

**MINISTERUL SĂNĂTĂȚII, MUNCII ȘI PROTECȚIEI SOCIALE  
AL REPUBLICII MOLDOVA  
IP UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„NICOLAE TESTEMIȚANU”**

Cu titlul de manuscris:  
C.Z.U: 617.55-007-053.1-089.844(043.2)

**NEGRU ION**

**OPTIMIZAREA METODEI DE PLASTIE A DEFECTELOR  
CONGENITALE ALE PERETELUI ABDOMINAL ANTERIOR**

**SPECIALITATEA: 321.14 - CHIRURGIE PEDIATRICĂ**

**Teza de doctor în științe medicale**

Conducător științific:

**Babuci Stanislav**  
Doctor habilitat în științe medicale,  
Conferențiar cercetător

Conducător științific cotutelă:

**Tica Constantin**  
Doctor în medicină,  
Profesor universitar

Consultant științific:

**Nacu Viorel**  
Doctor habilitat în științe medicale,  
Conferențiar universitar

Autor

**Negru Ion**

**Chișinău, 2019**

© Negru Ion, 2019

## CUPRINS

|                                                                                                                                             |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>ADNOTARE .....</b>                                                                                                                       | <b>6</b>  |
| <b>АННОТАЦИЯ.....</b>                                                                                                                       | <b>7</b>  |
| <b>ANNOTATION.....</b>                                                                                                                      | <b>8</b>  |
| <b>LISTA ABREVIERILOR.....</b>                                                                                                              | <b>9</b>  |
| <b>INTRODUCERE.....</b>                                                                                                                     | <b>10</b> |
| <br>                                                                                                                                        |           |
| <b>1. CONCEPȚII CONTEMPORANE ÎN CORECȚIA CHIRURGICALĂ A DEFECTELOR CONGENITALE ALE PERETELUI ABDOMINAL ANTERIOR LA NOU-NĂSCUȚI</b>          |           |
| 1.1. Aspecte etiopatogenetice și clinico-diagnostice în gastroschizis la nou-născuți.....                                                   | 17        |
| 1.2. Evoluția strategiilor de corecție chirurgicală în gastroschizis la nou-născuți.....                                                    | 21        |
| 1.3. Caracteristica clinică, particularitățile de diagnostic și opțiunile de tratament în diverse forme de omfalocel.....                   | 24        |
| 1.4. Concepții științifice în aplicarea clinică a grefelor biologice în chirurgia reconstructivă a peretelui abdominal.....                 | 31        |
| 1.5. Concluzii la capitolul 1.....                                                                                                          | 39        |
| <br>                                                                                                                                        |           |
| <b>2. MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE</b>                                                                                                   |           |
| 2.1. Caracteristica generală a materialului de cercetare.....                                                                               | 40        |
| 2.2. Caracteristica și metodologia modelului experimental.....                                                                              | 44        |
| 2.3. Metode de investigare.....                                                                                                             | 49        |
| 2.4. Concluzii la capitolul 2.....                                                                                                          | 50        |
| <br>                                                                                                                                        |           |
| <b>3. PROFILUL CLINICO-PARACLINIC ȘI SPECTRUL MODIFICĂRILOR MORFOPATOLOGICE ÎN DEFECTELE CONGENITALE ALE PERETELUI ABDOMINAL ANTERIOR</b>   |           |
| 3.1. Caracteristica statutului clinico-paraclinic în defecte congenitale ale peretelui abdominal anterior (gastroschizis și omfalocel)..... | 52        |
| 3.2. Profilul histomorfopatologic regional al defectului congenital al peretelui abdominal anterior la nou-născuți cu gastroschizis.....    | 60        |
| 3.3. Aspecte morfologice și histopatologice ale omfalocelului la nou-născuți.....                                                           | 65        |
| 3.4. Rolul modificărilor structurale intestinale în evoluția sindromului de dismotilitate intestinală la nou-născuți cu gastroschizis.....  | 69        |

|           |                                                                                                                                                                                              |            |
|-----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 3.5.      | Estimarea modificărilor morfopatologice ale complexelor placentare la nou-născuți cu defecte congenitale ale peretelui abdominal anterior (gastroschisis și omfalocel).....                  | 74         |
| 3.6.      | Concluzii la capitolul 3.....                                                                                                                                                                | 78         |
| <b>4.</b> | <b>STUDIU DE FEZABILITATE A UTILIZĂRII UNOR IMPLANTURI BIOLOGICE ÎN RECONSTRUCȚIA DEFECTELOR PERETELUI ABDOMINAL ÎN MODEL EXPERIMENTAL</b>                                                   |            |
| 4.1.      | Analiza rezultatelor tratamentului chirurgical a copiilor cu afecțiuni malformative ale peretelui abdominal anterior.....                                                                    | 80         |
| 4.2.      | Evaluarea histologică a eficienței membranei amniotice umane utilizată în reconstrucția experimentală a defectelor peretelui abdominal anterior.....                                         | 82         |
| 4.3.      | Implantul peritoneal bovin în reconstrucția defectelor majore ale peretelui abdominal anterior în model experimen.....                                                                       | 93         |
| 4.4.      | Răspunsul celular local în plastia defectului abdominal cu pericard bovin și fascie bovină prezervate în formaldehidă în model experimental pe iepuri.....                                   | 100        |
| 4.5.      | Concluzii la capitolul 4.....                                                                                                                                                                | 107        |
| <b>5.</b> | <b>EVALUAREA COMPARATIVĂ A POTENȚIALULUI DE REGENERARE ÎN UTILIZAREA UNOR XENOGREFE BOVINE DECELULARIZATE ÎN RECONSTRUCȚIA DEFECTELOR PERETELUI ABDOMINAL ANTERIOR ÎN MODEL EXPERIMENTAL</b> |            |
| 5.1.      | Evaluarea <i>in vivo</i> a xenogrefelor acelulare de fascie bovină în reconstrucția defectelor peretelui abdominal în model experimental pe porci.....                                       | 109        |
| 5.2.      | Particularitățile de regenerare tisulară a xenogrefelor decelularizate de pericard bovin utilizate în reconstrucția defectelor peretelui abdominal anterior în model experimental.....       | 113        |
| 5.3.      | Evaluarea fezabilității peritoneului parietal bovin decelularizat în reconstrucția defectelor peretelui abdominal. Studiu experimental.....                                                  | 119        |
| 5.4.      | Concluzii la capitolul 5.....                                                                                                                                                                | 125        |
|           | <b>CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI.....</b>                                                                                                                                                | <b>126</b> |
|           | <b>BIBLIOGRAFIE.....</b>                                                                                                                                                                     | <b>129</b> |
|           | <b>ANEXE MATERIAL ILUSTRATIV.....</b>                                                                                                                                                        | <b>144</b> |



|                                                     |            |
|-----------------------------------------------------|------------|
| <b>ANEXE CERTIFICAT CU DREPT DE AUTOR.....</b>      | <b>161</b> |
| <b>ANEXE CERTIFICATE DE INOVAȚIE.....</b>           | <b>163</b> |
| <b>DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII.....</b> | <b>167</b> |
| <b>CV-ul AUTORULUI.....</b>                         | <b>168</b> |

## ADNOTARE

Negru Ion

### Optimizarea metodei de plastie în corecția chirurgicală a defectelor congenitale ale peretelui abdominal anterior

Teză de doctor în științe medicale, Chișinău, 2019

**Structura tezei:** Teza este expusă pe 128 pagini și este structurată din: introducere, 5 capitole, concluzii, recomandări, bibliografia conținând 324 surse bibliografice, fiind documentată cu 8 tabele, 73 figuri și 20 anexe.

**Cuvinte cheie:** Defecte congenitale ale peretelui anterior abdominal, sindrom de dismotilitate intestinală persistentă, grefe biologice, intervenție reconstructivă.

**Domeniul de studiu:** chirurgie pediatrică.

**Scopul lucrării:** Ameliorarea rezultatelor tratamentului afecțiunilor malformative ale peretelui abdominal prin elaborarea și testarea unor xenogrefe biologice.

**Obiectivele studiului** au inclus evaluarea rezultatelor clinico-paraclinice ale afecțiunilor malformative ale peretelui abdominal cu identificarea factorilor de risc congenitali și dobândiți care au influențat prognosticul bolii; stabilirea rolului modificărilor morfohistologice a țesuturilor loco-regionale și estimarea lor în asocierea unor complicații postoperatorii; studierea modificărilor histopatologice ale anșelor intestinale modificate și rolul lor în etiopatogenia, evoluția și exodul gastroschizisului la nou-născuți; analiza comparativă a tehnicilor chirurgicale utilizate în afecțiunile malformative ale peretelui abdominal anterior ca argument pentru testarea unor grefe biologice care ar putea fi utilizate în plastie; argumentarea morfopatologică a avantajelor și dezavantajelor utilizării grefelor biologice decelularizate în tratamentul chirurgical al afecțiunilor malformative ale peretelui abdominal anterior în model experimental.

**Inovația și originalitatea științifică a rezultatelor obținute.** A fost stabilită incidența malformațiilor congenitale asociate cu gastroschizis și omfalocel, cât și a altor factori de risc care au influențat semnificativ evoluția nefavorabilă a bolii. Au fost estimate modificările morfopatologice ale anșelor intestinale eviscerate la nou-născuți. S-au studiat particularitățile morfopatologice regionale ale defectului congenital al peretelui abdominal la nou-născuți cu gastroschizis și omfalocel. A fost determinată eficiența comparativă argumentată morfopatologic a utilizării diferitor grefe bioprotetice în reconstrucția experimentală a defectelor peretelui abdominal.

**Problema științifică importantă soluționată** în teză constă în analiza comparativă a eficienței membranei amniotice, pericardului bovin, fasciei bovine și a peritoneului parietal bovin în reconstrucția defectelor peretelui abdominal cu scop de ameliorare a rezultatelor tratamentului chirurgical al acestor malformații.

**Semnificația teoretică și valoarea aplicativă a rezultatelor.** A fost constatat spectrul modificărilor structurale ale anșelor intestinale eviscerate responsabile pentru dereglările persistente de peristaltism și tranzit intestinal. A fost descrisă structura arhitecturală și procesele reparative ale sacului embrional, justificând conduita conservativă în omfalocelul major și gigant cu proporție visceroabdominală. A fost efectuată o constatare comparativă a stabilității membranei amniotice prelucrată cu glutaraldehidă sau formalină și cea criopreservată în cazurile de utilizare în calitate de substituent temporar al peritoneului în defectele abdominale. A fost stabilită biocompatibilitatea și biorezistența peritoneului bovin parietal fixat în formaldehidă 0,5% și decelularizat în închiderea defectelor majore ale peretelui abdominal în model experimental, cât și dezavantajele neoperitoneului format după înlocuirea treptată a implantului. S-a constatat că utilizarea grefei de pericard bovin oferă o rezistență acceptabilă cu proprietăți de stabilizare a peretelui abdominal, iar acțiunea iritantă și inflamatorie nesemnificativă a grefelor de fascie bovină preservată în formaldehidă asupra anșelor intestinale permite utilizarea ei în închiderea defectelor fasciale abdominale, fiind plasată în contact direct cu conținutul abdominal.

Rezultatele cercetărilor efectuate la tema tezei au fost reflectate în 14 lucrări științifice, inclusiv 9 articole.

## АННОТАЦИЯ

Негру Ион

### Оптимизация метода пластической хирургической коррекции врожденных дефектов передней брюшной стенки

Кандидатская диссертация по медицине, Кишинев, 2019

**Структура диссертации:** Диссертация содержит 128 страницы и составлена из: введения, 5 глав, выводов, рекомендаций, библиографии, содержащей 324 библиографических источников, 8 таблиц, 73 фигуры и 20 приложения.

**Ключевые слова:** врожденные дефекты передней брюшной стенки, синдром персистентного нарушения кишечной моторики, биологические трансплантаты, реконструктивное вмешательство.

**Специальность:** Детская хирургия.

**Цель статьи:** Улучшение результатов лечения врожденных заболеваний брюшной стенки путем разработки и тестирования биологических ксенотрансплантов.

**Задачи исследования:** Задачи исследования включали оценку результатов клинических, лабораторных и инструментальных исследований детей с аномалиями развития передней брюшной стенки, с выявлением врожденных и приобретённых факторов риска, которые повлияли на прогноз заболевания; определение роли морфогистологических изменений регионарных тканей и их оценка в ассоциации послеоперационных осложнений; изучение гистологических изменений в поражённых петлях кишки и их роль в этиопатогенезе, эволюции и исходе гастрошизиса у новорожденных; сравнительный анализ хирургических методов лечения используемых при лечении аномалий передней брюшной стенки как аргумент для тестирования биологических имплантатов, который может быть использован в пластики; морфогистологическая аргументация преимуществ и недостатков в использовании биологических имплантатов в хирургическом лечении аномалий передней брюшной стенки в эксперименте.

**Инновация и научная оригинальность полученных результатов.** Была установлена частота врожденных пороков развития связанных с гастрошизисом и омфалоцеле, а также другие факторы риска, которые значительно повлияли на неблагоприятное прогрессирование заболевания. Были изучены морфопатологические изменения эвисцерированных кишечных петель у новорожденных с гастрошизисом. Были изучены региональные морфопатологические особенности врожденного дефекта брюшной стенки у новорожденных с гастрошизисом и омфалоцеле. Была определена и морфологически обоснована сравнительная эффективность использования различных биозащитных трансплантатов при экспериментальной реконструкции дефектов брюшной стенки.

**Важная научная задача рассматриваемая в данной работе** является значительный и сравнительный анализ эффективности амниотической мембраны, бычьего перикарда, бычьей фасции и бычьей париетальной брюшины при реконструкции дефектов брюшной стенки с целью улучшения результатов хирургического лечения этих пороков развития.

**Теоретическая значимость и прикладная ценность результатов.** Был обнаружен спектр структурных изменений в выпотрошенной кишечной петле ответственной за персистентные расстройства кишечной перистальтики и транзита. Было описано архитектурное строение и репаративные процессы зародышевого мешка, при обосновании консервативного подхода в крупном и гигантском омфалоцеле с висцерально-абдоминальной пропорцией. Была определена сравнительная стабильность амниотической мембраны, которая была обработана глутаральдегидом или формалином и криоконсервированная в случае использования в качестве временного заместителя брюшины в брюшных дефектах. Были установлены биосовместимость и биостойкость бычьей париетальной брюшины обработанная в 0,5% формальдегида и децелюляризация при закрытии крупных дефектов брюшной стенки на экспериментальной модели, а также недостатки необрюшины образованной путем постепенной замены имплантата. Было обнаружено что использование трансплантата бычьего перикарда обеспечивает приемлемые свойства устойчивости и стабилизации брюшной стенки, а незначительное раздражающее и воспалительное действие трансплантатов бычьих фасций сохраненных в формальдегиде на кишечную петлю позволяет ее использование в закрытии дефектов фасции брюшной полости, находясь в прямом контакте с брюшным содержимым.

Результаты исследований на тему диссертации были отражены в 14 научных статьях, в том числе 9 статьи.

## ANNOTATION

Negru Ion

### **Optimization of the plastic surgery methods in the surgical correction of congenital defects of the anterior abdominal wall**

PhD thesis in medical sciences, Chisinau, 2019

**Thesis structure:** The thesis is exposed on 128 typewritten pages, it contains introduction, 5 chapters, conclusions, recommendations, 8 tables, 73 figures and 20 annexes. The bibliography includes 324 bibliographic references.

**Key words:** Congenital anterior abdominal wall defects, persistent intestinal dysmotility syndrome, biological grafts, reconstructive intervention.

**Field of study:** Pediatric surgery.

**Purpose of the study:** Improving the treatment results of malformative pathology of the abdominal wall by developing and testing biological xenografts.

**Objectives of the study:** The objectives of the study included the evaluation of the clinical results of abdominal wall malformations with the identification of congenital and acquired risk factors that influenced the prognosis of the disease; establishing the role of morphohistological changes of loco-regional tissues and their estimation in the association of postoperative complications; studying the histopathological changes of the modified intestines and their role in the etiopathogenesis, evolution and exodus of gastroschisis in neonates; comparative analysis of surgical techniques used in anterior abdominal wall malformations as an argument for testing of some biological grafts that could be used in plastics; morphopathological argumentation of the advantages and disadvantages of decellularized biologic grafts used in the surgical treatment of malformative diseases of the anterior abdominal wall in the experimental model.

**Innovation and scientific originality of the results obtained.** The incidence of congenital malformations associated with gastroschisis and omphalocele was determined, as well as other risk factors that significantly influenced the unfavorable disease evolution and the increased mortality rate in these serious malformations. The morphopathological changes of the eviscerated intestinal loops in neonates with gastroschisis and their role in the pathogenesis of persistent disturbances of bowel peristalsis and intestinal transit were evaluated, as well as a complex evaluation of the regional morphopathological features of the congenital abdominal wall defect in neonates with gastroschisis and omphalocele. The comparative and morphologically justified efficiency of use of various bioprotective allografts in the experimental reconstruction of the abdominal wall defects was determined.

**The important scientific problem** solved in the thesis consists in the comparative analysis of the efficiency of the amniotic membrane, bovine pericardium, bovine fascia and bovine parietal peritoneum in the reconstruction of the abdominal wall defects in order to improve the results of the surgical treatment of these malformations.

**Theoretical significance and applicative value of the results.** The spectrum of structural changes of eviscerated intestinal loops responsible for persistent bowel peristalsis and intestinal transit disorders was found. The architectural structure and reparative processes of the embryonic sac was described, justifying the conservative tactics in major and giant omphalocele with viscerum-abdominal proportion. There was made a comparative finding of the stability of the amniotic membrane treated with glutaraldehyde or formalin, and cryopreserved amniotic membrane as a temporary substitute for the peritoneum in abdominal defects. The biocompatibility and bioresistance of the parietal bovine peritoneum treated in 0.5% formaldehyde was determined and decellularized parietal bovine peritoneum in the closure of the major abdominal wall defects in experimental model, as well as the disadvantages of the neoperitoneum formed after the gradual replacement of the implant. It has been found that the use of the bovine pericardium graft provides acceptable resistance with some properties of stabilizing the abdominal wall, and insignificant irritant and inflammatory action of the bovine fascia graft preserved in formaldehyde on intestinal loops allows its use in the closure of abdominal fascial defects, having direct contact with the abdominal contents.

The results of the thesis research were reflected in 14 scientific papers, including 9 reviewed articles.

## LISTA ABREVIERILOR

H&E – hematoxină-eozină  
VG – Van Gieson  
A&E – Azur-Eozină  
NFP – neurofilament proteină  
RMN – rezonanță magnetică nucleară  
PMN – celule polimorfonucleare  
IL – interleukina  
HLA – antigene leucocitare umane  
bFGF – factorul bazic de creștere a fibroblastelor  
EGF – factorul epidermic de creștere  
TGF $\beta$  – factorul transformator de creștere  
VEGF – factorul de creștere vasculoendotelial  
TNF – Tumor Necrosis Factor  
mmHg – milimetri coloana de hidrargium  
Ac HIV 1+2 – anticorpi HIV 1+2  
Ac HCV – anticorpi hepatită virală C  
HBV – hepatita virală B  
Ag HBs – antigenul HBS  
Ac anti HBs – anticorpi anti HBs  
IHC – imunohistochimie  
PSO (proceduri standarde operaționale existente în laborator  
s/g – săptămâni de gestație  
PSO – proceduri standarde operaționale existente în laborator

## INTRODUCERE

### **Actualitatea și importanța temei abordate**

Interesul clinicienilor și al chirurgilor pediatri din întreaga lume față de defectele congenitale ale peretelui abdominal anterior la nou-născuți este justificat, acestea fiind unele dintre cele mai grave patologii, întrucât complicațiile care le însoțesc prezintă un pericol grav, uneori fatal, pentru copil [4, 310]. Cele mai întâlnite tipuri ale acestor defecte congenitale sunt laparoscizisul (gastroschizisul) și omfalocelul. Incidența gastroschizisului este de 0,5-7,0 cazuri la 15000 de nou-născuți, cu o medie de 1/2700 nașteri [252, 301], incidența acestei malformații fiind în creștere [83]. Mai frecvent apare ca un defect izolat (83,3 - 93%), iar în 12,2 – 35% din cazuri poate fi parte componentă a unor sindroame și anomalii cromozomiale (trisomia 13, 18, 21 etc.) [106, 202].

Incidența malformațiilor congenitale la pacienții cu gastroschizis constituie circa 15-35%, în funcție de criteriile de includere [76, 106]. În același timp, unele studii indică că 48,1% - 68% dintre nou-născuții cu gastroschizis au avut una sau mai multe anomalii asociate, printre care atrezia intestinală, criptorhidia, persistența circulației fetale etc., malformații congenitale multiple constituind circa 32% din cazuri [56, 81]. Astfel, malformații intestinale se întâlnesc în 5-20% din cazuri, malformațiile aparatului urinar – în 6%, viciile cardiace – în 1% [80]. S-a constatat că feteșii cu gastroschizis prezintă un risc sporit de prematuritate (22-40%), oligohidroamnios (36%), retard intrauterin (38-77%) sau avortare (7%) [27, 198]. Au fost raportate asocieri ale gastroschizisului cu malformații cardiace, precum defectele septale, tetralogia Fallot, anomalia Ebstein, coarctația de aortă, transpunerea arterelor majore etc. [171], faciale, musculoscheletale [199], cromozomiale, printre care trisomiile și sindromul Turner [199], defectele de tub neural [137], hidrocefalia [97], maladia Hirschsprung [34], malformațiile anorectale [199, 255], hernia diafragmatică [141], chistul de coledoc [268].

Incidența omfalocelului constituie 1-3 cazuri la 5000-10000 de nou-născuți [28, 197], rata mortalității generale în această patologie depășind 25% [101, 197].

Omfalocelul poate fi întâlnit izolat sau ca parte componentă a unor sindroame polimalformative, omfalocelul sindromal deținând o frecvență remarcabilă în totalul cazurilor de omfalocel [7]. Malformațiile asociate sunt constatate în 30-80% din cazurile de omfalocel, gravitatea lor determinând prognosticul bolii [56, 242]. Anomalii cardiace au fost înregistrate la 50% dintre pacienții cu omfalocel, gastrointestinale – la 40%, cele cromozomiale la 10-40%, cele mai frecvente fiind trisomiile 13, 14, 15, 18, 21, sindromul Turner (45, X), sindromul Klinefelter (47, XXY), triploidia (69, XXX). Dintre sindroamele genetice cu omfalocelul sunt asociate sindromul Beckwith-Wiedemann, sindromul Goltz, sindromul Marshall-Smith,

pentologia Cantrell, extrofia vezicii urinare și cloacală, sindromul Toriello-Carey, sindromul Carpenter etc. [70, 127; 155, 304].

Deși în ultimele decenii strategiile de corecție chirurgicală a defectelor congenitale ale peretelui abdominal anterior au evoluat considerabil, prognosticul lor rămâne sever [247, 321]. Hipotermia, pierderea de lichide, sepsisul, greutatea mică la naștere, vârsta gestațională influențează semnificativ riscul decesului în caz de defecte congenitale ale peretelui abdominal [198, 256]. Unii autori raportează un indice al mortalității postnatale în caz de defecte congenitale ale peretelui abdominal de 5,9-23,4% [66, 262], în unele țări ale lumii valorile acestui indice atingând 28% [107] sau chiar 80% [9]. O supraviețuire semnificativă, de 79%-97%, este înregistrată în gastroschizisul simplu [106, 258], față de 10% în gastroschizisul complex [200].

Închiderea primară a defectelor congenitale ale peretelui abdominal anterior cu disproporție visceroabdominală fără tensiune este, de obicei, problematică din cauza dimensiunilor mici ale cavității abdominale și deteriorării complexului musculofascial regional, cât și volumului sporit al anșelor intestinale din cauza edemului și depunerilor fibroase. În acest context, în plastia peretelui abdominal la copiii cu gastroschis și omfalocel au fost propuse și implimentate mai multe procedee chirurgicale reconstructive de corecție a defectelor fasciale [115], folosirea a diverselor materiale protetice sintetice și biologice [147, 175], cât și metode combinate [129, 138].

Dezavantajele metodelor propuse, rata sporită a complicațiilor precoce și celor tardive, inclusiv riscul sporit de dezvoltare a complicațiilor respiratorii [232], a obstrucției intestinale aderențiale și a complicațiilor septice [177, 179, 264], reprezintă un motiv de îngrijorare și un argument important în favoarea elaborării a noi soluții de rezolvare a problemei date [53], inclusiv rezolvarea prenatală a acestor malformații [12, 260], corecția suportului respirator [45] și elaborarea a noilor metode de corecție a defectului peretelui abdominal [31].

**Scopul studiului:** Ameliorarea rezultatelor tratamentului afecțiunilor malformative ale peretelui abdominal prin elaborarea și testarea unor xenogrefe biologice.

#### **Obiectivele cercetării:**

1. De a evalua rezultatele clinico-paraclinice ale afecțiunilor malformative ale peretelui abdominal cu identificarea factorilor de risc congenitali și dobândiți care au influențat prognosticul bolii.
2. De a stabili rolul modificărilor morfohistologice a țesuturilor loco-regionale în fiziopatologia defectelor malformative ale peretelui abdominal anterior și de a estima rolul lor în asocierea unor complicații postoperatorii.

3. De a studia gravitatea și rolul modificărilor histopatologice ale anșelor intestinale modificate în etiopatogenia, evoluția și exodul gastroschizisului la nou-născuți.
4. De a analiza comparativ tehnicile chirurgicale utilizate în afecțiunile malformative ale peretelui abdominal anterior în funcție de modificările histologice obținute și în baza lor de a testa unele țesuturi biologice care ar putea fi utilizate în plastie.
5. De a argumenta morfopatologic avantajele și dezavantajele utilizării grefelor biologice decelularizate, în tratamentul chirurgical al afecțiunilor malformative ale peretelui abdominal anterior în model experimental.

#### **Inovația și originalitatea științifică a rezultatelor obținute**

- A fost determinată eficiența comparativă și argumentată morfopatologic utilizarea diferitor grefe biologice în reconstrucția defectelor experimentale și congenitale ale peretelui abdominal.
- În baza unei analize retrospective a cazurilor de defecte congenitale ale peretelui abdominal anterior internate în secția de chirurgie neonatală a IMSP Institutul Mamei și Copilului a fost stabilită incidența malformațiilor congenitale asociate cu gastroschizis și omfalocel, cât și al altor factori de risc care au influențat semnificativ evoluția nefavorabilă a bolii și rata sporită a mortalității în aceste malformații grave.
- A fost efectuată estimarea și argumentarea științifică a modificărilor morfopatologice ale anșelor intestinale eviscerate la nou-născuții cu gastroschizis și rolul lor în patogeneza dereglărilor persistente de peristaltism și de tranzit intestinal, care în unele cazuri influențează semnificativ prognosticul bolii.
- A fost efectuată o evaluare complexă a particularităților morfopatologice regionale ale defectului congenital al peretelui abdominal la nou-născuți cu gastroschizis și omfalocel, cât și a modificărilor morfopatologice ale complexelor placentare în aceste malformații.

**Problema științifică rezolvată** în teză constă în analiza comparativă a eficienței utilizării diferitor grefe biologice: membrana amniotică, pericardul bovin, fascia lata la bovine și al peritoneului parietal bovin în reconstrucția defectelor experimentale și congenitale ale peretelui abdominal cu scop de ameliorare a rezultatelor tratamentului chirurgical al acestor malformații.

#### **Semnificația teoretică**

- Modificările regionale în gastroschizis sunt dominate de o disconcordanță de maturizare marcantă a elementelor musculofasciale și ganglioneuronale adiacente defectului parietal.
- Rezultatele acestui studiu au permis de a constata spectrul modificărilor structurale în ansele intestinale eviscerate și de a argumenta științific responsabilitatea lor pentru



dereglările persistente de peristaltism și tranzit intestinal, în unele cazuri grave, acestea având un caracter ireversibil.

- Peritoneul bovin parietal fixat în formaldehidă 0,5%, dispunând de o biocompatibilitate și biorezistență acceptabilă, oferă o consolidare stabilă în închiderea defectelor majore ale peretelui abdominal în model experimental, în același timp procesul inflamator cronic pe fondul fenomenelor degenerative reprezintă un dezavantaj important în stabilitatea proprietăților mecanice și a funcționalității neoperitoneului format după înlocuirea treptată a implantului.
- Utilizarea grefei de pericard bovin induce degenerescența și resorbția treptată neuniformă a implantului cu neoformarea țesutului conjunctiv și neovascularizare, aceste procese oferind o rezistență acceptabilă cu proprietăți de stabilizare a peretelui abdominal.
- Acțiunea iritantă și inflamatorie nesemnificativă a grefelor de fascie bovină preservată în formaldehidă asupra anselor intestinale permite utilizarea ei în închiderea defectelor fasciale abdominale, fiind plasată în contact direct cu conținutul abdominal.

#### **Valoarea aplicativă a rezultatelor**

- S-a constatat că membrana amniotică prelucrată cu glutaraldehidă sau formalină oferă o stabilitate mai mică comparativ cu cea criopreservată în cazurile de utilizare în calitate de substituent temporar util al peritoneului în defectele peretelui abdominal, această membrană fetală având proprietăți reparativ-regenerative marcante.
- Ținând cont de structura arhitecturală a sacului omfalocelului descrisă de noi, în cazurile de omfalocel de dimensiuni majore cu disproporție visceroabdominală există condiții favorabile pentru procesele reparative ale sacului, acest fapt justificând conduita conservativă în formele date ale malformației.
- Rezultatele obținute sunt utilizate în efectuarea cercetărilor și elaborarea de grefe noi în laboratorul Inginerie tisulară și culturi celulare, catedra Anatomie topografică și chirurgie operatorie.
- Rezultatele obținute justifică utilitatea grefelor acelulare de fascie bovină ca o alternativă în calitate de implant biologic xenogen în chirurgia reconstructivă a defectelor peretelui abdominal, această opțiune necesitând studii imunologice comparative și clinice suplimentare.

**Aprobarea rezultatelor științifice.** Teza a fost discutată și aprobată la:

- Conferința de Chirurgie Pediatrică dedicată jubileului de 100 ani de la nașterea Academicianului Natalia Gheorghiu, (Chișinău, 2014);

- Al 8-lea Congres Național al Societății Române de Chirurgie Pediatrică ”Urgențe chirurgicale la copil” (Timișoara, 2016);
- Conferința Internațională de Chirurgie Pediatrică, (Chișinău, 2017);
- Al V-lea congres Internațional de medicină și farmacie al studenților și tinerilor cercetători științifici ”BIMCO 2018” (Cernăuți, 2018);
- Congresul internațional de chirurgie pediatrică WOFAPS „Integrated approach for better children’ outcomes – avoiding disability” (București 2018);

**Publicații la tema tezei.** În baza rezultatelor studiului efectuat au fost publicate 14 lucrări științifice, inclusiv: 9 articole.

### **SUMARUL COMPARTIMENTELOR TEZEI**

**În introducere** sunt expuse argumentele ce stau la baza cercetării, descrierea situației din domeniu la nivel global și național, care argumentează necesitatea studiului științific în continuare. În acest context, au fost formulate scopul și obiectivele tezei, a fost argumentată semnificația teoretică și valoarea aplicativă a lucrării. În același compartiment au fost prezentate și publicațiile la tema tezei.

**Capitolul I** prin revista literaturii sunt descrise rezultatele cercetărilor științifice din domeniu, efectuate de cercetători și savanți din alte țări. Capitolul conține o sinteză a rezultatelor expuse în literatura de specialitate, cu analiza situației existente în defectele congenitale ale peretelui abdominal anterior (omfalocel și gastroschizis), cu descrierea avantajelor și dezavantajelor existente. Compartimentul dat conține informația generală despre istoricul și aspectele moderne de etiopatogenie a omfalocelului și gastroschizisului. În mod aparte s-au analizat metodele de estimare clinico-evolutive și principiile generale de tratament în defectele congenitale ale peretelui abdominal anterior și complicațiile lor la nou-născut în perioada contemporană. La finele capitolului în baza concluziilor se argumentează necesitatea efectuării studiului.

**Capitolul II (Materiale și metode de cercetare)** conține o caracteristică generală a materialului de cercetare unde este descrisă minuțios metodologia, materialul și metodele de cercetare folosite în cadrul studiului științific. Compartimentul elucidează tehnica de preparare, decontaminare și conservare a diferitor tipuri de grefe biologice, precum și procedura de decelularizare a unor tipuri de grefă utilizate în studiul experimental. Este elucidată metodologia de examinare histomorfologică prin metoda clasică și histochimică a probelor tisulare prelevate. Materialul acumulat a fost analizat cu utilizarea programul Microsoft Office Excel 7.0, cu pachetul de prelucrare statistică după criteriul Student. Datele au fost prelucrate statistic în pachetul de soft STATISTICA 7.0.

În **capitolul III** este descris statutul clinico-paraclinic al pacienților cu defecte congenitale ale peretelui abdominal anterior (gastroschizis și omfalocel) în baza studiului retrospectiv ale fișelor medicale ale nou-născuților cu acest tip de maladie. În acest compartiment sunt descrise modificările structurale, ale anselor intestinale eviscerate la nou-născuții cu gastroschizis, particularitățile morfopatologice regionale ale defectului congenital al peretelui abdominal anterior la nou-născuți cu gastroschizis și rolul lor în patogeneza și exodul bolii. Acest capitol conține descrierea aspectelor histopatologice ale omfalocelului și modificările morfopatologice ale complexelor placentare la nou-născuți cu defecte congenitale ale peretelui abdominal anterior (gastroschizis și omfalocel).

În **Capitolul IV** este redată analiza rezultatelor tratamentului chirurgical al copiilor cu afecțiuni malformative ale peretelui abdominal anterior ca argument pentru efectuarea unui studiu experimental cu scop de studiere a unor noi metode de corecție a defectului peretelui abdominal. În acest compartiment este prezentată utilizarea experimentală a grefelor biologice în plastia defectelor provocate chirurgical ale peretelui abdominal anterior. A fost utilizată membrană amniotică prelucrată cu formaldehidă, glutaraldehidă și criopreservată. Tot în acest capitol este descris răspunsul celular local în utilizarea grefelor de fascie bovină, care este caracterizat de un proces inflamator redus și procese regenerativ-constructive semnificativ mai avansate comparativ cu utilizarea grefei de pericard bovin. În cazul utilizării grefei de fascie bovină prezervată în formaldehidă s-a demonstrat acțiunea iritantă și inflamatorie nesemnificativă asupra anselor intestinale comparativ cu pericardul bovin. S-a stabilit că grefa de fascie bovină prezervată în formaldehidă nu induce dezvoltarea unui proces aderențial abdominal semnificativ, acest fapt permițând utilizarea ei în închiderea defectelor fasciale abdominale. Este de remarcat faptul că oportunitatea plastiei defectelor peretelui abdominal anterior cu implantul peritoneal bovin fixat în formaldehidă 0,5% în model experimental nu induce dezvoltarea unui proces aderențial intraabdominal, dovadă promițătoare în favoarea utilizării acestui material biologic în procedeul de poziționare intraperitoneală în spațiul retromuscular.

În **Capitolul V** sunt elucidate particularitățile plastiei defectelor congenitale și provocate ale peretelui abdominal anterior pe animale de laborator porcine. În acest compartiment este descrisă utilizarea grefei acelulare de fascie bovină decelularizată ce este caracterizată de dominarea proceselor de regenerare activă cu remodelarea țesuturilor și invadarea celulelor gazdă, țesuturile implantului xenogen fiind supuse unei degradări treptate și substituite cu țesut conjunctiv neoformat al gazdei. Grefa acelulară de pericard bovin se caracterizează prin rezistență și durabilitate acceptabilă în reconstrucția defectelor majore ale peretelui abdominal dar s-au constatat procese de metaplazie cu neoformarea focarelor de cartilaj și osificare trabeculară în implantul biologic, fapt ce impune necesitatea unor studii suplimentare pentru a

clarifica rolul acestor modificări în dezvoltarea unor potențiale complicații postoperatorii la distanță. În cazurile de utilizare a grefei acelulare de peritoneu bovin, reziduurile de grefă au fost observate cu predilecție în zonele centrale comparativ cu zonele marginale în care persistă o matrice polimorfocelulară care invadează grefa.

