

# **Zastosowanie implantu kolagenowego w rekonstrukcji powłok jamy brzusznej na modelu zwierzęcym. Doniesienie wstępne**

Aleksander Łukasiewicz<sup>1</sup>, Tomasz Drewa<sup>2</sup>, Joanna Skopińska-Wiśniewska<sup>3</sup>,  
Stanisław Molski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej i Naczyń, Collegium Medicum,  
Uniwersytet im. Mikołaja Kopernika w Toruniu

<sup>2</sup>Zakład Inżynierii Tkankowej, Katedra Biologii Medycznej, Collegium Medicum,  
Uniwersytet im. Mikołaja Kopernika w Toruniu

<sup>3</sup>Zakład Chemii i Fotochemii Polimerów, Wydział Chemii, Uniwersytet im. Mikołaja  
Kopernika w Toruniu

---

## **Streszczenie**

Plastyka powłok jamy brzusznej z powodu przepukliny jest jedną z najczęściej wykonywanych operacji chirurgicznych. Współcześnie uważa się, że najlepsze wyniki leczenia uzyskuje się przy użyciu materiału syntetycznego do rekonstrukcji osłabionej ściany jamy brzusznej. Użycie materiału protetycznego indukuje powstawanie zrostów pomiędzy implantem, a leżącymi poniżej trzewiami. Celem naszej pracy była ocena, czy wszczepiona w ubytek w powłokach jamy brzusznej szczura łąta kolagenowa indukuje powstawanie zrostów. Płynny roztwór kolagenu uzyskany w procesie ekstrakcji więzadeł ogonowych szczurów w kwasie octowym wylewano na folię polietylenową, a następnie suszono. Wyszuszony w formie cienkich arkuszy kolagen używano w dalszych doświadczeniach.

Ubytki w powłokach jamy brzusznej wytworzono u 10 szczurów, samcach rasy Wistar. W te miejsca przy użyciu pojedynczych szwów polipropylenowych wszywano płaty kolagenu. Po 3 miesiącach od operacji zwierzęta usypiano i dokonywano makroskopowej oceny jamy brzusznej, a następnie mikroskopowej oceny preparatów błony kolagenowej. W żadnym przypadku nie doszło do wytworzenia się zrostów pomiędzy strukturą łąty a jelitami. U jednego szczura (10%) zaobserwowano wytworzenie się zrostu pomiędzy szwem użytym do umocowania implantu a

siecią. We wszystkich przypadkach wewnętrzna powierzchnia błony pokryta była w całości komórkami mezotelium, a w jej obrębie wytworzyły się nowe naczynia krwionośne. Uzyskane zachęcające wyniki wymagają potwierdzenia na większej liczbie zwierząt.

**Słowa kluczowe:** przepukliny, chirurgia, inżynieria tkankowa

---

## **Abdominal wall reconstruction with collagen membrane in an animal model of abdominal hernia, a preliminary report**

### **Summary**

Abdominal hernia repair is one of the most common surgical procedures. Current data indicate that the best treatment results are achieved with use of synthetic material to reinforce weakened abdominal wall. Prosthetic materials utilized for hernia repair induce adhesions with underlying viscera. They should be therefore separated from them by a layer of peritoneum otherwise adhesions may cause to serious complications such as bowel-skin fistulas. The aim of our work was to determine if implantation of our collagen membrane into abdominal wall defect induce adhesions in rat model of ventral hernia. The collagen film was obtained by acetic acid extraction of rat tail tendons and than casting the soluble fraction onto polyethylene sheets. Abdominal wall defect was created in 10 Wistar male rats.

Collagen membranes were implanted into the defect using interrupted polypropylene stitches. After 3 months of observation all animals were sacrificed. No adhesions between path structure and bowel developed. In one of ten rats (10%) developed adhesion between fixating stitch and omentum was observed. Complete mesothelium lining and vascular ingrowth were microscopically observed within implanted structure. Promising result requires further confirmation in a larger series of animals.

