استخدام غشاء تحت المخاطية للمعي الدقيق للضأن لإصلاح التلف التجريبي لوتر أخيل في الكلاب المحلية

فؤاد مؤيد محمد البارودي
كلية الطب البيطري/ جامعة الموصل

الخلاصة

لغرض معرفة تأثير غشاء تحت المخاطية للمعي الدقيق المستخلص من الضأن لإصلاح التلف التجريبي لوتر اخيل في الكلاب، أجريت هذه الدراسة على اثنتي عشر من السلالات المحلية للكلاب البالغة والسليمة من الناحية السريرية ومن كلا الجنسين، قسمت عشوائيا إلى مجموعتين متساويتين. المجموعة الأولى: تم استحداث قطع حاد عرضي في الجزء الوسطي لوتر اخيل ومن ثم خياطته باستعمال خياطة بعيد– قريب– قريب– بعيد لتقريب نهايتي الوتر المقطوعة وعدت كمجموعة سيطرة. المجموعة الثانية: مشابها للمجموعة الأولى ما عدا ان منطقة القطع تم تغليفها بالكامل بغشاء تحت المخاطية للمعي الدقيق للضأن المحضرة ميكانيكيا. تم متابعة جميع الحالات سريريا وعيانيا ومن ثم تم اخذ العينات للتقطيع النسجي المرضي للأيام (15، 30، 60). أظهرت نتائج الفحص السريري بعدم حصول خمج موضعي وانفتاح الجرح لمنطقة العملية، ومن نتائج الفحص العياني تم ملاحظة عدم حصول الالتصاقات بين الوتر والأنسجة المجاورة له مع اختفاء كامل للغشاء تحت المخاطية للمعي الدقيق حول منطقة العملية وحصول التئام بسمك نحيف وكامل لنهايتي الوتر المقطوعة، ومن نتائج الفحص النسجي المرضي لمنطقة الاتصال تم ملاحظة الياف الغراوين قوية منتظمة مع كثرة الشعيرات الدموية وانتشار خلايا الغراوين وانتظامها خلال الياف الوتر الأصلي وحصول تعضية وامتصاص لمعظم الغشاء تحت المخاطية مع غياب للتفاعل الالتهابي لمنطقة العملية في مجموعة المعالجة مقارنة مع مجموعة السيطرة خلال مدة المتابعة.

الكلمات المفتاحية: الضأن، غشاء تحت المخاطية للمعي الدقيق، وتر اخيل، كلاب.

Using of ovine small intestinal submucosa for repairing experimental defect of Achilles tendon in indigenous dogs

F. M. Mohammed
College of Veterinary Medicine\ University of Mosul

Abstract

The present study was done on twelve adult local breed dogs of both sexes to detect the effect of ovine small intestinal submucosa for repairing the Achilles tendon defect in dog; they were divided randomly into two equal groups. First group: induce acute transverse cut at mid shift of Achilles tendon then the defect of tendon was sutured with far-near-near-far suture technique to approximate the cut ends and this group was considered as a control group. Second group: Same manners of first group were considered except the site of operation wrapped completely with ovine small intestinal submucosa which prepared mechanically. All cases were detected clinically, grossly and histopathologically at different periods (15,30and60) days. The results showed no local infection or wound dehiscence at the site of operation. Macroscopically there were no adhesion between the Achilles tendon and surrounding tissue and absorption of ovine small intestinal submucosa layer around the site of operation and achieved a thin and complete healing of two incisional tendon ends. Histopathologically there were regular tensile collagen fibers, prominent vertical capillaries and moderate fibroblast distribution and attached with tendon fiber, there is organization and absorption of most

of the graft tissue with absence of inflammatory reaction in treatment group compare with control group during detection time.
Keywords: Ovine, Small intestinal submucosa, Achilles tendon, dogs.
E-mail: Fouadmm1975@yahoo.com

المقدمة

يعد وتر اخيل (Achilles tendon) من الأوتار القوية التي تد خل ضمن تركيبة الجهاز الهيكلي العظمي للكلاب. وان وظيفته الأساسية هي لتقريب الأطراف الخلفية بالتعاقب كما ويساهم في الإسناد السلبي لمفصل العرقوب(1). ان السبب الرئيسي لتلف وتر اخيل في الكلاب هي الإصابات الكلمية المؤلمة وان شدة الإصابة ينتج عنها تمدد الوتر مع تهتك جزئي أو صغير والذي ينتج عنة تمزق كلي لوتر اخيل (2، 3). ان إصابات الأوتار تعد من الأمور التي لها شان كبير في عمليات جراحة العظام وذلك لقلة توفر الطعم الذاتية (Auto graft) لإصلاح الأوتار المصابة(4). حاليا فان العلاج الجراحي للوتر يرافقه العجز وعدم القدرة على إعادة وتر اخيل المتمزق إلى وضعه الطبيعي (5، 6). ومهما يكن فان تمزق وتر اخيل في الكلاب ينتج عنه مشاكل صعبة في إعادة تشكيلة وان الخطوات الناجحة لإعادة تشكيل الوتر لابد ان تمتلك القدرة الكافية لإعطاء الوتر القوة المناسبة والمتانة والتوتر الجيد لديمومة العمل الحيوي لوتر اخيل (4). ان معظم العمليات الجراحية الحديثة المستخدمة لالتئام الوتر مثل الترقيع الذاتي للفافة اتا (Fascha–lata) (7) الطية الحرة الفخذية الوحشية الأمامية (Antero–lateral thigh free flap) (8) ينتج عنها مضاعفات بعد العملية الجراحية(4). لذلك استخدم الباحثون مادة حيوية مستخلصة من أمعاء الخنازير قادرة على تجديد وإعادة تشكيل الوتر بصورة كاملة، وهذه المادة تسمى الغشاء تحت المخاطية للأمعاء الدقيقة للخنازير أو المادة خارج الخلية (extracellular matrix) وهي مادة متعدد الطبقات ذات طعم أجنبي (Xenograft) ومستخلصة من الغشاء تحت المخاطية لأمعاء الخنازير وقد استخدمت لعقود طويلة في مجال الطب البيطري والبشري وتكون بمثابة سقالات (Scaffold) لنمو أنسجة جديدة. وقد تم استخدامها تجريبيا في الحيوانات مثل ترقيع الأوعية الدموية (9)، وإصلاح جدار البطن (10، 11)، المثانة (12) وإعادة تشكيل المريء (13)، وفي جراحة العظام، وقد استخدمت بنجاح في إعادة تجديد تلف اللفافة (14) والأربطة (15) والأوتار (16). ولا يوجد هنالك أي مصدر حسب المتوفر لدينا يشير إلى استخدام طبقة تحت المخاطية للأمعاء الدقيقة للضأن لالتئام التلف المحدث لوتر اخيل في الكلاب. وان الهدف من هذه الدراسة هو تحديد مدى فعالية استخدام الطبقة تحت المخاطية للأمعاء الدقيقة للضأن لإصلاح التلف التجريبي لوتر اخيل في الكلاب.

