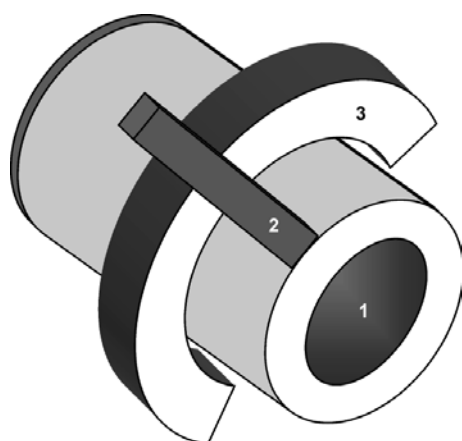
Zwierzętach PAN we Wrocławiu. Badanie przeprowadzono na 15 owcach – samicach, podzielonych na 3 grupy po 5 zwierząt w każdej: grupa A – zwierzęta obserwowane przez 4 tygodnie po wszczepieniu SIS, grupa B – zwierzęta obserwowane przez 6 tygodni oraz grupa C – kontrolna, zwierzęta operowane bez wszczepiania SIS i obserwowane 4 tygodnie.

Zabiegi wykonywano w Katedrze i Klinice Chirurgii Akademii Rolniczej we Wrocławiu.

Zwierzęta były operowane w znieczuleniu ogólnym, dotchawiczym z intubacją, w ułożeniu na lewym boku. Pole operacyjne dezynfekowano wodnym roztworem betadyny i pokrywano serwetami jałowymi.

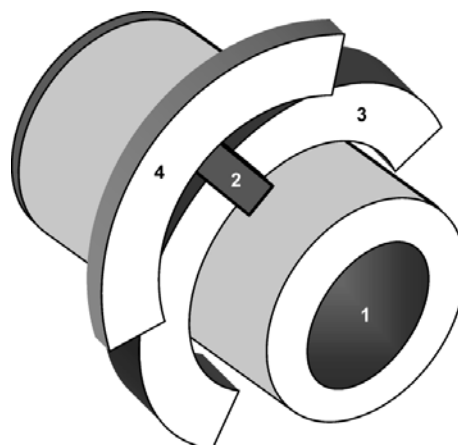
Cięciem skórnym od tyłu odsłaniany zewnętrzny zwieracz odbytu (ryc. 1), następnie zwieracz przecinano całkowicie, zwracając szczególną uwagę na przecięcie wszystkich warstw mięśnia. U zwierząt z grup A i B wykonywano drugie niewielkie cięcie skórne wokół odbytu od przodu i wytwarzano tunel między zwieraczem zewnętrznym odbytu a tkankami otaczającymi. Do tej przestrzeni wprowadzano pasek siatki SIS (Surgisis® Soft Tissue Graft, Cook Biotech Inc, Indiana, USA) o szerokości ok. 1 cm tak, aby otoczył zwieracz, tworząc jednocześnie „mostek”, łączący oba końce przeciętego mięśnia (ryc. 2). Siatkę SIS mocowano do przeciętych końców mięśnia za pomocą pojedynczych szwów (PDS 0000, Ethicon). Cięcia skórne zamykano szwami pojedynczymi wchłanianymi (Vicryl 000, Ethicon).

W grupie kontrolnej (C) wykonywano, podobnie jak w grupach A i B, dwa cięcia skórne, prze-



Ryc. 1. Schemat przecięcia mięśnia zwieracza zewnętrznego odbytu w grupach A, B, C (1 – przekrój poprzeczny odbytu; 2 – płaszczyzna przecięcia; 3 – przebieg mięśnia zwieracza zewnętrznego odbytu)

Fig. 1. Scheme of external sphincter transection in groups A, B and C (1 – transversal section of anus; 2 – plane of sphincter transection; 3 – external sphincter course)