**Key words:** hernia, surgery, tissue engineering

---

## **WSTĘP**

Współczesne metody leczenia przepuklin powłok jamy brzusznej opierają się na użyciu materiału syntetycznego, który zastępuje uszkodzoną warstwę powięziową. Najczęściej używane są w tym celu siatki polipropylenowe [1]. W czasie procesu wgajania siatki następuje intensywny wzrost komórek mezenchymalnych w oczka siatki. Postępujące włóknienie obejmujące siatkę i jej sąsiedztwo dodatkowo wzmacnia ścianę jamy brzusznej. Proces ten odpowiada również za powstawanie zrostów pomiędzy powierzchnią siatki, a leżącymi poniżej trzewiami [2], co w niektórych sytuacjach może doprowadzać do wystąpienia niedrożności przewodu pokarmowego lub przetoki jelitowo-skórnej [3]. W celu zapobieżenia takim powikłaniom stosuje się różne rodzaje implantów, jednakże uzyskiwane wyniki nie są w pełni zadowalające [1, 4].

## **Cel pracy**

Celem pracy była ocena, czy łąta wykonana z kolagenu uzyskanego metodą ekstrakcji w kwasie octowym, wszczepiona w ubytek w powłokach jamy brzusznej szczura, indukuje powstawanie zrostów z trzewiami jamy brzusznej.

## **MATERIAŁ I METODA**

Protokół badania został zaaprobowany przez lokalną komisję bioetyczną. Kolagen do wytworzenia łąty uzyskano ze ścięgien ogonowych szczurów, wykorzystanych w innych eksperymentach. Ścięgna były poddawane działaniu 0,1 M kwasu octowego, a następnie wirowane z prędkością 10000 obr/min. Część płynną zawierającą rozpuszczony kolagen oddzielano, a następnie wylewano na płyty folii polietylenowej. Po odparowaniu rozpuszczalnika kolagen przyjmował formę cienkich arkuszy (ryc. 1) i w temperaturze pokojowej był przechowywany do czasu użycia.

Badania przeprowadzono na 10 samcach szczurów rasy Wistar, o przeciętnej wadze 250g. Wszystkie zwierzęta na czas zabiegu były znieczulane dootrzewnowo pentobarbitem (dawka 15mg/kg). Skórę dezynfekowano roztworem chlorheksydyny w 10% alkoholu etylowym. Dodatkowo miejsce operacji było znieczulane nasiękowo 0,2% roztworem lignokainy. Po przecięciu skóry ostrożnie wycinano owalny otwór o średnicy 6 cm<sup>2</sup>, który obejmował mięśnie, powięzie oraz otrzewną. Wilgotną łątę kolagenową (15 min kąpieli w roztworze PBS, Sigma-Aldrich), wszywano w ubytek przy pomocy pojedynczych szwów polipropylenowych 7-0

(Prolene®, Ethicon). Po uzyskaniu hemostazy ranę skórną zszywano szwem ciągłym, niewchłanianym 4-0 (Amifil®, SINPO).

Zwierzęta obserwowano przez okres trzech miesięcy, a następnie usypiano w atmosferze 95% CO<sub>2</sub>. Z osobnego cięcia otwierano i rewidowano jamę brzuszną w poszukiwaniu zrostów. Następnie odsłaniano miejsce operacji i wycinano tkanki odpowiadające lokalizacją wcześniej wszczepionej błonie kolagenowej, poddawano ocenie makroskopowej, a następnie wysyłało do badania mikroskopowego w barwieniu hematoksyliną i eozyną (H-E).

## WYNIKI I DYSKUSJA

Wszystkie zwierzęta przeżyły operację i okres 3-miesięcznej obserwacji. W przebiegu pooperacyjnym u wszystkich zwierząt wystąpiła przepuklina w miejscu wytworzonego ubytku. W żadnym przypadku nie stwierdzono obecności zrostów pomiędzy łata kolagenową a jelitem. W jednym przypadku wytworzył się zrost pomiędzy szwem użytym do umocowania łaty, a siecią (ryc. 2) - stopień 1 skali ciężkości zrostów wg Jenkinsa [5]. Powodem wystąpienia przepukliny w miejscu wytworzonego ubytku była bez wątpliwości delikatna struktura wszytej łaty kolagenowej.