# **1. CONCEPȚII CONTEMPORANE ÎN CORECȚIA CHIRURGICALĂ A DEFECTELOR CONGENITALE ALE PERETELUI ABDOMINAL ANTERIOR LA NOU- NĂSCUȚI**

## **1.1. Aspecte etiopatogenetice și clinico-diagnostice în gastroschizis la nou-născuți**

*Gastroschizisul* (laparoschizis) reprezintă un defect structural congenital al peretelui abdominal anterior, localizat, de obicei, în dreapta inserției cordonului ombilical, și prin care herniază viscerele intraabdominale [87, 224]. Defectul peretelui abdominal este relativ mic (2-4 cm în diametru) în comparație cu dimensiunile organelor eviscerate și se prezintă sub formă de fantă paraombilicală, amplasată în imediata apropiere de ombilic sau separată de acesta printr-o bandă de piele [23, 209]. Deși în majoritatea cazurilor defectul parietal este situat în dreapta ombilicului [1, 31], rareori poate fi constatat și din stânga cordonului inserat normal [131, 224] sau cazuistic supraombilical sau infraombilical [238]. Întrucât organele eviscerate nu sunt acoperite de membrane embrionare sau sac, intrauterin sunt expuse lichidului amniotic, ceea ce determină dezvoltarea unor modificări morfopatologice (edem, scurtarea anșelor intestinale) [180].

Există dovezi că această malformație era cunoscută încă în 1056, iar pentru prima dată a fost descrisă de Lycosthenes în 1557 [301]. În muzeul Hunterian al Colegiului Regal al Chirurgilor din Anglia sunt expuse o serie de specimene fetale de diferite vârste gestaționale, colectate de John Hunter (1728-1793), printre care și un făt de 97 de zile de gestație cu gastroschizis [281]. În unele comunicări se insistă că prima descriere a gastroschizisului aparține lui Calder J. (1773) [144, 381]. Hei W., în 1775, a descris un nou-născut la care “intestinul subțire se afla pe abdomen, neavând nici un sac.” Deși intestinul a fost redus imediat în cavitatea abdominală, copilul a murit la scurt timp. Primele cazuri de supraviețuire în caz de gastroschizis care, în retrospectivă, s-a dovedit a fi o ruptură de omfalocel minor, au fost raportate de către Vissick C. (1873) [306], Fear W. (1878) [105], Spitz L. (2008) [281].

Termenul “gastroschizis” a fost folosit pentru prima dată de Taruffli în 1894 [210] și provine din limba greacă, sensul fiind “stomac despicat”, termenul corect fiind “laparoschizis” (abdomen despicat) [61].

În săptămâna a 3-a de gestație embrionul reprezintă un disc trilaminar format din ectoderm dorsal, endoderm ventral, mezoderm, situat între aceste foițe, și sac vitelin de dimensiuni mult mai mari comparativ cu embrionul. Din ectoderm se formează cute neuronale, care, crescând, se închid dând naștere tubului neural. Simultan, marginile laterale ale discului se pliază ventral, formând cutele cefalică, caudală și două laterale. Din fuziunea acestora ia naștere peretele abdominal [108]. În săptămâna a 6-a de gestație, când formarea peretelui abdominal este în derulare, dezvoltarea rapidă a tractului intestinal determină migrarea acestuia prin inelul

ombilical în afara cavității abdominale – în cordonul ombilical. În săptămânile 10-12 de gestație când peretele abdominal este deja bine format, iar cavitatea abdominală suficient de spațioasă pentru reîntoarcerea intestinului, are loc rotația normală și fixarea acestuia [121].

În literatura de specialitate sunt descrise mai multe ipoteze ce încearcă să lămurească dezvoltarea gastroschizului, printre care dereglări de dezvoltare ale mezodermului în peretele abdominal, leziunile amnionului în jurul inelului ombilical, sechele în rezultatul involuției venei ombilicale drepte sau întreruperea arterei viteline drepte [50, 114]. Gastroschizul se dezvoltă la a 6-a săptămână de gestație, malformația fiind determinată, cel mai probabil, de ocluzia intrauterină a arterei ombilicale mezenterice asociată cu infarct [4, 107].

Duhamel B.(1963) considera că dereglările timpurii de diferențiere a mezenchimului embrionar (somatopleuric) pot fi cauza unor defecte de dezvoltare ale peretelui abdominal [100]. Ulterior, Vermeji-Keers C. și coaut. (1996) au expus o teorie modificată, bazată pe displazia mezodermului inelului ombilical cu dezvoltarea unui defect lateral [305].

Shaw A.(1975) a sugerat ideea că gastroschizul este cauzat de ruptura membranei amniotice de la baza cordonului ombilical produsă în perioada de hernie fiziologică sau de întârzierea închiderii inelului ombilical. Această teorie nu explică modul de producere a rupturii și existența pielii normale între cordonul ombilical și defectul parietal [271].

DeVries P.A. (1980) susținea că involuția prematură a venei ombilicale drepte are efecte adverse asupra mezenchimului adiacent, provoacă necroza peretelui abdominal cu dezvoltarea ulterioară a rupturii acestuia [88].

Hoyne H.E. et al. (1981) a lansat o teorie conform căreia perturbarea arterei viteline drepte (omfalomezenterice) în regiunea ombilicală provoacă infarct și necroza bazei cordonului ombilical cu ruperea ulterioară a peretelui abdominal și hernierea conținutului intestinal prin defect [134]. În prezent această teorie nu este acceptată, deoarece s-a constatat că arterele viteline aprovizionează cu sânge intestinul și sacul vitelin, dar nu peretele abdominal, vascularizat din ramurile dorsolaterale ale aortei.

Komuro H. et al. (2010) susțin ipoteza asocierii în gastroschizis a dereglărilor de dezvoltare ale sacului vitelin și ale fuzionării structurilor viteline conexe, încorporate în cordonul ombilical, cu patogeniza defectului peretelui abdominal [167]. Există părerea că benzile paraombilicale, derivate din structurile viteline ar putea fi o cauză a ischemiei intestinale în perioada prenatală sau postnatală.

În ultimii ani au fost evidențiați factorii de risc în dezvoltarea gastroschizului, printre care: vârsta maternă și paternă, starea socioeconomică, folosirea drogurilor, alcoolului și fumatul în timpul sarcinii, infecțiile materne, contactul cu substanțe chimice, iradierile [20]. Retrospectiv a fost constatat rolul fumatului, avorturilor și al unor preparate constrictive (efedrină, cocaină),

antiinflamatoare nesteroidiene (ibuprofen) în dezvoltarea gastroschizisului și atreziei intestinale [259, 318]. Incidența gastroschizisului este destul de mare în lotul gravidelor de 15-19 ani, constituind 1:400 de nou-născuți [10]. Rolul factorilor genetici în etiologia gastroschizisului este incert: deși sunt raportate cazuri familiale, acesta se întâlnește sporadic [298].

Printre nou-născuții cu gastroschizis, retard în dezvoltarea intrauterină prezintă 56,7%, aceasta influențând frecvența disproporției visceroadominale, dar nu și gradul ei [17, 18].

Studii recente au identificat o asociere pozitivă între genele NOS3, ANP, ADD1, ICAM1 și gastroschizis. Faptul că aceste gene sunt responsabile de mecanismele de angiogeneză, rezistență dermică și epidermică, integritatea vaselor, sprijină ipoteza compromiterii vasculare în etiologia gastroschizisului [295]. Unele studii au sugerat un posibil rol al modificărilor genei AEBP1 în dezvoltarea gastroschizisului. Această genă codifică o proteină intracelulară implicată în răspunsul proinflamator și poate avea un rol critic în apoptoza și supraviețuirea celulară, gastroschizisul fiind un defect al peretelui abdominal, mai frecvent constatat la femeile tinere, asociat în perioadele precoce ale sarcinii cu infecțiile genitourinare [107].

A fost sugerată ideea că cadmiul și conținutul de CO<sub>2</sub> din tutun induc expresia factorilor inflamatori (TNF și NFK-A), activând NOS3 și ICAM1, care ar putea fi implicate în fiziopatologia gastroschizisului [120].

Tabloul clinic și diagnosticul gastroschizisului nu prezintă mari dificultăți [158]. Defectul peretelui anterior al abdomenului este de 2-8 cm. Prin el are loc eventrarea stomacului, intestinului subțire, unei părți din intestinul gros, uneori a vezicii urinare, uterului împreună cu anexele [210]. Deși unii autori susțin că în gastroschizisul veritabil ficatul este întotdeauna situat normal [253], hernierea acestuia a fost înregistrată în 2,3-16% din cazurile de gastroschizis, fiind asociat cu rate sporite ale mortalității [203]. Nu este surprinzător faptul că diagnosticul prenatal de gastroschizis este sub semnul întrebării atunci când se constată hernierea ficatului, eventrația acestuia fiind asociată cu omfalocelul. Rareori defectul parietal poate fi mai mic de 2 cm cu implicarea tuturor straturilor peretelui abdominal. Gastroschizisul minor este considerat un defect abdominal mic din dreapta și adiacent cordonului ombilical, cu o mică protruzie a omentului [315].

Organele eventrate sunt edemațiate, acoperite de exsudat gelatinos sau de un strat gros de fibrină, format în perioada intrauterină ca răspuns la acțiunea apelor amniotice și la dereglările aportului sanguin mezenteric la defect. Ansele intestinale au o culoare surie sau cianotică, peristaltica lipsește. În astfel de situații, retardul intrauterin și creșterea mortalității pot fi asociate cu sindromul de malabsorbție și cu pierderile de aminoacizi prin lichidul amniotic [151, 301].

În perioada postnatală, gastroschizisul este clasificat în simplu și complex [58]. Incidența gastroschizisului complex variază între 11% și 31% [38]. Cele mai frecvente patologii care

determină formele complexe ale gastroschizisului sunt atrezia intestinală (70,76%), ischemia/perforarea/necroza intestinului (26,27%), volvulusul (8%) și gastroschizisul închis (8%) [58, 99]. Aceste patologii contribuie la instalarea unor complicații severe, inclusiv dezvoltarea obstrucției intestinale și a sindromului de intestin scurt, influențând semnificativ prognosticul nefavorabil al maladiei [219, 249].

Pe lângă ocluziile mecanice, la pacienții cu gastroschizis se determină și un sindrom de dismotilitate severă, care se manifestă prin pseudoobstrucție, determinat de expunerea prelungită a anșelor intestinale la acțiunea lichidului amniotic și produselor sale reziduale [245, 280, 285]. În acest context, mai mulți autori au descris rolul a diverse modificări ale celulelor interstițiale Cajal în dismotilitatea intestinală în gastroschizis, aceste celule fiind prezente în principal în plexurile mienterice și responsabile pentru crearea potențialelor bioelectrice care duc la contracția musculaturii netede intestinale și peristaltismului [323]. Există studii experimentale care au constatat că utilizarea donatorilor de oxid nitric (s-nitrosoglutation) reduce efectul dăunător al expunerii intestinului la acțiunea lichidului amniotic, contribuind la ameliorarea semnificativă a modificărilor morfologice ale intestinului în gastroschizis [119].

Gastroschizisul "închis" reprezintă o formă a malformației condiționată de închiderea semnificativă a defectului peretelui abdominal în jurul intestinului mediu prolabat, condiționând o serie de sechele: infarctul intestinului, reabsorbția intestinului, mumificarea intestinului cu închiderea completă a inelului defectului parietal [273]. Mai puțin severă este considerată ocluzia intracavitară simplă fără insuficiență vasculară. Cel mai frecvent se identifică o rămășiță a intestinului extraabdominal, localizat din dreapta ombilicului, ca o masă retractată neviabilă sau intestinul are o lungime normală cu modificări gangrenoase. Intestinul proximal intraabdominal este dilatat, de lungime variabilă [315].

Diagnosticul prenatal de gastroschizis se stabilește cu ajutorul metodei ultrasonografice începând cu a 12-a – a 14-a săptămână de gestație, după finalizarea fazei de hernie fiziologică a intestinului mediu [19, 64]. Aspectul ecografic tipic prenatal al gastroschizisului este de anse intestinale, care plutesc liber în lichidul amniotic, nefiind acoperite de membrană [5, 122]. Ecografia prenatală nu întotdeauna permite identificarea gastroschizisului împreună cu atrezia intestinală, eficacitatea fiind de 70-80%. Utile în diagnosticul prenatal al gastroschizisului sunt aprecierea nivelului alfa-fetoproteinei, gonadotropinei corionice în serul matern și a indicelui acetilcolinesterază/pseudocolinesterază [301]. În unele studii a fost experimentată identificarea precoce a unor markeri ultrasonografici asociați cu moartea și morbiditatea perinatală, care includ leziuni semnificative intestinale, enterocolita necrozantă, precum și necesitatea de rezecție intestinală la fete cu gastroschizis [277]. Ecografia este și o modalitate imagistică neinvazivă



de evaluare a activității intestinale pentru a detecta cu exactitate restabilirea funcției intestinului la nou-născuți cu gastroschizis și stabilirea timpului optim pentru a începe alimentarea.

RMN poate fi utilă în diagnosticul gastroschizului, prezentând anse intestinale herniate printr-un defect al peretelui abdominal, adiacent cordonului ombilical intact, ansele intestinale plutind liber în lichidul amniotic fără a fi acoperite de membrană sau în cazurile dubioase [249].

Diagnosticul diferențial se face cu: omfalocelul, extrofia vezicii urinare, sindromul benzilor amniotice, ectopia cordului, pentalogia Cantrell [283].

## **1.2. Evoluția strategiilor de corecție chirurgicală în gastroschizis la nou-născuți**

Referitor la metoda de naștere în caz de gastroschizis nu există un consens. Nu sunt descrise indicații clare pentru operația cezariană [10]. Există opinia că în gastroschizisul diagnosticat prenatal trebuie să se recurgă la o naștere precoce pentru a reduce intensitatea modificărilor intestinale generate de peritonita chimică și dezvoltarea complicațiilor septice. Creșterea rapidă a polihidramniosului și accelerarea modificărilor patologice în organele eviscerate impun o naștere prematură prin cezariană sau naștere naturală pe fond de stimulare [23, 177]. Unii autori au constatat că metoda de naștere influențează particularitățile anatomice și starea organelor eventrate în cazurile de gastroschizis. La copiii cu gastroschizis născuți prin operație cezariană dimensiunile defectului peretelui abdominal sunt semnificativ mai mici, iar modificările organelor eventrate mai puțin exprimate comparativ cu cei născuți pe cale naturală [17], operația cezariană fiind considerată optimală în aceste cazuri [22]. În același timp, unii autori consideră că nașterea timpurie nu reduce deteriorarea intestinului, nu contribuie la îmbunătățirea funcției și nu îmbunătățesc indicii de externare a pacienților din spital [67].

Prima intervenție chirurgicală în gastroschizis a fost raportată de Fear W. (1878), [105] și Watkins D.E. (1943) [311]. În 1953, Moore T.C. și Stokes G.E. au propus metoda de închidere a abdomenului în caz de gastroschizis cu plici cutanate [215].

La stabilizarea și managementul preoperator al nou-născutului cu gastroschizis trebuie să se țină cont de mai mulți factori. În gastroschizis au loc pierderi semnificative de lichid, prin evaporare, și de căldură din intestinul expus la mediul ambiant cu instalarea ulterioară a modificărilor metabolice. De aceea, după naștere este necesar de a găsi un acces intravenos adecvat pentru a iniția restabilirea volumului de lichid. Copilul trebuie monitorizat pentru semne de hipotermie, detresă respiratorie și șoc. Este importantă decompresia gastrică și prevenirea distensiei intestinale. Intestinul eventrat trebuie înfășurat cu pansamente de tifon îmbibat cu ser fiziologic cald, plasate central pe peretele abdominal, copilul fiind poziționat pe partea dreaptă, pentru a preveni răsucirea mezenterului. Se va efectua o examinare aprofundată a copilului în

vederea depistării altor malformații. Deosebit de atent se va examina intestinul eventrat pentru a exclude prezența atreziei, necrozei sau perforației acestuia [64].

Obiectivele intervenției chirurgicale în defectele congenitale ale peretelui abdominal includ: minimizarea pierderilor prin evaporare și termice, reducerea intestinului în cavitatea abdominală și închiderea defectului peretelui abdominal [118], în acest context fiind propuse diferite strategii, care au evoluat considerabil, perioada optimă a intervenției chirurgicale fiind primele ore după naștere [14, 125]. Actualmente, principiile tratamentului chirurgical în defectele congenitale ale peretelui abdominal au rămas aceleași și includ: reducerea organelor eviscerate în cavitatea abdominală în condiții de siguranță, închiderea defectului peretelui abdominal cu un aspect cosmetic acceptabil, identificarea și tratamentul malformațiilor asociate, stabilirea unui suport de nutriție independent până la trecerea completă la alimentație enterală, depistarea și tratamentul adecvat al complicațiilor abdominale, intestinale sau ale plăgii [230].

Reducerea primară și închiderea defectului cu suturi fasciale reprezintă standardul inițial în strategia chirurgicală în gastroschizis cu o anatomie favorabilă [73]; reducerea treptată fiind utilizată frecvent ca o strategie de salvare în caz de disproporție visceroabdominală [181], îndeosebi în cazurile grave [216]. Închiderea primară unimomentană a gastroschizisului, care ar trebui să fie obiectivul prioritar deoarece asigură cea mai bună protecție a viscerelor, poate fi aplicată doar în două treimi din cazuri [230].

Până la sfârșitul anilor 60 ai sec. XX, închiderea peretelui abdominal cu lambouri cutanate (autoplastie bimomentană) era unica metodă de tratament a gastroschizisului. Distensia intenționată a peretelui abdominal, descrisă în premieră de Izant și Brown (1966) [145], și evacuarea completă a meconiului intestinal erau esențiale pentru succesul acestei tehnici [290]. Etapa a doua a intervenției chirurgicale consta în lichidarea herniei ventrale după 6-12 luni [10, 11].

Pentru închiderea defectului în gastroschizis au fost descrise mai multe metode, mai răspândite fiind închiderea fascială operativă cu aplicarea suturilor și utilizarea tehnicii nonoperative cu lambou descrisă inițial de Bianchi [60] și modificările ulterioare propuse de Kimble și Sandler [320].

Succesul închiderii fasciale primare a peretelui abdominal este dependent de dimensiunile disproporției visceroabdominale și de efectele ulterioare ale hipertensiunii intraabdominale, cea mai mare provocare pentru chirurgii pediatri. Creșteri mici ale presiunii intraabdominale pot cauza insuficiență renală și respiratorie, deficiențe și ischemia intestinului [180]. Actualmente există o tendință de creștere a utilizării tehnicii Bianchi [73], explicată prin ușurința efectuării procedurii cu o sedare minimă sau fără sedare, asociată cu rentabilitatea bazată pe utilizarea redusă a sălii de operație și obținerea unor rezultate rezonabile [241, 320].

Printre măsurile de rezolvare a disproporției visceroabdominale se numără rezecția organelor, distensiunea peretelui abdominal și închiderea lui cu lambouri de piele [312]. Evaluarea presiunii din vezica urinară are o importanță deosebită în alegerea tacticii de închidere primară a peretelui abdominal în condiții de siguranță, aceste valori nu trebuie să depășească 20 mmHg după reducerea conținutului în cavitatea abdominală [228]. Închiderea primară a peretelui abdominal deseori se asociază cu o deteriorare temporară, dar semnificativă, a funcției respiratorii cauzată de descreșterea complianței respiratorii, micșorarea tensiunii arteriale, frecvenței contracțiilor cardiace și diureză, fapt ce determină evoluția nefavorabilă a bolii în 22,7% din cazuri [16].

Avantajele închiderii fasciale primare a defectului peretelui abdominal sunt: scurtarea perioadei de evoluție a ileusului, trecerea mai rapidă la alimentație perorală, reducerea aflării în staționar, excluderea unei intervenții repetate [265].

Reducerea treptată a organelor eviscerate cu ajutorul pungilor de tiflon a fost descris pentru prima dată, în 1967 de Schuster S.R [266]. Ulterior, Allen și Wrenn (1969) au propus utilizarea în acest scop a sacilor de silastic [33]. Aplicarea acestei metode, concomitent cu nutriția parenterală, au permis o reducere semnificativă a mortalității pacienților cu gastroschizis [149]. Începând cu 1997, cu scopul întoarcerii treptate a conținutului eviscerat în abdomen se folosesc pe larg pungi speciale din silastic. Deși necesită o spitalizare de lungă durată, metoda a redus ratele de complicații și a mortalității, micșorând riscul disfuncțiilor intestinale pe termen lung și necesitatea unei noi intervenții [172]. Rămân riscurile de asociere a infecției [264], dehiscenta liniei de sutură, dezvoltarea aderențelor intestinale, a fistulelor generate de materialul sintetic sau a complicațiilor mecanice cauzate de inelul defectului parietal [261].

Cordonul ombilical este un material autolog, util în tratamentul defectelor parietale abdominale [3], inclusiv în acoperirea temporară a viscerelor eventrate în caz de gastroschizis [312]. Această tehnică, de rând cu metoda de divizare a mușchiului drept abdominal, au fost descrise ca metode ce facilitează închiderea primară a abdomenului, dar care duc la o creștere semnificativă a incidenței herniilor ventrale [174], motiv ce au determinat pe unii autori să perfecțeze acest procedeu utilizând concomitent celulele stem provenite din substanța gelatinoasă Wharton.

În cazurile când închiderea primară este imposibilă, gestionarea temporară sau permanentă a defectului parietal abdominal se poate realiza prin utilizarea unor patch-uri sintetice sau biologice [140]. Cele sintetice (neresorbabile) sunt folosite pentru închiderea temporară a defectului, până când suprafața fasciei va permite închiderea efectivă a abdomenului. Meșele resorbabile (poliglactin, vicril), fiind inerte, nonantigenice, nonpirogenice, se pot aplica pentru închiderea pe termen lung sau permanentă a cavității abdominale. Din grupul materialelor

sintetice fac parte: Marlex, foi de silastic, plasă monofilament din polipropilenă, Gore Tex. Materialul sintetic suturat la fascie poate produce unele complicații, printre care: infecție, eroziuni viscerale, fistule, eroziuni ale pielii, dezvoltarea aderențelor [57]. Din biomaterialele acelulare xenografe sunt utilizate collagenul dermic porcine, submucoasa intestinală porcine (Surgis). În plastia defectelor parietale abdominale destul de eficiente s-au dovedit a fi alogrefele acelulare umane (AlloDerm) [57].

În prezent tot mai des se recurge la tratament chirurgical prenatal al gastroschizisului, autorii afirmând că această intervenție este sigură pentru mamă și făt, succesul bazându-se pe o cooperare multidisciplinară [192].

Complicațiile postoperatorii posibile: ischemia intestinală sau renală, infarctul intestinului, dezvoltarea fistulelor enterocutate, enterocolita necrotică, ocluzia intestinală, sindromul intestinului scurt, disfuncții intestinale prelungite, complicații septice [264].

### **1.3. Caracteristica clinică, particularitățile de diagnostic și opțiunile de tratament în diverse forme de omfalocel**

*Omfalocelul (exomphalos)* reprezintă un defect median al peretelui abdominal anterior, la baza cordonului ombilical, prin care are loc extruziunea organelor abdominale, acoperit de un sac membranos amnioperitoneal [29, 194]. Dimensiunile defectului variază de la 2 cm până la 12 cm și poate fi centrat în partea superioară, de mijloc sau inferioară a abdomenului, dimensiunile și localizarea având implicații importante în conduita terapeutică [181]. Foițele sacului membranos sunt reprezentate de amnion, substanța gelatinoasă Wharton și peritoneu, cordonul ombilical fiind inserat în acest sac [170]. Conținutul omfalocelului include: anse intestinale, de multe ori o porțiune de ficat și ocazional alte organe, cum ar fi splina [196]. Cea mai veche descriere a omfalocelului a fost găsită în lucrările lui Ambroise Pare [150]. Primele succese în tratamentul chirurgical al omfalocelului au fost înregistrate de Hey (1803) și Hamilton (1806), Scarpa (1812) a atras atenția asupra asocierii omfalocelului cu alte malformații care determină prognosticul fatal, iar Ahlfeld (1899), aplicând pansamentele cu alcool pe sac, a fost primul care a tratat omfalocelul fără operație [130, 150].

*Etiopatogenia* omfalocelului nu este pe deplin elucidată [126]. Se consideră că la baza dezvoltării malformației stau dereglările de reîntoarcere a intestinului mediu în cavitatea abdominală, după perioada de herniere embrionară normală în cordonul ombilical în a 6-12-a săptămână de dezvoltare intrauterină, și cele de migrare centrală a plicii mezodermale [86]. Ficatul nu migrează în afara cavității abdominale și, prin urmare, nu va fi prezent în conținutul herniei fiziologice. În cazul când plicile laterale nu se închid rămâne un defect major al peretelui abdominal, prin care va hernia conținutul cavității abdominale, inclusiv ficatul [84].

Diferențierea mușchilor peretelui abdominal decurge simultan cu procesul de rotație a intestinului și de reîntoarcere a anselor intestinale în cavitatea abdominală. Anume aceste momente și joacă un rol central în dezvoltarea omfalocelului [62].

Experimental s-a dovedit că administrarea unor substanțe cu acțiune teratogenă, precum cadmiul (Cd), poate induce o creștere anormală a plăcii laterale a mezodermului la embrionii de găină, rezultând dezvoltarea defectelor peretelui ventral abdominal cu caracteristici similare cu omfalocelul uman [291]. În modele experimentale a fost dovedit că nivelurile de expresie a genei *Msx1* și *Msx2* sunt semnificativ reglate începând cu 1 oră după tratamentul cu Cd, imunoreactivitatea *Msx1* în ectoderm, neuroepiteliu și somit și *Msx2* în neuroepiteliu fiind semnificativ scăzută într-o perioadă critică embriogenetică [95]. S-a demonstrat experimental acțiunea teratogenă a Cd și asupra genelor *Eya* (*Eya1* și *Eya2*), care, ulterior pot contribui la dezvoltarea fenotipului de omfalocel [94].

Tipul omfalocelului este dependent de plica embrionară implicată în procesul patologic. Din defectele plicii cefalice rezultă omfalocelul epigastric, constatat în pentalogia Cantrell (omfalocel epigastric, defect diafragmatic anterior, defect sternal, defect pericardial și defecte intracardiace asociate). Defectele plicii laterale cauzează dezvoltarea omfalocelului “clasic”, iar ale celei caudale – omfalocelului hipogastric, extrofiei vezicii urinare și cloacale. Omfalocelul poate fi parte componentă a diferitor sindroame genetice, ceea ce indică că această malformație nu are o etiologie specifică [71, 110, 181]. Au fost observate și cazuri familiare [246]. Studiile efectuate pe modele de animale, precum și investigațiile genetice umane au pus în evidență mai multe gene incriminate în dezvoltarea acestui defect, inclusiv: *Rock-1*, *Pitx2*, *IGFR-1*, *FGFR1* și *FGFR2*, *FOXA2* și *Hoxb4*, *Alx-4*, *MSX1* etc. [226].

Unele observații clinice indică că dimensiunile omfalocelului corelează cu sexul copilului și cu tipul malformațiilor congenitale concomitente. Sexul masculin și anomaliile intestinale sunt legate de omfalocelul de dimensiuni mici, iar sexul feminin și defectele cardiace de omfalocel de dimensiuni majore [169].

*Benson C.D.* et al. (1945) clasifică omfalocelul în două tipuri: tipul 1 – hernia cordonului ombilical, cu un defect sub 4 cm și tipul 2 – omfalocel (amniocel) cu dimensiunile defectului de peste 4 cm [36]. Această clasificare a fost completată fiind adăugate și dimensiunile sacului embrional [322]:

Tipul I – dimensiunile defectului abdominal < 4 cm, diametrul sacului < 8 cm, conține numai anse intestinale;

Tipul II - dimensiunile defectului abdominal > 4 cm, diametrul sacului > 8 cm, conține anse intestinale, ficat sau alte organe.

Тухомирова В.Д. (1963) deosebea omfalocel de dimensiuni mici (până la 5 cm în diametru), medii – până la 8 cm și mari – peste 8 cm. Destul de răspândită rămâne clasificarea omfalocelului propusă de Байров Г.А. [10]:

- mic – diametrul defectului până la 5 cm (pentru prematuri - 3 cm);
- mediu – până la 5-8 cm (pentru prematuri – 3-5 cm);
- mare – mai mare de 8 cm (mai mare de 5 cm);
- necomplicat (foițele amniotice neschimbate);
- complicat (ruptură intrauterină a foițelor, infectarea lor).

Unii autori disting numai 3 forme ale acestei malformații, printre care: mic, gigant și rupt [30], omfalocelul mic fiind definit că măsoară  $3\text{ cm}^2$ , mai puțin de  $4\text{ cm}^2$  și până la  $5\text{ cm}^2$  [32].

Definiția unui *omfalocel "gigant"* este destul de controversată, de la descrierea unor criterii anatomice specifice până la incapacitatea de a închide primar defectul. Mulți autori consideră un omfalocel gigant atunci când defectul fascial depășește 5 cm sau 6 cm, iar în sac se conține ficatul [30, 32]. Conform altor opinii, defectul fascial în omfalocelul gigant depășește 8 – 10 cm, iar sacul herniar conține majoritatea viscerelor abdominale, inclusiv o porțiune sau ficatul întreg (hepatoomfalocel) [103, 158, 211]. Duhamel clasifică omfalocelul în cefalic (epigastric), central și caudal (hipogastric) [282].

Unii autori disting câteva tipuri de omfalocel, inclusiv: embrionar – se dezvoltă până în săptămâna a 8-a a perioadei intrauterine, fetal – se formează după luna a 3-a a vieții intrauterine și mixt. Pentru omfalocelul embrionar este caracteristică prezența ficatului în conținutul herniar, acesta fiind acoperit de peritoneul primitiv – stratul intern al omfalocelului. Capsula fibroasă a ficatului (capsula Glison) lipsește. Orice tentativă de a desprinde ficatul de membrane provoacă hemoragie. În omfalocelul fetal, sub membranele transparente se găsește cavitatea abdominală liberă, iar la înlăturarea membranelor ficatul nu sângerează. În formele mixte, regiunea superioară a sacului herniar aderă la ficat, iar cavitatea abdominală propriu-zisă nu este formată, regiunea inferioară a sacului acoperind intestinele, aranjate liber în cavitatea abdominală formată [218].

În 7-15% din cazuri evoluția clinică a omfalocelului se poate complica prin ruperea perinatală a omfalocelului determinând eventrația organelor cavității abdominale [27, 187], infectarea și dezvoltarea peritonitei.

Infectarea membranelor poate avea loc și fără ruperea lor, iar în primele zile de viață ale nou-născutului, poate fi consecința neprotejării lor cu pansament aseptice. Drept urmare a infectării apar depuneri de culoare surie și mucozități, sectoare de necroză, se dezvoltă peritonita prin contact și sepsisul.

Ruperea membranelor cu eventrația organelor cavității abdominale poate avea loc și în perioada intrauterină. În aceste cazuri, copilul se va naște cu ansele intestinale eventrate, acoperite cu depuneri fibrinoase, intestinul cu pereții edemațiați, peristaltica absentă, pielea de pe margine trecând în rămășițele membranelor amniotice. În caz de rupere a membranelor în timpul nașterii, ansele intestinale sunt viabile, iar depunerile de fibrină lipsesc [150]. Au fost documentate și alte complicații ale omfalocelului, printre care încarcerarea, necroza și perforația anselor intestinale aflate în conținutul herniar [151].

Malformațiile congenitale asociate cu omfalocel nu sunt o raritate [284]. Aproximativ 50%-75% dintre copiii cu omfalocel au și alte defecte grave cu implicarea tractului gastrointestinal, sistemului cardiovascular, aparatului musculoscheletal și sistemului nervos central, anomaliile de rotație și fixare fiind întotdeauna coexistente în această malformație gravă [176, 200]. În același timp, unele malformații gastrointestinale concomitente rar întâlnite, printre care dilatarea segmentară intestinală sau diverticulul Meckel perforat, pot pune probleme de diagnostic, influențând semnificativ evoluția omfalocelului, în aceste cazuri impunându-se necesitatea unui tratament chirurgical de urgență [148, 214].

Diagnosticul postnatal al malformației nu prezintă dificultăți, mai important fiind însă diagnosticul prenatal al acesteia. Odată cu avansarea și îmbunătățirea echipamentelor de ecografie această metodă eficientă oferă posibilitatea detectării prenatale a omfalocelului în perioade precoce [184]. Circa 75-80% din cazurile de omfalocel pot fi identificate la 16-22 săptămâni de gestație. Un alt indicator important în decelarea intrauterină a omfalocelului este evaluarea nivelului seric de alfa-fetoproteină maternă, testul fiind pozitiv în 42% din cazurile de omfalocel [282]. Investigațiile adiționale includ: amniocenteza (cromozomială, alfa-fetoproteina și analiza moleculară), ecografia fetală și rezonanța magnetică nucleară [63].

Opțiunile de tratament în omfalocel depind de mărimea defectului, vârsta gestațională și prezența malformațiilor asociate. Unii autori susțin că în gastroschisis și omfalocel este necesar de a se recurge la naștere prin cezariană pentru a evita potențialele leziuni hepatice sau ruperea sacului în timpul nașterii [127]. Conform datelor din literatura de specialitate, nou-născuții cu omfalocel cu baza defectului îngustă trebuie operați în primele 48 de ore, iar în caz de omfalocel cu baza largă – în primele 5-6 zile de viață [14].

Imediat după naștere, îngrijirea nou-născutului cu omfalocel trebuie direcționată spre stabilizarea stării generale și ambalarea sterilă a defectului abdominal pentru a reduce pierderile de căldură și de lichide. Se va evita traumatizarea și contaminarea sacului omfalocelului. Managementul inițial în sala de nașteri pentru un copil cu omfalocel implică o atenție deosebită asupra stării cardiopulmonare, din cauza unei posibile hipoplazii pulmonare care va necesita intubare imediată și ventilație [44]. Decompresia inițială a stomacului, urmată de aspirații

gastrice, sunt măsuri importante în conduita terapeutică a omfalocelului. Riscul sporit de asociere a malformațiilor concomitente impune evaluarea amănunțită a sistemului cardiovascular, renal, iar hipoglicemia ar trebui să alerteze medicul de posibilitatea prezenței sindromului Beckwith-Wiedemann. După obținerea unui acces intravenos adecvat se recurge la inițierea resuscitării volemeice. În cazurile de omfalocel rupt, conduita inițială este identică cu cea descrisă în gastroschizis [76].

Managementul omfalocelului depinde în mare măsură de dimensiunile defectului [31, 69], gradul de insuficiență pulmonară și cardiovasculară, de anomaliile asociate, având ca scop închiderea defectului [234, 239]. Aproximativ doar 30%-50% din cazurile de omfalocel pot fi supuse unei închideri primare, principala determinantă de alegere a procedurii fiind gradul de diporție viscer abdominală, în unele cazuri necesitând strategii alternative de corecție [53, 54]. În cazurile de omfalocel gigant există două strategii distincte de corecție, inclusiv închiderea chirurgicală a defectului abdominal după operații multiple și închiderea întârziată neoperatorie prin măsuri ce contribuie la epitelizarea sacului [54, 89].

***Închiderea primară.*** Tratamentul de elecție în omfalocel rămâne închiderea fascială primară. În 1803, Hei pentru prima dată a raportat o închidere primară reușită a unui omfalocel [240]. Beneficiile metodei de reconstrucție primară includ incidența redusă a sepsisului, a dezvoltării fistulelor și a mortalității [61]. De regulă, închiderea fascială primară este posibilă când dimensiunile omfalocelului nu depășesc 5-6 cm – omfalocel minor [15, 204]. Metoda constă în îndepărtarea sacului amniotic, evaluarea intestinului pentru depistarea malrotației cu rezectarea benzilor de obstrucție a duodenului, revizia conținutului pentru depistarea unei posibile atrezii intestinale, închiderea fasciei și pielii deasupra conținutului abdominal. Excizia porțiunilor de sac care acoperă ficatul se va face cu prudență, deoarece ca urmare a aderenței strânse capsula Glisson se poate rupe, ceea ce duce la hemoragie. Din cauza distorsiunii anatomice a ficatului, la bolnavii cu omfalocel venele hepatice pot fi situate chiar sub sac, pe linia mediană, ceea ce face posibilă traumatizarea lor accidentală. Din acest motiv, mai mulți chirurghi pediatri lasă o parte a sacului deasupra ficatului. Porțiunea inferioară a sacului, care acoperă vezica urinară, poate fi destul de subțire, iar excizia sacului în această regiune se poate solda cu lezarea accidentală a vezicii urinare. La închiderea fascială primară a abdomenului se va recurge când presiunea intraabdominală nu va depăși 20 mmHg după reîntoarcerea organelor în cavitatea abdominală. Unii autori raportează că 12% dintre complicații survin din cauza creșterii presiunii intraabdominale după închiderea defectului peretelui abdominal, inclusiv congestia hepatică acută (necesită reintervenții), insuficiența renală acută (necesită dializă) și infarctul intestinal [76].