المواد وطرائق العمل

شملت الدراسة اثنا عشر كلبا ذوات التربية المحلية ومن كلا الجنسين، وتراوحت معدلات أوزانها وأعمارها بين 9 – 25 كغم ±1.41، 10–18 شهرا ± 1.11 على التوالي. وضعت الحيوانات في بيت الحيوانات التابع لكلية الطب البيطري، جامعة الموصل. تم فحص جميع الحيوانات للتأكد من خلوها من الأمراض. قبل العملية الجراحية، تم تصويم الحيوانات عن الطعام لمدة 12 ساعة وعن الماء لمدة ساعتين. قسمت حيوانات التجربة عشوائيا إلى مجموعتين رئيسيتين وعلى النحو التالي: **مجموعة السيطرة:** تم إجراء قطع عرضي حاد في منتصف وتر اخيل ومن ثم خياطته بخيط النايلون وبتقنية خياطة بعيد– قريب– قريب– بعيد (Far–near–near–far) وتركت من دون معالجة. **مجموعة المعالجة:** تم إجراء قطع عرضي حاد في منتصف وتر اخيل ومن ثم خياطته بخيط النايلون وبتقنية خياطة بعيد– قريب– قريب– بعيد(Far–near–near–far). ومن ثم تم تغليف منطقة القطع بغشاء تحت المخاطية للمعي الدقيق للضأن المحضرة مسبقا. حضر الغشاء تحت مخاطية للأمعاء الدقيقة اعتمادا على (17)، من الصائم للضأن حالا بعد مرور 4 ساعات عن الذبح (الشكل 1) . وللمحافظة على حيوية العينة تم تغليف

الصائم الداني بواسطة الشاش الجراحي المشبع بمحلول الملح الفسلجي المعقم بدرجة حرارة 4 مئوية وبعد إزالة جميع الأنسجة المساريقية، تم تحضير الغشاء تحت المخاطية من خلال الفصل الميكانيكي لطبقة تحت المخاطية من الطبقة العضلية الخارجية وطبقة المخاطية الداخلية وبحركة طولية باستخدام المشرط الجراحي والقطن المعقم (18) ومن ثم طهرت العينة (disinfected) وأزيلت الخلايا منها (decellularized) بوضعها بمحلول مائي لحامض الخليك بتركيز 0.1٪ (peraceticacid) لمدة 2 ساعة ومن ثم تعقيمها بالكحول الإيثيلي 70٪ لمدة 18 ساعة وثم جمدت وجففت بوضعها في الماء المقطر عند 4 مْ ومن ثم إعادة ترطيبها بوضعها في الملح الداريء الفوسفاتي (phosphate buffered saline) لمدة 20 دقيقة قبل الاستخدام (الشكل 2).

شكل (1) يوضح الصائم للضأن قبل التحضير

شكل (2) يوضح الطبقة تحت المخاطية للأمعاء الدقيقة للضأن بعد التحضير

أجريت العملية الجراحية تحت التخدير العام باستخدام اتروبين سلفيت بجرعة 0.04 ملغم/ كغم من وزن الجسم وبعد عشرة دقائق تم استخدام مزيج من الزيلازين 2% بجرعة 3 ملغم/ كغم من وزن الجسم والكيتامين 5% بجرعة 10ملغم/ كغم من وزن الجسم حقنا بالعضل(19)، يوضع الحيوان بوضع الاستلقاء الجانبي، إذ تم تهيئة الطرف الخلفي الأيمن جراحيا ومن ثم تم حقن المضاد الحيوي البنسلين الستربتومايسين بالعضل بجرعة (10000 وحدة دولية، و10 ملغم/ كغم) على التوالي، وذلك قبل 30 دقيقة من العملية الجراحية (20)، وتم عمل قطع جراحي بطول 5 سم في الجلد واللفافة تحت الجلد في الجانب الخلفي من الطرف، للوصول إلى وتر أخيل وفصله عن الأنسجة المحيطة به. ومن ثم تم عمل قطع جراحي طولي بالنسيج حول الوتر لإظهار وتر اخيل وتم عمل قطع جراحي حاد في منتصف الوتر اخيل بواسطة مشرط جراحي لفصل طرفي الوتر (الشكل 3) ثم تم خياطة طرفي الوتر بخيط جراحي غير ممتص النايلون (Nylon) حجم (3.0) باستخدام تقنية خياطة بعيد–قريب–قريب–بعيد (Far–near–near–far) ومن ثم تم خياطة الأنسجة تحت الرخوة والجلد روتينيا وتركت من دون معالجة كمجموعة سيطرة، بينما في مجموعة المعالجة اتبعت نفس الخطوات كما في مجموعة السيطرة ثم تم تغليفها بواسطة الطبقة تحت المخاطية للضأن بسمك 10×30 ملم وثبتت بغرز حول منطقة القطع باستخدام خيط قصابة الكروم حجم 3.0 بتقنية الخياطة المتقطعة البسيطة (الشكل 4) ثم تم خياطة الغمد حول الوتر واللفافة تحت الجلد بخيط قصابة الكروم حجم 3.0 وبتقنية الخياطة البسيطة المستمرة وتم خياطة الجلد باستخدام خيط الحرير حجم 1 وبتقنية الخياطة البسيطة المتقطعة وبعدها تم لف منطقة الجرح بالشاش المعقم واستخدمت الجيرة الخارجية plaster of (paris) كوسيلة تثبيت للقائمة الخلفية. تم حقن المضاد الحيوي البنسلين الستربتومايسن بالعضل بجرعة 10000 وحدة دولية، و10 ملغم/ كغم على التوالي لمدة 5 أيام متتالية بعد العملية الجراحية، وقد سجلت جميع الملاحظات السريرية والمجهرية والعيانية بعد العملية الجراحية.