Celem naszej pracy na tym etapie była przede wszystkim ocena, czy użycie łaty kolagenowej spowoduje wytworzenie się zrostów pomiędzy powłokami a narządami jamy brzusznej, a nie czy zastosowana łata zapobiegnie powstawaniu przepukliny. W dalszych etapach planujemy zastosowanie łat kolagenowych obsianych komórkami mezenchymalnymi. Opierając się na wcześniejszych doświadczeniach z siatkami z kwasu poliglikolowego obsiewanymi fibroblastami spodziewamy się, że taka modyfikacja może poprawić właściwości mechaniczne stosowanej przez nas błony i zapobiec powstaniu przepukliny [6].

Badanie histologiczne wykazało obecność ciągłej warstwy mezothelium pokrywającej wewnętrzną powierzchnię łaty (ryc. 3). W barwieniu H-E nie stwierdzono obecności włókien mięśniowych w obrębie łaty, zaobserwowano natomiast rozwiniętą bogatą sieć naczyń krwionośnych (ryc. 4). Proces neoangiogenezy obecny w obsiewanych matrycach używanych w inżynierii tkankowej wspomaga przeżycie komórek. Potwierdza biokompatybilność stosowanych struktur oraz wspomaga rozrost komórek w obrębie stosowanego wszczepu. Przeżycie i wzrost komórek w wytworzonych w warunkach *in vitro* implantach, jest jednym z podstawowych czynników odpowiedzialnych za ich późniejszą prawidłową funkcję [7].

## WNIOSKI

1. Zastosowanie błony kolagenowej otrzymanej w procesie ekstrakcji w kwasie octowym może zapewnić ochronę przed wytworzeniem się zrostów, w przypadkach operacji naprawczych przepuklin brzusznych.
2. Należy przeprowadzić dalsze badania celem pełnej oceny zastosowanego implantu w leczeniu przepuklin brzusznych.

## LITERATURA

- [1] Sikkink C. J., Vries de Reilingh T. S., Malyar A. W., Jansen J. A., Bleichrodt R. P., van Goor H.: Adhesion formation and reherniation differ between meshes used for abdominal wall reconstruction. *Hernia* (2006), 10, 218–222.
- [2] van't Riet M., de Vos van Steenwijk P. J., Bonthuis F., et al.: Prevention of adhesion to prosthetic mesh: comparison of different barriers using an incisional hernia model. *Ann. Surg.* (2003), 237, 123–128.
- [3] Mathes S. J., Steinwald P. M., Foster R. D., Homan W. Y., Anthony J. P.: Complex abdominal wall reconstruction: A comparison of flap and mesh closure. *Ann. Surg.* (2000), 232, 586–596.
- [4] Judge T. W., Parker D. M., Dinsmore R. C.: Abdominal Wall Hernia Repair: A Comparison of Sepramesh and Parietex Composite Mesh in a Rabbit Hernia Model. *J. Am. Coll. Surg.* (2007), 204, 276–281.
- [5] Jenkins S. D., Klammer T. W., Parteka J. J., et al.: A comparison of prosthetic materials used to repair abdominal wall defects. *Surgery*. (1983), 94, 392–398.
- [6] Drewa T., Galazka P., Prokurat A., Wolski Z., Sir J., Wysocka K., Czajkowski R.: Abdominal wall repair using a biodegradable scaffold seeded with cells. *J. Pediatr. Surg.* (2005), 40, 317–321.
- [7] Drewa T., Sir J., Czajkowski R., Wozniak A.: Scaffold seeded with cells is essential in urothelium regeneration and tissue remodeling in vivo after bladder augmentation using in vitro engineered graft. *Transplant. Proc.* (2006), 38, 133–135.