În cazurile când defectul nu poate fi închis primar cu țesuturi proprii se poate recurge la grefoane din biomaterial (Alloderm, Surgisis) sau sintetice (Gore-Tex, Marlex, Dacron, Teflon) [57, 157].

În literatura de specialitate sunt descrise mai multe metode de închidere fascială primară a peretelui abdominal în omfalocelul de dimensiuni majore, printre care procedeul cu lambouri cutanate bipedicate propus de Zama M. și coaut. [322]. Conform descrierii autorului, după reîntoarcerea viscerelor în cavitatea abdominală se practică apropierea directă a planurilor musculoaponeurotice. Dacă apropierea planurilor este imposibilă sau există un risc major de creștere a presiunii intraabdominale se poate recurge la utilizarea unei plase de prolén, care se suturează de marginile planului musculoaponevrotic. Pentru modelarea a două lambouri cutanate bipedicate (câte un lambou de fiecare parte), pe peretele abdominal lateral, pe linia axilară medie, se efectuează o incizie verticală de la crista iliacă până la punctul situat la 3 cm proximal de extremitatea cefalică a defectului. Suprafața pielii între incizie și marginea defectului se separă de la planul fascial prin disecție bontă, modelând un lambou patrulater bipedical care se suturează fără tensiune pe linia mediană de un lambou asemănător de partea opusă. Zonele fasciale descoperite sunt acoperite cu grefe de piele. Autorul nu drenează plaga postoperatorie și recomandă folosirea pansamentelor cu unguent cu antibiotic fără compresiune. Ventilația mecanică este menținută în primele 5-9 zile după operație. Firele se scot la a 14-a zi.

**Închiderea amânată.** Închiderea chirurgicală pe etape permite evitarea creșterii presiunii intraabdominale și reducerea ratei de dezvoltare a herniilor secundare [302]. Închiderea amânată a defectului necesită mai multe intervenții chirurgicale înainte de a se recurge la închiderea fascială a peretelui abdominal și include utilizarea tehnicii flapsurilor de piele propusă de Gross (1948) [123], instalarea sacilor silo, plasarea expanderelor de țesut și a plaselor de interpoziție [32, 53].

Destul de răspândit a rămas procedeul propus de Gross R.E. (1948) care constă în închiderea pe etape, cu lambouri extensive de piele, pentru acoperirea defectului fără a deschide sacul amniotic, transformând omfalocelul în hernie ventrală, supusă ulterior (peste 12 luni) corecției chirurgicale [123]. În 1887, Olshasen primul a descris mobilizarea de lambouri de piele din regiunea cavității abdominale pentru a acoperi sacul omfalocelului intact [240].

Tehnica Lazaro da Silva, descrisă în 1971, avea ca obiectiv tratamentul herniilor ventrale incizionale, ulterior procedeul fiind adaptat pentru închiderea amânată a omfalocelului gigant. Procedeul constă în transpunere fibroperitoneoaponevrotică longitudinală bilaterală, care finalizează cu închiderea în trei planuri [240].

În omfalocel, indiferent de mărimea defectului, musculatura peretelui abdominal este prezentă. Mușchiul drept abdominal și teaca acestuia sunt intacte, dar se determină lateralizarea

lor. Din acest motiv, în reconstrucția omfalocelului gigant epitelizat se dă preferință tehnicii de separare a componentelor peretelui abdominal [303], propusă de Ramirez O.M. et al., (1990) [250], pentru reconstrucția defectelor mediane ale peretelui abdominal la adulți, îndeosebi în herniile ventrale [132]. Acest procedeu se bazează pe extinderea suprafeței peretelui abdominal prin translația straturilor musculare, fără a compromite inervația și vascularizarea mușchilor [303]. Inițial, se recurge la disecția pielii și a țesutului subcutanat adipos de la mușchii peretelui abdominal. Ulterior se realizează secționarea longitudinală a aponeurozei mușchiului oblic extern pe toată lungimea, la 1 cm de limita laterală a mușchiului drept abdominal, cu secționarea părții musculare a mușchiului oblic extern pe partea toracică și separarea ulterioară a acestuia de cel intern până la linia axilară. Peretele abdominal este închis pe linia mediană. După închiderea abdomenului, mușchiul oblic extern rămâne retras lateral [208, 303].

În cazurile de omfalocel de dimensiuni majore a fost introdusă utilizarea pungilor sintetice de silastic și dacron, ideea reîntoarcerii treptate a conținutului herniar în cavitatea abdominală aparținând lui Schuster S.R. (1967) [266]. Ulterior metoda a fost modificată de Allen R.G. și Wrenn E.L. (1969) [33] și începând cu anii 80, a devenit un procedeu chirurgical de elecție. Utilizarea acestor plase are ca scop protejarea organelor și facilitarea internalizării lor în cavitatea abdominală. Plasele de silicon se aplică deasupra organelor abdominale și se suturează la peretele abdominal. Silo se reduce treptat, cel puțin o dată pe zi, până când toate viscerele vor fi returnate în cavitatea abdominală. În unele cazuri sacul omfalocelului poate fi suspendat și ligaturat în serie, concomitent cu internalizarea organelor în cavitatea abdominală [39]. Metoda a permis de a micșora semnificativ rata mortalității în omfalocelul gigant. La reîntoarcerea organelor în cavitatea abdominală aceste pungi (saci) se înlătură, iar defectul peretelui abdominal se închide [315].

Tratamentul tradițional cu aplicarea inițială a silo și reîntoarcerea treptată a conținutului în cavitatea abdominală nu întotdeauna este unul de succes, în unele cazuri înregistrându-se complicații precum: insuficiență respiratorie sau hemodinamică, infecție, dehiscenta suturilor de fixare, formarea fistulelor, sepsis și chiar o evoluție fatală [53].

Metoda de reducere pe etape poate include și plasarea plaselor sintetice de inserție fascială, acestea dovedindu-se a fi utile în cazurile de rupere a omfalocelului sau când utilizarea sacilor silo este eșuată [233]. La moment, utilizarea matrițelor dermale acelulare, cum ar fi AlloDerm, urmată de un tratament topic pentru a promova granulara, reprezintă o metodă alternativă de rezolvare a omfalocelului de dimensiuni majore, care asigură obținerea unei epitelizări acceptabile [26, 53].

Utilizarea expanderelor tisulare cu scopul extinderii cavității abdominale a fost raportată de mai mulți autori, acestea fiind plasate subcutanat, intramuscular sau intraabdominal [78, 316].

Deși metoda are avantajul unei expansiuni controlate, dezavantajul ei constă în rata sporită, de 33%, de dezvoltare a herniilor ventrale și necesitatea unui substituent sintetic pentru închiderea defectului parietal [102, 269].

De rând cu tratamentul chirurgical există și unele abordări locale utilizate în omfalocelul de dimensiuni majore sau gigant, având ca indicații:

- stările comorbide periculoase pentru viața micului pacient (malformații cardiace grave, sindroame cromozomiale, detresă respiratorie etc.) care sporesc riscul intervenției chirurgicale la un nivel neacceptabil;
- disproporții semnificative între conținutul herniei și cavitatea abdominală, când metoda de închidere fascială primară a peretelui abdominal poate fi contraindicată [110].

*Tratamentul conservativ* are ca scop depășirea perioadei de timp (6-12 luni) până va fi posibilă reconstrucția abdomenului. Cavitatea abdominală se dezvoltă concomitent cu creșterea copilului, astfel că dimensiunile relative ale omfalocelului scad, iar disproporția viscer abdominală se reduce. Tratamentul conservativ primar implică măsuri de formare a unei cruste pe suprafața sacului și de facilitare a proceselor de granulare și de epitelizare, inițiate de la periferie, cu transformarea omfalocelului într-o hernie ventrală [35]. În acest scop, Ahlfeld (1899) a propus utilizarea în omfalocelul cu membranele intacte a pansamentelor cu alcool [150, 296]. Grob M. (1963) a descris aplicarea topică a soluției de mercurcrom de 2% [240]. Pentru a micșora efectul toxic al mercurului s-a propus aplicarea soluției de mercurcrom de 0,5% împreună cu alcool de 65% [55]. În prezent, în acest scop sunt utilizate soluția de nitrat de argint, sulfadiazina de argint, betadina [35, 204, 211, 296, 313], soluția apoasă de eozină de 2% [59] și gențianul violet [211].

#### **1.4. Concepții științifice în aplicarea clinică a grefelor biologice în chirurgia reconstructivă a peretelui abdominal**

Corecția defectelor peretelui abdominal la copii rămâne o adevărată provocare pentru chirurgii pediatri [78]. Principiu de bază în închiderea chirurgicală a defectelor congenitale ale peretelui abdominal cu disproporție viscer abdominală este evitarea creșterii presiunii intra-abdominale cu afectarea funcției viscerale prin dezvoltarea sindromului de compartiment abdominal, în acest context fiind propuse mai multe procedee reconstructive [78, 92], inclusiv utilizarea grefelor bioprotetice [57, 147], caracteristica acestora variind în funcție de durabilitate și rezistență, biodegradabilitate, rezistență la infecții și formarea de aderențe [147, 279].

Grefele sintetice, introduse pentru prima dată de Usher F.C. (1958), sunt destul de răspândite în chirurgie din cauza prețului redus, biocompatibilității acceptabile, stabilității mecanice și simplității utilizării [37, 175]. Materialele protetice sintetice nerezorabile, având

proprietăți de corp străin, destul de frecvent se asociază cu diverse efecte adverse postoperatorii, inclusiv durerea persistentă, hematoame, eroziunea plăgilor, fistulele enterocutanate, dezvoltarea unui proces adeziv intraabdominal semnificativ, susceptibilitate la infecție, materialul sintetic nu crește în dimensiuni odată cu copilul [136]. În acest context, utilizarea grefelor biologice derivate din surse animale (porcine, bovine) și umane în reconstrucția defectelor peretelui abdominal anterior, inclusiv a celor congenitale, au anumite avantaje față de materialele protetice sintetice [163]. Dezvoltarea în ultimii 20 de ani a materialelor de origine biologică a revoluționat chirurgia reconstructivă, acestea prezentând o alternativă veridică grefelor sintetice [54].

Materialele polimerice clasice (polister, polipropilenă, politetrafluoretilenă), deși asigură rezultate acceptabile [257], au fost înlocuite cu grefe bioprotetice de origine biologică, compuse, în principal, din collagen [109, 237]. Grefele biologice sunt materiale derivate din țesuturi umane (alogrefe) sau animale (xenogrefe), prelucrate pentru a permite implantarea la oameni [79, 236]. Acestea sunt rezistente la infecții după implantare, au capacitatea de a interacționa cu țesuturile gazdă, facilitând regenerarea acestora prin revascularizare și remodelare, cu proprietăți mecanice și biologice identice cu cele ale țesutului pe care îl înlocuiesc, asigurând menținerea integrității structurale [53, 175].

Mai multe studii au confirmat că materialele bioprotetice, la un contact direct cu ansele intestinale, provoacă mai puține aderențe comparativ cu grefele sintetice, dovadă că acestea pot fi plasate în contact direct cu ansele intestinale [65]. Grefele biologice sunt biodegradabile, cu excepția cazurilor în care se produc unele procese de reticulare a fibrelor de collagen, considerându-se că implantul devine mai stabil, astfel fiind prevenită descompunerea acestuia sub acțiunea collagenazei, deși există posibilitatea de inflamare și de distrucție a grefei [244].

Printre primele materiale biologice utilizate în managementul gastroschisului și omfalocelului au fost grefele de piele porcină și membrana amniotică umană, acestea fiind în permanentă perfectare [185]. Unele studii susțin utilizarea implanturilor din dura matter ca biomaterial acceptabil în închiderea defectelor majore în cazurile de gastroschizis și omfalocel. În prezent mai frecvent sunt folosite alogrefele dermice aceluare umane (Alloderm) și xenogrefele aceluare obținute din collagenul dermic (Permacol) și submucoasa intestinală porcină (Surgisis) [57, 109].

Membranele fetale prezintă un interes deosebit în calitate de material bioprotetic din mai multe motive, inclusiv datorită rolului lor în prevenirea respingerii fătului și originii embriologice precoce [207].

Membrana amniotică umană reprezintă stratul intern al placentei, care înconjoară și protejează copilul în timpul sarcinii [142]. La începutul sec. XX [85], datorită mai multor proprietăți, inclusiv celor antiinflamatorii, antifibrotice și proregenerative, este studiată

posibilitatea folosirii membranei amniotice în calitate de grefă pentru transplant [188, 317]. Pe parcursul anilor 40 ai secolului trecut a fost descoperită proprietatea antiaderențială a membranei amniotice, contribuind la progrese semnificative în mai multe domenii chirurgicale [287]. Ulterior, această membrană fetală a fost utilizată în leziunile oculare, în arsuri și ulcerele cutanate cronice, în tratamentul sindromului Stevens-Johnson, în chirurgia reconstructivă a tendoanelor, nervilor, vezicii urinare și a vaginului, cu scop de prevenire a aderențelor [104, 288]. Utilizarea membranei amniotice în reconstrucția defectelor congenitale ale peretelui abdominal la nou-născuți a fost propusă în 1971, ca urmare obținându-se reducerea mortalității în cazurile de gastroschizis [117]. În 1975, Seashore J.H. și coaut. au propus grefele de piele porcină și membrana amniotică umană ca pansamente biologice în tratamentul gastroschisusului și omfalocelului, aceste grefe biologice fiind considerate de autori ca utile în managementul adjuvant în aceste cazuri [267].

Membrana amniotică umană are mai multe caracteristici favorabile care o fac atractivă ca bioproteză, cum ar fi: antigenicitate redusă, proprietăți mecanice rezonabile, permeabilitate, capacitate de regenerare, disponibilitate, perioada de depozitare și cost-eficacitate, lipsa problemelor de etică [113, 248]. De asemenea s-a demonstrat că membrana amniotică umană este o sursă valoroasă de materiale pentru ingineria tisulară, inclusiv de celule stem cu un potențial scăzut de imunogenitate și cu proprietăți imunomodulatoare [113, 143].

Structura membranei amniotice include câteva straturi. Cel interior, format dintr-un rând de celule epiteliale cuboidale, plate sau columnare, este un derivat al ectodermului embrionar. Stratul epitelial este fixat de o membrană bazală atașată de un strat acelular compact format din collagen, urmând straturile fibroblastice și spongios [231].

Celulele amniotice sunt unite între ele prin numeroase joncțiuni numite desmozomi, care obstrucționează spațiile intercelulare laterale, limitând transportul paracelular [75, 113].

Stratul membranei bazale este compus din collagen de tipurile I, III, IV, V, VII și XVII, laminină, fibronectină și joacă un rol important în proliferarea și diferențierea celulelor, manifestând proprietăți regeneratoare, neovasculare și antifibrotice [91, 113]. Stratul compact este dens, aproape total lipsit de celule, și constă, în principal, dintr-o rețea complexă reticulară. Stratul fibroblastic este destul de gros și format din celule mezenchimale, care provin de mezodermul embrionar. Stratul spongios are o grosime variabilă de 0,02-0,5 mm și este situat între membrana amniotică și corion, fiind bogat în proteoglicani, glicoproteine și collagen nefibrilar de tipul III [195, 231]. Rezistența tracțională a membranei amniotice este determinată, în principal, de stratul dens de collagen. Tipul I este principalul collagen interstițial din țesuturile cu rezistență tracțională sporită, tipurile V și VI fiind mai puțin importante în acest sens. Membrana amniotică conține o cantitate mică de elastină, elasticitatea acesteia fiind determinată

de colagenul de tipul III. Datorită prezenței colagenelor interstițiale, una dintre cele mai importante proprietăți ale membranei amniotice este rezistența la factorii proteolitici [47]. Membrana amniotică este translucență, matricea amniotică conținând mai ales fibroblaste. Întrucât vasele sanguine sau celulele endoteliale vasculare lipsesc, nutrienții necesari sunt furnizați direct prin difuzie din lichidul amniotic sau de decidua [168].

În cazurile când membrana amniotică este păstrată, aceasta este considerată țesut inert cu celule neviabile. Proprietățile reparatorii ale acestei membrane sunt determinate de prezența factorilor de creștere și a citokinelor [98]. Unele studii indică prezența în membrana epitelială a următorilor factori de creștere: epidermic, fibroblastic transformator  $\beta 1$ , al cheratinocitelor și hepatocitelor [165].

Unii autori susțin că membrana amniotică secretă unii factori angiogenici, cum ar fi: factorul de creștere vascular endotelial, IL-6, IL-8, angiogenina, interferonul- $\gamma$ , factorul de creștere epidermal, factorul de creștere al fibroblastelor bazale, factorul de creștere trombocitar. De asemenea, aceasta secretă și unii factori antiangiogenici: antagonistul receptorilor IL-1, TIMP3 și TIMP4. Drept urmare, membrana amniotică poate manifesta atât proprietăți angiogenice, cât și antiangiogenice [113, 190].

Membrana amniotică produce și o varietate de factori imunoreglatori, care îi conferă proprietăți imunosupresoare. Celulele acestei membrane nu exprimă antigene leucocitare umane (HLA) -A, -B, -C sau antigene de suprafață -Dr, care pot facilita evitarea respingerii după transplant [43]. Celulele amniotice pot exprima HLA-G, un complex de histocompatibilitate polimorf implicat în toleranța imună, unele rapoarte clinice confirmând faptul că membrana amniotică nu va fi respinsă după transplant [292].

Membrana amniotică este considerată o sursă importantă de antimicrobiene naturale, expresia acestora fiind reglementată ca răspuns la citokinele inflamatorii [162]. A fost raportată acțiunea antiinflamatorie a țesuturilor membranei amniotice ca urmare a capacității de sinteză a proteinelor antiinflamatorii și supresiei semnificative a activității citokinelor proinflamatorii IL- $1\alpha$ , IL- $1\beta$  și IL-10 [191]. Studii anterioare au demonstrat că membrana amniotică conține mediatori antiinflamatori, iar acțiunea sa poate solicita o legătură strânsă cu matricea stromală. În cazurile de utilizare a membranei amniotice ca plasture temporară în studii experimentale pe animale [161] și la pacienții cu arsuri chimice celulele polimorfonucleare au aderat rapid la partea stromală, suferind ulterior apoptoză rapidă [159, 182].

S-a constatat că membrana amniotică are un efect inhibitor asupra unui spectru larg de bacterii și tulpini fungice, inclusiv: *Streptococcus*, *staphylococcus aureus*, *E.coli*, *Proteus mirabilis*, *P.aeruginosa*, *Blastomyces albicans*, *Fusarium solani*, *Aspergillus funigatus* etc. [307].

Unele studii au demonstrat acțiunea antifibrotică a membranei amniotice, explicată prin suprimarea căii de semnalizare a factorului de creștere transformator  $\beta$  [275]. Membrana amniotică are o rezistență mecanică majoră, ceea ce o face un biomaterial atractiv în chirurgie. Ea poate face față presiunii lichidului amniotic și unor sarcini repetitive mai mici. În cele mai multe cazuri, la scurt timp după transplant, membrana amniotică este capabilă să reziste la sarcini egale sau aproape de nivelurile fiziologice. Semnalele mecanice pot fi mediatori importanți ai diferențierii unor celule progenitoare. Membrana amniotică creează un mediu adecvat în locul țesutului transplantat și poate spori rezistența grefei [90, 113].

Membrana amniotică a fost utilizată pe larg ca pansament chirurgical în managementul arsurilor și al consecințelor postcombustionale [213], în tratamentul ulcerelor venoase [207] și celor diabetice [324], în reconstrucția suprafeței oculare [205]. Unii autori consideră că grefele din membrană amniotică sunt o soluție ideală în reconstrucția chirurgicală a uretrei [270], vezicii urinare [139] și a vaginului [263]. Există studii care confirmă eficiența acestei membrane în prevenirea dezvoltării aderențelor postoperatorii [220, 243]. A fost raportată utilizarea membranei amniotice, ca o metodă sigură și eficientă, în prevenirea și tratamentul scurgerilor de aer în chirurgia pulmonară. A fost experimentată utilizarea membranei amniotice în prevenirea fistulelor bronhiale ale bontului [212]. În opinia mai multor autori, alogrefele amniotice pot fi o alternativă pentru metodele convenționale de tratament în chirurgia maxilofacială [154] și în reconstrucția defectelor meningeale [294]. Dezvoltarea fibrozei epidurale și a aderențelor este inevitabilă în laminectomia spinală. În acest context, unele studii experimentale au demonstrat că membrana amniotică umană este un material eficient în reducerea fibrozei epidurale și a aderențelor după laminectomiile spinale datorită proprietăților sale antiadezive [74]. Se studiază acțiunea membranei amniotice asupra proceselor de regenerare în leziunea nervilor [156]. Au fost raportate aplicații curente ale membranei amniotice umane ca material de grefă de reconstrucție și de reparație a defectelor mucoasei cavității orale induse experimental și în perforațiile duodenale [116, 217]. Uludag M. și coaut. (2009) într-un studiu experimental pe animale de laborator a evaluat efectele membranei amniotice umane asupra proceselor de vindecare a anastomozelor de colon și a subliniat rolul acesteia în prevenirea aderențelor și inflamației [300]. În cazurile când membrana amniotică se dovedește a fi prea subțire, de exemplu managementul abdomenului deschis, unii autori recomandă utilizarea membranei corioamniotice [289].

Luând în considerare proprietatea de barieră biologică naturală a membranei amniotice, în prezent există studii experimentale unice de utilizare a acesteia în reconstrucția defectelor abdominale [49], inclusiv a celor congenitale [254]. Mai mulți autori încearcă utilizarea

membranei amniotice în combinație cu alte materiale sintetice în tratamentul defectelor peretelui abdominal, aceste studii fiind în stadiul experimental [49, 221].

Avantajele utilizării membranei amniotice ca substituent al pielii constau în faptul că epiteliul amniotic oferă o protecție acceptabilă împotriva modificărilor patologice determinate de evaporare, precum și funcția de barieră, în timp ce fibronectina și colagenul matricei oferă unele funcții dermice. Dezavantajele utilizării membranei amniotice sunt: dificultatea obținerii, pregătirii și păstrării, potențialul semnificativ de transmitere a unor boli infecțioase [276].

În operațiile reconstructive ale peretelui abdominal există un consens în privința eficienței utilizării grefelor biologice derivate din surse umane (alogrefe) și animale (xenogrefe), în prezent fiind aprobate 15 materiale bioprotezice recoltate (prelevate) de la 5 tipuri de țesuturi: dermă cadaverică umană, colagen dermic [163, 251]. Rezultatele unor cercăări experimentale au sugerat rolul materialelor bioprotezice în dezvoltarea proceselor de neovascularizare și regenerare, ele oferind o matrice extracelulară pentru regenerarea țesutului propriu cu remodelarea treptată într-o neofascie cu o rezistență și biocompatibilitate adecvată, capabilă să reziste pe termen lung forțelor mecanice ale peretelui abdominal. În acest context, opțiunea materialul biologic optim folosit cu scop de închidere a defectelor peretelui abdominal sau substituția peritoneului rămâne în discuții [138, 279].

Studii recente au demonstrat eficiența matricelor dermice aceluare umane și porcine, a alogrefelor porcine din submucoasa intestinului subțire în tratamentul chirurgical reconstructiv al defectelor congenitale ale peretelui abdominal și în herniile ventrale [163, 297].

Dezvoltarea și aplicarea biomaterialelor absorbabile, cum ar fi submucoasa intestinului subțire porcine, a marcat o eră nouă în reconstrucția chirurgicală a defectelor peretelui abdominal [147]. Submucoasa intestinului subțire porcine este o grefă biologică aceluară și dispune de proprietatea de a menține compoziția tridimensională naturală a matricei extracelulare, ultima având un conținut sporit de colagen biodegradabil și acționând ca o structură în care celulele pot migra și prolifera. Porțiunea non-colagenică din cadrul acestui material conține numeroși factori de creștere, printre care factorul bazic de creștere a fibroblastelor (bFGF), factorul epidermic de creștere (EGF), factorul transformator de creștere  $\beta$  (TGF $\beta$ ), factorul de creștere vasculoendotelial (VEGF), care sunt considerate vitale pentru procesele regenerative [223].

Matricea dermală porcine, preparată din piele de porc, păstrează intactă structura colagenului dermic porcine, foarte asemănătoare cu cea a colagenului uman, toate structurile și celulele noncolagenice fiind eliminate, rămânând numai colagenul și elastina, care păstrează structura originală 3D [189]. Actualmente, matricea dermală porcine poate fi considerată ca o metodă alternativă în corecția chirurgicală a omfalocelului de dimensiuni majore, cu cavitatea abdominală subdezvoltată și disproporție visceroabdominală, risc sporit de infectare [185].



Matrița dermală acelulară bovină nu a fost studiată pe larg, unele studii indicând la rezultate similare comparabile cu matricea dermală acelulară porcină în ce privește asocierea complicațiilor sau rata recurenței [77].

Pericardul bovin a fost acceptat ca implant biologic în ultimii 20 de ani, având o utilizare clinică largă în chirurgia cardiovasculară cu rezultate postoperatorii acceptabile [96]. Pericardul bovin este un material cu comportament mecanic anizotrop, format din fibre de colagen și elastină aranjate în straturi cu diferite direcții, aceste fibre fiind încorporate într-o matrice amorfă, constituită din proteoglicani și acidul hialuronic. Colagenul de tip 1 este componentul predominant al țesutului pericardului, aranjat ierarhic în diferite niveluri de organizare în structuri cum ar fi fibrile, fibre, fascicule de fibre și laminate [206]. Acest tip de colagen este caracterizat de o antigenicitate scăzută și de o trombogenitate sporită. Tot mai frecvent grefele de pericard bovin fiind utilizate în chirurgia reconstructivă a corneei [164], septului nazal [146], tractului urinar [178], diafragmului [51], în rezecțiile pulmonare nonanatomice [229] și în defectele de perete toracoabdominal [46]. Rezultatele pe termen lung ale acestui biomaterial au nevoie de interpretări prudente, unii autori raportând dezavantaje sau chiar complicații [183].

Pericardul, structură formată dintr-un epiteliu scuamos și țesut conjunctiv, include pericardul visceral sau epicardul, care aderă la cord, și pericardul parietal [112]. El este bogat în colagen, în special de tipul I, glicoproteine și glicozaminoglicani. Structurizarea variată a colagenului de la fibrile la structuri laminate, fibre și fascicule de fibre, determină proprietățile țesutului pericardului [40, 183].

Pentru prima dată pericardul bovin tratat cu glutaraldehidă a fost folosit de către Marian Ionescu (1971) în protezarea valvelor cardiace, fiind raportate proprietăți hemodinamice excelente. Ulterior acest material biologic a fost folosit pe larg în plastia sacului pericardial și angioplastie [40], utilizarea acestuia în chirurgia reconstructivă cardiacă și a vaselor magistrale fiind actuală și în prezent [128, 133]. Unii autori comunică despre utilizarea grefelor de pericard bovin în reconstrucția căilor biliare extrahepatice [308] și a traheii [48]. S-a constatat că pericardul bovin poate fi o alternativă bună în reconstrucția herniilor diafragmatice congenitale la copii [51]. În același timp, există comunicări unice care reflectă eficiența utilizării grefelor de pericard bovin în reconstrucția peretelui abdominal, majoritatea din ele aflându-se la etapa experimentală [25].

De rând cu disponibilitatea, pericardul bovin are și alte avantaje, inclusiv: consistență caracteristici bune de manipulare în timpul operației, fiabilitatea suturii aplicate, biocompatibilitate [227]. La fixarea în glutaraldehidă crește rezistența și stabilitatea acestui biomaterial, cu reducerea simultană a antigenității și a riscului de dezvoltare a unor infecții. Fiind un material acelular de colagen, acesta poate crea un micromediu natural pentru migrarea

celulară și proliferare gazdei, endotelializarea și accelerarea regenerării tisulare, aceste afirmații necesitând documentare [183].

Unele studii experimentale conchid că complicațiile și intensitatea proceselor inflamatorii postoperatorii constatate în cazurile de folosire a implanturilor de pericard bovin sunt mai puțin exprimate comparativ cu cele asociate cu utilizarea plaselor sintetice. Elasticitatea mai mare a pericardului bovin face zona de implantare mai modelabilă (adaptabilă) în comparație cu rigiditatea peretelui abdominal cauzată de elasticitatea necorespunzătoare a materialului sintetic, iar dificultatea în obținerea și păstrarea autogrefelor și alogrefelor face ca xenogrefele să fie o alternativă preferabilă în reconstrucția peretelui abdominal [25].

Utilizarea xenogrefelor de peritoneu parietal bovin conservate în glicerină a fost descrisă la sfârșitul anilor 60 ai secolului trecut [319]. Ulterior a fost testată și aprobată biocompatibilitatea acestora [299], grefele din peritoneu bovin fiind utilizate experimental în substituția diafragmului, tenoplastie [201], plastia herniilor perineale și celor ventrale [52]. Colectat de la animale sănătoase, poate fi o opțiune prin furnizarea unei cantități mari de material, procesele de preparare și depozitare fiind relativ ieftine. Unele studii experimentale oferă dovezi că acest material biologic poate fi utilizat eficient în plastia herniilor ventrale [52]. În ultimii ani unele cercetări indică la utilitatea tunicii vaginale musculare bovine în operațiile reconstructive ale peretelui abdominal, autorii indicând o histocompatibilitate acceptabilă [41]. Peritoneul parietal bovin prelevat din cavitatea abdominală prezintă o opțiune cu mai multe avantaje comparativ cu alte materiale biologice, printre care: furnizarea unei cantități mari de material la fiecare procedură de colectare, costurile mici ale proceselor de preparare și depozitare, este o membrană moale ușor de modelat și de ajustat în aplicare cu o rezistență superioară față de peritoneul porcine sau canin [52].

Primele încercări de aplicare a fasciei bovine în chirurgia herniilor și eventrațiilor au fost făcute la sfârșitul anilor 50 [82], anterior acest material fiind utilizat în nefropexie. La sfârșitul anilor 70-80 se făceau primele încercări de utilizare a acestui material în oftalmologie și în plastia defectelor majore ale peretelui toracic și celui abdominal la pacienți cu tumori maligne, constatându-se că acest material biologic este bine tolerat și oferă o protecție adecvată și sprijin pentru viscerele subiacente. În acest context au încercat de a folosi fascia bovină în unele operații reconstructive cu inducerea proceselor de regenerare [42].

Unele studii experimentale au observat o diferență mai puțin semnificativă în ceea ce privește dezvoltarea aderențelor între utilizarea implanturilor din polytetrafluoroethylenă și pericard bovin comparativ cu alogrefele din fascia lata în cazurile de hernie ventrală, totodată valorile de rezistență la tracțiune fiind semnificativ mai mari la primele două materiale [153]. În

literatura de specialitate accesibilă nu am întâlnit comunicări despre utilizarea grefelor din fascie musculară bovină în închiderea defectelor congenitale ale peretelui abdominal.

### **1.5. Concluzii la capitolul 1**

1. În pofida progreselor semnificative în diagnosticul precoce și tratamentul medico-chirurgical al malformațiilor congenitale la nou-născuți, defectele congenitale ale peretelui abdominal anterior rămân o problemă terapeutică severă care necesită o abordare multidisciplinară.
2. Mecanismele patofiziologice de dezvoltare și de persistență a dereglărilor de motilitate intestinală la nou-născuții cu gastroschisis rămân neclare, necesitând investigații noi.
3. Analiza datelor din literatura de specialitate arată că utilizarea grefelor biologice, inclusiv a membranei amniotice umane, pericardului și peritoneului bovin, în chirurgia reconstructivă abdominală este o opțiune în stadiul de deziderat, nebazată pe dovezi de eficiență veridice. În acest context considerăm oportune noi studii experimentale și clinice cu scop de evaluare a avantajelor și dezavantajelor utilizării membranei amniotice comparativ cu alte grefe biologice disponibile sau proteze sintetice, inclusiv în gestionarea defectelor congenitale ale peretelui abdominal.

## 2. MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE

### 2.1. Caracteristica generală a materialului de cercetare

Lucrarea a fost efectuată în laboratorul "Infecții chirurgicale la copii" în colaborare cu laboratorul "Inginerie tisulară și culturi celulare" a Universității de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu" și Universitatea "Ovidius" din or. Constanța (România).

Realizarea scopului și a obiectivelor acestei lucrări a avut la bază o analiză retrospectivă descriptivă a materialului clinic general și rezultatele tratamentului aplicat în diverse forme de defecte congenitale ale peretelui abdominal (gastroschizis și omfalocel) tratați în secția de chirurgie neonatală a IMSP Institutul Mamei și Copilului pe perioada anilor 2005-2016 și evaluarea rezultatelor unui studiu morfopatologic complex, aflat la baza studiului experimental de plastie a defectelor congenitale și celor induse chirurgical ale peretelui abdominal pe animale de laborator.

Protocolul de studiu a fost aprobat de Comitetul de Bioetică al Universității de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu" nr. 52 din 04.05.2016.

Ținând cont de raritatea acestor malformații, pentru o descriere veridică a aspectelor epidemiologice, particularităților clinico-evolutive și rezultatele tratamentului copiilor cu gastroschizis și omfalocel reprezentativitatea numărului necesar de pacienți ce necesită de a fi incluși în acest studiu descriptiv a fost calculat după următoarea formulă de calcul [6]:

$$n = (Z)^2 \frac{P(1 - P)}{e^2}$$

unde:

Incidența constituie în mediu 0,015

Z = 1,96 pentru intervalul de încredere de 95,0%

e = 0,05 – eroarea acceptabilă de 5,0%

$n = (1,96^2 \times 0,015 \times 0,985) : 0,05^2 = 21$

Design-efect  $n = x \cdot 1,5 = 34$ , rata de 10,0% de non-răspuns  $(34:0,9) = 38$  – eșantion reprezentativ

Ipoteza cercetării a inclus 3 întrebări principale, inclusiv:

- Care sunt cauzele principale ale evoluției nefavorabile a defectelor congenitale ale peretelui abdominal la nou-născuți?
- Care este substratul morfopatologic al sindromului de dismotilitate intestinală persistentă cu evoluție nefavorabilă la nou-născuți cu gastroschizis?
- Rolul membranei amniotice umane și a unor xenogrefe bovine în plastia defectelor peretelui abdominal.

Lucrarea include 4 studii, inclusiv:

- 1) Studiul I - studiul descriptiv al analizei retrospective, care a relevat caracteristica epidemiologică și evaluarea rezultatelor tratamentului medico-chirurgical al copiilor cu diverse forme de gastroschizis și omfalocel în funcție de metoda utilizată;
- 2) Studiul II - studiul clinico-morfopatologic al anșelor intestinale eviscerate la nou-născuți cu gastroschizis și asocierea sindromului de dismotilitate intestinală persistentă;
- 3) Studiul III - studiul clinico-morfopatologic al modificărilor regionale la nou-născuți cu defecte congenitale ale peretelui abdominal (gastroschizis și omfalocel) și al complexelor placentare;
- 4) Studiul IV - evaluarea biocompatibilității locale a membranei amniotice umane și a xenogrefelor bovine (pericard, fascie și peritoneu) în model experimental pe animale mici (iepure) și mari (porci);

Evaluarea clinico-epidemiologică a pacienților din lotul general de studiu și analiza rezultatelor tratamentului medico-chirurgical aplicat a fost efectuată în baza datelor extrase din fișele medicale de staționar ale copiilor cu defecte congenitale ale peretelui abdominal internați în staționar pe perioada anilor 2005-2016 în secția de chirurgie a nou-născutului a IMSP Institutul Mamei și Copilului (șef secție – dr. șt. med. Aliona Pisarenco), fiind selectate 64 cazuri clinice de gastroschizis și 59 cazuri de omfalocel. Criteriile de includere: nou-născuții vii, cărora li s-a constatat diagnosticul de diverse forme de gastroschizis, care au fost transferați ulterior în secția de chirurgie a nou-născutului. În studiu nu au fost incluse cazurile de gastroschizis cu sfârșit letal survenit în perioadele intranatală sau postnatală precoce, care nu au beneficiat de tratament medico-chirurgical.