Ryc. 2. Schemat ułożenia biomateriału SIS względem płaszczyzny przeciętego mięśnia zwieracza zewnętrznego odbytu (grupy A i B): 1 – przekrój poprzeczny odbytu; 2 – płaszczyzna przecięcia; 3 – przebieg mięśnia zwieracza zewnętrznego odbytu; 4 – przebieg pasma biomateriału SIS

Fig. 2. Scheme of SIS biomaterial placement regarding transected external sphincter plane (groups A and B): 1 – transversal section of anus; 2 – plane of sphincter transection; 3 – external sphincter course; 4 – SIS biomaterial course

cięcie mięśnia i wytworzenie tunelu, ale do ubytku nie wprowadzano żadnego materiału, rany zamykano szwami skórnymi.

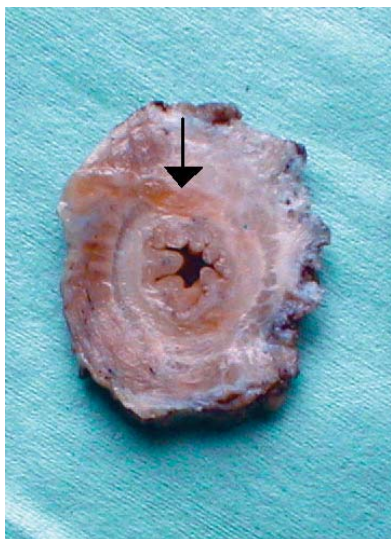
W okresie obserwacji nie zanotowano żadnych powikłań miejscowych ani ogólnych.

Po upływie właściwego dla danej grupy czasu obserwacji pobierano, po podaniu letalnej dawki środków znieczulających, odcinek krocza obejmujący odbyt, bańkę odbytnicy oraz fragment przegrody pochwowo-odbytniczej. Preparaty utrwalano w 10% roztworze formaliny, a następnie krojono w płaszczyźnie poprzecznej do osi odbytu (ryc. 3).

Z przekroju pobierano do badania histopatologicznego wycinek obwodu zawierający tę część odbytu, w której była blizna po przecięciu mięśnia, znajdując ją między widocznymi szwami chirurgicznymi na końcach przeciętego mięśnia.

Preparaty barwiono w sposób typowy hematoxyliną i eozyną. Uzyskany materiał poddano ocenie histologicznej w mikroskopie optycznym. Oceny dokonywano za pomocą systemu komputerowej analizy obrazu MultiScanBase 08.98 sprzężonego z mikroskopem Olympus BX50 i kamerą Sony CCD-IRIS.

W każdym z preparatów odnajdywano mikroskopowo oba końce przeciętego zwieracza, a następnie oceniano budowę histologiczną tkanek wypełniających ubytek. Do oceny nasilenia poszukiwanych cech obrazu mikroskopowego blizny histopatolog stosował wizualną skalę analogową (VAS – *visual analog scale*; ryc. 4). W każ-



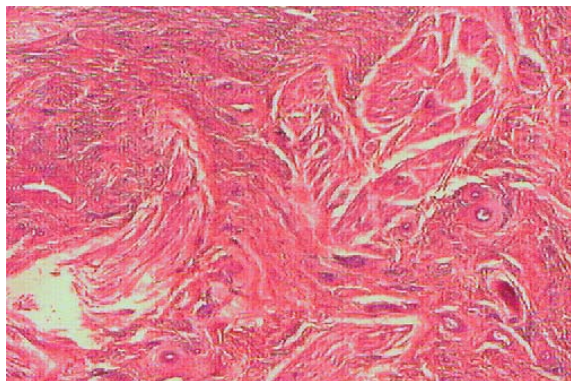
Ryc. 3. Przekrój odbytu obejmujący zwieracz zewnętrzny odbytu w płaszczyźnie prostopadłej do osi odbytu. Strzałką oznaczono bliznę powstałą w miejscu przecięcia zwieracza

Fig. 3. Cross-section of anus, perpendicular to external sphincter section. Arrow indicates the scar in place of sphincter section