Adres do korespondencji

Aleksander Łukasiewicz

Szpital Uniwersytecki im. dr. A. Jurasza

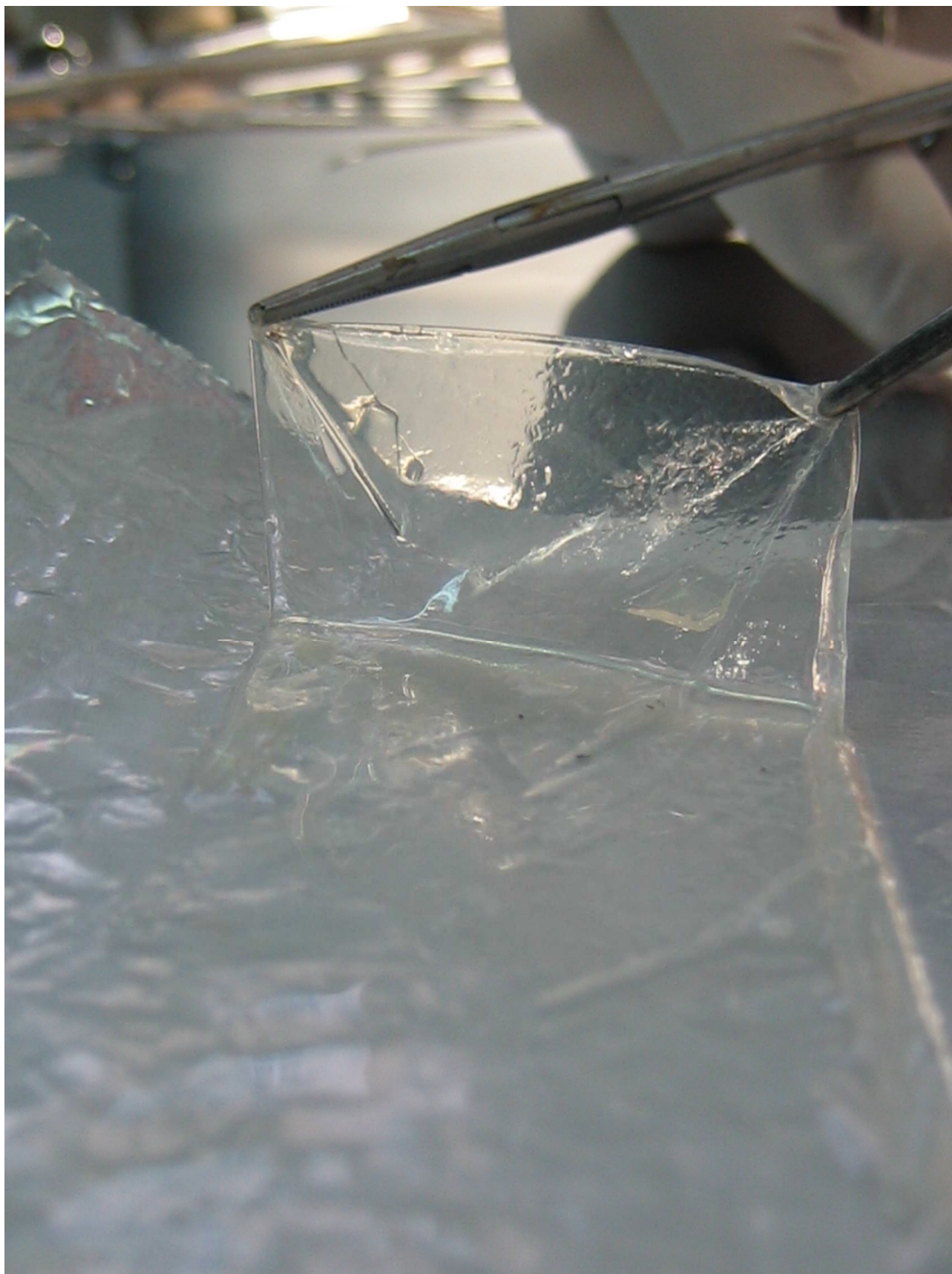
Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej i Naczyn