Cercetarea lotului de studiu s-a axat pe analiza următorilor parametri: vârsta maternă, vârsta de gestație la naștere, greutatea corporală, prematuritatea.

Examenul de laborator convențional a inclus hemoleucograma, coagulograma, analiza biochimică a sângelui, evaluarea echilibrului acido-bazic, investigații microbiologice. Metodele de diagnostic au inclus ecografia organelor interne, ecografia cordului, neurosonografia și examenul radiologic (fig. 2.1).

Diagnosticul de gastroschizis a fost stabilit prenatal și confirmat imediat după naștere. În majoritatea cazurilor, după o evaluare rapidă, cu instalarea unui tub nasogastric și administrare de fluide intravenos și antibiotice, copilul a fost transferat rapid în serviciul de chirurgie neonatală. De obicei, mamele acestor copii au fost urmărite în timpul perioadei prenatale prin intermediul unor examene ecografice regulate, atrăgându-se atenție asupra dilatării intestinului, grosimii peretelui abdominal, motilității intestinului, cantității de lichid amniotic în timpul

perioadei de gestație (fig. 2.2). În 18 cazuri nașterea s-a produs pe cale naturală, rata intervențiilor cezariene constituind 4 cazuri.

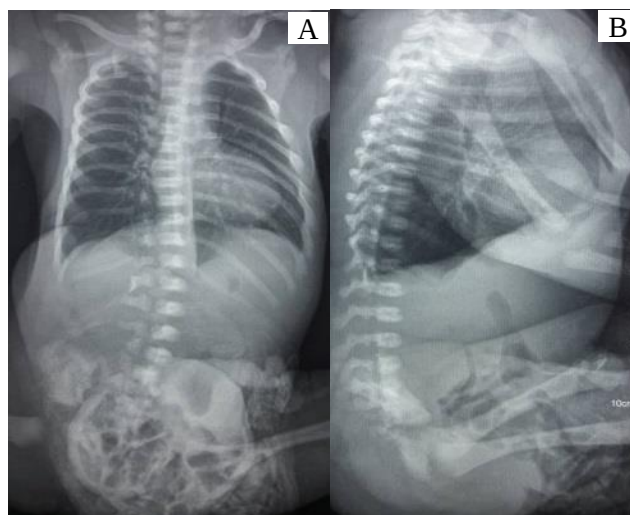


Fig. 2.1. Radiografie panoramică toraco-abdominală (A – anteroposterioară; B – laterală pe dreapta): aspectul anselor intestinale aerate localizate în sacul embrional la un nou-născut cu omfalocel

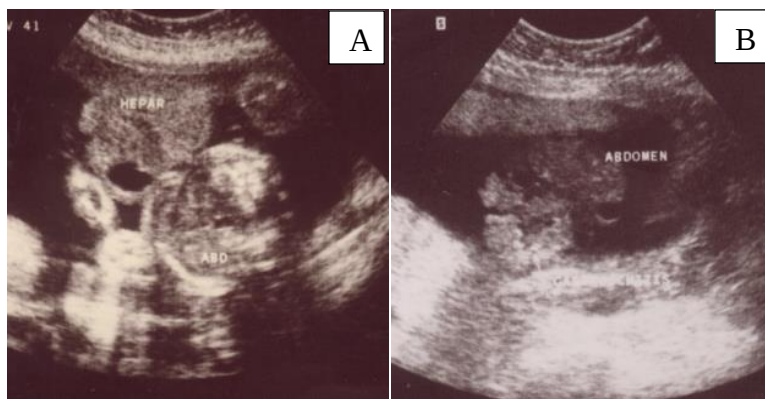


Fig 2.2. USG a sarcinii: aspectul ecografic al omfalocelului (A) și gastroschizisului (B) la a 18-19 săptămână de gestație

Analiza fișelor de observație au permis de a constata că vârsta maternă medie în lotul de pacienți investigați morfopatologic a fost de  $23,06 \pm 0,91$ , vârsta minimă fiind de 17 ani, cea maximă – 32 ani. Studiul denotă că în acest lot au predominat copiii de sex masculin (14 copii). Vârsta medie de gestație la momentul nașterii a fost de  $35,96 \pm 0,64$  săptămâni, 6 copii fiind născuți prematur, cu greutatea corporală de  $1794,83 \pm 216,26$ . În acest studiu 15 copii cu gastroschizis au prezentat diverse anomalii fetale concomitente, inclusiv: malformații bronhopulmonare (3 cazuri), vicii cardiace (10 cazuri), reno-urinare (9 cazuri).

Defectul peretelui abdominal în aceste cazuri a variat între 2,5-4 cm (9 cazuri), 4-8 cm (6 cazuri), în 7 cazuri dimensiunile defectului depășind 8 cm. În toate cazurile conținutul eventrat a

fost prezentat de ansele intestinului subțire, cu exteriorizarea concomitentă a stomacului (13 cazuri), colonului (18 cazuri), ficatului (4 cazuri), uterului și anexelor (3 cazuri), vezicii urinare (2 cazuri), pancreasului, duodenului și vezicii biliare (câte 1 caz).

În 15 cazuri au fost constatate modificări inflamatorii pronunțate ale anselor intestinale eviscerate la naștere, cu depuneri fibrinoase în cantități semnificative, în 4 cazuri fiind constatat un proces fibroadeziv în formă de teacă. În majoritatea cazurilor a fost observată o grosime anormală a peretelui intestinal cu absența mișcărilor peristaltice chiar și după o stimulare (fig. 2.3). În toate aceste cazuri a fost constatată distensia abdominală (necătând la aspirație și intubare nazogastrică) fără producerea de sine stătătoare a scaunului.



Fig. 2.3. Aspectul anselor intestinale exteriorizate la un nou-născut cu gastroschisis asociat cu sindromul de dismotilitate intestinală persistentă

Antenatal, la examenul ecografic, retard de dezvoltare intrauterină a fost constatat în 8 cazuri, oligohidramnios - 11 cazuri, dilatarea intestinului - 13 cazuri.

Reintervențiilor chirurgicale au fost supuși 7 copii, la toți fiind constatată o dismotilitate gastrointestinală persistentă necătând la măsurile terapeutice întreprinse.

Acest studiu a fost completat cu investigații histomorfopatologice și imunohistochimice, care au avut ca scop evaluarea spectrului și gravității modificărilor morfopatologice ale țesuturilor din regiunea defectului congenital al peretelui abdominal la 20 nou-născuți cu gastroschisis.

Investigațiile morfopatologice ale lotului de studiu cu omfalocel au fost efectuate la 18 nou-născuți cu această malformație cu vârsta gestațională 37- 40 săptămâni, masa ponderală 2850-3780 g, dintre care cu omfalocel major necomplicat 4 cazuri și 14 cazuri cu omfalocel minor și mediu necomplicat. Examenul a inclus analiza regiunii limitrofe cu structurile tisulare abdominale, prelevate la 1,5 - 3 cm de la bolta omfalocelului și sectoare din foițele embrionale.

Evaluarea modificărilor morfopatologice ale complexelor placentare în caz de defecte congenitale ale peretelui abdominal a fost efectuată în 10 cazuri de gastroschizis și 10 cazuri de omfalocel.

## 2.2. Caracteristica și metodologia modelului experimental

Cercetările experimentale pe animale au fost discutate și aprobate de Comitetul de Etică a cercetării al USMF „Nicolae Testemițanu” nr. 52 din data de 04.05.2016. Cercetările experimentale pe animale, inclusiv prepararea grefelor studiate (fascia lata bovină n=8, peritoneu bovin n=14, pericard bovin n=16, membrană amniotică umană n=20) au fost realizate în cadrul laboratorului Inginerie tisulară și culturi celulare a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Din momentul prelevării și până la transplantarea grefelor, s-a parcurs o serie de etape sistematizate după PSO (proceduri standarde operaționale existente în laborator), structurate în funcție de sursa folosită pentru prepararea grefei.

Studiul experimental, a fost efectuat pe animale n=71 (iepuri n=55, porci n=16 ). Defectul peretelui abdominal anterior a fost creat chirurgical prin excizia structurilor musculofasciale și a peritoneului, având dimensiuni de 10 x 5 cm. (fig. 2.4.), intervenția fiind realizată chirurgical în condiții aseptice sub anestezie generală în sala de operație a catedrei de Anatomie topografică și chirurgie operatorie.



Fig. 2.4. Aspect macroscopic al defectului peretelui abdominal cu implicarea tuturor straturilor anatomice

Cavitatea abdominală a fost închisă prin fixarea implantului biologic de stratul fascial-peritoneal retromuscular, folosind fir absorbabil continuu (acid poliglicolic) 5-0. În toate cazurile, grefa a fost protejată prin suturarea pielii.

În lotul de studiu cu utilizarea membranei amniotice în plastia defectului abdominal au fost incluși 20 de iepuri de rasa Californian, de ambele sexe, cu masa corporală de  $2400 \pm 200$  g.



Animalele supuse intervenției de reconstrucție a defectului peretelui abdominal anterior au fost repartizate în 4 loturi a câte 5 animale în funcție de metoda de prelucrare și de aplicare a implantului. În lotul de control, în reconstrucția peretelui abdominal a fost utilizată plasă neresorbabilă de poliester de tipul *Erceokaque* (fig. 2.5. A), plasa fiind fixată de straturile peretelui abdominal fără a fi acoperită de piele. În lotul 1 a fost utilizată membrana amniotică prelucrată cu glutaraldehidă de 0,1% protejată în exterior cu preparatul *Stypro* (fig. 2.5. B). În lotul 2 a fost utilizată membrană amniotică prelucrată cu formaldehidă de 0,5% (fig. 2.5.C), iar în lotul 3 – membrană amniotică criopreservată la  $-86 \pm 2^{\circ}\text{C}$  (fig. 2.5. D), implanturile biologice fiind protejate prin suturarea stratului subcutanat și a pielii.

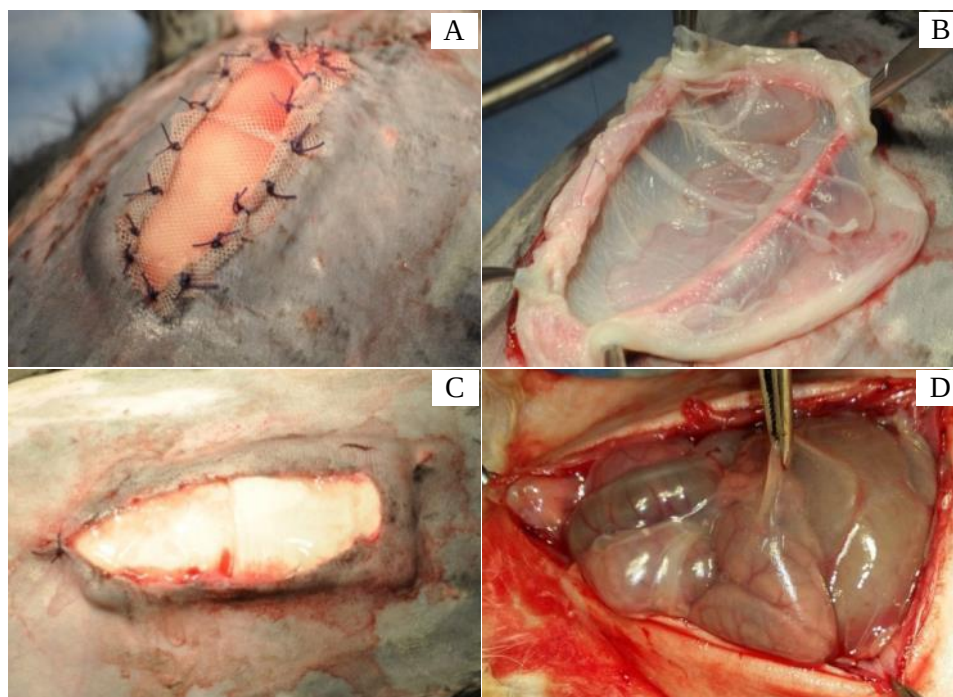


Fig. 2.5. Aspect macroscopic al reconstrucției defectului peretelui abdominal cu plasă neresorbabilă de poliester de tipul *Erceokaque* (A), membrană amniotică prelucrată cu glutaraldehidă de 0,1% (B), membrană amniotică protejată cu *Stypro* (C), membrană amniotică criopreservată (D).

În lotul de studiu cu închiderea defectului peretelui abdominal cu grefă de pericard bovin prezervată în formaldehidă 0,5% au fost incluse 10 animale (iepuri de rasă *Chinchila* cu greutatea de  $2,400 \pm 100\text{g.}$ ) și 5 iepuri de aceeași rasă și greutate la care s-a folosit în calitate de implant grefă de fascie bovină prezervată în formaldehidă 0,5%. Grefă de pericard bovin și cea de fascie bovină au fost plasate și fixate posterior de mușchii dreپți abdominali, având contact direct cu conținutul intraabdominal și protejată prin suturarea pielii și a stratului subcutanat (fig. 2.6).

Animalele supuse experimentului cu utilizarea grefei de pericard bovin au fost divizate în grupuri a câte 5: lotul 1 – eutanaziate după 32 de zile postoperator și lotul 2 – după 75 de zile, iar

în lotul 3 – au fost incluse animalele la care defectul abdominal a fost închis folosind grefa de fascie bovină și care au fost eutanaziate după 78 zile de la intervenție.

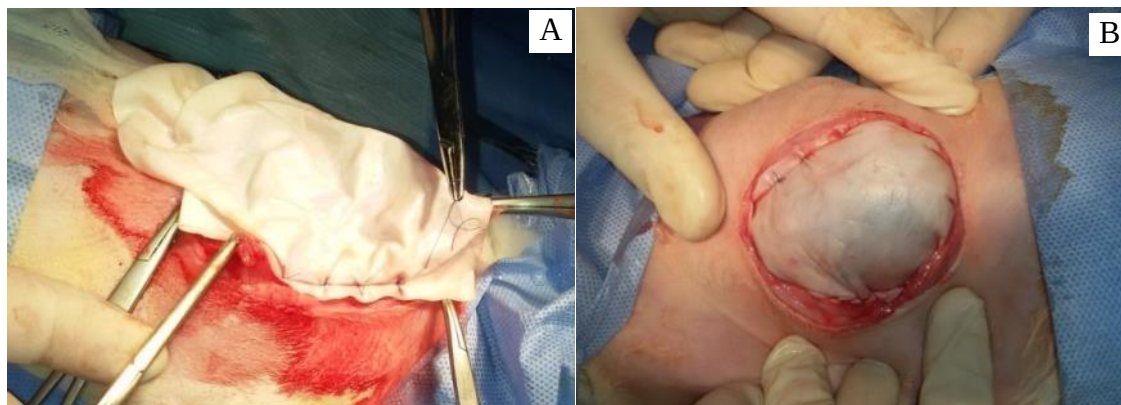


Fig. 2.6. Aspectul macroscopic al grefei de pericard bovin prelucrată cu formalină 0,5% până (A) și după închiderea defectului peretelui abdominal anterior (B).

Studiul experimental de plastie a defectului peretelui abdominal cu utilizarea peritoneului parietal bovin (fig. 2.7) a fost efectuat pe un eșantion de 10 iepuri de rasă Californian cu greutatea de  $2,400 \pm 100$ g., animalele fiind eutanaziate și supuse cercetărilor morfopatologice la 32 de zile (lotul 1) și 75 de zile (lotul 2) după intervenție.

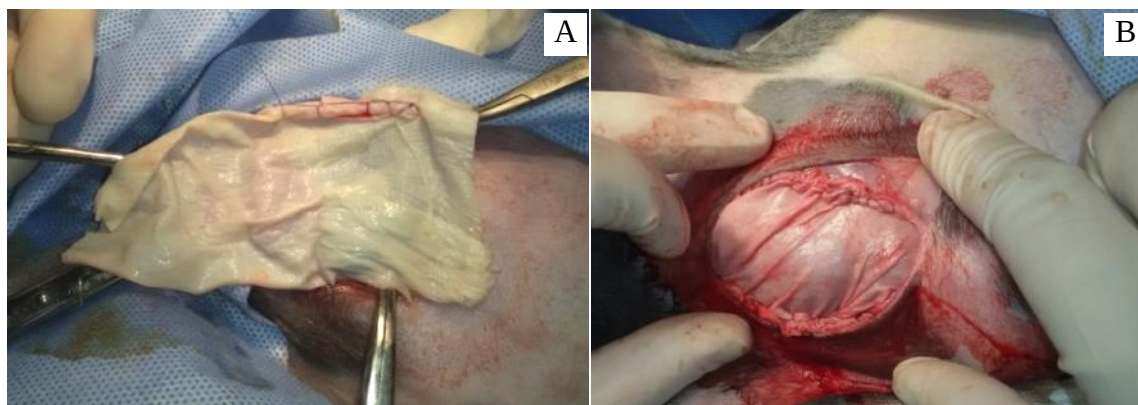


Fig. 2.7. Aspectul macroscopic al grefei de peritoneu parietal bovin prelucrată cu formalină 0,5% până (A) și după închiderea defectului peretelui abdominal anterior (B).

Lotul de control a fost constituit din 5 animale, care sub anestezie generală, au fost supuse intervenției de laparotomie mediană cu restabilirea ulterioară a planurilor anatomice și supravegheate împreună cu animalele lotului de studiu.

Prelevarea de membrană amniotică umană a fost efectuată imediat după nașterea fătului prin cezariană, pentru a evita contaminarea complexului ombilico-placentar prin căile de naștere, de la donatori maturi de 25-35 de ani, după obținerea consimțământului pentru prelevare, cu respectarea legislației în vigoare (Legea nr. 42 din 06.03.2008 privind transplantul de organe, țesuturi și celule umane).

Membrana amniotică după separare se plasează în mediu de decontaminare care conține: RPMI (HiMedia), lincomicină, vancomicină (World Medicine), gentamicină (KRKA), hepes (HiMedia) 1 ml, este incubată la  $+4^{\circ}\text{C}$  timp de 12 ore, după care este secționată în fâșii de dimensiunile necesare și plasată într-un container dublu în soluție de Glicerol (Alchimia) de 50% cu RPMI (HiMedia) și păstrată în congelator la  $-80\pm 2^{\circ}\text{C}$ .

Altă metodă de procesare a membranei amniotice, pericardului, fasciei și peritoneului bovin a fost conservarea grefoanelor în soluții slabe de glutaraldehidă (0,1%) și formalină – 0,5% (metoda Perfentienov., 1961). Conservarea grefei se face în soluție 0,5 % formaldehidă neutralizată pH 7,3 – 7,4, preparată pe soluție izotonică de clorură de sodiu la temperatura  $+ 4^{\circ}\text{C}$ . Pe parcursul a 10 zile se schimbă zilnic soluția, ulterior – o dată pe săptămână până la 30 de zile. Primele 30 de zile sunt perioada de carantină, sterilizare și de diminuare a proprietăților imunogene. După validarea serologică și bacteriologică a grefelor ele au fost utilizate. Prelucrarea grefelor cu glutaraldehidă și formalină permite stabilizarea implantului cu sporirea rezistenței biomecanice și rezistenței enzimatică.

Controlul serologic se efectuează pentru următoarele teste: - Ac HIV 1+2, Ac HCV, HBV: (Ag HBs), (Ac anti HBs), sifilis. Până la utilizare, la prelevare și după procesare se fac teste bacteriologice de stabilire a sterilității prin utilizarea a câte 2ml de lichid de transport și a 3-4 porțiuni mici de țesut 5 x 5 mm din diferite sectoare ale grefei în Thioglycolate Medium (HiMedia) și Sabouraud Dextroze Broth (HiMedia). Incubarea timp de 7-10 zile pentru a obține rezultate finale.

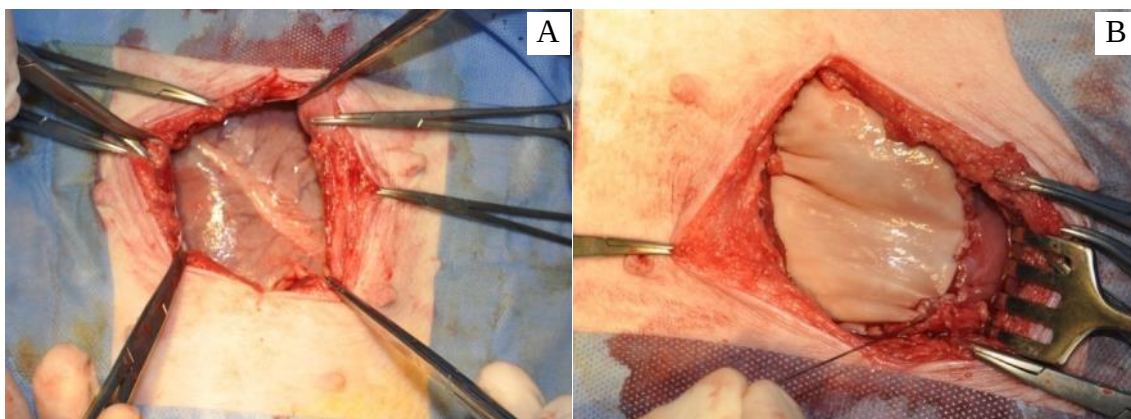


Fig. 2.8. Aspectul macroscopic al defectului peretelui abdominal indus chirurgical la porc (A) și după plastie cu grefă decelularizată de pericard (B).

Plastia defectului peretelui abdominal cu utilizarea grefelor decelularizate a fost efectuată pe porci de rasă Landrace cu vârsta de 5 săptămâni (16 animale), la care a fost indus chirurgical defectul peretelui abdominal de dimensiuni 10 x 5,0 cm cu implicarea tuturor straturilor (fig. 2.8.), inclusiv a peritoneului, ulterior, animalele au fost eutanaziate după 90 zile de la intervenție.



Procesul de decelularizare a xenogrefelor bovine (peritoneu, pericard, fascie) a fost precedată de o decontaminare timp de 6 ore în cocktail de antibiotice gentamicină (KRKA), lincomicină (World Medicine), amfotericina B (World Medicine) cu RPMI (HiMedia). Pentru decelularizare a fost utilizată soluție sterilă de SDS de 0,5% (HiMedia) în volum necesar pentru a obține țesuturi acelulare. Soluția se schimbă fiecare 24 ore timp de 72 de ore. După decelularizare, în condiții sterile membrana se spală abundant cu sol. NaCl 0.9%, după care se decontaminează repetat timp de 24 de ore în cocktailul de antibiotice, eficiența decelularizării fiind confirmată histologic (fig. 2.9, 2.10, 2.11).

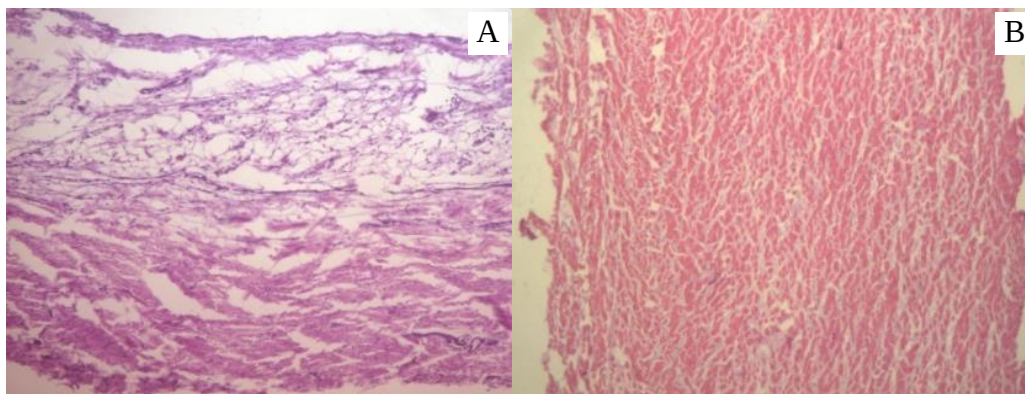


Fig. 2.9. Aspectul histologic al pericardului bovin până la decelularizare (A), cu structura păstrată diferențiată conjunctiv fibrilară de diversă densitate cu evidențiere certă a componentei celular - nucleare  $\times 100$  Colorație VG și după decelularizare (B) cu punerea în evidență a fasciculelor de țesut conjunctiv acelulare ordonate printre care se atestă aspectele matricii extracelulare  $\times 25$ . Colorație H-E

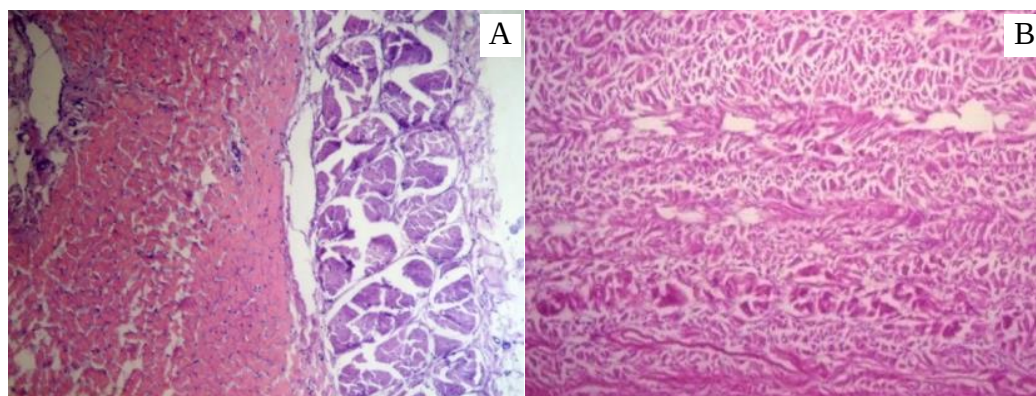


Fig. 2.10. Aspectul histologic al fasciei lata bovine până la decelularizare (A) cu structura păstrată diferențiată conjunctiv fibrilară longitudinal și transversal cu evidențiere certă a componentei nucleare  $\times 100$  Color. H-E și după decelularizare (B) - țesut conjunctiv din fibre colagene cu aspect mai mult compact  $\times 100$ . Color. H-E

Pentru examenul bacteriologic, de stabilire a sterilității, s-a colectat soluție în care s-au spălat țesuturile de SDS, câte 2 ml de lichid de transport și a unor 3-4 porțiuni mici de țesut 5x5mm din diferite sectoare ale grefei în Thioglycolate Medium (HiMedia) și Sabouraud Dextroze Broth (HiMedia).

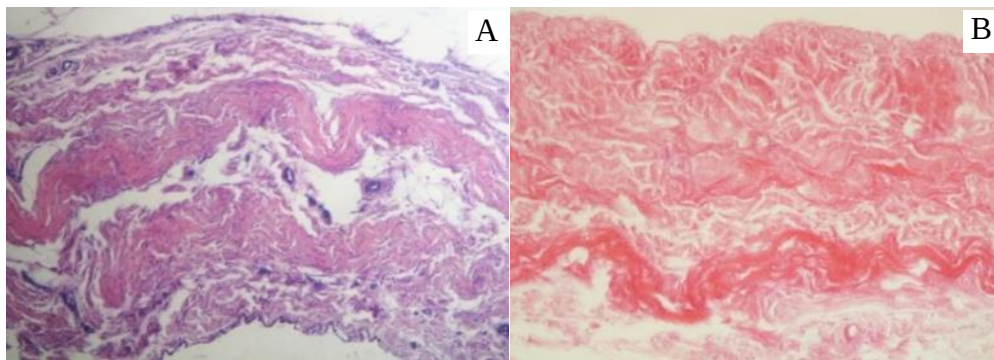


Fig. 2.11. Aspectul histologic al peritoneului bovin până la decelularizare (A) - structura fibrilar conjunctivă păstrată și vascularizată cu conturarea certă a elementelor celulare și coraportului nucleo-citoplasmatic . $\times 75$ , după decelularizare (B) – fibre conjunctive de origine laxă și collagenă. $\times 100$ . Colorație HE.

Incubarea timp de 7-10 zile pentru a obține rezultate finale. Țesuturile păstrate la  $-86 \pm 2^{\circ}\text{C}$  au fost plasate în soluție de Glicerol (Alchimia) de 50% cu RPMI (HiMedia) și păstrate în congelator la  $-80 \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Înainte de utilizare țesuturile au fost spălate abundant cu sol. NaCl 0.9%.

### 2.3. Metode de investigare

În realizarea studiului dat fază s-au utilizat explorările histomorfologice prin aplicarea metodelor clasice în 100% cazuri și selectiv cele histochemice și imunohistochemice.

Studiul morfopatologic complex, efectuat în secția de anatomie patologică a IMSP Institutul Mamei și Copilului (șef secție – dr. șt. med. Vergil Petrovici), a inclus 22 cazuri de gastroschizis supuși intervenției chirurgicale în primele 24 de ore și decedați în primele 5-12 zile postoperator, care au fost selectați din lotul general de pacienți cu gastroschizis la care a dominat simptomatologia clinică de dereglări persistente de motilitate intestinală atât în perioada preoperatorie, cât și postoperator, fără date de ocluzie intestinală mecanică sau enterocolită ulcero-necrotică.

Material pentru explorările histomorfologice și imunohistochemice au servit probele tisulare (câte 6-8 probe) în limite de la  $0,5 \times 0,3 \times 0,2$  până la  $1,0 \times 1,0 \times 0,5$  cm prelevate din piese anatomo-chirurgicale ale peretelui intestinului subțire și colonic, fiind supuse analizei 264 blocuri de parafină secționate în serii (22 cazuri). De asemenea, pentru explorările histopatologice au fost utilizate câte 5-6 probe tisulare prelevate din țesuturile regionale în caz de gastroschizis (20 cazuri), cât și din țesuturile limitrofe abdominale și peretele omfalocelului (18 cazuri) și câte 7-8 probe din complexe placentare (cordon, membrane, discul placentar) în ambele malformații (câte 10 cazuri).

Pentru cercetările histomorfologice prin metoda clasică și histochemică prealabil probele tisulare s-au fixat în sol. Formol de 10% timp de 6-12 ore, ulterior fiind procesate conform

protocolului standard pentru investigațiile histomorfologice utilizând histoprosesarea (firma „Diapath”) și rețeaua de colorație automatizată (firma „Raffaello”) a testelor histomorfologice.

Testele histologice sau obținute prin confecționarea secțiunilor la microtomul semiautomat SLEE MAINZ–CUT 6062 cu grosimea de 2,5 – 3μ. La etapa de colorație s-au utilizat metodele: *hematoxină-eozină* (H&E), și selectiv *Van Gieson* (VG) spre evidențierea fibrelor colagene, Orceină spre evidențierea fibrelor elastice și *Azur-Eozină* (A&E) spre testarea prezenței florei micotico-bacteriene. Examinarea histologică s-a efectuat cu utilizarea microscopelor: Nikon Labophot-2 și Carl Zeiss cu *oculare* ×10, *obiectivele* ×2,5; ×10; ×20; ×40. Imaginile – Canon PowerShot A1000IS, captate în format – JPEG.

Pentru aplicarea reacției imunohistochimice, probele tisulare prealabil s-au fixat în *sol. Formol tamponat* (pH 7,2-7,4) timp de 12-24 ore, ulterior fiind procesate conform standardului histologic, la etapa de colorație derularea procedurii conform standardului pentru examenul imunohistochimic, utilizând anticorpus primar monoclonal *Neurofilament Protein (NF)* și sistemul de vizualizare *En Vizion TM*. Examinarea reacției imunohistochimice se efectua la microscopul «Micros» la amplificările ×2,5, ×10, ×20, ×40, pentru estimarea expresiei reacției utilizându-se scara recomandată 0 – 3+: 0 – fără reacție, + reacție slabă, ++ reacție moderată și +++ reacție pronunțată.

Rezultatele studiului au fost procesate la computer Pentium în programul Microsoft Office Excel 7.0, utilizând pachetul de prelucrare statistică după criteriul Student, fiind considerate statistic concludente diferențele  $p < 0,05$ . Pentru evaluarea statistică a proceselor morfopatologice produse în grefele utilizate, s-a elaborat o scară de evaluare în grade, unde 0 – proces absent, 1 – minim, 2 – moderat, 3 – pronunțat.

Evaluarea statistică s-a făcut în baza estimării proceselor luate în calcul între loturi la mărimea  $\times 40$  în 4 câmpuri de vedere la 3 nivele din proba tisulară examinată cu dimensiunile inițiale 1x1 cm.

Datele au fost prelucrate statistic în pachetul de soft STATISTICA 7.0.

## **2.4. Concluzii la capitolul 2**

1. În conformitate cu scopul și obiectivele cercetării a fost efectuat un studiu descriptiv de tip retrospectiv cu includerea unui lot de 64 pacienți cu gastroschizis și 59 cu omfalocel și clinico-morfopatologic, completat cu un studiu experimental pe animale de laborator.
2. Stabilirea diagnosticului, evidențierea variantelor clinice și a patologiilor concomitente au fost efectuate în funcție de simptomatologia clinică și opțiunile imagistice de diagnostic.
3. Studiul clinico-morfopatologic a fost axat pe evaluarea modificărilor morfopatologice a anselor intestinale eviscerate în cazurile de asociere a sindromului de dismotilitate intestinală persistentă

la copii cu gastroschizis, cât și a țesuturilor regionale în cazurile de defecte congenitale ale peretelui abdominal.

4. Metodele morfopatologice propuse permit acumularea unui volum suficient de informații pentru cuantificarea modificărilor patogenetice produse în defectele congenitale ale peretelui abdominal la nou-născuți.
5. Modelul experimental pe animale de laborator cu utilizarea diferitor grefe bioprotetice de plastie a defectului peretelui abdominal reprezintă o modalitate adecvată de evaluare comparativă a eficienței acestora în rezolvarea chirurgicală a cazurilor cu disproporție visceroabdominală.

### 3. PROFILUL CLINICO-PARACLINIC ȘI SPECTRUL MODIFICĂRIILOR MORFOPATOLOGICE ÎN DEFECTELE CONGENITALE ALE PERETELUI ABDOMINAL ANTERIOR

#### 3.1. Caracteristica statutului clinico-paraclinic în defecte congenitale ale peretelui abdominal anterior (gastroschizis și omfalocel)

În perioada anilor 2005-2016 în secția de chirurgie neonatală a CNȘP “Natalia Gheorghiu” au fost internați 64 de pacienți cu gastroschizis și 59 cu omfalocel (fig. 3.1). Studiul a permis de a constata că cele mai multe cazuri de gastroschizis (10 cazuri) au fost înregistrate în anii 2006, cel mai mic număr de pacienți (2 copii) fiind înregistrat în 2012. Numărul maxim de cazuri de omfalocel a fost constatat în 2005 și în anul 2008 (10 copii), pe când în anul 2007 a fost internat doar un singur copil cu această malformație, iar în 2012 și 2014 – câte 2 cazuri.

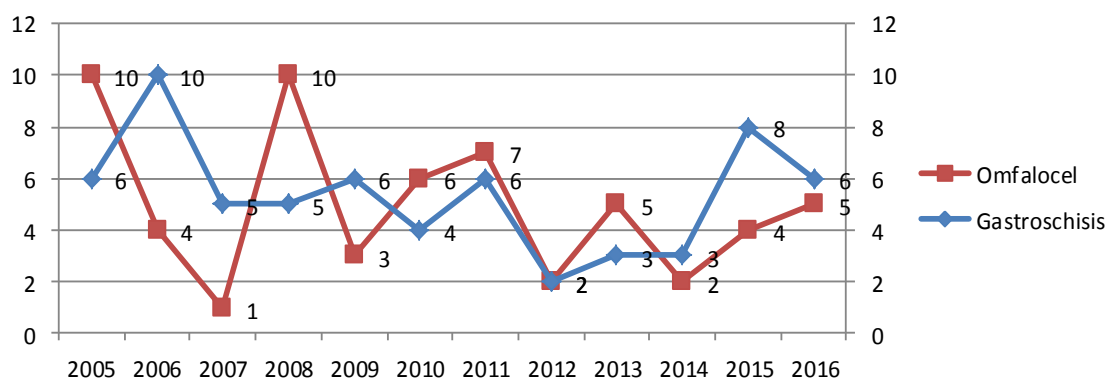


Fig. 3.1. Reprezentarea grafică a frecvenței anuale a cazurilor de gastroschizis și omfalocel pe perioada 2005-2016

Repartiția după sex a permis de a determina că mai frecvent aceste malformații sunt constatate la băieți (gastroschizis – 59,37%, omfalocel – 64,41%) (tab. 3.1).