0 ————— 10

Ryc. 4. Wizualna skala analogowa zastosowana do oceny obecności wybranych elementów w obrazie mikroskopowym preparatów histopatologicznych. Punkt 0 zdefiniowano jako całkowity brak ocenianej tkanki w preparacie, punkt 10 - cały przekrój blizny wypełniony był ocenianą tkanką

Fig. 4. Visual analog scale used for assessment of presence of selected histopathological elements. 0 point was defined as absence of any trace of selected tissue, 10 point – full scar cross-section was filled with selected tissue



Ryc. 5. Obraz mikroskopowy miejsca implantacji biomateriału SIS, uzyskany w materiale pobranym po 4 tygodniach od zabiegu

Fig. 5. Microscopic view of SIS implantation site, 4 weeks after the procedure



Ryc. 6. Obraz mikroskopowy miejsca implantacji biomateriału SIS uzyskany z materiału pobranego po 6 tygodniach od zabiegu

Fig. 6. Microscopic view of SIS implantation site, 6 weeks after the procedure

dym preparacie oceniano obecność tkanki mięśniowej i łącznej włóknistej w bliznie wypełniającej ubytek.

Wyniki

Ocenę wybranych cech obrazu histopatologicznego z wykorzystaniem wzrokowej skali analogowej (VAS) przedstawiono w tabeli 1.

W preparatach grupy A i B blizna łącznotkankowa na przekrojach poprzecznych miała kształt trójkątny, zwężający się w kierunku miejsca wszczepienia SIS, a w miejscu wszczepienia siatki SIS stwierdzano obecność „pomostu” z włókien mięśniowych poprzecznie prążkowanych, który łączył brzegi przeciętego zwieracza zewnętrznego odbytu.

W grupie A w materiale pobranym po 4 tygodniach w żadnym preparacie nie uwidoczniło elementów strukturalnych biomateriału SIS. We wszystkich preparatach obwodowo zaobserwowano więcej włókien tkanki mięśniowej poprzecznie prążkowanej, a centralnie (od strony światła odbytu) więcej tkanki łącznej włóknistej (ryc. 5).

W grupie B po 6 tygodniach stwierdzono we wszystkich preparatach obecność tkanki mięśniowej poprzecznie prążkowanej o układzie włókien równoległym do włókien zwieracza odbytu. Włókna mięśniowe przeplatały się w całym przekroju z tkanką łączną włóknistą. W porównaniu do preparatów z grupy A obecność tkanki mięśniowej w bliznie zwiększyła się z 1,9 do 2,8 w skali VAS (tab. 1, ryc. 6).

W żadnym preparacie z grupy B nie stwierdzono obecności elementów biomateriału SIS.

W grupie kontrolnej (C) po 4-tygodniowej obserwacji w miejscu ubytku stwierdzono we wszystkich 5 preparatach wyłącznie obecność tkanki łącznej włóknistej. W żadnym z preparatów w gru-

Tabela 1. Ocena w skali VAS obecności tkanek w obrębie pełnościennej ubytku w mięśni zwieracza zewnętrznego odbytu**Table 1.** Assessment of tissue presence in full thickness defect of external anal sphincter with VAS scale

Grupa (Group)	Obecność tkanki mięśniowej poprzecznie prążkowanej (Presence of skeletal muscle tissue)	Wielkość blizny łącznotkankowej (Connective tissue scar size)
A – 4 tygodnie (4 weeks)	1,9 (0,9–3,4)	5,2 (4,1–7,5)
B – 6 tygodni (6 weeks)	6,8 (5,7–8,9)	2,8 (1,7–4,3)
C (kontrolna) – 4 tygodnie C (control) – 4 weeks	0	9,3 (8,6–10,0)

pie C nie stwierdzono w miejscu ubytku obecności włókien mięśniowych poprzecznie prążkowanych.