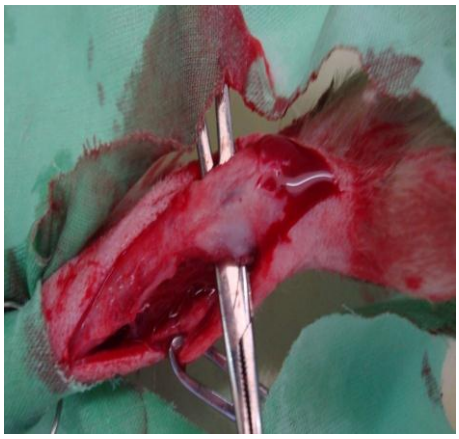
شكل (3) يوضح عمل قطع جراحي حاد في وتر اخيل

شكل (4) يوضح تثبيت الطبقة تحت المخاطية للضأن بغرز حول منطقة القطع

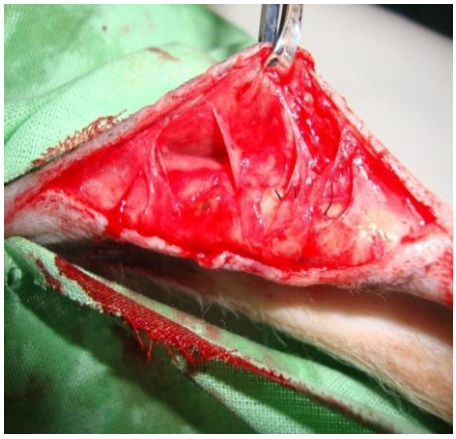
أخذت العينات للتقطيع النسجي المرضي للفترات 15، 30، 60 يوم بعد العملية الجراحية من موقع العملية لكلا المجموعتين السيطرة والمعالجة وحضرت بالطريقة الروتينية وصبغت باستخدام صبغتي الهيماتوكسلين والايوسين لملاحظة اهم التغيرات المرضية النسجية الحاصلة على عملية الالتئام تحت المجهر الضوئي(21).

النتائج

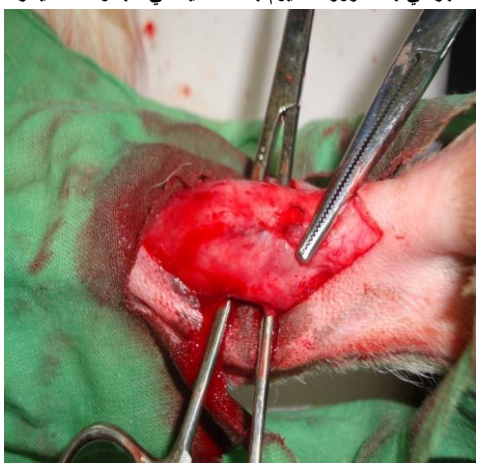
أن جميع الحيوانات المعالجة في مجموعتي السيطرة والمعالجة كانت تبدو بحالة صحية جيدة وبنشاط وشهية طبيعية. أظهرت الحيوانات في المجموعة الأولى عرجا سريريا والذي استمر لمدة 1–3 أيام بعد العملية بينما في المجموعة الثانية عانت الكلاب عرجا شديدا والذي استمر لمدة 1– 10 يوم مع انثناء وسحب الحيوان للطرف المصاب وعدم قدرته على وضع وزنه على الطرف المصاب، وبعد ذلك استطاع الحيوان الوقوف على طرفه المصابة قليلا وتحسنت حالتها تدريجيا بعد مرور 7–10 أيام و12–15 يوما في المجموعة الأولى والمجموعة الثانية بعد العملية على التوالي. وأظهرت نتائج الدراسة السريرية أيضا وجود احمرار طفيف وتورم في موقع العملية في المجموعة الأولى وقد اختفى هذا التورم بعد مرور 4–5 (4.5 ± 0.5) أيام بعد العملية، بينما في المجموعة الثانية كان هناك احمرار متوسط وتورم في موقع العملية، واستمرت لمدة 10–15 (12.5 ± 0.4) يوم ثم اختفى التورم ورجع الطرف إلى حالته الطبيعية وتم إزالة الخيط الجراحي بعد مرور 14 يوما بعد العملية الجراحية. أظهرت الملاحظات العيانية في موقع العملية قبل اخذ الخزعة النسجية وبعد مرور 15 يوم بعد العملية لمجموعة السيطرة إلى وجود التصاق بسيط بين وتر اخيل والأنسجة المحيطة به مع التئام جزئي لطرفي الوتر المقطوع مع وجود الخيط الجراحي شكل (5)، وبعد مرور 30 يوم بعد العملية لوحظ وجود التصاق شديد بين وتر اخيل والأنسجة المحيطة به مع تثخن وتورم حول موقع القطع مع وجود الخيط الجراحي الشكل (6). وبعد مرور 60 يوما بعد العملية لوحظ وجود التصاق شديد مع تراكم النسيج اليفي حول موقع العملية مع الشفاء للوتر المقطوع الشكل (7). أما في مجموعة المعالجة فأظهرت عيانيا ومن خلال الفتح الجراحي لموقع العملية وبعد مرور 15 يوما لوحظ وجود التصاق بسيط بين وتر اخيل والأنسجة المحيطة به مع التئام جزئي لطرفي الوتر المقطوع بالإضافة إلى وجود الخيط الجراحي والطبقة تحت المخاطية للأمعاء الصغيرة للضأن حول موقع العملية الشكل (8)، بعد 30 يوما بعد العملية الجراحية لوحظ وجود التصاق والتئام كامل لطرفي الوتر المقطوع إضافة إلى وجود الخيط الجراحي مع اختفاء الطبقة تحت المخاطية الأمعاء الصغيرة للضأن حول موقع العملية الشكل (9) وبعد 60 يوما بعد العملية الجراحية لوحظ عدم وجود التصاق بين وتر اخيل والأنسجة المحيطة به مع اختفاء كامل للطبقة تحت مخاطية الأمعاء الصغيرة للضأن حول موقع العملية مع وجود الخيط الجراحي وحصول التئام كامل وبسمك نحيف لطرفي الوتر المقطوع الشكل (10).