Tabelul 3.1. Repartizarea pacienților după sex

| Sexul         | Gastroschizis |       | Omfalocel |       |
|---------------|---------------|-------|-----------|-------|
|               | abs.          | %     | abs.      | %     |
| <b>Băieți</b> | 38            | 59,37 | 38        | 64,41 |
| <b>Fete</b>   | 26            | 42,63 | 21        | 35,59 |

În acest studiu au predominat nou-născuții prematuri cu gastroschizis cu vârsta medie de gestație  $33,74 \pm 0,43$  săptămâni (40 cazuri – 62,50%) și cu greutatea medie de  $2022,45 \pm 82,78$  g, cu un interval de la 720 g (26 săptămâni) până la 3200 g (36 săptămâni). Greutatea medie a nou-născuților la termen ( $38,23 \pm 0,19$  săptămâni) cu gastroschizis (24 cazuri) a fost semnificativ mai mare și a constituit  $2673,04 \pm 73,48$  g ( $p < 0,001$ ), în 6 cazuri greutatea fiind până la 2500 g,



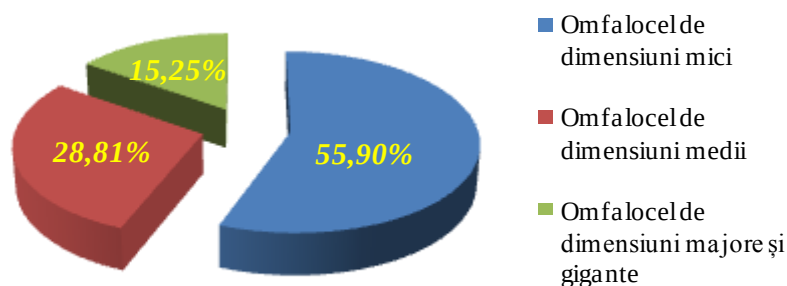
constatându-se un retard de dezvoltare intrauterină a fătului. În 30 cazuri (46,87%) a fost determinat gastroschizis cu disproporție viscero-abdominală semnificativă.

În lotul de pacienți cu omfalocel au predominat nou-născuții de sex masculin (64,41%), născuți la termen ( $38,96 \pm 0,15$  săptămâni) – 45 copii, greutatea medie ( $3241,00 \pm 63,95$  g) fiind semnificativ mai mare comparativ cu pacienții cu gastroschizis născuți la termen ( $p < 0,001$ ). Lotul prematurilor a fost constituit din 14 copii ( $34,64 \pm 0,66$  săptămâni) cu greutatea medie de  $2476,18 \pm 207,27$  g, semnificativ mai mică comparativ cu cei nou-născuți la termen ( $p < 0,001$ ), prematurii cu omfalocel având o greutate mai mare comparativ cu cei cu gastroschizis ( $p < 0,05$ ). Ponderea pacienților cu gastroschizis internați în stare gravă și extrem de gravă la momentul internării a constituit 89,06% și 72,88% - în lotul de copii cu omfalocel (tab. 3.2).

**Tabelul 3.2. Caracteristica stării clinice generale a copiilor cu defecte congenitale ale peretelui abdominal**

| Stare clinică   | gastroschizis |        | Omfalocel |        |
|-----------------|---------------|--------|-----------|--------|
| relativ stabilă | 7             | 10,94% | 16        | 27,12% |
| gravă           | 19            | 29,69% | 30        | 50,85% |
| extrem de gravă | 38            | 59,37% | 13        | 22,03% |

În funcție de dimensiuni, omfalocelul de dimensiuni mici a fost constatat la 33 (55,93%) nou-născuți, omfalocel mediu – 17 (28,81%) cazuri, omfalocelul de dimensiuni majore și gigant fiind observat la 9 (15,25%) pacienți.



**Fig. 3.2. Repartiția cazurilor de omfalocel după dimensiuni**

Formele complicate ale malformației (inflamarea, infectarea sau ruperea foițelor embrionale) au fost determinate în 25 (42,37%) cazuri, din care cu omfalocel minor și mediu 20 pacienți și cu omfalocel major – 5 pacienți.

Hemoleucograma pacienților cu defecte congenitale ale peretelui abdominal (tab. 3.3) nu a constatat diferențe statistic semnificative ale indicilor selectați între lotul de copii cu

gastroschizis și cei cu omfalocel ( $p>0,05$ ), rezultatele valorilor medii obținute înscriindu-se în limitele valorilor convențional normale [13].

Tabelul 3.3. **Parametrii hemoleucogramei la nou-născuții cu defecte congenitale ale peretelui abdominal ( $M\pm m$ )**

| Parametri             | Gastroschizis<br>n=30 | Omfalocel<br>n=30 |
|-----------------------|-----------------------|-------------------|
| Hb, g/l               | 188,3 $\pm$ 5,74      | 191,33 $\pm$ 6,6  |
| Er $\times 10^{12}/l$ | 5,8 $\pm$ 0,17        | 5,8 $\pm$ 0,19    |
| Le $\times 10^9/l$    | 10,4 $\pm$ 1,25       | 12,21 $\pm$ 0,81  |
| VSH, mm/oră           | 3,7 $\pm$ 0,8         | 4,27 $\pm$ 0,63   |

În tabelul 3.4. sunt redate valorile medii ale indicilor biochimici în sângele nou-născuților cu gastroschizis și omfalocel la momentul internării, evaluarea căror a demonstrat că în lotul de pacienți cu gastroschizis valorile proteinei generale au fost veridic mai scăzute (48,83 $\pm$ 1,27) comparativ cu valorile copiilor cu omfalocel (56,39 $\pm$ 2,04) ( $p<0,01$ ), pe când diferența între valorile nivelului ureei și creatininei a fost nesemnificativă ( $p>0,05$ ).

Tabelul 3.4. **Analiza biochimică preoperatorie a sângelui la copiii cu defecte congenitale ale peretelui abdominal la momentul internării ( $M\pm m$ )**

| Parametri                 | Gastroschizis<br>n=30 | Omfalocel<br>n=30      |
|---------------------------|-----------------------|------------------------|
| Proteina gen. (g/l)       | 48,83 $\pm$ 1,27      | 56,39 $\pm$ 2,04**     |
| Urea (mmol/l)             | 4,82 $\pm$ 0,45       | 4,56 $\pm$ 0,41        |
| Creatinina (mcmol/l)      | 54,51 $\pm$ 3,39      | 63,84 $\pm$ 5,18       |
| Br. totală (mcmol/l)      | 39,41 $\pm$ 6,72      | 101,33 $\pm$ 13,92**** |
| Br. conjugată (mcmol/l)   | 1,69 $\pm$ 0,64       | 4,4 $\pm$ 2,34         |
| Br. liberă (mcmol/l)      | 30,76 $\pm$ 6,52      | 84,11 $\pm$ 22,28****  |
| AlAT                      | 46,71 $\pm$ 6,32      | 36,31 $\pm$ 4,35       |
| AsAT                      | 59,32 $\pm$ 6,42      | 54,94 $\pm$ 7,75       |
| Ind. protrombinei (%)     | 86,3 $\pm$ 2,15****   | 81,54 $\pm$ 2,08       |
| Fibrinogen (g/l)          | 4,28 $\pm$ 0,44       | 3,28 $\pm$ 0,28        |
| K <sup>+</sup> (mmol/l)   | 4,95 $\pm$ 0,25       | 5,25 $\pm$ 0,12        |
| Na <sup>+</sup> (mmol/l)  | 136,88 $\pm$ 4,55     | 139,04 $\pm$ 1,56      |
| Ca <sup>2+</sup> (mmol/l) | 2,05 $\pm$ 0,04       | 1,99 $\pm$ 0,05        |

Notă: \*P<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001 (în continuare în toate tabelele)

La copiii cu omfalocel nivelul bilirubinei totale era semnificativ mai înalt de circa 2,5 ori comparativ cu lotul copiilor cu gastroschizis ( $p < 0,001$ ), un nivel sporit nesemnificativ fiind caracteristic pentru bilirubina conjugată ( $p > 0,05$ ) și veridic sporit – pentru bilirubina liberă ( $p < 0,001$ ). Remarcăm, că studiul nu a constatat diferențe statistic veridice a nivelului sanguin al transaminazelor în aceste 2 loturi de pacienți ( $p > 0,05$ ), chiar dacă aceste valori erau puțin mai sporite la bolnavii cu gastroschizis, care aveau și un nivel comparativ sporit al indicelui protrombinic ( $p < 0,001$ ), valorile fibrinogenului fiind sporite nesemnificativ ( $p > 0,05$ ). Estimarea nivelului seric de potasiu, sodiu și calciu nu a determinat o diferență statistic veridică a valorilor obținute între aceste 2 loturi ( $p > 0,05$ ), indicii dați înscriindu-se în intervalul de valori convențional normale ( $\text{Na}^+$ : 133-146 meq/L;  $\text{K}^+$ : 3,2-5,5 meq/L).

În tabelul 3.5. sunt redate valorile medii ale indicilor de bază ai echilibrului acido-bazic, menținerea cărora este o provocare considerabilă pentru nou-născuții cu defecte congenitale ale peretelui abdominal. La momentul internării valorile medii ale pH la nou-născuții cu gastroschizis ( $7,27 \pm 0,03$ ) erau nesemnificativ mai mici comparativ cu valorile înregistrate în cazurile de omfalocel ( $7,31 \pm 0,03$ ) ( $p > 0,05$ ), în timp ce valorile  $\text{PCO}_2$  în lotul bolnavilor cu gastroschizis ( $38,75 \pm 3,53$ ) depășeau veridic valorile lotului cu omfalocel ( $30,78 \pm 1,74$ ), indicii ambelor loturi aflându-se în intervalul valorilor normale (35 - 45 mm Hg). Nivelul de  $\text{PO}_2$  în ambele loturi depășea nesemnificativ intervalul valorilor normale (50 - 70 mm Hg) fără a fi constatată o diferență statistic veridică ( $p > 0,05$ ), legitate valabilă și pentru nivelul  $\text{O}_2$ . Valorile BE (exces de baze) în lotul de copii cu gastroschizis constituiau  $-10,62 \pm 0,98$ , la cei cu omfalocel - erau de  $-11,1 \pm 1,2$  ( $P < 0,01$ ), pe când indicii serici  $\text{HCO}_3^-$  la nou-născuții cu gastroschizis erau  $16,17 \pm 1,31$ , iar la cei cu omfalocel  $15,89 \pm 0,73$ , fără a fi constatată o diferență statistic veridică ( $p > 0,05$ ), rezultatele obținute fiind sugestive pentru o acidoză de origine metabolică, caracteristică pentru nou-născuți în primele zile de viață.

**Tabelul 3.5. Valorile comparative ale indicilor echilibrului acido-bazic la copiii cu defecte congenitale ale peretelui abdominal la momentul internării ( $M \pm m$ )**

| Parametri                            | Gastroschizis<br>n=30 | Omfalocel<br>n=30    |
|--------------------------------------|-----------------------|----------------------|
| pH                                   | $7,27 \pm 0,03$       | $7,31 \pm 0,03$      |
| pCO <sub>2</sub> mm Hg               | $38,75 \pm 3,53^*$    | $30,78 \pm 1,74$     |
| pO <sub>2</sub> mm Hg                | $72,66 \pm 10,19$     | $73,22 \pm 6,6$      |
| O <sub>2</sub> %                     | $80,08 \pm 4,43$      | $87,25 \pm 2,35$     |
| BE mmol/l                            | $-10,61 \pm 0,98$     | $-11,1 \pm 1,2^{**}$ |
| HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mmol/l | $16,17 \pm 1,31$      | $15,89 \pm 0,73$     |

Remarcăm, că în lotul supus evaluării valorile  $pH < 7,2$  au fost constatate în 2 cazuri, iar  $pH < 7,0$  au fost observate în 4 cazuri de gastroschizis, intervalul de valori al cărora a fost de 6,84 - 6,99, pe când în lotul pacienților cu omfalocel  $pH < 7,2$  a fost constatat doar într-un caz de 1 ( $pH = 6,67$ ). În aceste cazuri, indicii de  $PCO_2$  depășeau limitele convențional normale ( $< 50$  mmHg), la copiii cu gastroschizis fiind constatat un interval de valori de 50,6 – 88,3 mmHg, iar în unicul caz de omfalocel acest indice constituia 109,9 mmHg, în același timp indicii BE oscilau între -7,2 și -23,6 mmol/l la copiii cu gastroschizis și -26,2 mmol/l în caz de omfalocel.

Valorile  $pH > 7,4$  au fost constatate în 5 cazuri de gastroschizis cu intervalul de valori de 7,41 – 7,47 și în 4 cazuri de omfalocel cu intervalul de valori de 7,42-7,59.

Incidența malformațiilor congenitale asociate la nou-născuții cu gastroschizis a constituit 53,12% (34 pacienți), anomaliile coexistente la nou-născuții cu omfalocel fiind constatate la 36 de bolnavi (61,02%) (tab. 3.6.).

Analiza structurii morbidității la nou-născuții cu gastroschizis au permis de a pune în evidență predominarea malformațiilor tractului digestiv (65,62%) și cele cardiovasculare (43,75%), urmate de malformații urogenitale (28,12%), malformații bronhopulmonare (7,81%) și cele neurochirurgicale (3,12%), la 28 pacienți (43,75%) fiind diagnosticate 2 sau mai multe malformații congenitale la același pacient.

**Tabelul 3.6. Frecvența malformațiilor congenitale asociate la nou-născuții cu gastroschizis și omfalocel**

| Malformații coexistente                       | Gastroschizis |               | Omfalocel |               |
|-----------------------------------------------|---------------|---------------|-----------|---------------|
|                                               | N             | Incidența (%) | N         | Incidența (%) |
| <b>1. Malformații cardiovasculare</b>         | <b>28</b>     | <b>43,75</b>  | <b>18</b> | <b>30,51</b>  |
| - defect al septului atrial                   | 5             | 7,81          | 3         | 5,08          |
| - canal arterial patent                       | 8             | 12,5          | 6         | 10,17         |
| - valva aortică bicuspidă                     | 1             | 1,56          | -         | -             |
| - stenoza congenitală a valvei aortei         | 3             | 4,69          | -         | -             |
| - persistența for. ovale                      | 7             | 10,94         | 5         | 8,47          |
| - defect al septului ventricular              | 3             | 4,69          | 2         | 3,39          |
| - coarctarea de aortă                         | 1             | 1,56          | -         | -             |
| - dextracardie                                | -             | -             | 2         | 3,39          |
| <b>2. Malformații urogenitale</b>             | <b>18</b>     | <b>28,12</b>  | <b>7</b>  | <b>11,86</b>  |
| - Displazie chistică renală                   | 7             | 10,94         | 2         | 3,39          |
| - ectopia intra-abdominală a testicolului     | 1             | 1,56          | -         | -             |
| - hidronefroză congenitală                    | 3             | 4,69          | 1         | 1,69          |
| - stenoză ureterală cu genicularea ureterelor | 6             | 9,37          | -         | -             |
| - atrezia vaginului                           | 1             | 1,56          | -         | -             |
| - hipospadie                                  | -             | -             | 1         | 1,69          |
| - persistența uracei                          | -             | -             | 1         | 1,69          |
| - extrofie de vezică urinară                  | -             | -             | 1         | 1,69          |

|                                                      |           |              |           |              |
|------------------------------------------------------|-----------|--------------|-----------|--------------|
| - extrofie de cloacă                                 | -         | -            | 1         | 1,69         |
| <b>3. Malformațiile tractului digestiv</b>           | <b>42</b> | <b>65,62</b> | <b>30</b> | <b>50,85</b> |
| - malrotații intestinale și de fixare grave          | 20        | 31,25        | 6         | 10,17        |
| - fibroză chistică pancreatică                       | 1         | 1,56         | -         | -            |
| - atrezia intestinului subțire                       | 2         | 3,12         | -         | -            |
| - stenoza segmentară a intestinului subțire          | 3         | 4,69         | -         | -            |
| - atrezia colonului                                  | 4         | 6,25         | -         | -            |
| - stenoză colonică segmentară                        | 2         | 3,12         | -         | -            |
| - duplicarea vezicii biliare cu stenoza coledocului  | 1         | 1,56         | -         | -            |
| - hipoplazia vezicii biliare                         | 1         | 1,56         | -         | -            |
| - megaduodenum congenital                            | 1         | 1,56         | -         | -            |
| - malformații vasculare ale mezoului și intestinului | 1         | 1,56         | -         | -            |
| - agenezia cecului și apendicelui vermicular         | 2         | 3,12         | 1         | 1,69         |
| - atrezia anală et recti                             | 1         | 1,56         | -         | -            |
| - pancreas inelar incomplet                          | 2         | 3,12         | 18        | 30,51        |
| - duplicația intestinului subțire                    | 1         | 1,56         | 2         | 3,39         |
| - diverticul Meckel                                  | -         | -            | 1         | 1,69         |
| - megacolon                                          | -         | -            | 2         | 3,39         |
| - hernie diafragmatică                               | -         | -            | -         | -            |
| - malformații hepatice                               | -         | -            | -         | -            |
| <b>4. Malformații neurochirurgicale</b>              | <b>2</b>  | <b>3,12</b>  | <b>1</b>  | <b>1,69</b>  |
| - microcefalie                                       | 1         | 1,56         | -         | -            |
| - malformații vasculare cerebrale                    | 1         | 1,56         | -         | -            |
| - spina bifida                                       | -         | -            | 1         | 1,69         |
| <b>5. Malformații bronhopulmonare</b>                | <b>5</b>  | <b>7,81</b>  | <b>1</b>  | <b>1,69</b>  |
| - Agenezie lobară pulmonară                          | 3         | 4,69         | -         | -            |
| - Hipoplazie lobară pulmonară                        | 2         | 3,12         | 1         | 1,69         |
| <b>6. Stigme disemбриogenetice</b>                   | <b>2</b>  | <b>3,12</b>  | <b>2</b>  | <b>3,39</b>  |

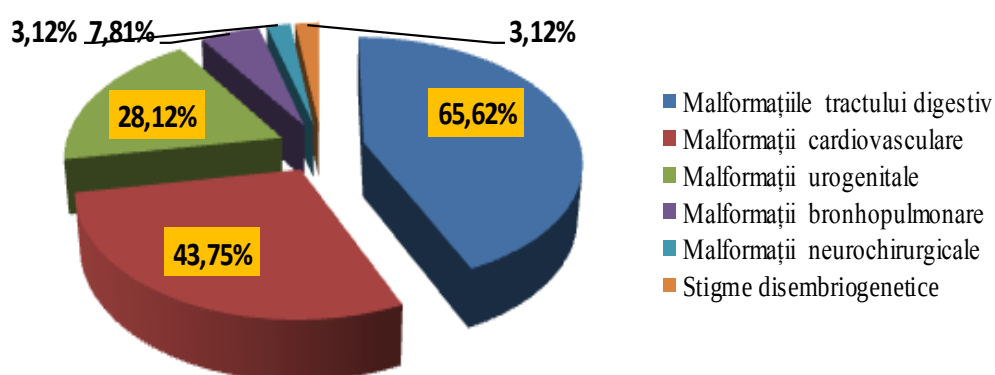


Fig. 3.3. Frecvența malformațiilor congenitale coexistente la nou-născuții cu gastroschisis

Spectrul de malformații congenitale coexistente la nou-născuții cu omfalocel a fost reprezentat de malformațiile tractului digestiv (50,85%), viciile congenitale cardiovasculare (30,51%), malformațiile urogenitale (11,86%), malformațiile neurochirurgicale și cele

bronhopulmonare fiind constatate cazuistic (fig. 3.4). În 24 cazuri (48,68%) de omfalocel au fost depistate malformații multiple.

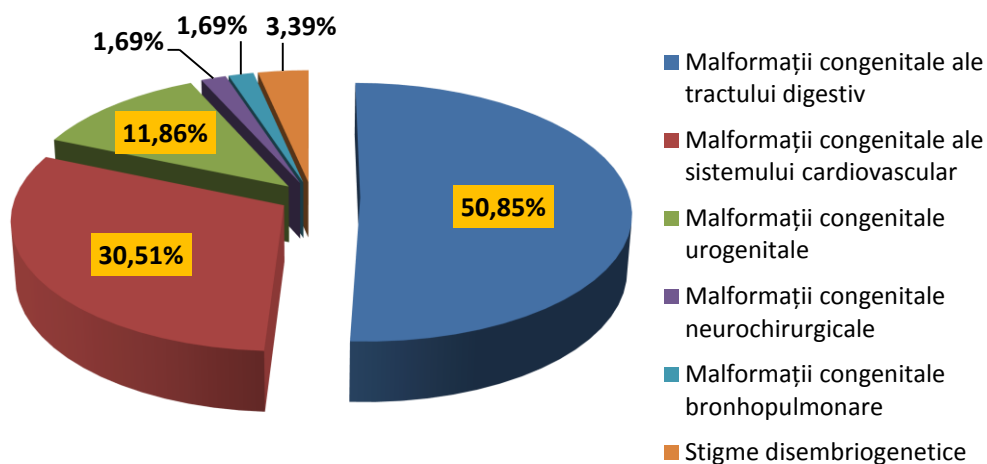


Fig. 3.4. Frecvența malformațiilor congenitale coexistente la nou-născuții cu omfalocel

În 4 (6,78%) cazuri a fost diagnosticat omfalocelul sindromal (fig. 3.5), constatat la nou-născuții cu artrogripoză (2 cazuri), pentada Cantrel (1 caz) și sindromul Beckwith-Wiedemann (1 caz).

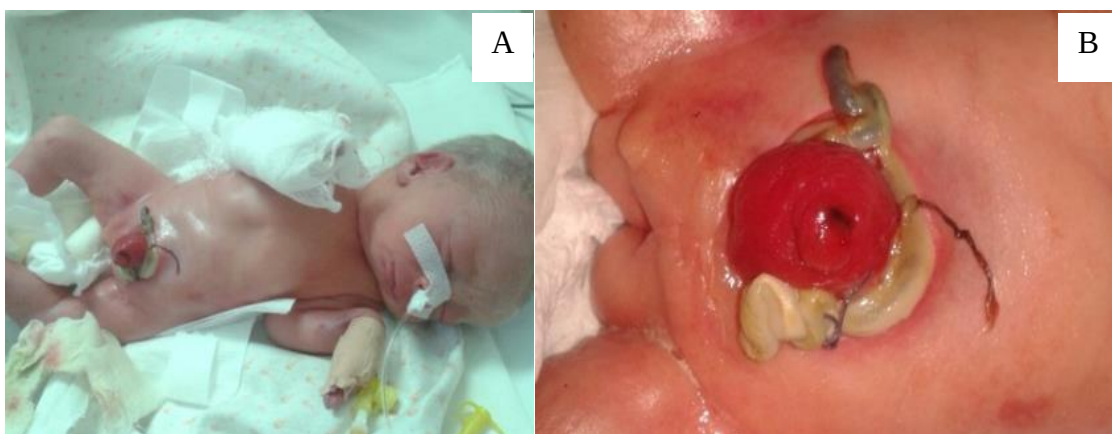


Fig. 3.5. Aspectul unui nou-născut cu omfalocel complicat cu ruptura foițelor embrionale asociat cu artrogripoză, extrofia vezicii urinare și cloacă.

Conform concluziilor anatomopatologice, de rând cu prematuritatea și malformațiile asociate, evoluția nefavorabilă a bolii în cazurile de gastroschizis a fost influențată și de alte stări patologice (tab. 3.7.), printre care:

- peritonita congenitală (aseptică și septico-infecțioasă), întâlnită în toate cazurile de gastroschizis,
- sepsisul (59,37%),

- encefalopatia hipoxico-discirculatorie (35,94%),
- infecția intrauterină cu generalizarea procesului inflamator-septic (32,81%),
- aspirația lichidului amniotic cu dezvoltarea atelectaziilor focare și pneumoniei (23,44%),
- dezvoltarea enterocolitei (25%),
- traumatismul obstetrical (7,81%)

**Tabelul 3.7. Frecvența stărilor patologice care au influențat semnificativ evoluția bolii în cazurile de gastroschizis**

| <b>Entitatea nozologică</b>                                                     | <b>N</b> | <b>%</b> |
|---------------------------------------------------------------------------------|----------|----------|
| encefalopatie hipoxică discirculatorie                                          | 23       | 35,94    |
| aspirația lichidului amniotic cu dezvoltarea atelectaziilor focare și pneumonie | 15       | 23,44    |
| Enterocolită                                                                    | 16       | 25       |
| infecție intrauterină cu generalizarea procesului inflamator-septic             | 21       | 32,81    |
| traumatismul obstetrical                                                        | 5        | 7,81     |
| peritonita congenitală aseptică și septico-infecțioasă                          | 64       | 100      |
| Sepsis                                                                          | 38       | 59,37    |

Aceste stări patologice pe fondalul imaturității tisulare a organelor interne, au determinat dezvoltarea insuficienței poliorganice cu un exod nefavorabil al bolii. În majoritatea cazurilor au fost întâlnite 2 și mai multe dintre aceste entități nozologice.

Analiza protocoalelor anatomopatologice ne-a permis de a constata că în cazurile de omfalocel, de rând cu stările patologice concomitente descrise mai sus, entitățile nozologice care au determinat exodul nefavorabil al bolii au fost:

- traumatismul natal cu hemoragie intraventriculară și edem cerebral – 2 cazuri;
- encefalopatie hipoxico-discirculatorie – 5 cazuri;
- infecție intrauterină – 6 cazuri;
- aspirația lichidului amniotic cu dezvoltarea atelectaziilor și pneumoniei - 7 cazuri;
- enterocolită – 6 cazuri;
- peritonită progresantă – 11 cazuri.

În majoritatea cazurilor cu evoluție nefavorabilă (12 cazuri) au fost constatate 2 sau mai multe dintre stările patologice enumerate.

### **3.2. Profilul histomorfopatologic regional al defectului congenital al peretelui abdominal anterior la nou-născuți cu gastroschizis**

*Scopul* studiului dat a constat în evaluarea particularităților morfopatologice regionale ale defectului congenital al peretelui abdominal la nou-născuți cu gastroschizis și omfalocel.

Rezultatele investigațiilor histomorfopatologice, efectuate în 20 de cazuri, au permis de a constata o gamă largă de modificări structural-vicioase de origine displazică și inflamatorie, dezvoltate în diverse perioade de timp. Microanatomic, la marginea zonei defectului musculofascial al peretelui abdominal, localizat în toate cazurile analizate în dreapta cordonului ombilical, a fost atestată prezența unui inel de pliu conjunctiv lax și/sau fibroziv, dotat cu o rețea vasculară artereo-venoasă alcătuită din capilare și vase de calibru mic. Spre abdomenul regional, pe parcursul rețelei vasculare, în aria țesutului muscular abdominal se dispersează fâșii sau platouri conjunctive, ce trec lent în fasciile intramusculare sau direct în tecile conjunctive musculare, unele cu aspecte cicatriciale. Astfel, la acest nivel se formează puncte de trecere sau de „joncțiune” dintre două tipuri de structuri tisulare. La nivelul așa-numitei „joncțiuni” se atestă prezența componentelor vasculomusculare și fascicule trunculare nervoase, formând, în opinia noastră, o joncțiune fibroneuromusculară (fig. 3.6. A, B).

Remarcăm faptul că la acest nivel are loc o interacțiune a învelișului peritoneal cu cel cutanat, care pe marginea defectului evoluează într-un simplu pliu conjunctiv vascularizat diferit. Comparativ cu structura joncțiunii, în pliul marginal, pe diverse arii, prevalează țesutul conjunctiv, cu predilecție bogat în fibre de collagen.

O altă particularitate atestată la acest nivel în 18 cazuri, a constituit faptul că pe unele arii pliul conjunctiv fibro-vascular, corespunzător joncțiunii fibroneuromusculare, era format doar din țesut conjunctiv lax, cu un număr redus de structuri nervoase și vasculare (fig. 3.6. C). În toate cazurile, la nivelul pliului s-au atestat dereglări de circulație sanguină, edem și reacții inflamatorii celulare (fig. 3.6. D), precum și procese inflamatorii productive proliferative cu neoformarea structurilor cicatriciale (19 cazuri), prezența elementelor amnionale, celulelor cheratinizate, cu predilecție în zona peritoneală (fig. 3.6. E). Dimensiunile pliului conjunctiv-vascular au oscilat de la microscopice până la 0,5-1,0 cm, variațiile de grosime fiind determinate de activitatea procesului inflamator. Particularitățile atestate nu aveau un caracter similar pe tot perimetrul marginal al defectului. Pe unele arii, la o distanță de 1-2 cm de la joncțiune, peretele abdominal regional era lipsit complet de stratul muscular sau acesta era constituit din miocite repartizate haotic în masa de țesut conjunctiv organizat. Prin urmare, peretele abdominal era prezentat doar de tunică peritoneală, țesut conjunctiv cu unele anexe cutanate hipoplazice și epidermă (fig. 3.6. F).



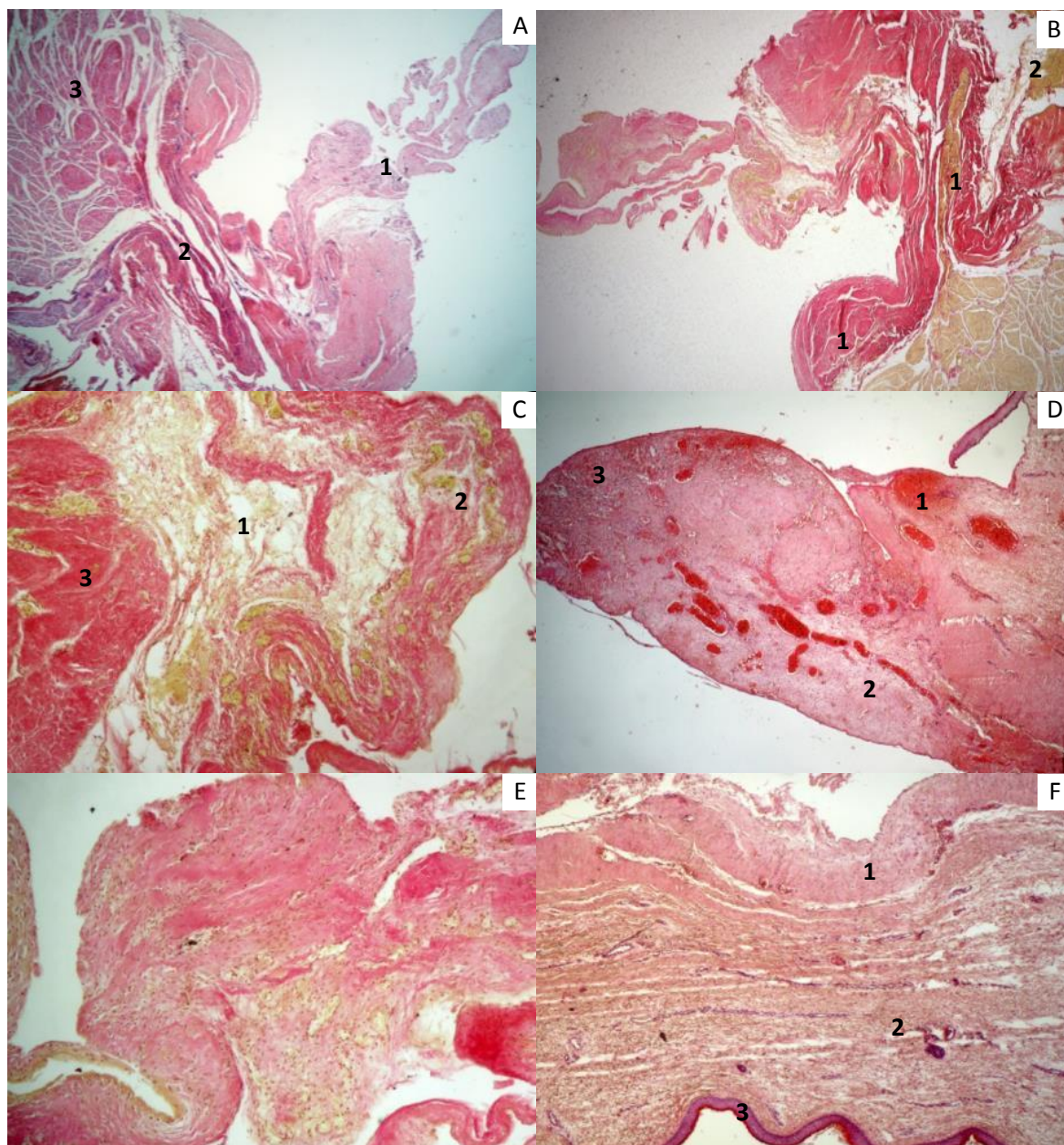


Fig. 3.6. A - zona inelară marginală a defectului: 1- pli conjunctiv; 2-joncțiune fibro-neuromusculară cu fascicul nervos (→); 3 - platouri musculare ale mușchilor abdominali.  $\times 25$ . Color. H&E; B - Joncțiune fibroneuromusculară: 1- fascicule musculare; 2 - partea cutaneului – țesut adipos subcutanat; 3 - partea peritoneală - fascicule conjunctive pseudonodulare collagenizate.  $\times 25$ . Color. VG; C - Zona inelară a defectului: 1 - joncțiune fibroneuromusculară; 2 - pli fibrovascular; 3 - fascicule musculare.  $\times 50$ . Color. VG; D - dereglări de circulație și inflamatorii: 1- stază vasculară cu hemoragii; 2 edem cu pseudomixomatoză; 3- leziuni inflamatoare și microerozive.  $\times 50$ . Color. H&E; E - zonă peritoneală cu procese inflamatorii productiv-proliferative și sclerogene cicatriciale, cu impurități de celule cheratinizate amniolichidiene.  $\times 50$ . Color. H&E; F - Perete abdominal la 1,5 cm distanță de la defect: 1- tunică peritoneală îngroșată; 2 - țesut conjunctiv ordonat; 3 - înveliș epidermal.  $\times 50$ . Color. H&E

Testarea componentei elastice a țesutului conjunctiv a relevat reducerea acestuia în joncțiunea fibroneuromusculară. Fibrele elastice erau prezente cu predilecție în zona cutanată a joncțiunii, comparativ cu cea peritoneală, și la nivelul frontierei fibromusculare. În unele cazuri, fibrele elastice au fost observate și la nivelul pliului conjunctiv-vascular (fig. 3.7. A, B).

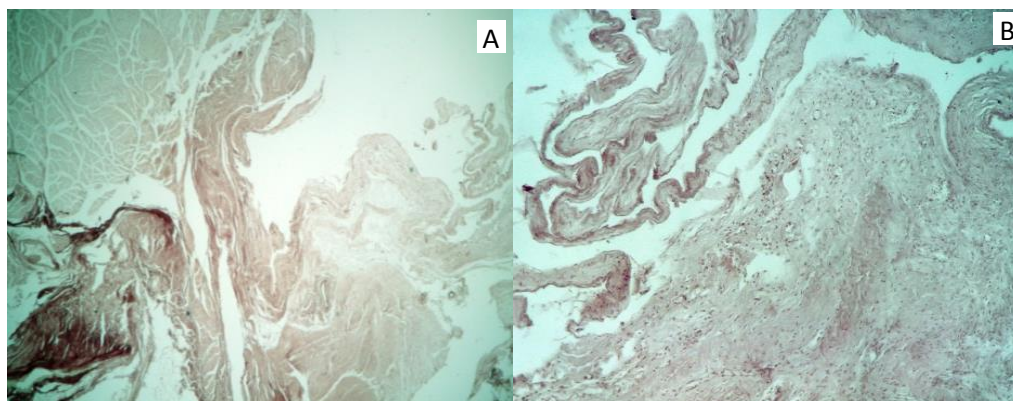


Fig. 3.7. A - joncțiune fibroneuromusculară. Se determină impregnarea coloră cu orceină a fibrelor elastice la nivelul zonei cutanate și de frontieră fibromusculară; B - pli conjunctiv vascular - impregnare coloră cu orceină a fibrelor elastice.  $\times 25$ . Color. histochimică cu orceină

În opinia noastră, această joncțiune fibroneuro-musculară are un rol morfofuncțional predictiv în reglarea proceselor trofice și regenerative cu semnificație în intervențiile de plastie. La nivelul zonei pliului conjunctiv sunt prezente procese inflamatorii, cicatriciale precum și elemente amniolichidiene care, nimerind în plaga de plastie, pot contribui la apariția unor complicații inflamatorii la acest nivel.