Omówienie

Biomateriał SIS, jest siatką kolagenową z osadzonymi na powierzchni czynnikami wzrostu tkankowego, które mają pobudzać wzrost tkanki bezpośrednio kontaktującej się z SIS w miejscu wszczepu. Zdolność do neoangiogenezy i zdolność do *smart remodelling*, czyli zdolność do rekonstrukcji tkanek swoistych dla miejsca implantacji pozwalają na zastosowanie SIS do odbudowy różnorodnych histologicznie i czynnościowo tkanek [1–7, 14, 15].

Dodatkowo brak czynnych antygenowo elementów komórkowych w SIS powoduje, że miejscowa reakcja ogranicza się jedynie do niewielkiego stopnia zmian zapalnych [4, 16], także w materiale własnym nie obserwowano zmian zapalnych (nacieków limfocytarnych) w miejscu wszczepienia SIS. Badania przedkliniczne potwierdziły również dużą oporność SIS na nadkażenia bakteryjne w porównaniu do innych materiałów syntetycznych [1].

Udowodniono, że w warunkach *in vitro* komórki pnia pochodzące z tkanki mięśniowej poprzecznie prążkowanej, wszczepione na powierzchnię SIS tworzą włókna mięśniowe i wykazują samoistną kurczliwość [15]. Próbę zastosowania SIS do odbudowy mięśnia poprzecznie prążkowanego podjęto do tej pory w jednym badaniu, w którym nie stwierdzono odbudowy tkanki mięśniowej poprzecznie prążkowanej w obrębie wypełnianego SIS ubytku przepony [8].

W przeprowadzonym badaniu oceniono rodzaj tkanki pojawiającej się w ubytku powstałym wskutek przecięcia mięśnia zwieracza zewnętrznego odbytu owcy po pokryciu ubytku biomateriałem SIS.

W warunkach *in vivo* podstawową tkanką tworzącą bliznę łącznotkankową jest tkanka łączna włóknista. Blizna łącznotkankowa powstaje w krótkim czasie, zastępując tkanki właściwe dla miejsca ubytku.

W grupie badanej miejsce przecięcia pokrywano biomateriałem SIS, który stymulował komórki mięśni poprzecznie prążkowanych do odbudowy tkanki i uzupełniania ubytku. Proces przebiegał równolegle do rozplemu tkanki łącznej włóknistej, czego efektem było powstanie w obrębie ubytku „mostka” złożonego z tkanki mięśniowej poprzecznie prążkowanej i tkanki łącznej włóknistej. W miarę upływu czasu stosunek grubości tkanek zmieniał się na korzyść tkanki mięśniowej. Liczebność grup badanych nie pozwalała na analizę statystyczną materiału, jednak uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić, że implantowany biomateriał SIS, pozostając w kontakcie z tkanką mięśniową poprzecznie prążkowaną w warunkach *in vivo*, może stymulować jej wzrost, doprowadzając do rozplemu włókien mięśniowych poprzecznie prążkowanych w miejscu ubytku.

Wzrost grubości warstwy tkanki mięśniowej w porównaniu do grubości tkanki łącznej w obrębie ubytku w kolejnych obserwacjach pozwala przypuszczać, że końcowym efektem działania SIS może być pełnościenne wypełnienie ubytku przez tkankę mięśniową poprzecznie prążkowaną i częściowe odtworzenie ciągłości mięśnia, co może sprzyjać przywróceniu jego pierwotnej czynności.

Konieczne są dalsze badania zmierzające do ustalenia wartości biomechanicznej i czynnościowej zrekonstruowanego zwieracza odbytu. Uzyskane wyniki mogą stanowić wstęp do dalszych badań nad możliwościami zastosowania rekonstrukcji aparatu zwieraczowego odbytu.

Piśmiennictwo

- [1] Etris-Brown M, Cutshall DM, Hiles MC: A new biomaterial derived from small intestine submucosa and developed into a wound matrix device. *Wounds* 2002, 14, 150–166.
- [2] Badylak SF, Lantz GC, Coffey A, Geddes LA: Small intestinal submucosa as a large diameter vascular graft in the dog. *J Surg Res* 1989, 47, 74–80.