شكل (5) يوضح وجود التصاق بسيط بين وتر اخيل والأنسجة المحيطة به مع التئام جزئي لطرفي الوتر المقطوع ووجود الخيط الجراحي بعد مرور15 يوم بعد العملية في مجموعة السيطرة

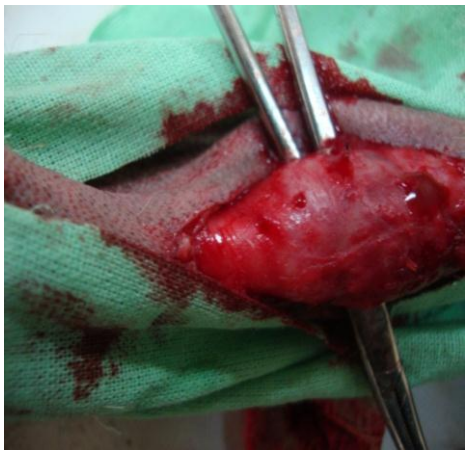


شكل (6) يوضح وجود التصاق شديد بين وتر اخيل والأنسجة المحيطة به مع تثخن وتورم حول موقع القطع ووجود الخيط الجراحي بعد مرور30 يوم بعد العملية في مجموعة السيطرة



شكل (7) يوضح وجود التصاق شديد مع تراكم النسيج الليفي حول موقع العملية مع الشفاء للوتر المقطوع بعد مرور 60 يوما بعد العملية في مجموعة السيطرة

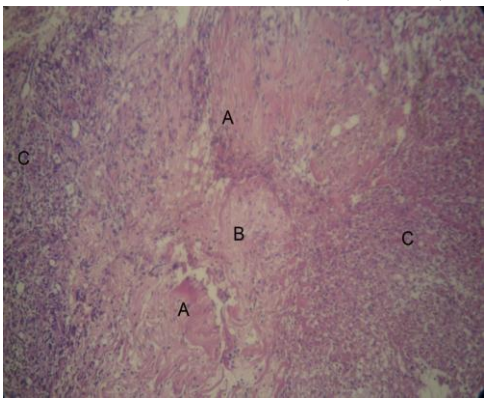
شكل (8) لوحظ جود التصاق بسيط بين وتر اخيل والأنسجة المحيطة به مع التئام جزئي لطرفي الوتر المقطوع بالإضافة إلى وجود الخيط الجراحي والطبقة تحت مخاطية الأمعاء الصغيرة للأغنام بعد مرور 15 يوما في مجموعة المعالجة



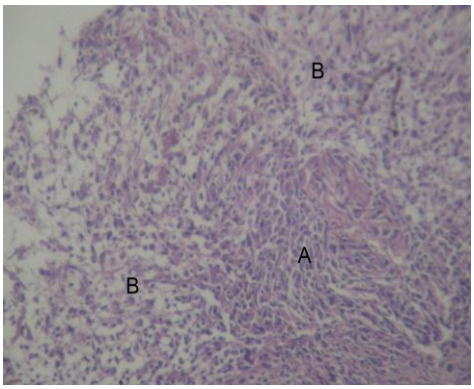
شكل (9) لوحظ وجود التصاق والتئام لطرفي الوتر المقطوع إضافة إلى وجود الخيط الجراحي مع اختفاء الطبقة تحت مخاطية للأمعاء الصغيرة حول موقع العملية بعد 30 يوما بعد العملية في مجموعة المعالجة

شكل (10) لوحظ عدم وجود التصاق بين وتر اخيل والأنسجة المحيطة به مع اختفاء كامل للطبقة تحت مخاطية للأمعاء حول موقع العملية مع وجود الخيط الجراحي وحصول التئام كامل وبسمك نحيف لطرفي الوتر المقطوع بعد 60 يوما بعد العملية الجراحية في مجموعة المعالجة

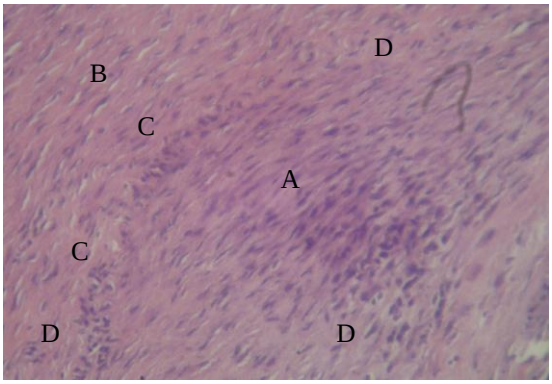
أظهرت نتائج الفحص النسجي المرضي لوتر اخيل والغمد في الكلاب بعد مرور 15 يوم بعد العملية الجراحية لمجموعة السيطرة وجود علامات الإصلاح بتموضع النسيج الحبيبي الذي يتميز بوجود الاورمات الليفية المتكاثرة بكثافة متوسطة وحزم الياف الكولاجين المتموجة غير الناضجة التي تقوم بتعضية الفجوات المليئة بالخثر الدموية وخيوط الليفين والأوعية الدموية الشعرية الحديثة التكوين، مع ارتشاح بسيط للخلايا الالتهابية في النسيج الحبيبي الحديث التكوين والذي يمكن تميزه بسهولة عن النسيج الضام الأصلي للوتر شكل (11، 12) وبعد مرور 30 يوم بعد العملية لوحظ تقدم نضوج النسيج الحبيبي باحتوائه على ألياف الحزم الكولاجينية الأكثر كثافة مع أنها تظهر اكثر حامضية (more eosinophilic) من حزم الكولاجين الأصلية مع تكاثر متوسط للاورمات الليفية ووجود بؤر من اورمات ليفية تكاثرية شديدة، كما لوحظ بأن الأوعية الدموية الشعرية الحديثة التكوين اكثر نضوجاً مع ارتشاحات طفيفة للخلايا التهابية شكل (13، 14) بعد مرور 60 يوماً لوحظ وجود نسيج ضام جديد تميز بوجود حزم كولاجينية مستقيمة، منتظمة، بارزة، اكثر حموضية، اكثر انكماشا وتداخلا مقارنة مع اليوم 30 بعد العملية كما لوحظ بأنه لا يوجد أي تفاعل التهابي أو قد يكون بسيط جداً في بعض البؤر ويكون النسيج جيد التروية بالدورة الدموية جيدة التكوين مع اختزال في عدد الاورمات الليفية المتكاثرة شكل (15، 16). أظهر الفحص النسجي المرضي لمجموعة المعالجة وبعد مرور 15 بعد العملية وجود تفاعل التهابي شديد تميز بفرط الدم للأوعية الدموية الشعرية والارتشاح الشديد للخلايا الالتهابية في موضع الاتصال بين الوتر والرقعة وتكون الغدد تحت المخاطية وفراغات النسيج للرقعة مليئة بسائل وذمي غني بالليفين في الرقعة، كما ويلاحظ تموضع حزم الكولاجين المتموجة الحامضية الصبغة حديثة التكوين مع تكوين شعيرات دموية جديدة شكل (17، 18، 19). وبعد مرور 30 يوم بعد العملية لوحظ وجود نسيج ليفي اكثر وضوحاً وتكويناً مع عدد اكبر من الحزم الليفية الأكثر نضوجا في مناطق الاتصال مع وجود بؤر متعددة من خلايا الالتهاب المزمن وتكون موضعها واقعة ضمن نسيج الرقعة، كما لوحظ أيضاً في عدة بؤر من النسيج وجود حؤول الأنسجة الضامة ضمن أنسجة الوتر الأصلية وبتحول أجزاء من النسيج الليفي إلى الغضروف الذي يحتوي على الهلام والاورمات الغضروفية الخارج خلوية شكل (20، 21). أما التغيرات المرضية النسجية بعد مرور 60 يوماً من إجراء العملية في منطقة الاتصال بين الوتر والغمد للكلاب وجود ألياف الكولاجينية قوية ومتماسكة وتبدو بأنها اكثر حامضية بقليل من الأنسجة الليفية الأصلية للوتر، وكذلك وجود أوعية دموية شعرية جيدة التكوين متعامدة مع خط القطع الجراحي للوتر مع تكاثر متوسط الانتشار للاورمات الليفية ومرتبط مع ألياف الوتر وهنالك تعضية وامتصاص لمعظم نسيج الرقعة مع غياب التفاعل الالتهابي نهائياً شكل (22، 23).