Examinările histomorfopatologice ale musculaturii abdominale de la graniță cu joncțiunea fibroneuromusculară au relevat prezența unor procese displazice.

Fasciculele musculare aveau orientări dezordonate, cu semne de dismaturitate, hipertrofie și/sau hipotrofie. Țesutul conjunctiv intermuscular de asemenea era slab dezvoltat, mai accentuat în cazurile de nașteri mature (Anexa 1.3. A, B). Miocitele cu un grad de maturizare diferit, neuniform hipertrofiat (Anexa 1.3. C) și dezordonate, formau pseudonoduli fasciculari miocitari hipertrofiați (Anexa 1.3. D).

Structurile nervoase erau reprezentate de fascicule nervoase trunculare, dislocate pe traiecul vaselor, mai accentuate la o distanță de 1,5-2,0 cm de la defect (Anexa 1.3. E). Testarea țesutului conjunctiv intramuscular a relevat predominarea fibrelor elastice (Anexa 1.3. F).

La testarea imunohistochimică (IHC) a probelor din toate elementele investigate, în 45 % din cazuri s-a atestat o expresie pronunțată a anticorpului NFP cu o reacție de 3+, în 15 % o expresie cu reacție mixtă de 3+ și 2+ , iar în 40 % de 3+ și nulă „0”. În probele din joncțiunea fibroneuromusculară, în zona dintre pliul conjunctiv al inelului defectului și platoul muscular abdominal, s-au depistat structuri nervoase fasciculare de diversă grosime cu o expresie pronunțată a anticorpului NFP, mai ales la nivelul fibrelor „3+” indiferent de grosimea acestora (fig. 3.8. A).



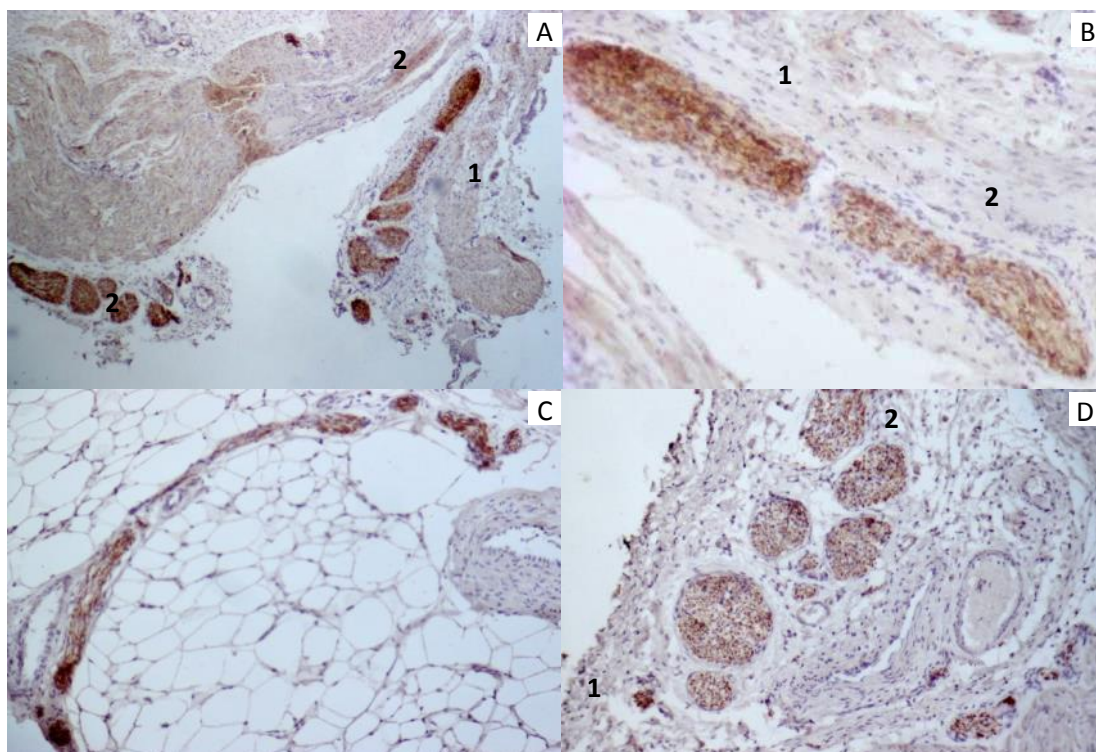


Fig. 3.8. A - expresie imunohistochimică a NFP cu reacție de 2+ (1) și 3+ (2).  $\times 25$ ; B - expresie imunohistochimică a NFP cu reacție de 3+ difuză (1) și focală (2) a fibrelor nervoase din fascicule.  $\times 100$ ; C - expresie imunohistochimică a NFP cu reacție difuză și focală de 3+ în fasciculele nervoase din adipoasa subcutanată.  $\times 75$ ; D - expresie imunohistochimică a NFP cu reacție de 3+ (1) și 2+ (2) focală în fibrele din structurile trunculare ale dispozitivului neuro-fascicular.  $\times 75$ .

Totuși, acestea nu prezentau o rețea omogenă pe traiectele fibrelor nervoase din fascicule și s-a manifestat prin impregnare micro- sau macrofocală, adică în mici segmente (fig. 3.8. B).

Testarea probelor din țesuturile peretelui abdominal de asemenea au relevat o expresie pronunțată cu reacție de 3 + în fasciculele din țesutul celulo-adipos subcutanat (fig. 3.8. C), precum și din partea trunchiurilor nervoase pe parcursul vaselor din zona peritoneală a abdomenului (fig. 3.8. D). Atenționăm asupra faptului că și la nivelul fibrelor nervoase trunculare s-a atestat același tablou ca și în zona joncțiunii fibroneuromusculare. Însă paralel cu impregnarea segmentară, unele fibre au înregistrat și o reacție de 2+, iar altele o reacție nulă.

Rețeaua nervoasă a stratului muscular de asemenea prezenta structuri neurale displazice, care, deși manifestau o expresie pronunțată a anticorpului, erau localizate adesea haotic, în fâșii trunculare înguste și încovoiate, mici insulițe sau grupuri de fibre nervoase.

Testarea structurilor nervoase la nivelul musculaturii abdominale în toate cazurile a relevat prezența structurilor nervoase fasciculare și trunculare, reacția imunohistochimică înregistrând o expresie a anticorpului NFP pronunțată cu reacție de 3+ la nivelul trunchiurilor nervoase și a

dispozitivelor neurovasculare de rang magistral (fig. 3.9. A) și intermediar, inclusiv a unor fascicule și fibre nervoase repartizate haotic printre fibrele musculare (fig. 3.9. B).

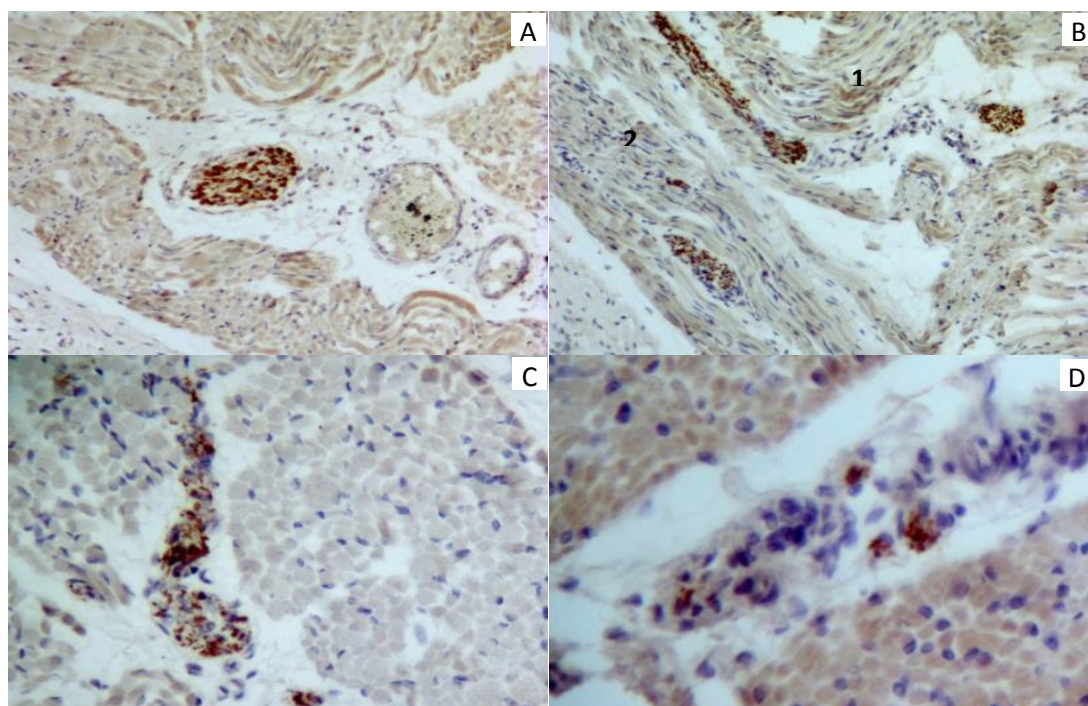


Fig. 3.9. A - expresie imunohistochimică a NFP cu reacție de 3+ în trunchiurile nervoase ale dispozitivului neurovascular intramuscular la nivelul abdomenului.  $\times 150$ ; B - expresie imunohistochimică a NFP cu reacție de 3+ în rețeaua nervoasă trunculară (1) și a unor fascicule (2) intra muscular în musculatura abdomenului  $\times 100$ ; C - expresie imunohistochimică a NFP microfocală și granulară cu semnificație de 3+ în trunchiuri și fascicule nervoase din zona muscularei abdomenului  $\times 125$ ; D - expresie imunohistochimică a NFP granulară cu semnificație de 3+ în fascicule nervoase la nivelul dispozitivului neurovascular.  $\times 150$ .

Comparativ cu zonele distanțate de la defect, în probele din zonele adiacente sau la distanță minimă de la defect, cu predilecție în zonele cu hipotrofie asincronă a fibrelor musculare sau dismaturitate, structurile nervoase prezentau o dezorganizare mai accentuată, cu dispozitive neurovasculare mult mai sărace în fascicule de fibre nervoase. Deși testarea imunohistochimică a înregistrat o reacție semnificativă a anticorpului NFP cu reacția de 3 +, aceasta marca un aspect divers, de la granular la microfocal sau mixt (fig. 3.9. C, D).

Rezultatele studiului histomorfopatologic convențional, completat cu metoda imunohistochimică, ne permit a conchide că modificările regionale în gastroschizis sunt dominate de o disconcordanță de maturizare marcantă a elementelor musculofasciale și ganglioneuronale, indiferent de termenul de gestație, asociată cu dezordonarea miocitelor și a fasciculelor musculare, cu hipertrofia miocitelor, cu dereglări ale intensității de expresie imunohistochimică a structurilor neuronale, dovadă a prezenței unor dereglări funcționale neuromusculare atât în preajma defectului, cât și la distanță.

### 3.3 Aspecte morfologice și histopatologice ale omfalocelului la nou-născuți

În acest lot de studiu au fost incluși 18 nou-născuți cu omfalocel, cu vârsta gestațională de 37 - 40 săptămâni (s/g), cu masa ponderală de 2850-3780 g, la naștere fiind apreciați cu 7-8 puncte după scorul Apgar. Diametrul omfalocelului a variat între 3,5 cm și 12 cm, având un perete neuniform translucid (fig. 3.10.). În 11 (61,1 %) cazuri s-a atestat prezența rețelei vasculare, trasată radiar sau spiralat în aria peretelui, mai frecvent la boltă și adiacent zonei limitrofe cutanate de rezecție. În 7 (38,9 %) cazuri rețeaua vasculară era mai compactă, înglobată într-un cordon gelatinos (cordonul ombilical propriu-zis), de densitate sporită, cu sau fără varicozități vasculare, trecând pe parcurs, *per continuitatem*, în cordonul ombilical. În zona bazală, peretele omfalocelului se prezintă neuniform îngroșat, mat sau albicios. Unele vase, pe parcursul traiectului capătă o nuanță violacee de diversă intensitate datorată țesutului gelatinos, inclusiv la nivelul cordonului ombilical din aria omfalocelului.

O altă particularitate a omfalocelului, atestată în 4 (22,2 %) cazuri, a constituit-o prezența unor structuri aderențiale. Într-un caz a fost observată o herniere parțială a unui segment intestinal prin orificiul dublu, determinat de brida aderențială. Fenomenul dat, după părerea noastră, merită atenție întrucât reflectă patogenia omfalocelului și indică la preexistența unui risc major de strangulare a segmentului intestinal menționat.

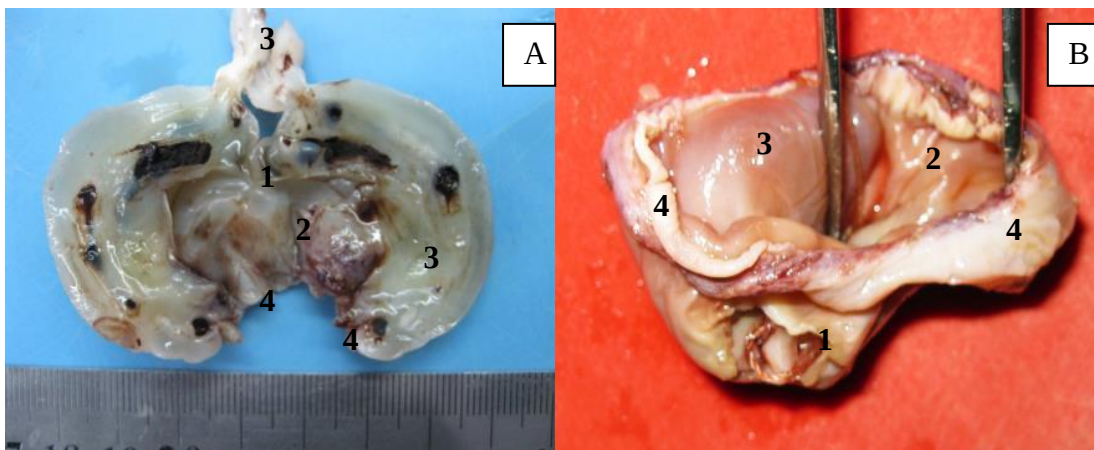


Fig. 3.10. Piese anatomico-chirurgicale. Omfalocel excizional. Sac herniar – omfalocel: 1 - zona apical-ombilicală; 2 - perete membranos gelatinos; 3 - cordonul ombilical în aria peretelui herniar; 4 - zonă limitrofă cutanată

Peretele membranos al omfalocelului era de consistență gelatinoasă ca urmare a predominării substanței fundamentale extracelulare față de cea celulară, componenta fibrilară fiind mai puțin prezentă. Din exterior omfalocelul era circumscris de epiteliu amniotic sau pavimentos, unistratificat direcționat spre zona limitrofă. Suprafața internă a omfalocelului, în toate cazurile și pe toată aria, este reprezentată de mezoteliu.



Așadar, în structura omfalocelului se disting două straturi: *extern muco-conjunctiv*, avascular, lax, unde prevalează substanța fundamentală extracelulară, și *intern muco-conjunctiv-vascularizat*, mult mai compact și mai hipercelularizat, cu aspect pseudofibrilar și prezența componentei vasculare (fig. 3.11. A). În cordonul ombilical este prezent doar țesutul muco-conjunctiv cu o componentă celulară discretă, dispersă (fig. 3.11. B).

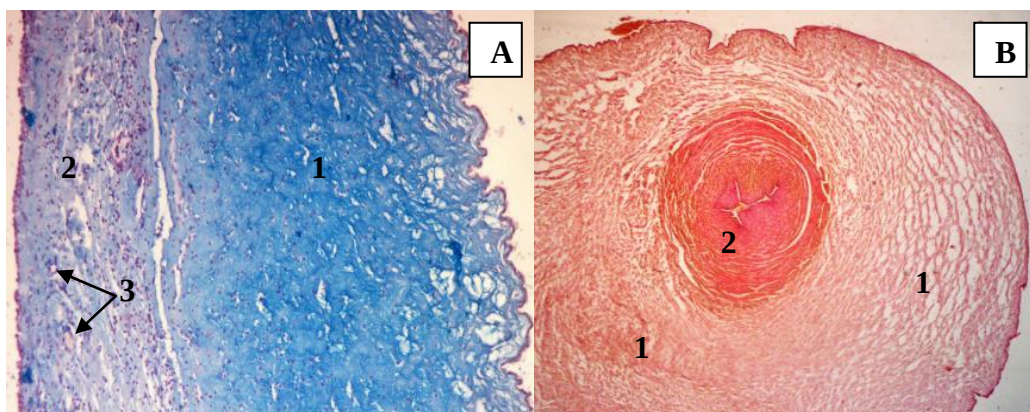


Fig. 3.11. Componenta muco-conjunctivă în omfalocel și cordonul ombilical. A - omfalocel: 1- zona externă muco-conjunctivă; 2 - zona internă muco-conjunctiv-vascularizată; 3 - capilare venoase  $\times 75$ . Colorație cu albastru alcian; B - cordon ombilical: 1- componenta muco-coniunctivă; 2 - artera ombilicală  $\times 25$ . Colorație cu hematoxilină-eozină

În probele de la nivelul bolții omfalocelului, zona internă este mult mai diminuată, uneori contopindu-se cu structurile epiteliale ale mezoteliului și amniosului, determinând structura membranară muco-conjunctiv-epitelială dimorfă a acestuia.

În funcție de zonele cercetate ale omfalocelului și țesuturile din zona limitrofă, inclusiv în biopatele musculaturii abdominale, a fost observată o variație structurală a componentei tisulare și vascularizării. În probele prelevate din vecinătatea zonei omfalo-abdominală, începând cu regiunea limitrofă cu structurile tisulare abdominale (nivelul de rezecție), în peretele omfalocelului în limitele a 1,5 -2 cm, pe unele arii până la 3 cm, spre bolta sau zona apicală a omfalocelului au fost depistate structuri mozaice asemănătoare arhitectural cu cele abdominale, zona internă *muco-conjunctiv-vascularizată* fiind bogată în fibre și dotată cu o rețea vasculară mult mai dezvoltată.

Microarhitectural, în vecinătatea defectului, între componentele muco-fibro-vasculară și muco-conjunctivă s-au atestat elemente miocitare și fibrocitare, dispersate atât haotic, cât și ordonate în fascicule, formând un strat fibro-muscular lax spre bolta omfalocelului. La nivelul mediu, componenta fibrilar-miocitară era mai ordonată, pe unele arii cu aspect fasciculat. Ulterior a fost constatată prezența unui strat fascicular fibromuscular comparativ mai dens, cu predilecție de origine conjunctiv-fibrilară sau fasciculată. Pe toată suprafața internă era prezent mezoteliul, indiferent de volumul acestuia, spre periferie urmând stratul de țesut conjunctiv lax

dotat cu o rețea vasculară abundentă. (fig. 3.12. A). Spre periferie, componenta gelatinoasă putea fi circumscrișă, în proporție diferită, de elemente celulare fibrocitar-fibroblastice, printre care puteau fi întâlnite mici capilare și angioblaste. La exterior a fost depistat un strat epitelial pavimentos scuamos care, spre apexul omfalocelului, involucra într-un strat pluristratificat sau unistratificat de amniocite.

Structurile vasculare, în special cele din cordonul ombilical, manifestau procese displazice ale muscularei vasculare. Componenta musculo-fibro-vasculară avea, pe alocuri, aspect fibro-celular haotic, fiind constituită din fibrocite, miocite și mucocite cu lacuri mici gelatinoase, inclusiv în zona adiacentă orificiului omfalo-abdominal (fig. 3.12. B).

În celelalte zone, cu o deficiență a componentelor fibro-celulare și fibrocitar-musculare ordonate sau cu aspect lax, în special la nivelul apical al omfalocelului, au fost observate degenerescențe alterative și hidropice, cu formarea unor lacuri seroase (fig. 3.12. C).

În 8 (44,4%) cazuri, la nivelul orificiului sacului herniar (omfalocelului) au fost depistate structuri limfoide nodulare și foliculare (fig. 3.12. D), dispuse sub formă de lanț pe perimetrul orificiului, uneori și în zona gelatinoasă, sub formă de deplețiune limfocitară de tip sinusoid. Structurile limfoide puteau fi observate și pe parcursul rețelei vasculare, cu deplețiune variată a componentului limfocitar (fig. 3.12. A).

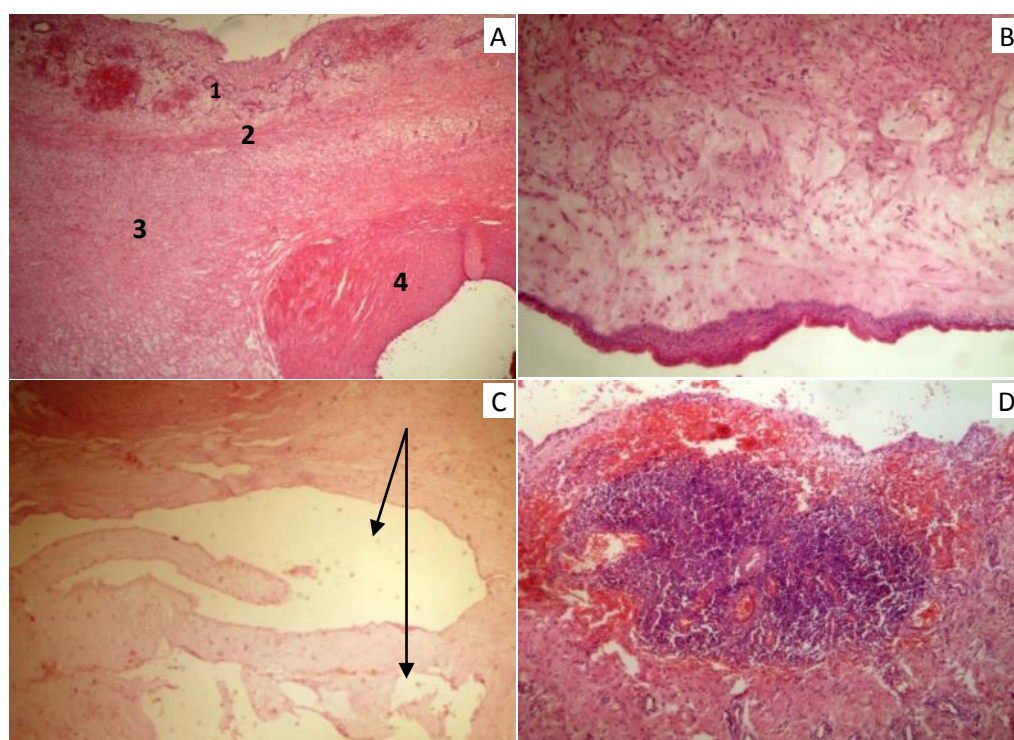


Fig. 3.12. Aspectul histopatologic de ansamblu al omfalocelului. A - structura internă a peretelui omfalocelului: 1- rețea vasculară; 2 - strat fibromuscular; 3 - substanță gelatinoasă; 4 - vas ombilical cu displazie a muscularei; B - Zona periferică a peretelui omfalocelic: 1 masă gelatinoasă celularizată cu celule fibrocitar-fibroblastice; 2 - epiteliu pavimentos pluristratificat scuamos; C - zonă gelatinoasă cu degenerescență hidropică cu acumulări de lichid seros; D - structuri limfocelulare foliculare din zona limitrofă de rezecție.



În unele cazuri a fost constatată prezența unor bride amniotice, la nivelul omfalocelului, pe suprafața internă, fiind depistate cordoane conjunctiv-vasculare, tapetate cu mezoteliu și dotate cu rețea vasculară de calibru mic, mediu și capilară, uneori cu mici structuri pseudofoliculare limfocitare (Anexa 1.4. A). În 2 cazuri s-au depistat miocite solitare. Modificările aderențiale indică la o altă geneză a omfalocelului, care-l diferențiază ontogenetic de hernia ombilicală propriu-zisă. Prezența structurilor limfoide la acest nivel, în opinia noastră, poate fi consecința acțiunii conținutului amnio-lichidian, ce poate penetra stratul gelatinos, precum și a funcției de obstacol limfoido-celular de protecție al anselor intestinale eventrate sau a cavității abdominale.

La explorarea zonei musculare abdominale din imediata apropiere a orificiului omfalocelic s-a atestat o dereglare evidentă a componentelor tisulare musculare, conjunctive și celulo-adipoase manifestată prin aspectul structurizat amorf, neregulat (Anexa 1.4. B,C,D). Țesutul muscular este reprezentat de fascicule din fibre musculare hipoplaziate și hipertrofiat, orientate dezordonat între ele și în coraport cu țesutul celulo-adipos și conjunctiv fibrilar (Anexa 1.4. B). În unele probe se păstra un coraport dintre țesuturile identice, cu excepția hipotrofiei miocitelor (fig. Anexa 1.4. C), pe unele arii fiind mai hipotrofiat sau sub formă de insule miocitare, înglobate în masa țesutului conjunctiv (Anexa 1.4. D).

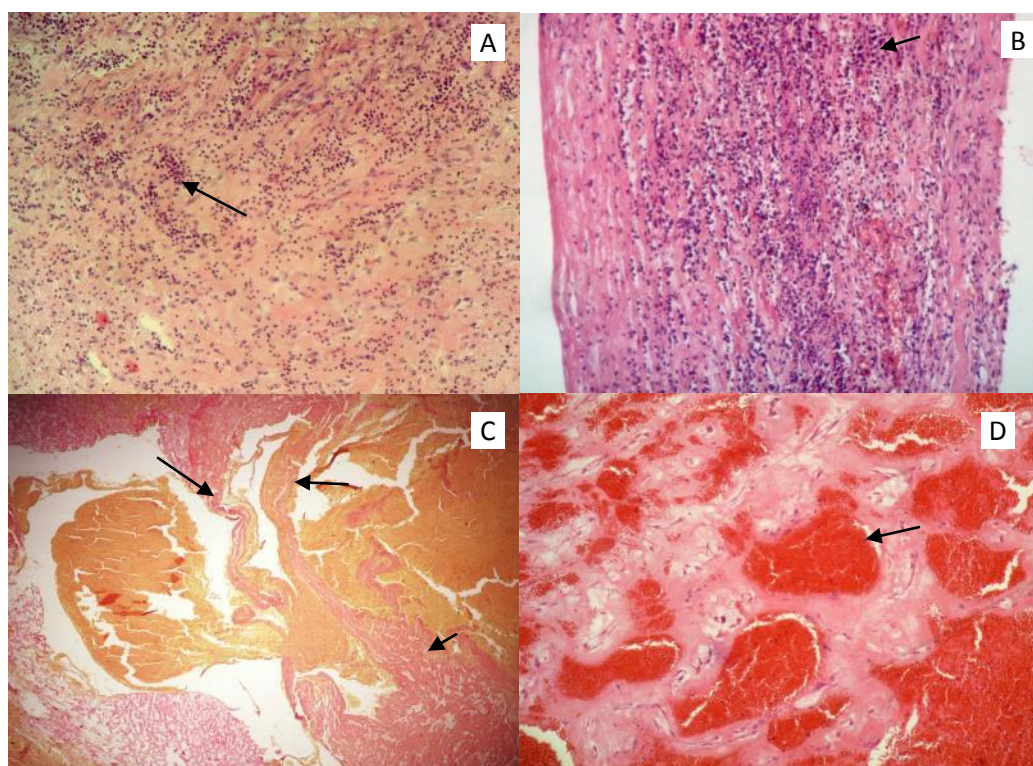


Fig. 3.13. Aspectul unor leziuni preexistente și accidental evolute în omfalocel. A - proces inflamator limfo-leucocitar microfocal și dispers în zona limitrofă a rezecției.×50; B - proces inflamator leucocitar microabcedant în zona medie a peretelui omfalocelului.×75; C – anevrism erupt cu invadarea componentei musculo-fibrilare a omfalocelului.×25; D – lacuri sanguine în țesutul muco-fibrilar al segmentului ombilical omfalocelic. ×75. Colorația H-E (A,B,D); VG (C)



În 7 (38,9 %) cazuri a fost constatată prezența unui proces inflamator la nivelul structurilor omfalocelului (fig. 3.13. A,B), cu predilecție în cazurile când procesele inflamatorii vizau structurile complexului placentar. Procesul inflamator avea o intensitate diferită, cu predilecție în zonele medii și apicale ale omfalocelului, fiind mai accentuat în cazurile rezolvate chirurgical în a 3-5-a zi de la naștere. Concomitent a fost depistat un proces inflamator pronunțat în partea internă și mai puțin accentuat în zonele intermediare sau superficiale. În aceste cazuri putea fi observată și o reacție a peritoneului visceral intestinal.

În paralel s-au atestat displazii vasculare atât în aria cordonului ombilical inclus în omfalocel, cât și în ramurile acestuia. În 5,6 % (1) din cazuri s-a depistat anevrism vascular a cărui erupere a avut loc în primele ore după naștere (fig. 3.13. C), componenta muco-fibrilară fiind invadată cu mase sanguine eritrocitare, amintind acumulări hemoragice (fig. 3.13. D).

Așadar, rezultatele acestui studiu confirmă într-o anumită măsură ipoteza înaintată de unii autori [226] conform căreia omfalocelul se dezvoltă secundar din cauza unor dereglări de migrare și de maturizare a mioblastelor. În caz de omfalocel necomplicat, de dimensiuni majore, cu disproporție visceroabdominală semnificativă, ținând cont de structura arhitecturală a sacului, există condiții favorabile pentru procesele reparative cu epitelizarea treptată a sacului și transformarea în hernie ventrală. Acest fapt justifică conduita conservativă în formele date ale malformației, ceea ce explică rata scăzută a letalității în lotul studiat. În afectarea intraamniotică există riscul de penetrare a componentului infecțios-inflamator a omfalocelului, îndeosebi în cazurile rezolvate cu întârziere, cu o posibilă contaminare postnatală.

#### **3.4. Rolul modificărilor structurale intestinale în evoluția sindromului de dismotilitate intestinală la nou-născuți cu gastroschizis**

Scopul acestui studiu a fost estimarea modificărilor structurale ale anselor intestinale eviscerate la nou-născuții cu gastroschizis și rolul lor în patogeniza și exodul bolii.

În urma explorărilor histomorfologice ale probelor prelevate din ansele eviscerate ale intestinului subțire și gros, în pofida aspectelor macroscopice de anse intestinale voluminoase, cu pereți îngroșați comparativ cu segmentele intraabdominale, a fost atestată o hipoplazie a intestinului cu 15 % în 9 cazuri și cu 25 % în 13 cazuri.

Procesele inflamatorii de la nivelul peritoneului visceroparietal, constatate în toate cazurile, aveau un caracter productiv, proliferativ și fibroblastic, cu prezența unei inflamații acute purulente, cu formarea abceselor, cu predilecție la nivelul anselor eviscerate. Procesele inflamatorii productive, constatate în 13 cazuri, s-au manifestat prin leziuni sub formă de exsudat fibrinos, invadat de fibroblaste și cu un component celular limfo-plasmocitar. Pe suprafața peritoneală a anselor intestinale, în unele cazuri cu implicarea mezoului, putea fi observată o

neovascularizare sub formă de „teci” parțiale. Destul de frecvent, în aria acestor teci fibroblastice-aderențiale s-au atestat elemente celulare scuamoase cheratinizate amintind cavități căptușite cu scuamă epitelială, provenite din fluidul amniotic de contact intrauterin (fig. 3.14. A).

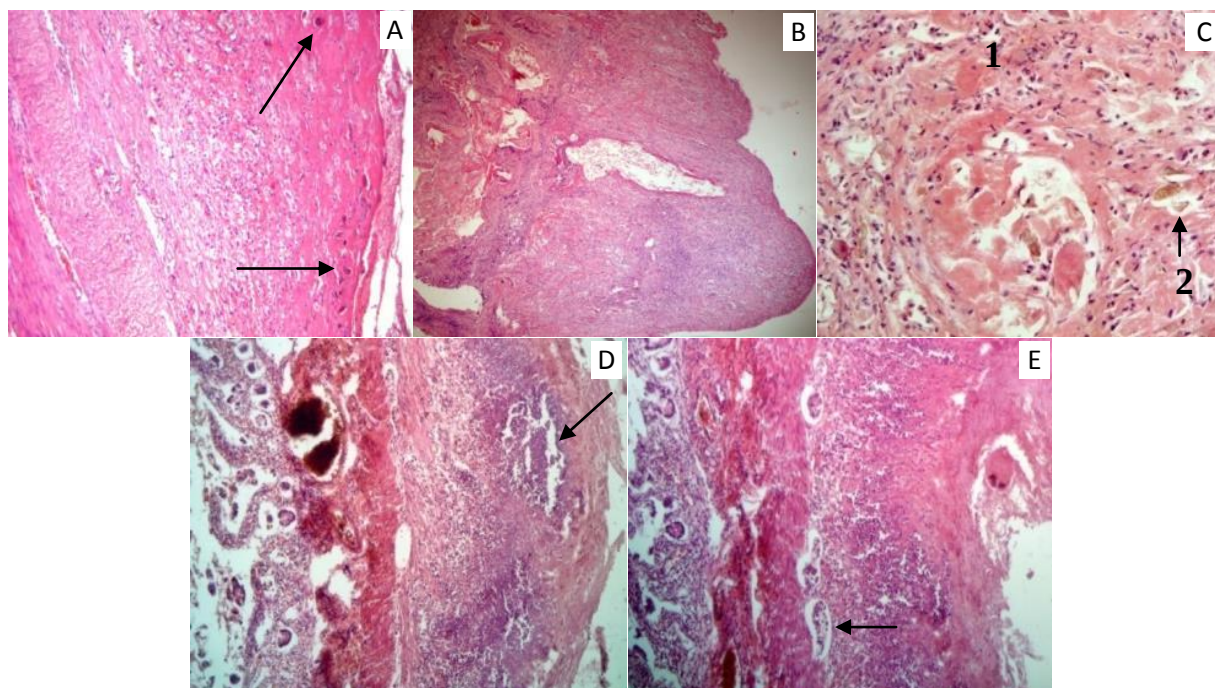


Fig. 3.14. Modificările morfopatologice constatate la nivelul peritoneului visceroparietal. A - elemente de scuamă celulară epitelială cheratinizată înglobată în mase fibroblastice la suprafața intestinului; B - viscerită peritoneală fibroblastică sub formă de chisturi scuamoase; C - pseudogranulom cu simplaste gigantocelulare (1) și reacție meconiofagică (2); D - viscerită peritoneală abcedantă – abcese în zona tecii viscereale; E - peritonită viscerală mixtă leucocitar fibrinoasă cu inflamație seroasă a structurilor nervoase (→) mienterice și fibroblastică amniolichidiană.  $\times 50$ . Color. H&E.

Dimensiunile acestor formațiuni variau de la microscopice până la 0,2-0,5 cm, în unele zone fiind destul de dense, aseptice, fără un proces inflamator acut, cu un aspect de pseudochisturi scuamoase (fig. 3.14. B).

În toate cele 22 de cazuri a fost observat fenomenul de meconiufagie reprezentat de macrofage îmbibate cu meconiu și printr-o reacție pseudogranulomatoasă cu prezența simplastelor gigantocelulare (fig. 3.14. C). Reacții analogice au fost observate și la nivelul peritoneului parietal. În 9 cazuri, procesul inflamator acut s-a manifestat prin leziuni inflamatorii exsudativ-fibrinoase, leucocitare erozive și abcedante la nivelul peritoneului visceroparietal, procesul inflamator penetrând peretele intestinal. În unele cazuri erau prezente abcese interintestinale (fig. 3.14. D).

Au fost atestate elemente amniolichidiene, în special scuamă și elemente meconiale (fig. 3.14. E), ceea ce denotă faptul că inflamația peritoneală visceroparietală este un proces inflamator mixt, în care frecvent sunt implicate structurile neuronale ganglionare.

Procesele inflamatorii, atât cele productive fibroblastice cu prezența pseudochisturilor scuamoase, cât și cele acute, implicau frecvent zona mezenterială a intestinului, pe alocuri sub formă de platouri fibroblastice (fig. 3.15. A, B).