Ul. M. Skłodowskiej-Curie 9

85-094 Bydgoszcz, Polska

Tel. +48525854040, Fax. +48525854051

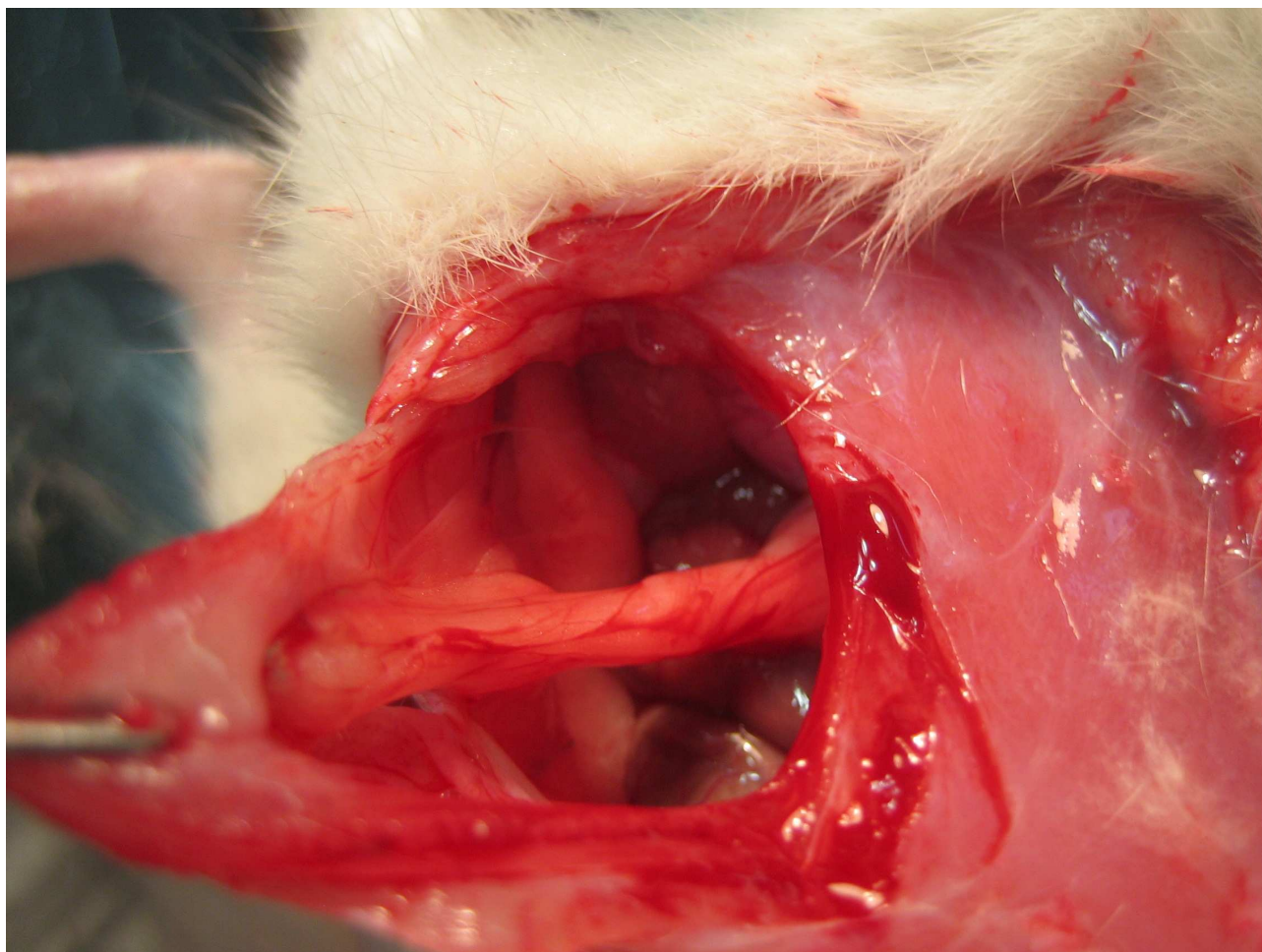
e-mail: alukasiewicz@wp.p



Ryc.1. Łata kolagenowa przed implantacją

Fig. 1. Collagen membrane sheet prior implantation