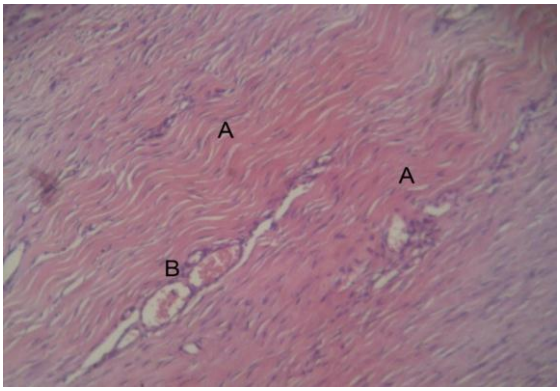
شكل (11) توضح النسيج الحبيبي الحديث التكوين (A) تموضع خيوط الليفين المتعضية في موقع البتر (B) المحاطة بنطاق من الخلايا الالتهابية (C) بعد 15 يوما من العملية لمجموعة السيطرة ,X90.H&E



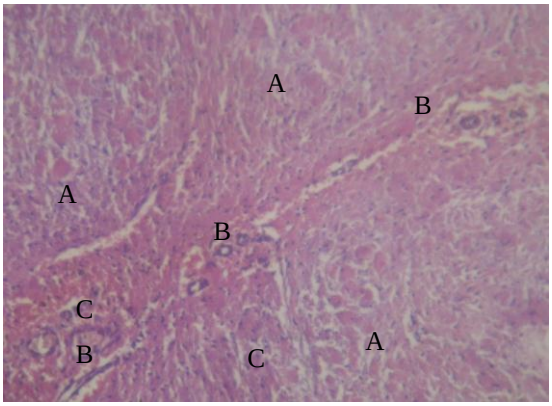
شكل (12) توضح النسيج الحبيبي الحديث التكوين الذي يحتوي على الاورمات الليفية المتكاثرة (A) تعضية خيوط الليفين (B) مع ألياف الكولاجين الغير الناضجة بعد 15 يوما من العملية لمجموعة السيطرة ,X256H&E



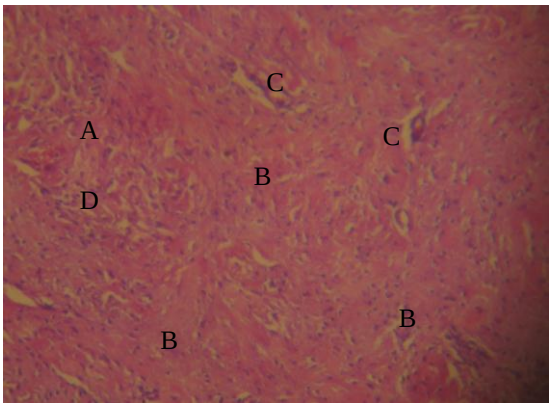
شكل (13) توضح الاورمات الليفية المتكاثرة (A) وألياف الكولاجين حديثة التكوين (B) وجود النسيج الحبيبي مع وعاء دموي شعري طولي حديث التكوين (C) ارتشاح بسيط للخلايا الالتهابية (D) بعد 30 يوماً من العملية لمجموعة السيطرة ,X256H&E



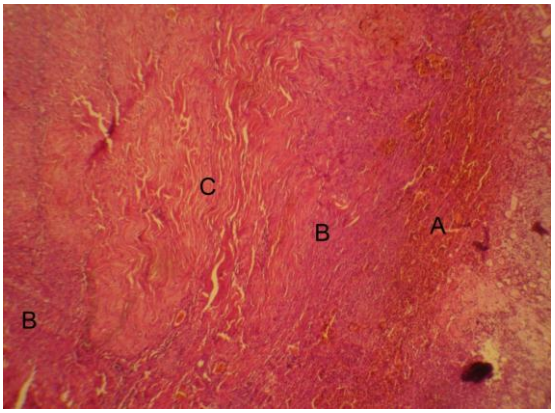
شكل (14) توضح النسيج الحبيبي الحديث التكوين مع ألياف الكولاجين الأكثر وضوحا (A) تكاثر بسيط للاورمات الليفية مع الأوعية الدموية الشعرية الحديثة التكوين (B) ارتشاح بسيط للخلايا الالتهابية بعد 30 يوماً من العملية لمجموعة السيطرة ,X256H&E



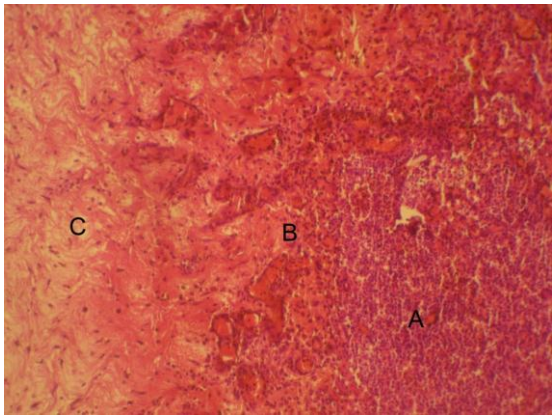
شكل (15) يوضح النسيج الحبيبي (نسيج الندبة) متميزاً بانتشار الأورمات الليفية ووجود ألياف كولاجينية أكثر نضوجاً (A) وأوعية دموية شعرية طولية وعرضية (B) مع ارتشاح طفيف للخلايا الألتهابية (C) بعد 60 يوماً من العملية لمجموعة السيطرة، X 165H&E.