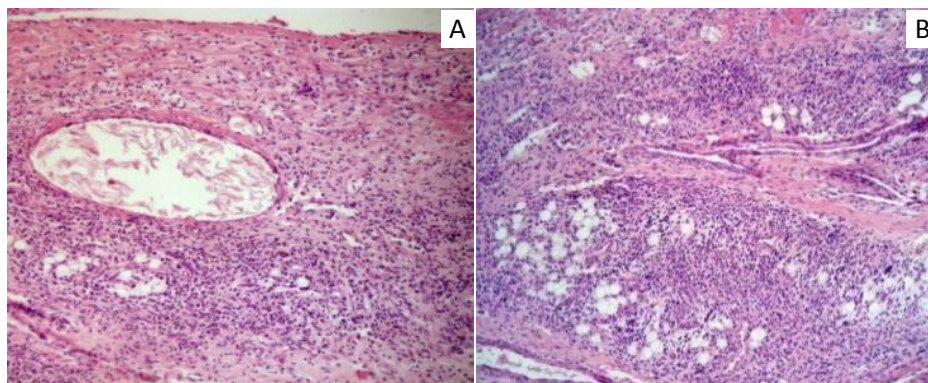


Fig. 3.15. A - platouri fibroblastice cu chisturi scuamoase amniolichidiene în zona mezoului; B - Mezenteriolită productiv-fibroblastică.  $\times 50$ . Color. H&E.

S-a constatat că la îngroșarea peretelui anșelor intestinale eviscerate contribuie procesele productive proliferative din tunica seroasă viscero peritoneală (fig. 3.16. A). În 3 cazuri seroasa intestinală era vascularizată puternic, fiind observată o rețea vasculară abundentă, uneori de tip sinusoidal, ectaziată cu aspect angiomatic (fig. 3.16. B, C), cu prezența granuloamelor cu simplaste polinucleare de tipul corpiilor străini, cu implicarea mezoului (fig. 3.16. D).

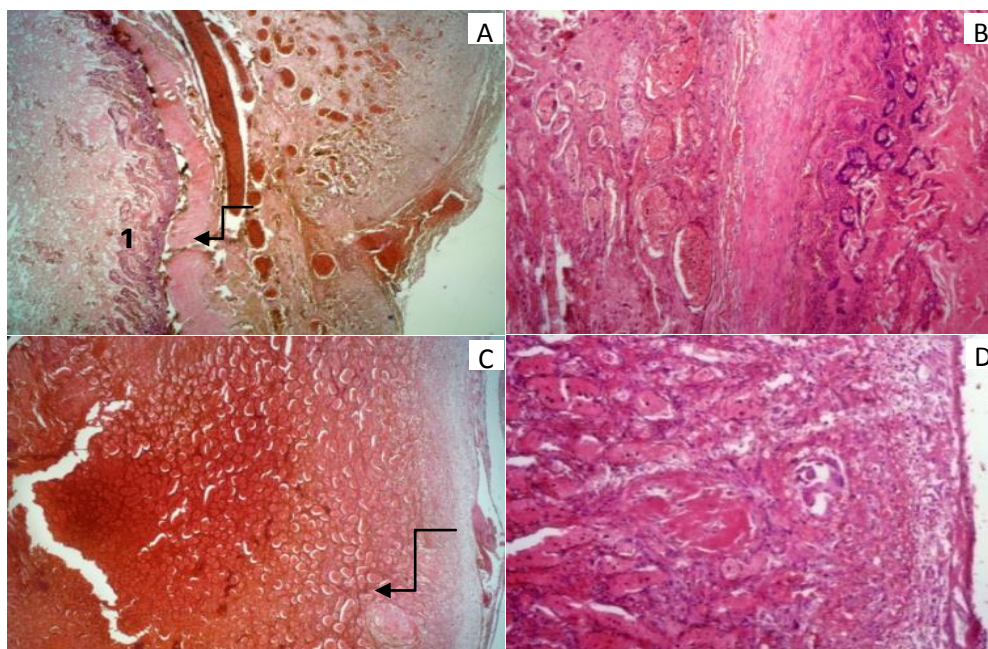


Fig. 3.16. Modificările morfopatologice ale peretelui anșelor intestinale eviscerate: A - intestinul subțire: 1 - musculara cu hipoplazia și aplazia ( $\rightarrow$ ) tunicii musculare externe; 2 - teacă fibrovasculară viscero- peritoneală.  $\times 25$ . Color. H&E; B - aspect de ansamblu al intestinului subțire în segmentul mezenteric: 1 - musculara; 2 - aspect angiomatic; 3 - trunchiuri nervoase.  $\times 50$ . Color. H&E; C - aspect angiomatic al seroasei, tecii fibrovasculare viscero peritoneale.  $\times 25$ . Color. H&E; D - procese inflamatorii productive cu restructurare angiomatică și pseudogranuloame cu celule de tipul corpiilor străini.  $\times 50$ . Color. H&E;



Conținutul intestinal la acest nivel era reprezentat de dopuri meconiale, în 4 cazuri cu prezența fenomenelor de hipersecreție ale mucoasei.

În intestinul subțire eviscerat a fost atestată prezența zonală și segmentară doar a unui strat muscular, cu predilecție a celui intern circular ordonat, cel extern fiind marcat de hipoplazie sau aplazie zonală (fig. 3.17. A), în unele cazuri având aspect de fascicule dispersate cu semne de hipertrofie moderată (fig. 3.17. B).

Modificări structurale similare au fost depistate și în musculara intestinului gros eviscerat (6 cazuri). Astfel, în unele zone musculara internă se prezenta sub formă de fascicule musculare oblice, iar cea externă de miocite înglobate într-o masă de țesut conjunctiv (fig. 3.17. C).

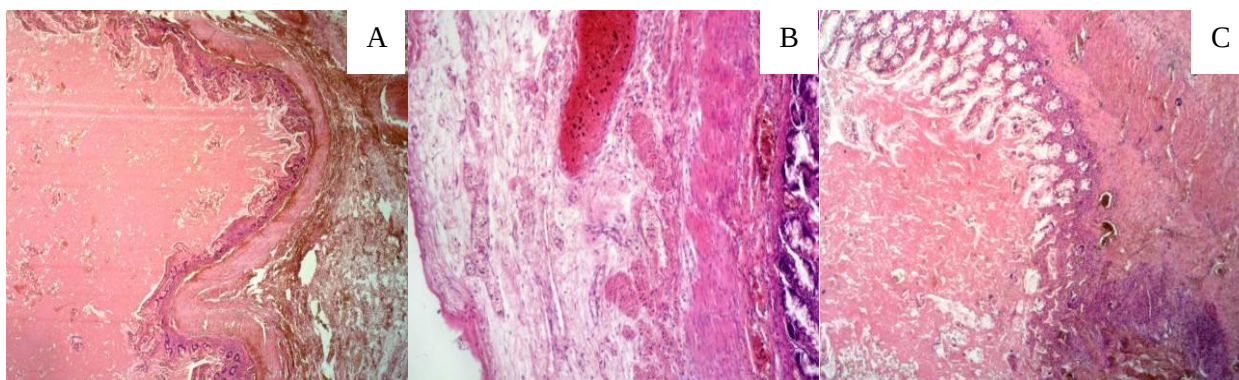


Fig. 3.17. Modificări structurale depistate în ansele intestinale eviscerate: A - aspectul histologic în secțiune al intestinului subțire eviscerat dilatat: 1 - dop meconial; 2 - musculara internă; 3 - zona de hipoplazie și aplazie a musculare externe.  $\times 25$ . Color. H&E; B - Musculara externă a intestinului subțire în fascicule disperse cu aspect de hipertrofie moderată.  $\times 50$ . Color. H&E; C - Aspecte oblice ale fasciculelor musculare ale tunicii musculare interne a intestinului gros eviscerat cu aspect de lumen dilatat.  $\times 25$ . Color. H&E.

În 5 cazuri s-a atestat o hipertrofie a musculare interne comparativ cu cea externă, inclusiv la nivelul anselor intraabdominale, uneori cu prezența de miocite hipertrofice, dispersate în aria ambelor musculare (Anexa 1.1. A, B). În aceste cazuri, rețeaua ganglioneuronală mienterică s-a manifestat frecvent prin dismaturitate, fiind caracterizată de un număr normal de celule ganglioneuronale, cu nucleee de dimensiuni mici, cu aspect ratatinat și monstruos. În literatura de specialitate această situație este tratată ca imaturitate ganglionară [285]. Termenul de "imaturitate ganglionară" a fost propus pentru prima dată de Spencer (1966) [280], ulterior unii autori făcând legătură dintre ileusul meconial fără mucoviscidoză și starea de imaturitate ganglionară [179].

În 6 cazuri, histologic s-a constatat un număr de celule neuronale ganglionare redus la 1 sau 2, mai rar la 3-5 celule într-un ganglion, deseori fiind atestate și leziuni distrofice de tip granular sau vacuolar de diversă intensitate a ganglioneuronilor (Anexa 1.1. C, D). Aceste modificări morfopatologice sunt în concordanță cu cele de hipogenezie a celulelor ganglionare descrise de Munakata K. et al. (1978), unii autori clasificându-le ca hipoganglionoză. Leziunile distrofice neuronale ale ganglionilor mienterici au fost prezente atât în procesele inflamatorii

peritoneale puțin exprimate, cât și în cele semnificative, în care infiltrația inflamatorie implică și structurile nervoase mienterice (Anexa 1.1. E, F).

Conform rezultatelor studiului de evaluare a reacției imunohistochimice cu anticorp monoclonal neurotrop NFP, neurofilament proteina reprezentând unul dintre markerii maturității celulelor neuronale, în 17 cazuri structurile nervoase de la nivelul anșelor eviscerate ale intestinului subțire prezentau o reacție neuniformă a structurilor fasciculare nervoase și ganglioneuronale. În aceste cazuri, la nivelul ganglionilor mienterici puteau fi observați neuroni cu reacție 3+ și neuroni cu reacție 0 (Anexa 1.2. A). Modificări similare au fost constatate și la nivelul anșelor eviscerate ale intestinului gros. În același timp, în 6 cazuri la nivelul colonului intraabdominal a fost determinat aspectul anatomic normal al structurilor nervoase (Anexa 1.2. B), în 11 cazuri - repartiția haotică a structurilor fasciculare și ganglionare, manifestată prin ectopia unor fascicule, neuroni în aria tunicii musculare cu expresia variată a NFP (Anexa 1.2. C), iar în 5 cazuri - repartiția anatomică redusă a structurilor nervoase mienterice cu expresia NFP de 3+ (Anexa 1.2. D).

Prezintă interes cazurile de gastroschizis (5 cazuri), în aria mezoului cărora au fost depistate multiple chisturi ale ducturilor limfatice mezenterice cu un conținut seros (fig. 3.18. A). În 2 cazuri, la nivelul tecii fibrovasculare angiomatoase, pe partea visceroperitoneală, au fost observate chisturi de ocluzie lipsite de elemente epiteliale endoteliale, cu un conținut seros și exsudat fibrinos-hemoragic. La periferie frecvent puteau fi observate pseudogranuloame la elementele amniolichidiene (fig. 3.18. B).

Așadar, rezultatele studiului ne permit să conchidem că modificările structurale ale musculaturii netede intestinale, constatate la nou-născuții cu gastroschizis, sunt responsabile de disfuncțiile contractilității fazice a anșelor intestinale eviscerate, acestea influențând semnificativ proprietățile mecanice active și evoluția bolii.

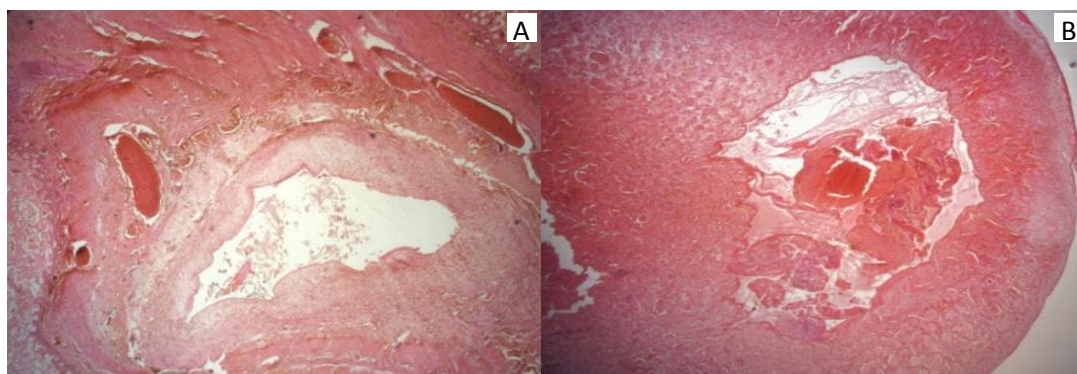


Fig. 3.18. Modificări patologice în aria mezoului. A - chist limfatic al mezoului comun la un pacient cu gastroschizis cu mezou comun: 1 - chist mezenterial; 2 - intestin subțire; 3 - intestin gros; B - Teacă fibrovasculară visceroperitoneală intestinală: 1 - chist al seroasei cu conținut exsudativ-fibrinos de ocluzie; 2 - microgranuloame.  $\times 25$ . Color. H&E.

Modificările de tip displastic cu dismaturitate ganglioneuronală și disganglionică intestinală descrise de noi [8], dereglările inflamatorii și distrofice depistate în ansele intestinale la nou-născuții cu gastroschizis explică parțial dereglările persistente de peristaltism și de tranzit intestinal, cu instalarea ileusului paraltic persistent și complicații nefavorabile la copiii operați pentru gastroschizis.

### 3.5. Estimarea modificărilor morfopatologice ale complexelor placentare la nou-născuți cu defecte congenitale ale peretelui abdominal anterior (gastroschizis și omfalocel)

Mai multe studii contemporane au constatat asocierea semnificativă dintre patologia placentei și riscul sporit de dezvoltare a malformațiilor congenitale [152], inclusiv a gastroschizisului [111, 160]. Rolul modificărilor placentare în patogeniza gastroschizisului în literatura de specialitate nu este pe deplin elucidat, unele studii considerând dereglările de perfuzie vasculară maternă o posibilă cauză a ischemiei intermitente a creierului, miocardului și, posibil, a peretelui abdominal anterior [111, 274].

Scopul acestui studiu a fost de a evalua modificările morfopatologice ale complexelor placentare la nou-născuți cu gastroschizis și omfalocel.

Examenul macroscopic al complexelor placentare a permis de a constata prezența malformațiilor de formă în 2 cazuri, reprezentate de placentă bilobată și placentă cu lob suplimentar, și a anomaliilor de inserție a cordonului ombilical în 7 cazuri, dintre care în 3 cazuri acesta era inserat marginal, în 2 cazuri - membranic și în 2 cazuri periferic.

Investigațiile histomorfologice au relevat în 4 cazuri prezența amniotitei subacute meconiofagice corioamnionale și parietale, caracterizată prin reacție cu macrofage și prezența abundentă a macrofagelor îmbibate cu meconiu, inclusiv în zona deciduală parietală, acest fapt confirmând o hipoxemie intrauterină cronică (fig. 3.19. A).

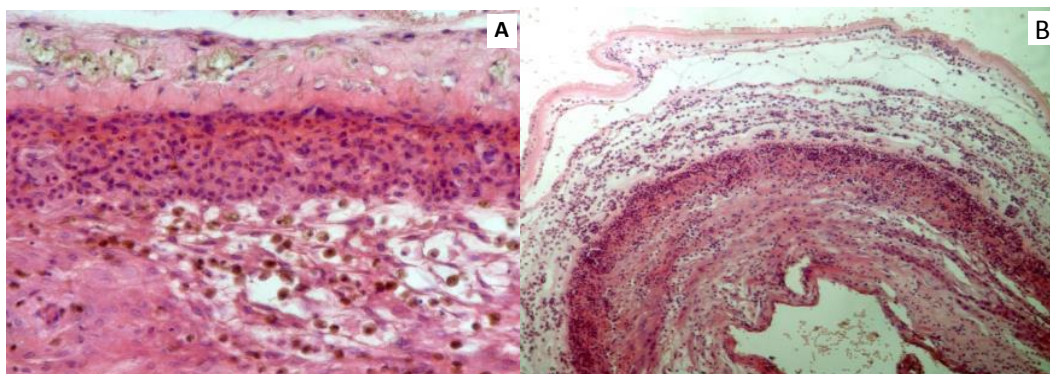


Fig. 3.19. Aspecte morfopatologice de: A - membrană meconiofagică – infiltrație macrofagală cu impurități meconiale.  $\times 100$ . Color. H&E. B - membrană difuză leucocitară – infiltrație cu elemente leucocitare, meconiofagi solitari sau în grupuri.  $\times 75$ . Color. H&E.



Prezența proceselor inflamatorii acute de tip ascendent a fost determinată în 3 cazuri, caracterizate printr-o inflamație leucocitară difuză, cu sau fără semne de amniotită meconiofagică, cu implicarea membranelor și corioamnionului placentar (fig. 3.19. B).

În 2 cazuri a fost constatată implicarea vaselor ombilicale cu prezența endoflebitei și endoarteritei (fig. 3.20. A), ultima elucidând prezența infecției intrauterine la făt.

Modificările inflamatorii din complexe placentare corelau cu caracterul evolutiv corespunzător leziunilor viscero-peritoneale atestate la nou-născuți, în special cu peritonita microabcedantă. În unele cazuri au fost atestate leziuni reziduale ale rețelei vasculare, cum ar fi calcifierile focale la nivelul venelor ombilicale (fig. 3.20. B), trombi calcificați în rețeaua vasculară a vilozităților coriale în prezența vilezitei productive focare moderate (fig. 3.20. C).

De remarcat faptul că în 9 cazuri în complexe placentare, la examinarea corionului velar, a fost observată prezența unor grupuri de vilozități afuncționale cu particularități morfologice corespunzătoare perioadelor precoce ale gestației de 6-12 săptămâni (fig. 3.20. D).

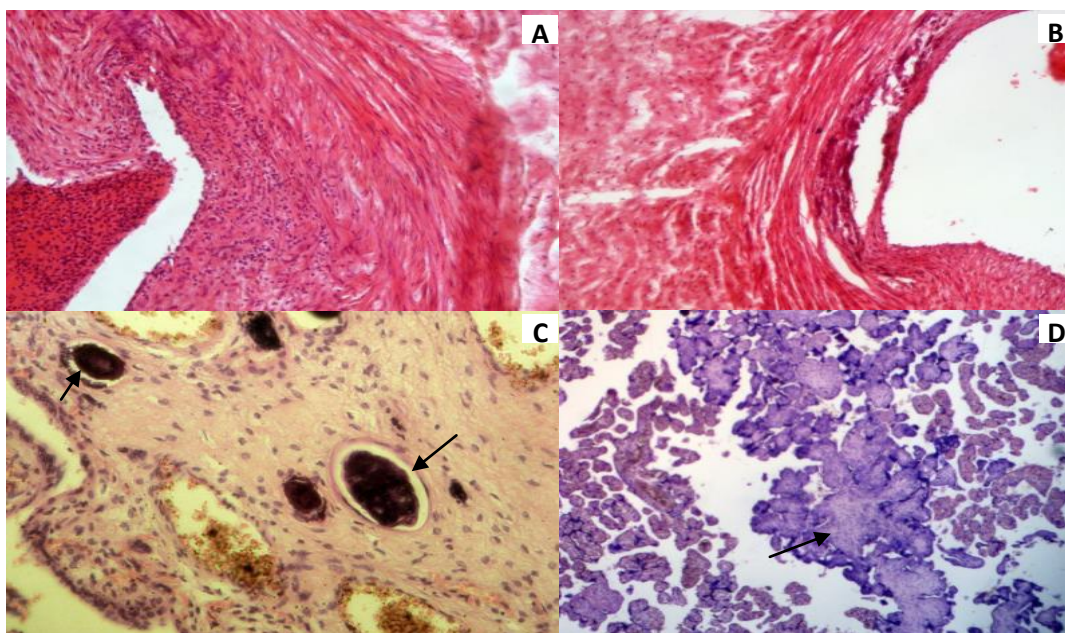


Fig. 3.20. A - endoarterită focală leucocitară a arterei ombilicale.  $\times 75$ . Color. H&E; B - calcinoză focală a peretelui venei ombilicale.  $\times 75$ . Color. H&E; C - trombi calcificați în rețeaua circulatorie fetală coriovilozitară.  $\times 100$ . Color. H&E; D - Vilozități coriale afuncționale cu reacție proliferativ sclerogenă a stromei.  $\times 100$ . Color. H&E.

În urma examenului macroscopic al complexelor placentare, în 6 cazuri s-a înregistrat inserție excentrică, în 4 cazuri – inserție periferică, într-un caz cu prezența bridei amnionale pe un parcurs de 5 cm, și în 2 cazuri de inserție marginală. În mai multe cazuri a fost atestată accentuarea și dilatarea varicoasă a rețelei vasculare venoase a corioamnionului placentar, într-un caz cu inserție marginală, în corioamnionul placentar fiind prezent și un chist seros translucid (Anexa 1.5.).



Explorările histologice ale complexelor placentare la nou-născuți cu omfalocel (10 cazuri) au permis de a constata modificări atât în corionul velar, cât și în membranele amniotice. În 27,8 % (5) din cazuri s-au înregistrat modificări de maturizare a corionului velar corespunzătoare termenului de gestație, procese compensator adaptive minime, cu predilecție în prezența leziunilor inflamatorii nespecifice, confirmate în 16,7% (2) din cazuri. Au fost constatate focare de calcifiere, fibrozare accentuată și angiopatie dilatativ-varicoasă caracterizată prin varicozități mici și mari, în special a vaselor venoase, inclusiv ale vilozităților trunchiulare (fig. 3.21. A,B).

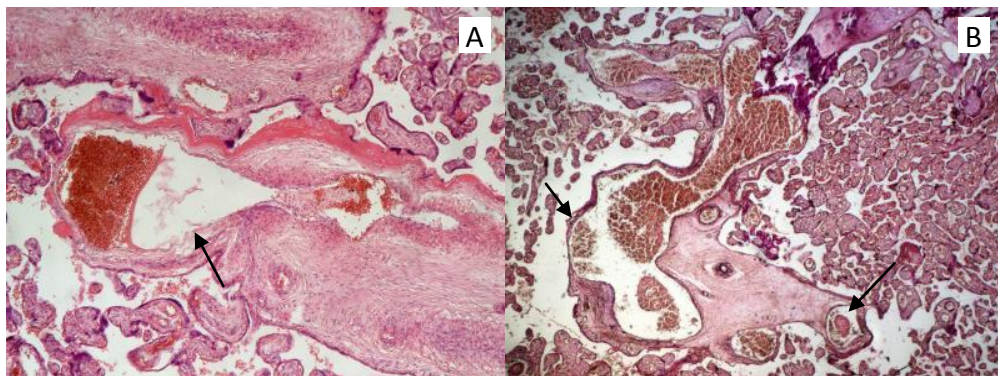


Fig. 3.21. Aspecte histopatologice ale vascularizației coriovelare placentare în omfalocel. A – displazie varicoasă a vasului venos vilozitar trunchiular  $\times 25$ ; B – varicoză a vaselor venoase ale unui arbore coriovelar cu prezența tromboembolului în lumen  $\times 25$ . Colorația H-E.

Unele anevrisme, de mărimi impresionante, comparativ cu vilozitatea, și pereți foarte subțiri pledează pentru displazii vasculare care apar la etapa embrionară sau embrion-fetală (fig. 3.21. B). În angiopatiile placentare a fost atestată prezența tromboemboliilor în lumenul unor vase venoase care indică la riscul unui sindrom tromboembolic placento-fetal și la evoluția leziunilor tromboembolice vasculare și a omfalocelului (fig. 3.21. B).

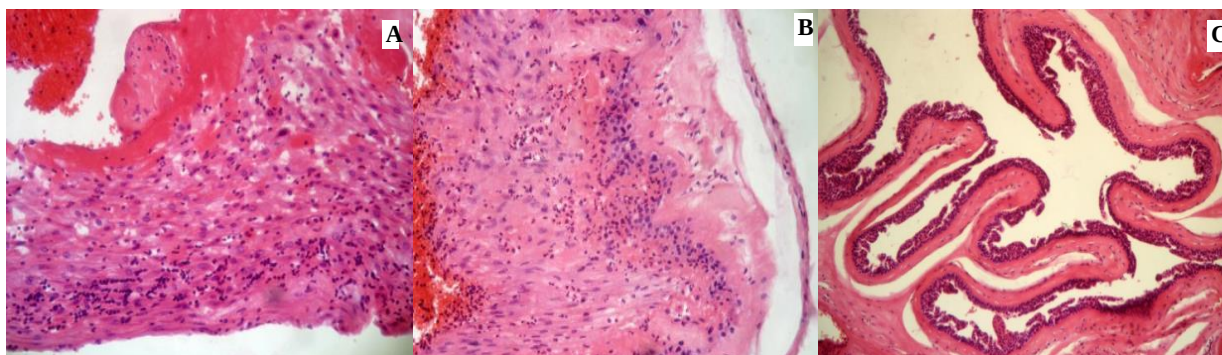


Fig. 3.22. A - deciduită bazală limfocitară moderată în focar.. B - membrană amniotică, membranită seroleucocitară focală  $\times 25$ . C - Proliferarea papiliformă a amniocitelor la nivel de membrane.  $\times 100$ . Color. H&E

La nivelul corionului velar a fost atestat un discronism retardat cu aspecte de deficiență a componentului conjunctiv stromal al vilozităților intermediare și terminale, fapt ce a determinat

aspectul monstruos moderat al acestora (fig. 3.22. B). La acest nivel, învelișul epitelial sincițial era atenuat, slab diferențiat și cu mai puține proliferări sub formă de muguri. Acest fapt ar putea sugera o corelație dintre activitatea celular-sincițială redusă și deficiența densității conjunctive a stromei vilozităților. În unele arii, ectazia varicoasă (fig. 3.22. C) implica integral rețeaua vasculară venoasă a vilozităților terminale, intermediare și trunculare. Acest fenomen ar putea fi consecința hipertensiunii în traiecul venos, posibilă și la nivelul vaselor magistrale din placa corioamnională placentară și cordonul ombilical.

În caz de bridă amniotică, epiteliul amnional manifesta o proliferare activă a amniocitelor, mai accentuată în membrane și la nivelul bridei (fig. 3.22. C). În 8 cazuri au fost constatate unele modificări în rețeaua arterială corio-viloasă, manifestate prin angiopatii hipertrofico-stenozante arteriale la nivelul vilozităților trunculare și intermediare, repartizate neuniform zonal sau segmentar (fig. 3.22. D). La nivelul membranei deciduale bazale s-a determinat o infiltrație limfocitară, mai frecvent focală, de intensitate variabilă - de la discretă la moderată. Concomitent cu procesul inflamator, la acest nivel au fost depistate depozitări fibrinoide semnificative în spațiile interviloase (fig. 3.22. A). Modificările morfopatologice ale membranelor s-au rezumat la infiltrație discretă și moderată leucocitară micro-macrofocală, pe unele arii asociindu-se cu edem și distrofia amnionului (fig. 3.22. B).

În baza celor atestate ținem să conchidem că în caz de omfalocel, în complexele placentare este prezentă o displazie a corionului vilozitar asociată cu angiopatie arterio-venoasă de tip varicoasă și hipertrofico-stenozantă arterială. Modificările vasculare atestate la acest nivel, în opinia noastră, pot fi prezente din start, în ansamblu cu deficiența componentului conjunctiv stromal, sau pot fi o consecință a omfalocelului. În funcție de dimensiuni acesta poate induce fenomenul hipertensiv în vena ombilicală cu reflecție asupra vascularizării coriale, determinând spasmul hipertrofic al rețelei arteriale. Corelația etiopatogenetică dintre sincițiul vilozitar și deficiența componentului conjunctiv vilozitar sau aspectul lax al acestuia poate fi apreciată ca un factor patogenetic, această ipoteză necesitând un studiu aparte.

Prezența unui proces inflamator limfocitar în membrana bazală deciduală, conform unor opinii, relevă o agresiune toxico-infecțioasă în ontogeneza dezvoltării intrauterine a fătului. Procesele inflamatorii acute la nivelul membranelor, manifestate morfopatologic ca membranită seroleucocitară, pot servi ca criteriu al patologiei infecțioase acute ascendente transvaginale. Cu toate acestea, explorările histobacterioscopice, utilizate în testarea infecției micotico-bacteriene, nu au pus în evidență prezența agenților respectivi, ceea ce nu exclude prezența celor virali.

Rezultatele studiului nostru confirmă faptul că defectele congenitale ale peretelui abdominal sunt consecința unor perturbări suportate în ontogeneză la etapa conceptului fetal. Modificările morfopatologice ale complexului placentar sunt determinate de unele condiții

nefavorabile de implantare și de diferențiere embrion-placentară și embrionară, reprezentând, în opinia noastră, o blastopatie cu retard al efectului clinic.

### **3.6. Concluzii la capitolul 3**

1. Rezultatele studiului ne-au permis de a constata că defectele congenitale ale peretelui abdominal (gastroschizis și omfalocel) au fost întâlnite mai frecvent la nou-născuții de sex masculin, cazurile de gastroschizis fiind asociate predominant cu vârsta de gestație prematură și greutatea mică a nou-născuților, comparativ cu lotul de pacienți cu omfalocel unde au predominat nou-născuții la termen cu greutate normală. Totodată au fost stabilite rate semnificativ sporite ale malformațiilor congenitale asociate atât în lotul bolnavilor cu gastroschizis (53,12%), cât și în cel cu omfalocel (61,02%), spectrul acestora fiind dominat de malformațiile tractului digestiv și cele cardiovasculare, care împreună cu prematuritatea, greutatea mică la naștere, sindromul de compartiment și generalizarea procesului infecțios-septic, au influențat semnificativ evoluția și prognosticul nefavorabil al bolii.
2. Procesele inflamatorii productive fibroblastice, induse de acțiunea elementelor lichidului amniotic, influențează semnificativ dezvoltarea retardată intrauterină a intestinului favorizând astfel apariția unor complicații grave precum sepsisul, dereglările de motilitate și absorbție intestinală, sindromul intestinului scurt.
3. Modificările structurale ale musculaturii intestinale netede, constatate la nou-născuții cu gastroschizis, sunt implicate direct în disfuncțiile de contractilitate fazică a anselor intestinale eviscerate, influențând semnificativ proprietățile mecanice active ale intestinului.
4. Modificările de tip displastic cu dismaturitate ganglioneuronală și disganglionică intestinală, de rând cu cele inflamatorii și distrofice depistate în ansele intestinale la nou-născuții cu gastroschizis, explică într-o anumită măsură dereglările persistente de peristaltism și tranzit intestinal cu instalarea ileusului paraltic persistent și cu implicații nefavorabile la copiii operați pentru gastroschizis.
5. Testarea imunohistochimică a aspectelor morfologice ale structurilor nervoase fasciculare și ganglioneuronale, cu utilizarea anticorpului monoclonal neurotrop (NFP), a arătat că structurile menționate manifestă un grad de dismaturitate diferit, caracterizat prin impregnarea asincronă atât a structurilor ganglioneuronale, cât și a celor neurofasciculare, fapt ce demonstrează preexistența dereglărilor morfofuncționale ganglioneuronale și a celor asociate, determinate de leziunile inflamator-infecțioase.
6. Structura morfologică a omfalocelului ca membrană muco-conjunctiv-epitelială dimorfă, determinată de componenta mezotelio-fibro-epidermală, cu prezența țesuturilor predecesorii fibro-musculare și vasculare mixte sanguino-limfatice și folicular limfoide protectoare

locale, care în perioada extrauterină au un impact semnificativ în evoluția proceselor reparative, confirmă în anumită măsură ipoteza că omfalocelul este o malformație congenitală secundară dereglărilor de migrare, diferențiere și maturizare a unor elemente celulare în perioada embrionară, îndeosebi a structurilor mioblastice.

7. În omfalocelul de dimensiuni majore necomplicat, asociat cu disproporție visceroabdominală semnificativă, ținând cont de structura arhitecturală a sacului, există condiții favorabile pentru procese reparative, cu epitelizarea treptată a sacului și transformarea lui în hernie ventrală. Rata scăzută a letalității în lotul studiat justifică conduita conservativă în formele date ale malformației. În afectarea intraamnională există riscul de penetrare a componentului infecțios-inflamator al omfalocelului, îndeosebi în cazurile rezolvate cu întârziere, cu o posibilă contaminare postnatală.

#### 4. STUDIU DE FEZABILITATE A UTILIZĂRII UNOR IMPLANTURI BIOLOGICE ÎN RECONSTRUCȚIA DEFECTELOR PERETELUI ABDOMINAL ÎN MODEL EXPERIMENTAL

##### 4.1. Analiza rezultatelor tratamentului chirurgical al copiilor cu afecțiuni malformative ale peretelui abdominal anterior

Majoritatea pacienților cu gastroschizis (59 cazuri) au fost supuși intervenției chirurgicale (tab. 4.1), cu excepția la 5 nou-născuți cu grade avansate de prematuritate și cu malformații congenitale multiple concomitente incompatibile cu viața.

Procedeele tehnice utilizate în corecția chirurgicală a copiilor cu gastroschizis sunt redată în tabelul 4.1. În 21 cazuri (35,59 %) s-a recurs la închiderea fascială primară a acestui defect malformativ congenital (fig. 4.1). În 8 cazuri de disproporție visceroadominală nesemnificativă cu modificări patologice acceptabile ale anșelor intestinale eviscerate s-a utilizat procedeul propus de Bianchi. În formele de gastroschizis cu disproporție visceroadominală marcată s-a recurs la plastia defectului abdominal cu grefă de mânășă (15 cazuri) (fig. 4.2. A), în 7 cazuri – cu plasă de polipropilenă (fig. 4.2. B), închiderea amânată a defectului malformativ cu utilizarea pungii sintetice fiind practică în 8 cazuri.

Tabelul 4.1. **Procedeele tehnice utilizate în corecția chirurgicală a gastroschizisului**

| Metoda                                    | Numărul de cazuri | Numărul de cazuri de deces |
|-------------------------------------------|-------------------|----------------------------|
| Închidere fascială primară                | 21                | 17                         |
| Procedeul Bianchi                         | 8                 | 2                          |
| Închiderea primară a defectului cu mânășă | 15                | 15                         |
| Închiderea primară cu plasă sintetică     | 7                 | 5                          |
| Tratament etapizat cu închidere amânată   | 8                 | 8                          |
| <b>Total</b>                              | <b>59</b>         | <b>47</b>                  |

Majoritatea copiilor (56 cazuri) au fost supuși intervenției chirurgicale în primele 24-48 ore, iar restul 3 – în primele 72 ore, toți pacienții beneficiind de o pregătire preoperatorie în serviciul de terapie intensivă.

Rata mortalității postoperatorii în funcție de procedeul chirurgical utilizat este redată în tabelul 4.1. Rata mortalității generale a pacienților cu gastroschizis a constituit 81,25% (52 cazuri), pe cînd rata postoperatorie a constituit 79,66% (47 cazuri).

Utilizarea plastiei cu pungă sintetică au necesitat mai multe reintervenții chirurgicale în 3 cazuri, iar cei cu grefă de mânășă - în 5 cazuri, ambele metode soldându-se cu rezultate finale fatale.

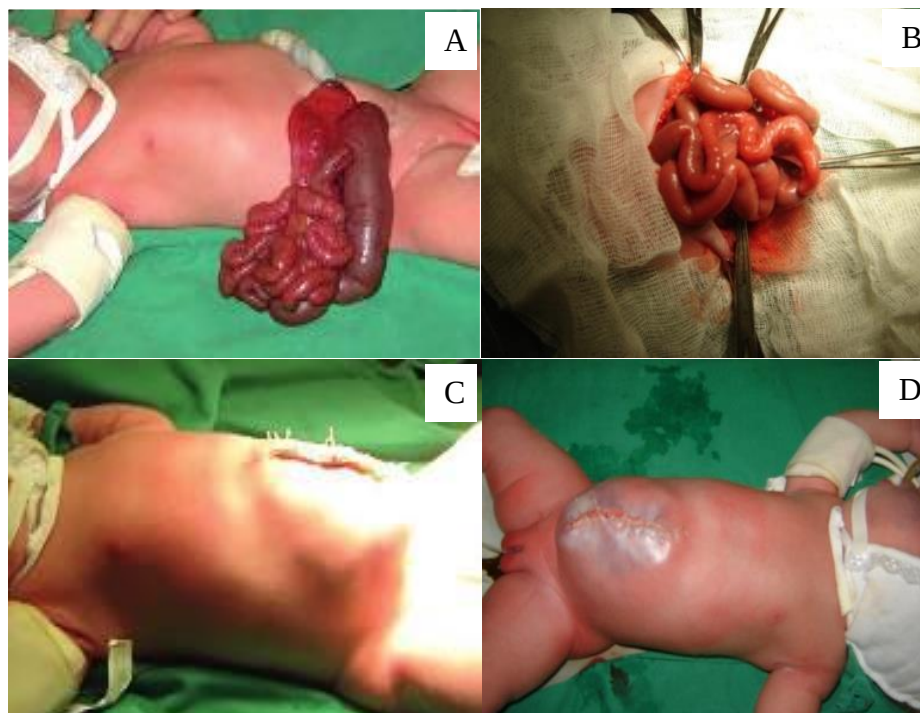


Fig. 4.1. Aspectul preoperator al unui nou-născut cu gastroschizis (A) supus intervenției chirurgicale de închidere fascială primară (B, C); D – aspectul postoperator la 72 zile de la operație.