- [3] **Kropp BP, Eppley BL, Prevel CD, Rippey MK, Harruff RC, Badylak SF, Adams MC, Rink RC, Keating MA:** Experimental assessment of small intestinal submucosa as a bladder wall substitute. *Urology* 1995, 46, 396–400.
- [4] **Prevel CD, Eppley BL, Summerlin DJ, Sidner R, Jackson JR, McCarty M, Badylak SF:** Small intestinal submucosa: utilization as a wound dressing in full-thickness rodent wounds. *Ann Plast Surg* 1995, 35, 381–388.
- [5] **Badylak SF, Tulleius R, Kokini K, Shelbourne KD, Klootwyk T, Voytik T, Voytik SL, Kraine MR, Simmons C:** The use of xenogenic small intestinal submucosa as a biomaterial for Achilles tendon repair in a dog model. *J Biomater Mater Res* 1995, 29, 977–985.
- [6] **Kropp BP, Ludlow JK, Spicer D, Rippey MK, Badylak SF, Adams MC, Keating MA, Rink RC, Bihle R, Thor KB:** Rabbit urethral regeneration using small intestinal submucosa onlay grafts. *Urology* 1998, 52, 138–142.
- [7] **Lantz GC, Badylak SF, Hiles MC, Coffey AC, Geddes LA, Kokini K, Sandusky GE, Morff RJ:** Small intestinal submucosa as a vascular graft: a review. *J Invest Surg* 1993, 6, 297–310.
- [8] **Dalla Vecchia L, Engum S, Kogon B, Jensen E, Davis M, Grosfeld J:** Evaluation of small intestine submucosa and acellular dermis as diaphragmatic prostheses. *J Pediatr Surg* 1999, 34, 167–171.
- [9] **Nelson R., Norton N, Cautley E:** Community based prevalence of anal incontinence. *JAMA* 1995, 274, 559–561.
- [10] **Cheetham MJ, Malouf AJ, Kamm MA:** Fecal incontinence. *Gastroenterol Clin N Am* 2001, 1, 115–130.
- [11] **Cook TA, Mortensen UK:** Management of faecal incontinence following obstetric injury. *Br J Surg* 1998, 85, 293–299.
- [12] **Kamm MA:** Obstetric damage and faecal incontinence. *Lancet* 1994, 344, 730–733.
- [13] **Stoll MR, Cook JL, Pope ER, Carson WL, Kreeger JM:** The use of porcine small intestinal submucosa as a biomaterial for perineal herniorrhaphy in the dog. *Vet Surg* 2002, 31, 379–390.
- [14] **Badylak SF:** Xenogenic extracellular matrix as a scaffold for tissue reconstruction. *Transpl Immunol* 2004, 12, 367–377.
- [15] **Badylak S, Kokini K, Tullius B, Simmons-Byrd A, Morff R:** Morphologic study of small intestinal submucosa as a body wall repair device. *J Surg Res* 2002, 103, 190–202.
- [16] **Cobb MA, Badylak SF, Janas W, Boop FA:** Histology after dural grafting with small intestinal submucosa. *Surg Neurol* 1996, 46, 389–393.
- [17] **Voytik-Harbin SL, Brightman AO, Waisner BZ:** Small intestinal submucosa: A tissue-derived extracellular matrix which promotes tissue-specific growth and differentiation of cells *in vitro*. *Tissue Eng* 1998, 4, 157–174.

Adres do korespondencji:

Hanna Gerber-Leszczyszyn
Katedra i Klinika Chirurgii Szcękowo-Twarzowej AM
ul. T. Chałubińskiego 5
50-368 Wrocław

Praca wpłynęła do Redakcji: 20.08.2003 r.
Po recenzji: 28.04.2005 r.
Zaakceptowano do druku: 13.05.2005 r.

Received: 20.08.2003
Revised: 28.04.2005
Accepted: 13.05.2005