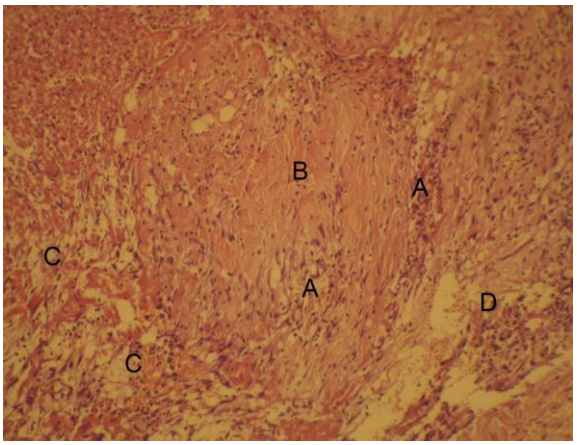
شكل (16) يوضح النسيج الحبيبي المتكون في منطقة البتر متكوناً من أورمات ليفية متوسطة الانتشار (A)، ألياف كولاجينية حديثة التكوين تتميز بكونها متموجة وأكثر حامضية (B) وأوعية دموية شعرية (C) وانتشار طفيف للخلايا الألتهابية (D) بعد 60 يوماً من العملية لمجموعة السيطرة X 240 H&E.



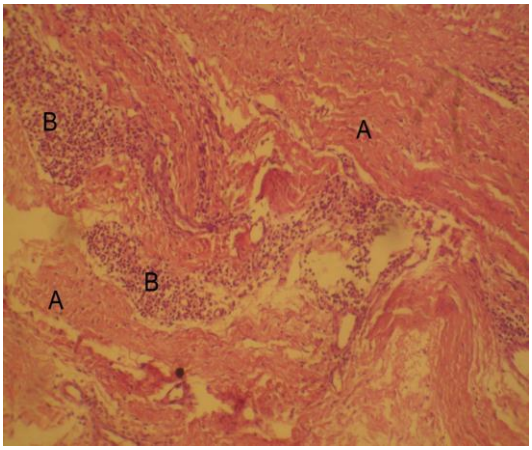
شكل (17) توضح نطاق من التهاب الشديد الغني بالشرينات Arterioles والشعيرات الدموية (A) ارتشاح شديد للخلايا الالتهابية (B) تكاثر اورمات الليفية المتعضية ضمن خيوط الليفين في منطقة الاتصال بين الوتر والرقعة (C): بعد 15 يوماً من العملية لمجموعة المعالجة ,H&E 35.



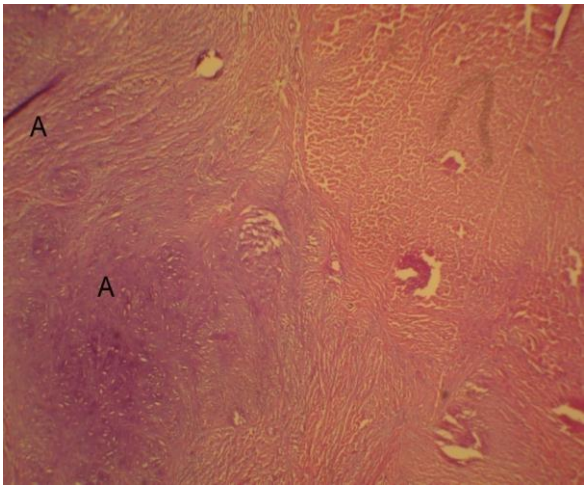
شكل (18) توضح ارتشاح شديد للخلايا الالتهابية (A) شعيرات الدموية الغنية بالدم (B) تكاثر اورمات الليفية وألياف الكولاجين الغير الناضجة المتعضية ضمن خيوط الليفين (C) بعد 15 يوماً من العملية لمجموعة المعالجة ,H&E X68 .



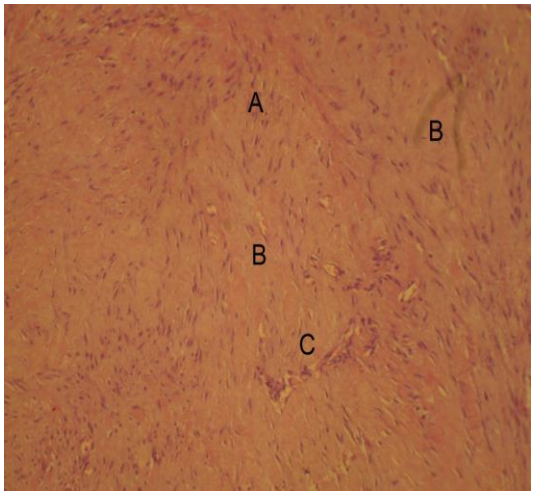
شكل (19) توضح النسيج الحبيبي المكون من الاورمات الليفية المتكاثرة في منطقة الاتصال بين طرفي الوتر (A) ترسب ألياف الكولاجين (B) كتلة من الدم وخيوط الليفين (C) ارتشاح متوسط للخلايا الالتهابية (D) بعد 15 يوماً من العملية لمجموعة المعالجة X 90H&E,



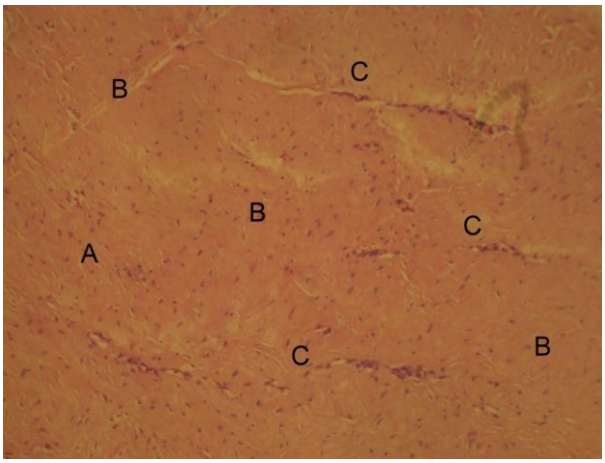
شكل (20) توضح حزم ألياف الكولاجين الناضجة والأكثر وضوحاً (A) ارتشاح متوسط للخلايا الالتهابية المزمنة في منطقة الاتصال بين الوتر والرقعة بعد 30 يوماً من العملية لمجموعة المعالجة ,H&E, X145