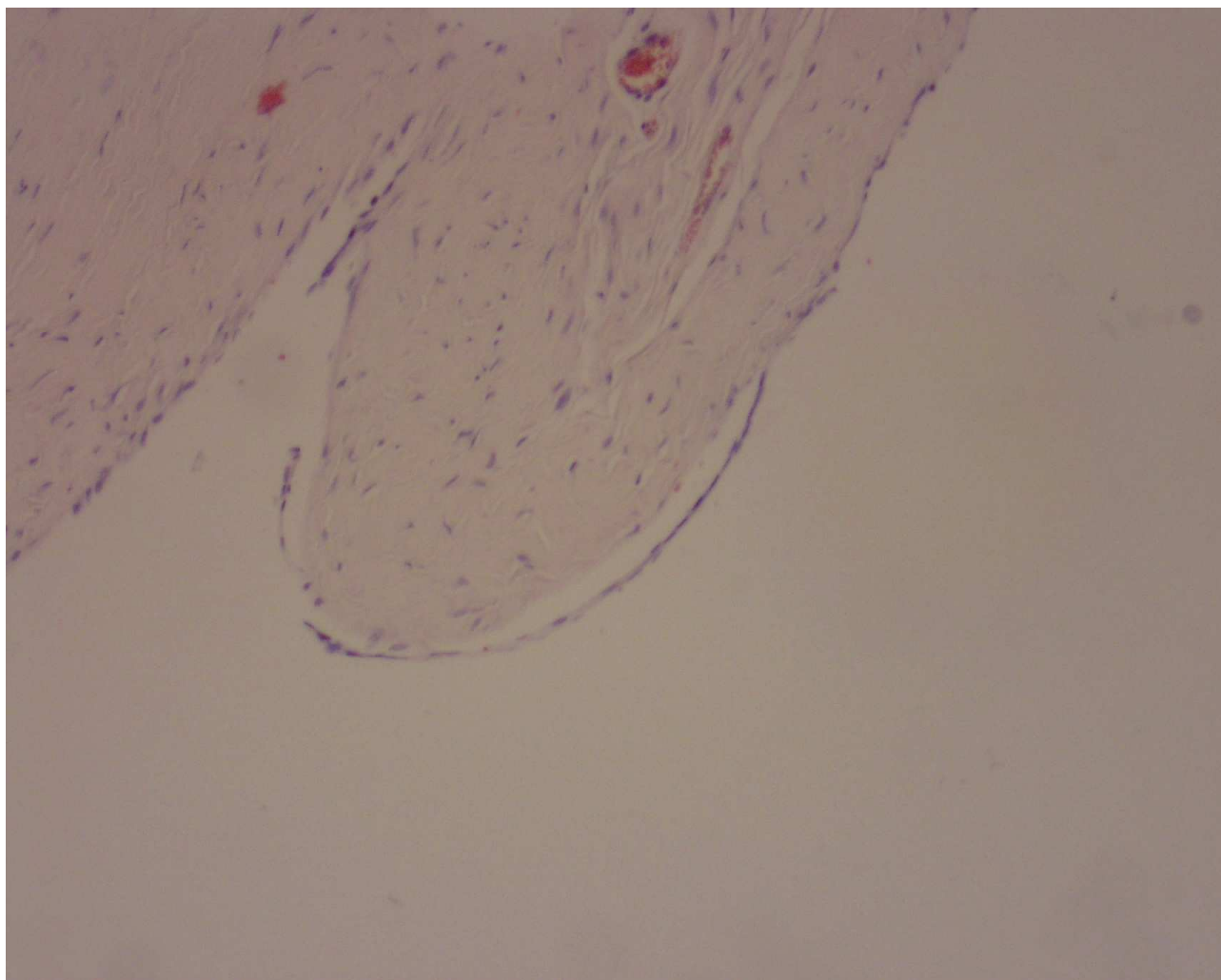




Ryc. 2. Zrost pomiędzy siecią a ścianą jamy brzusznej

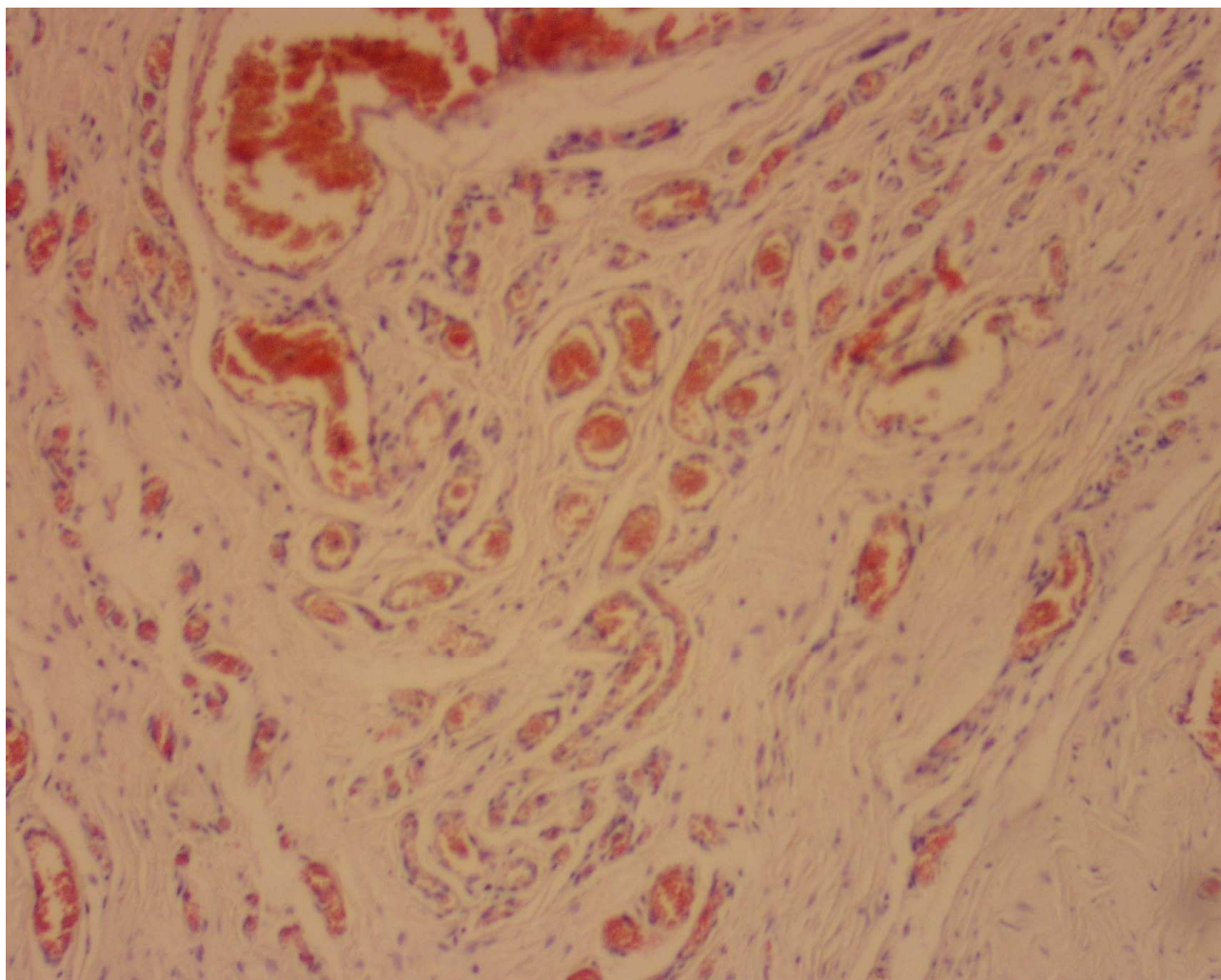
Fig. 2. Adhesion between omentum and abdominal wall





Ryc. 3. Mezotelium wyścielające wewnętrzną powierzchnię łaty. Barw. HE, pow. 120x

Fig 3. Mesothelial lining of internal membrane surface. Stain. HE, magn. 120x



Ryc. 4. Bogata sieć naczyń krwionośnych obserwowana po 3 miesiącach. Barw. HE, pow. 120x

Fig. 4. Rich vessel network observed after 3 months. Stain. HE, magn. 20x