شكل (21) توضح حؤول النسيج الضام المتعدد البؤر وتحوله من النسيج الليفي إلى النسيج الغضروفي في منطقة الاتصال بين الوتر والرقعة (A) بعد 30 يوما من العملية لمجموعة المعالجة H&E, X35



شكل (22) توضح التعضية الكاملة لنسيج الرقعة بالنسيج اليفي مع ارتشاح متوسط للاورمات الليفية المتكاثرة (A) حزم ألياف الكولاجين المتماسكة والمنتظمة (B) الأوعية الدموية الشعرية العمودية التكوين الأكثر وضوحا مع غياب التفاعل الالتهابي(C): بعد 60 يوماً من العملية لمجموعة المعالجة ,X35 H&E



شكل (23) توضح الالتئام بالنسيج الليفي مع ارتشاح متوسط للاورمات الليفية المتكاثرة في موقع البتر(A) حزم ألياف الكولاجين الحامضية المتماسكة والمنتظمة (B) الأوعية الدموية الشعرية العمودية التكوين الأكثر وضوحا مع غياب التفاعل الالتهابي (C) بعد 60 يوماً من العملية لمجموعة المعالجة X35H&E, .

المناقشة

هنالك اختلاف بين الباحثين حول الطريقة الجيدة لعلاج تمزق الأوتار فمنهم من يفضل استخدام العلاج الجراحي المصاحب بالإصلاح الجراحي المبكر والآخر يفضل استخدام العلاج الغير الجراحي كالتثبيت الخارجي للوتر (Immobilization) وان إعادة بناء وتر أخيل الممزق في الكلاب يعتبر من اهم التحديات التي تواجه الباحثين بسبب ندرة توفر الرقع الذاتية للوتر وللتغلب على هذه التحديات فقد استخدم الباحثين الطية الموضعية أو الحرة (Local and free flap) في عمليات جراحية متعددة لإصلاح التلف للوتر ولكنها لا تخلو من المضاعفات بعد العملية الجراحية (4). وفي هذه الدراسة فقد تم استخدام الغشاء تحت المخاطية للمعي الدقيق المستخلص من الضأن للتعويض عن التلف التجريبي الحاصل لوتر اخيل في الكلاب. بينت نتائج الفحص العياني لموقع العملية والتي أثبتت إمكانية استخدام الغشاء تحت المخاطية لإصلاح التلف لوتر اخيل من دون حصول أي مضاعفات مثل الجروح، انفصال الرقعة، الخمج، الرفض المناعي للغشاء مع قلة الالتصاقات بين الوتر والأنسجة المحيطة به إذ أظهرت هذه الرقعة تداخلا جيدا بينها وبين الوتر المجاور وانحلالها السريع وامتصاصها واستبدالها بنسيج الوتر الجديد بعد مرور 60 يوما بعد العملية الجراحية في مجموعة المعالجة حيث ان غشاء تحت المخاطية عمل كسقالة مؤقتة لتسهيل هجرة الخلايا وإعادة الالتئام وبناء النسيج الجديد وهذا يتفق مع (4). ولقد وجد الباحثون (14) في دراستهم على إصلاح اللفافة باستخدام غشاء تحت المخاطية للخنازير في الكلاب، حيث أثبتوا بانه بعد غرس غشاء تحت المخاطية والتي تعد مادة بايلوجية تساعد على الالتئام في مختلف الأنسجة الضامة في الجسم مع إسناد ونمو النسيج (Site–specific remodeling)، كما أنها تساهم في تسريع تمايز الخلايا وتجدد النسيج وتجعله مشابها للنسيج الأصلي من الناحية التركيبية والوظيفية في معظم أنحاء الجسم وهذا مطابق لما وجده الباحثون (15، 16) في دراستهم لإصلاح الأربطة والوتار في الكلاب. بينت النتائج الفحص النسجي المرضي لموقع العملية بعد مرور 15 يوما بعد العملية التي أكدت وجود الاستجابة الخلوية الحادة في مجموعة المعالجة مقارنة مع مجموعة السيطرة وهذا يتوافق مع (22) الذين ذكروا وجود استجابة خلوية حادة بعد استخدام الغشاء تحت المخاطية للضأن لالتئام التلف التجريبي المحدث في وتر العضلة القابضة الأصبعية السطحية في الماعز وهذا يتوافق أيضا مع (4) والذين لاحظوا بأن هنالك غزارة في الأوعية الدموية النافذة للنسيج في مجموعة المعالجة مقارنة مع مجموعة السيطرة بعد استخدام الغشاء تحت المخاطية للخنازير وهذا مما يسمح للأوكسجين والمواد الغذائية الأخرى من النفوذ داخل الأنسجة الوعائية ومقاومة الخمج (18)، وكذلك عدم حصول علامات الرفض المناعي (23، 24). ومن خلال نتائج الفحص النسيجي المرضي للوتر وغمده في مجموعة المعالجة بعد مرور 60 يوما بعد العملية لوحظ وجود الارومات الليفية وألياف كولاجينية متماسكة ومنتظمة في منطقة الاتصال بين الوتر والرقعة وانتشارها ضمن ألياف الوتر الأصلي مع تعضية وامتصاص معظم نسيج الرقعة مقارنة مع مجموعة السيطرة وهذا مطابق مع دراسات سابقة (16) لإصلاح وتر اخيل باستخدام الغشاء تحت المخاطية للخنازير والذي لاحظوا بأن وتر اخيل المعامل بالرقعة كان متعضياً واكثر قوة ومشابها للوتر الأصلي مقارنة مع مجموعة السيطرة. ذكر الباحثون (25، 26) بأن غشاء تحت المخاطية للخنازير هو نسيج ضام بسمك 0.1 ملم يحوي في تركيبه على اكثر من 90% مادة بروتينية (الكولاجين) واقل من 10% دهون مع قليل من الكاربوهيدرات، وان المكون الرئيسي لهذا الغشاء هو الكولاجين (1,111,1V,V and V1) ، شبكة الفايبرين، لامنين، البروتينات السكرية وعوامل النمو، وان هذه المادة الغراوية تكون سهلة الامتصاص لذا من الممكن استخدامها كطعم ذاتي، طعم مباين وطعم غريب في الأنسجة والأعضاء المختلفة في الجسم. ومن خلال نتائج الفحص السريري والعياني والنسيج

المرضي التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة والتي أكدت على إمكانية استخدام الغشاء تحت المخاطية المستخلص من المعي الدقيق للأغنام لإصلاح التلف التجريبي المحدث في وتر اخيل في الكلاب في الحالات السريرية ومن دون خمج أو رفض مناعي أو استجابات عكسية للرقعة الغريبة للأغنام (Xenogenic graft) خاصة عند قلة توفر الرقع الذاتية للوتر.

المصادر

1. Barone, R. (1981). Comparative Anatomy in Domestic Animals (in Italian and French). Edagricole, Bologna., 2: 790-791.
2. Clark, D. M. (2001). Tendon lesion and its treatment. In: Bojrab, M. J. (ed.): Disease Mechanisms in Small Animal. Giraldi, Bologna., PP.1414-1418, 790-791.
3. Montgomery, R. & Fitch, R. (2003). Muscle and tendon disorders. In: Slatter, D. (ed.,): Textbook of Small Animal Surgery. 3rd ed. Saunders, Philadelphia, PP. 2266-2267.
4. Fernando, H. G.; Eduardo, J. B.; Vanessa, C. D.; Antonio, P. G.; Wilson, H. M.; Luciano, O. & Tiago, G. A. (2005). Evaluation of Porcine Small Intestinal Submucosa in Achilles tendon Repair. J. Appl. Res., 5(1):115-123.
5. Moller, M.; Movin, T. & Granhed, H. (2001). Acute rupture of tendon Achilles. A prospective randomized study of comparison between surgical and non-surgical treatment. J. Bone Joint Surg., 83B: 843-848.
6. Cetti, R.; Christensen, S. E. & Ejsted, R. (1993). Operative versus non operative treatment of Achilles tendon rupture. A prospective randomized study and review of the literature. Am. J. Sports Med., 21:791-799.
7. Haas, F.; Seibert, F. J. & Koch, H. (2003). Reconstruction of combined defects of the Achilles tendon and the overlying soft tissue with a fascia lata graft and a free fasciocutaneous lateral arm flap. Ann. Plast Surg., 51:376-382.
8. Lee, J. W.; Yu, J. C. & Shieh, S. J. (2000). Reconstruction of the Achilles tendon and overlying soft tissue using antero-lateral thigh free flap. Br. J. Plast Surg., 53:574-577.
9. Lantz, G. C.; Badylak, S. F. & Hiles, M. C. (1993). Small intestinal submucosa as a vascular graft: a review. J. Invest Surg., 6297-6310.
10. Badylak, S. F.; Kokini, K. & Tullius, B. (2002). Morphological study of small intestinal submucosa as a body wall repair device. J. Surg.Res.,103:190-202.
11. Greca, F. H.; Biondo-Simoes, M. L. P. & Santos, E. A. (2001).Comparison between a polypropylene mesh and small intestine submucosa used for abdominal wall defects repair: experimental study in dogs. Acta. Cir. Bras., 16:44-50.
12. Pope, J. C.; Davis, M. M. & Smith, E. R. (1997). The ontogeny of canine small intestinal submucosa regenerated bladder. J. Urol., 158:1105-1110.
13. Badylak, S. F.; Meurling, S. & Chen, M. (2000). Reabsorble bioscaffold for esophageal repairin a dog model. J. Pediatr Surg., 35:1097-1103.
14. Dejardin, L. M.; Arnoczky, S. P. & Clarke, R. B. (1999). Using of small intestinal submucosa implants for regeneration of large fascial defects: An experimental study in dogs. J. Biomed Mater Res., 46:203-211.
15. Aiken, S. W.; Badylak, S. F. & Toombs, J. P. (1994). Small intestinal submucosa as an intra-articular ligamentous graft material: A pilot study in dogs. Vet. Comp. Orthop Trauma., 7:124-128.
16. Badylak, S. F.; Tullius, R. & Kokini, K. (1995). The use of xenogeneic small intestinal submucosa as a biomaterial for tendon repairs in Achilles a dog model. J. Biomed Mater Res., 29:977-985.

17. Badylak, S. F. (1993). Small intestinal submucosa (SIS): a biomaterial conducive to smart tissue remodeling. In: Bell, E. (ed.,). Tissue engineering. Current perspectives. Birkhauser, PP. 179-89.
18. Clarke, K. M.; Lantz, G. C. & Salisbury, S. K. (1996). Intestine submucosa and polypropylene mesh for abdominal wall repair in dogs. J. Surg. Res., 60: 107-114.
19. Hall, L. W.; Clarke, K. W. & Trim, C. M. (2001). Veterinary anaesthesia, 10th ed. Philadelphia, W.B. Saunders, Elsevier science., PP. 386-406.
20. Plumb, D. C. (2005). Plumb's Veterinary drug handbook, 5th ed. USA pharma. Vet. Wisconsin, Blackwell publishing, PP. 599-611.
21. Luna, L. G. (1968). Manual of histological staining methods.3th ed. McGraw-Hill book Co. New York, PP. 3, 17, 39.
22. Salih, S. I.; Al-falahi, N. H. & Hammoodi, O. T. (2009). Using of intestinal submucosa in the healing of superficial digital flexor tendon in goat. Proceedings of the 9th scientific conference of the College of Veterinary Medicine, University of Baghdad, 3(4): 105-113.
23. Badylak, S. F.; Lantz, G. C.; Coffey, A. & Geddes, L. A. (1989). Small intestinal submucosa as a largediameter vascular graft in the dog. J. Surg. Res.; 47:74-80.
24. Sandusky, G. E.; Badylak, S. F. & Morff, R. J. (1992). Histologic findings after in vivo placement of small intestine submucosa vascular grafts and saphenous vein grafts in the carotid artery in dogs. Am. J. Pathol., 140:317-324.
25. Dejardin, L. M.; Arnoczky, S. P. & Ewers, B. J. (2001). Tissue-engineered rotator cuff tendon using porcine small intestine submucosa. Histologic and mechanical evaluation in dogs. Am. J. Sports Med., 29:175-184.
26. Herbst, T. J.; McCarthy, J. B.; Tsilibary, E. C. & Furcht, L. T. (1988). Differential effects of laminin, intact type IV collagen, and speci"c comains of type IV collagen on endothelial cell adhesion and migration. J. Cell Biol., 106(4): 1365-1373.