Rata de supraviețuire a nou-născuților cu gastroschizis după tratamentul chirurgical a constituit 18,75% (12 cazuri), toți pacienții fiind operați în primele 24 ore, inclusiv: în 4 cazuri fiind practică închiderea fascială primară, în 6 cazuri - procedeul Bianchi și în 2 cazuri în plastia defectului abdominal fiind utilizată plasa sintetică.

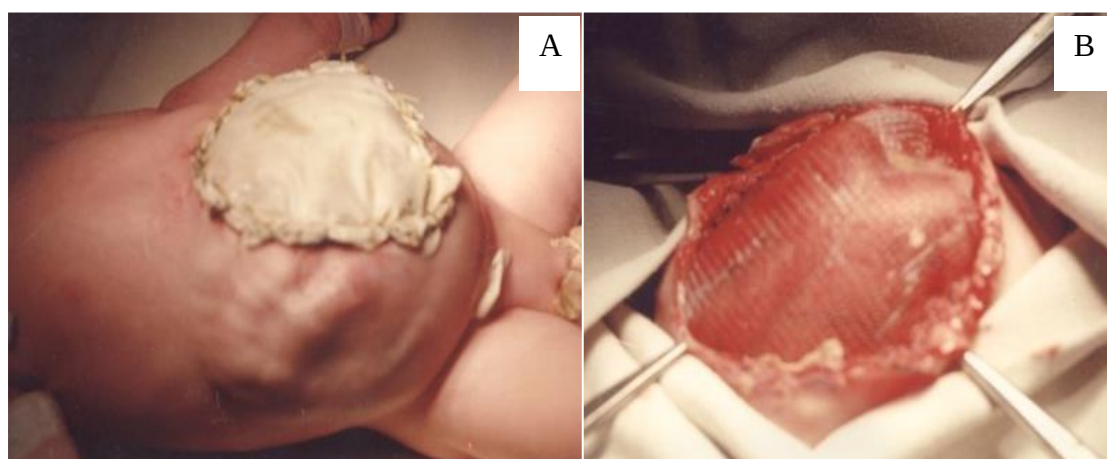


Fig. 4.2. Aspectul peretelui abdominal după închiderea defectului congenital cu grefă de mânășă (A) și plasă sintetică (B)

Din numărul total de copii cu omfalocel incluși în lotul de studiu (59 cazuri) în 49 de cazuri s-a recurs la corecția chirurgicală a malformației (fig. 4.3 A, B), 10 copii fiind supuși



tratamentului conservativ. Incidența mortalității generale a constituit 25,42% (15 copii). Din numărul total de nou-născuți cu omfalocel decedați majoritatea lor au fost supuși tratamentului chirurgical (13 cazuri), dintre care 2 copii au fost reopeși în baza dezvoltării aderențelor postoperatorii.

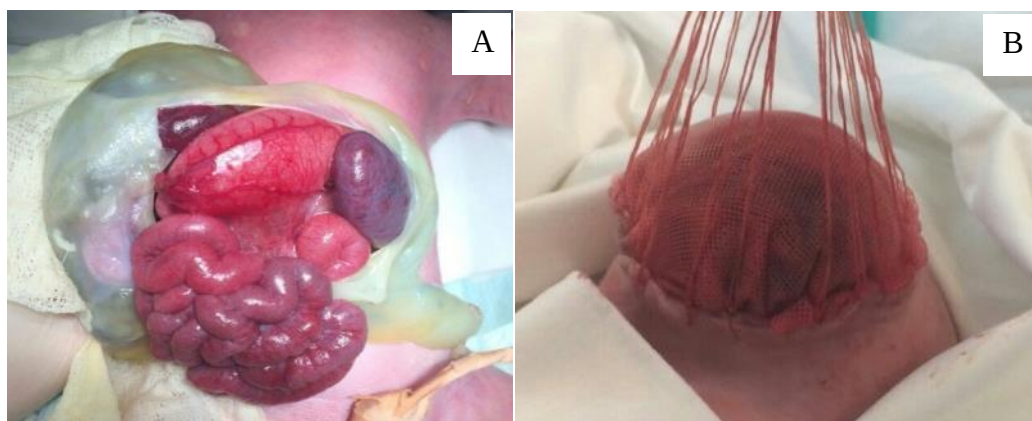


Fig. 4.3. Aspectul preoperator al omfalocelului gigant complicat prin ruptura foițelor embrionare (A) și după plastie cu plasă sintetică (B)

#### **4.2. Evaluarea histologică a eficienței membranei amniotice umane utilizată în reconstrucția experimentală a defectelor peretelui abdominal anterior**

Boala aderențială reprezintă o complicație gravă după operațiile de corecție a defectelor congenitale ale peretelui abdominal anterior. Mai multe studii au constatat că membrana amniotică are mai multe caracteristici benefice [222], unele studii sugerând utilizarea membranei amniotice în acoperirea organelor cavității abdominale în cazurile în care se constată lipsa peritoneului [49], aceasta având proprietăți antiaderențiale [173]. În același timp, unii autori pun în discuție efectul antiadeziv al membranei amniotice după intervențiile de închidere a defectului peretelui abdominal [220].

Scopul studiului a fost în evaluarea morfopatologică a eficienței utilizării membranei amniotice umane în reconstrucția experimentală a defectelor peretelui abdominal.

Rezultatele acestui studiu, efectuat pe 20 de iepuri de rasa Californian, ne-a permis de a constata că la 4 animale din lotul de control (a fost utilizată plasă neresorbabilă de poliester de tipul Erceokaque) s-a constatat infectarea postoperatorie a plăgii, dintre care dehiscența suturilor de fixare a plasei sintetice a fost observată într-un caz, soldată cu moartea animalului. La 2 animale din lotul 1 (a fost utilizată membrana amniotică prelucrată cu glutaraldehidă de 0,1% protejată în exterior cu preparatul Stypro) a fost constatată infectarea și dehiscența plăgii cu eventrația anselor intestinale, un animal decedând. Dehiscența parțială a plăgii fără semne de infectare cu dezvoltarea herniei incizionale a fost constatată la 3 animale din lotul 1 și la 2 din

lotul 2 (a fost utilizată membrană amniotică prelucrată cu formaldehidă de 0,5%), în lotul 3 (a fost utilizată membrană amniotică crioprezervată) dehiscența parțială a suturilor de fixare fiind înregistrată într-un singur caz (fig. 4.4.). Dehiscența plăgii postoperatorii a fost determinată de cele mai multe ori de ruperea implantului la nivelul suturilor de fixare sau mai rar în regiunile centrale.

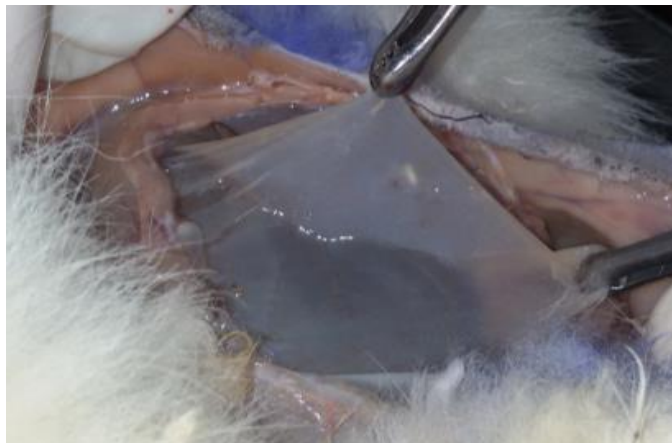


Fig. 4.4. Aspect macroscopic al membranei amniotice crioprezervată fixată la stratul musculo-fascial cu păstrarea integrității suturilor de fixare la a 7-a zi după intervenție, după eutanasiere.

La evaluarea macroscopică a cavității peritoneale, în toate cazurile lotului de control a fost constatat dezvoltarea unui proces aderențial de intensitate diferită, plasa sintetică fiind aderată la oment și ansele intestinale. A fost pusă în evidență prezența unor aderențe greu detașabile (3 cazuri), în 4 cazuri fiind depistate aderențe interintestinale relativ ușor detașabile fără semne de ocluzie intestinală. În cazul animalelor decedate au fost constatate colecții purulente interintestinale, semne de peritonită difuză. La animalul decedat din lotul de control a fost documentată o fistulă intestinală. Într-un caz din lotul 1 a fost constatată aderarea omentului la linia de contact dintre implant și marginea defectului. În loturile 2 și 3, chiar și în cazurile de dehiscență parțială a suturilor de fixare a implantului, nu au fost observate modificări semnificative cu dezvoltarea unui proces aderențial (fig. 4.5.).

Investigațiile histologice ale probelor prelevate în loturile de studiu au atestat modificări comune și particulare ale morfogenezei proceselor reparativ-regenerative la nivelul țesuturilor și o corelație dintre țesuturile animalului și implantul biologic. Aceasta din urmă se manifesta asincron prin neoformarea granulațiilor de divers grad de maturizare, exprimată de elementele fibroblastice, și ale angiogenezei cu persistarea reacției inflamatorii la granița implantului, caracterizată de un raport divers al componente celulare extrinseci și intrinseci, cu predominarea celulelor polimorfonucleare (PMN).



Fig. 4.5. Macroscopic membrana amniotică prelucrată cu formalină la a 7-a zi. Se constată ruptura parțială a membranei la nivelul suturilor de fixare. Organele cavității peritoneale fără aderențe.

Examinările probelor tisulare, prelevate de la nivelul liniei de contact cu plasa sintetică (lotul de control), nu a relevat prezența reacțiilor deterșive sau formarea simplastelor gigante polinucleare, ultimele fiind prezente la nivelul suturilor (fig. 4.6.).

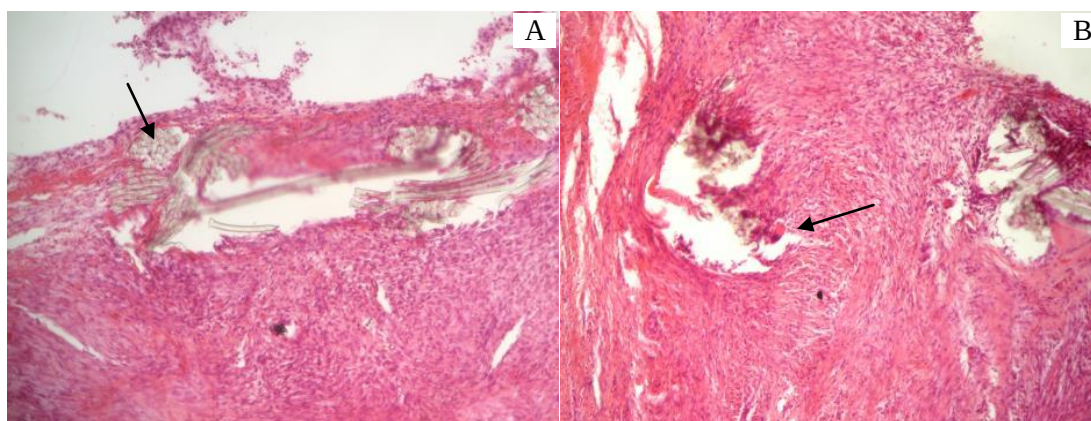


Fig. 4.6. Granulații celulare mezenchimale la nivelul plasei sintetice (A). Reacție celulară de tip corp străin cu simplaste gigantocelulare polinucleare (B). x 75. Color. H-E.

În aceste cazuri, la nivelul liniei de contact cu plasa sintetică a fost pusă în evidență o regenerare activă, manifestată prin granulații bogate în celule fibroblastice și capilare. Modificările peritoneului visceral intestinal la animalele lotului de control prezentau procese reactive sau proliferative.

La animalele din lotul 1, pe arii vaste, la nivelul liniei de sutură dintre planul musculo-peritoneal al peretelui abdominal și membrana amniotică s-a atestat neoformarea țesutului de granulație în platouri cu un grad de maturizare diferit, cu prezența redusă a PMN, ultimele mai accentuate la granița cu stratul conjunctiv al membranei amniotice (fig. 4.7. A). Aceasta alterna cu zone caracterizate prin particularități de ancorare celular-mezenchimală proliferativă,



penetrantă în matricea conjunctivă a membranei amniotice, atingând limita stratului compact, uneori fiind observată și fascicularea acestuia (fig. 4.7. B).

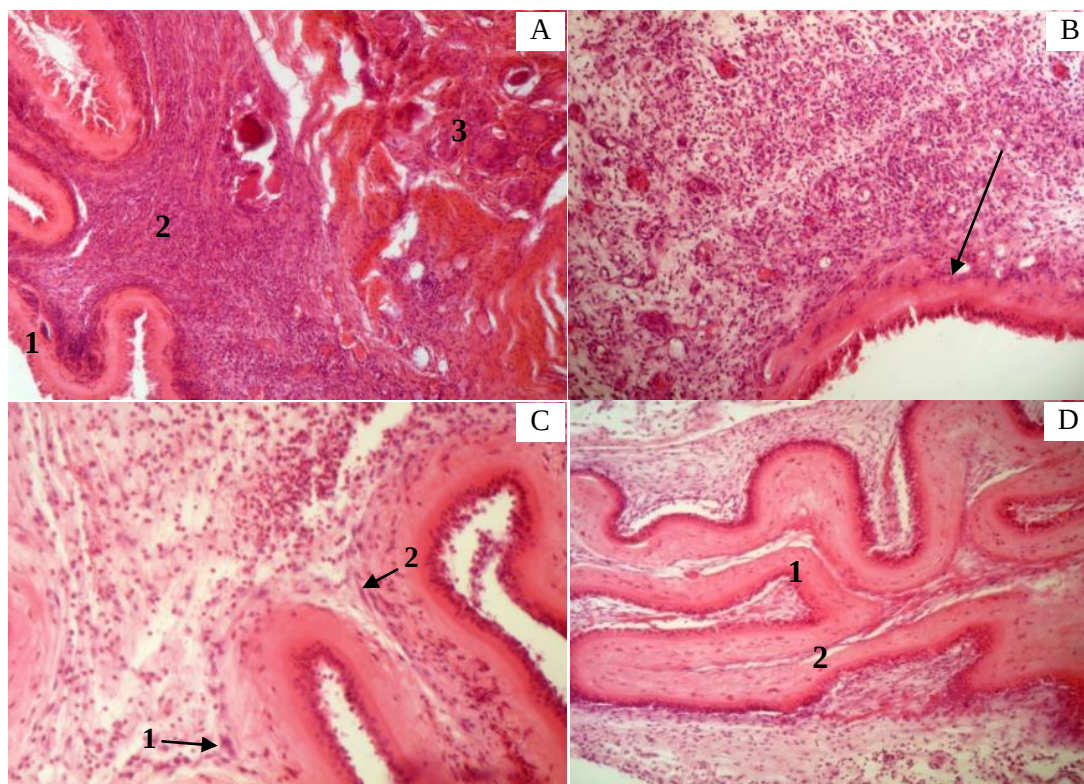


Fig. 4.7. A - granulații imature în platou la linia de contact: 1 - amnios; 2 - țesut granular imatur hipercelularizat; 3 – zona musculară abdominală. x 75; B - aspecte de ancorare celular mezenchimală proliferativă a granulației cu amniosul. x125; C - elemente celulare-tisulare în zona de ancorare celular-mezenchimală: 1-muguri endoteliali; 2 fibroblaste. x125; D - Aspect de granulații în fâșii cu înglobarea amniosului: 1-amnios; 2-granulații cu număr redus de celule PMN. x100. Color. H-E

În zonele respective, la nivelul matricei conjunctive a membranei amniotice a fost atestată o hipercelularizare și din contul fibroblastelor, cu prezența unor muguri de origine endotelială ce relevă activitatea fibrilogenezei și angiogenezei (fig. 4.7. C).

O particularitate întâlnită la nivelul corelațiilor dintre țesuturile de granulație și membrana amniotică este generalizarea activă a granulațiilor pe suprafețele acesteia, astfel înglobând în proporție diferită membrana amniotică. Se observă și mici zone de penetrare și disjunctie a epiteliului amniocitar, de cele mai multe ori ocolind epiteliul și formând mici fisuri (fig. 4.7. D).

La granița cu amniosul țesutul granular marca o grosime variabilă, pe unele arii fiind foarte excesiv și deformat. În imediata apropiere frecvent s-a atestat persistarea proceselor inflamatorii active, caracterizate de elementele PMN cu formarea unui burelet cu abundență de eozinofile ce penetrau în aria stratului conjunctiv compact, cu fenomene de degenerescență și disjunctie fără aspecte de deterșiune (fig. 4.8. A, B).

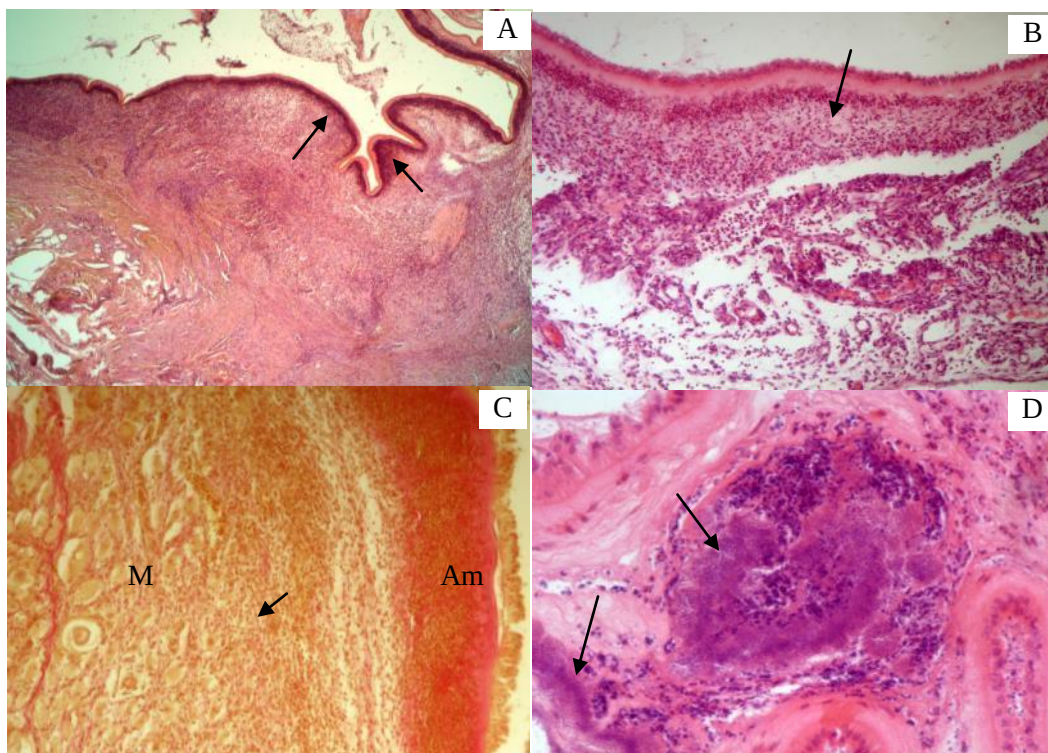


Fig. 4.8. A - granulații excesive asociate cu proces inflamator activ exprimat de PMN la frontieră cu amniosul. x 25; B - granulații imature eozinofile în stratul conjunctiv lax (matricial) al amniosului. x 100; C - depozite sub formă de precipitate și filiforme de collagen în aria granulațiilor dintre musculară (M) și amnios (Am) x 100; D - microcolonizări bacteriene cu reacție PMN și limfocitară la nivelul matricei conjunctive a amniosului x 200. Color. H-E

Astfel, pe unele arii zona conjunctivă laxă a amniosului era invadată de granulații imature (fig. 4.8. B). La o mărire mai mare, la nivelul liniei de contact putea fi observată o stratificare convențională în cascadă a componentelor celular-mezenchimale ale granulației imature, în care stratul angio-fibroblastic era urmat de procese proliferative ale fibroblastelor și de muguri de origine endotelială cu invadarea stratului conjunctiv lax (matricial) a amniosului, urmat de componenta celulară PMN migrată în stratul conjunctiv dens al amniosului. Testarea țesutului conjunctiv la perioada de examinare a evidențiat la nivelul granulațiilor mici precipitate și depozite filiforme de collagen (fig. 4.8. C).

Procese reparativ-regenerative s-au atestat și din partea țesutului conjunctiv interstițial și muscular, regenerarea celui conjunctiv fiind predominantă. Concomitent cu modificările descrise, în unele probe cu predominarea PMN a fost observată prezența coloniilor microbiene (fig. 4.8. D), fapt ce explică polimorfismul activității celulare PMN în aria liniei de contact.

În aria țesutului granular neoformat au mai fost observate simplaste celulare polinucleare frecvent adiacent zonei musculare, caracterizate prin elemente miocitare hipertrofice deformate, distrofie și celule gigante polinucleare de origine miogenă ce reflectă procesele regenerative ale musculareii (fig. 4.9. A). Simplaste gigantocelulare s-au atestat și adiacent de suturi, asociate cu reacție de corp străin (fig. 4.9 B). În zonele cu dehiscență parțială a suturilor de fixare a



amniosului peritoneul a relevat reacție inflamatorie exsudativă seroasă-macrofagală polimorfocelulară asociată cu procese active proliferative fibroblastice (fig. 4.9. C). În prezența coloniilor microbiene procesul inflamator peritoneal a relevat prezența peritonitei viscerale proliferativ-fibroblastice focale (fig. 4.9. D).

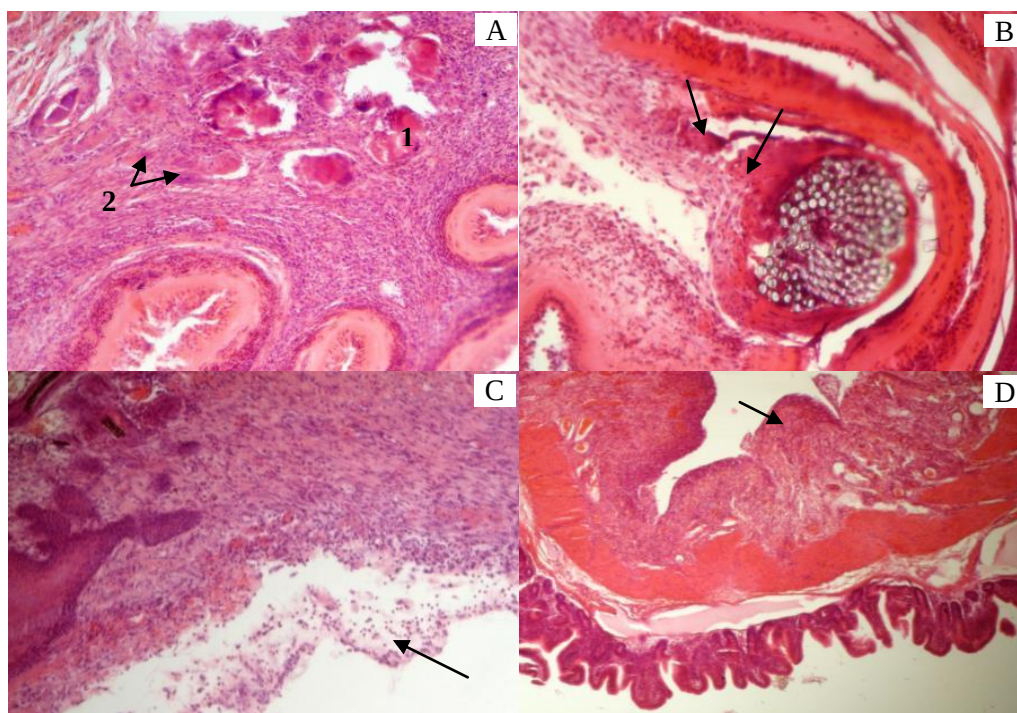


Fig. 4.9. A - procese distrofice și regenerative ale muscularei: 1 - celule miocitare hipertrofice cu distrofie; 2 - celule gigante polinucleare de origine musculară în formare x 100; B - reacție de corp străin cu simplaste polinucleare în jurul firelor de sutură. x 125; C - zona peritoneului liniei de contact. Procese proliferative fibroblastice și exsudative seroase. x 75; D - peritonită viscerală proliferativ fibroblastică x 75. Color. H-E.

La nivelul liniei de contact a membranei amniotice cu stroma peritoneului procesele regenerative de granulație au manifestat o activitate analog celor descrise la nivelul muscularei, în 2 cazuri predominând cele proliferativ-fibroblastice mezenchimale, componenta PMN fiind cu mult mai redusă.

Corelațiile cu stratul conjunctiv (matricial) al membranei amniotice a relevat neoformarea țesutului granular intim ancorat, inclusiv concrescut cu aceasta până la membrana conjunctivă densă (Anexa 1.6. A, B). În zonele contrapuse stratului epitelial al implantului s-au atestat microcalcifieri amniocitare cu prezența microfisurilor de deterșiune a acestuia, la nivelul granulațiilor depistându-se simplaste gigante polinucleare. În zonele respective, elementul amniocitar era intact sau cu unele modificări de intumescență, circumscrise din partea granulațiilor de reacție celulară în simplaste polinucleare (Anexa 1.6. B). Și în aceste cazuri, la testarea țesutului conjunctiv în zona granulației, la a 7-a zi s-a evidențiat prezența depozitelor filiforme de collagen, unele cu aspect de fibre conjunctive fine.



Un alt fenomen observat în corelațiile țesuturilor granulare neoformate cu membrana amniotică, în special în prezența degenerescenței stratului amniocitar l-a constituit accentuarea celulară la nivelul stratului conjunctiv compact al implantului (Anexa 1.6. C), acestea devenind mai pronunțate, cu aspect de migrație liberă sau condiționată în lanț. Pe unele arii a fost observată penetrarea fibroblastelor din zona granulațiilor prin apariția la acest nivel a unor fisuri prin care se putea observa o tendință de pătrundere a componentului celular. Concomitent, în zonele cu procese regenerative active, în aria granulațiilor, s-au atestat doar reziduuri ale acestora sub formă de fascicule conjunctive dense cuprinse de fibroblaste cu aspect spiralat (Anexa 1.6. D).

În probele prelevate în cazurile de dehiscență a suturilor de fixare a membranei amniotice, la nivelul peritoneului adiacent, inclusiv în cele cu detașare a membranei amniotice, s-au depistat granulații masive monstruoase cu procese active proliferative fibroblastice (Anexa 1.6. E). Peritoneul parietal la distanță era fără modificări inflamatorii, fiind prezent doar un edem moderat reactiv (Anexa 1.6. F).

În *lotul 2*, în coraport cu suprafața de contact a amniosului, au fost atestate procese reparativ-regenerative și de corelație a țesuturilor cu implantul analogic ca și în *lotul 1*. În zona platourilor de granulație, în divers raport, au fost prezente elementele PMN cu eozinofilie accentuată, cu predilecție în zonele de suprapunere cu epiteliul amniocitar. Pe unele arii granulațiile, interpușe între musculară și amnios, erau excesive. În *lotul 2*, comparativ cu *lotul 1*, componenta amniocitară a amniosului manifesta degenerescență, iar pe alocuri aceasta era absentă (Anexa 1.7. A). În diverse arii din vecinătatea muscularei puteau fi observate simplaste gigante polinucleare de origine musculară diferențiate în cordoane de muguri din mioblaste. La suprapunerea cu suprafața epitelial-celulară, ca și în cazurile precedente, au fost constatate semne de deterșiune a amniosului, în unele zone – calcifieri focare ale epiteliului, fiind întâlnite zone de detașare parțială a amniosului și de înglobare în granulații (Anexa 1.7. B).

Componenta celulară eozinofilă manifesta caracter mozaic și dezordonat de realizare în zonele de contact, fapt confirmat și prin lipsa elementelor polimorfonucleare și a eozinofilelor, inclusiv în cazurile cu suprapunerea stratului epitelial celular al membranei amniotice, țesutul celular fibroblastic proliferativ manifestând fenomene de invadare în aria epiteliului (Anexa 1.7. C). Aceste fenomene se accentuau odată cu diminuarea procesului inflamator și predominarea celui proliferativ fibroblastic. Comparativ cu *lotul 1*, în *lotul 2* mult mai frecvent au fost observate elemente celulare polinucleare de origine musculară, uneori în platouri (Anexa 1.7. D). Frecvent, componenta eozinofilă a fost constatată perivascular, inclusiv la limita dintre țesutul muscular și granulații (Anexa 1.7. E, F), fiind mai frecventă în zonele de suprapunere cu

suprafața epitelial-celulară. Remarcăm faptul că și în lotul 2 de studiu simplastele polinucleare erau frecvent prezente în zona suturilor.

Din partea peritoneului adiacent au fost constatate procese proliferative fibroblastice cu prezența polimorfonuclearelor și a componentei eozinofile (fig. 4.10. A). Și la nivel de mezou, zonal se atesta prezența edemului și a polimorfonuclearelor (fig. 4.10. B).

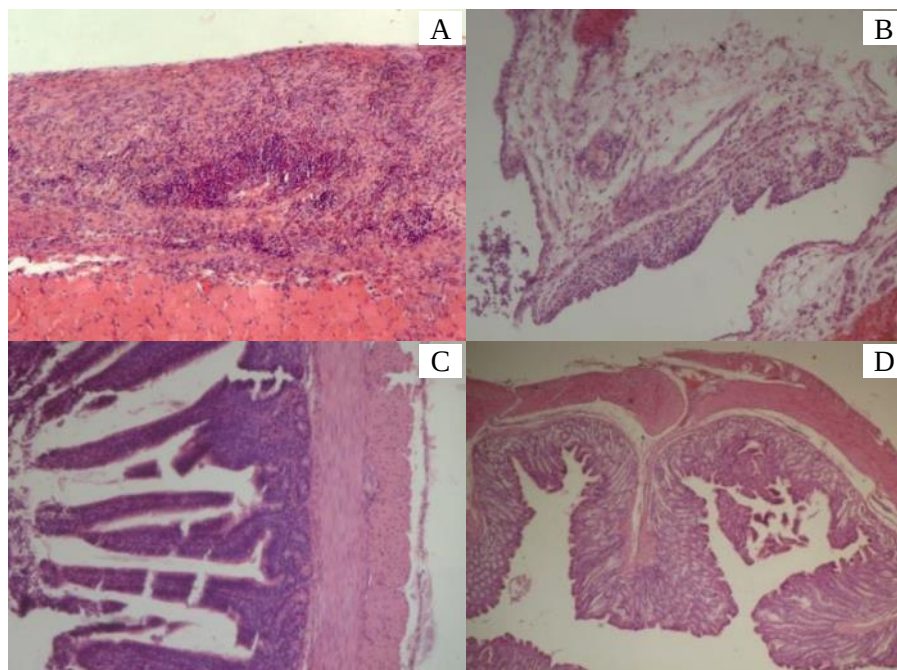


Fig. 4.10. A - perivasculite polimorfoceleulare cu predominarea componentei eozinofile; B - perivasculite polimorfoceleulare cu predominarea PMN și a componentei eozinofile; C - intestin subțire cu structură normală fără reacții ale peritoneului visceral; D - intestin gros în normă x 75, Color. H-E.

În cazurile fără dehiscența suturilor de fixare a membranei amniotice, din partea peritoneului visceral al intestinului subțire și gros în acest lot de studiu nu au fost observate modificări inflamatorii sau reacții celulare vasculare (fig. 4.10. C, D).

Investigațiile histologice n-au atestat în lotul 3 deviații semnificative ale proceselor reparativ-regenerative ale componentelor tisulare și ale corelațiilor dintre țesuturi și implantul amnios. Frecvent au fost decelate procese morfologice analoge cu cele atestate în loturile 1 și 2, o activitate mai accentuată a proceselor regenerative și a componentei celular-eozinofilice. Ca și în loturile precedente, în zona suturilor se observă frecvent reacția de corp străin cu prezența simplastelor gigantocelulare polinucleare (fig. 4.11. A, B) uneori la nivelul fibrelor musculare degenerescente incluse în zona granulațiilor masive monstruoase. Comparativ cu loturile precedente, în lotul 3 elementele PMN erau întâlnite nu doar la nivelul stratului matricial sau conjunctiv dens al amniosului, ci și dispersat pe toată aria, deseori invadând stratul epitelial celular (fig. 4.11. C), fapt ce relevă o capacitate de migrare a componentei celulare în aria implantului.

În lotul 3 de studiu, între țesutul granular cu activitate proliferativă fibroblastică și suprafața epitelial-celulară a fost constatată o relație intimă cu mult mai accentuată cu particularități de angiogeneză mai active, precum zone de penetrare a granulațiilor în stratul conjunctiv dens al amniosului cu o adeziune, ancorare mai pronunțată (fig. 4.11. B, D).

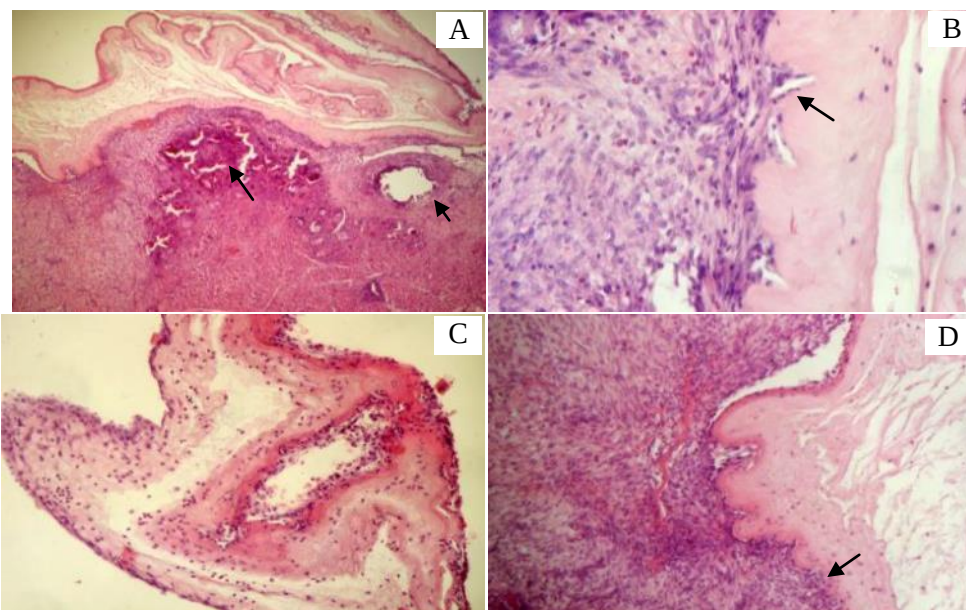


Fig. 4.11. A - granulații excesive cu reacție de corp străin, simplaste polinucleare la nivelul suturilor și în conglomerate în reziduurile componentei musculare degenerescente, x 25; B - Imaginea A la o mărire x 150; C - infiltrația cu PMN a amniosului integral, x 75; D - granulații vascular-fibroblastice, x 75; Color. H-E

Din partea matricei conjunctive a membranei amniotice, în zonele de contact au fost atestate procese proliferative angiofibroblastice secundate de elemente polimorfonucleare penetrante în profunzime cu implicarea parțială a membranei conjunctive dense, ultima cu modificări distrofice. În acest lot de studiu procesele proliferative fibroblastice și angiogenetice cu neoformarea capilară au fost comparativ mai evidente și mai active (fig. 4.12. A, B). De asemenea, în acest lot epiteliul amniocitar prezenta modificări degenerescente în lipsa ca atare a calcifierilor sau a reacțiilor de corpi străini, țesuturile de granulație fiind frecvent mai puțin imense sau monstruoase.

În majoritatea cazurilor (4 cazuri) din lotul 3 de studiu, ansele intestinale nu prezentau modificări patologice, cu excepția unui caz când în regiunea mezenterială au fost observate modificări inflamatorii nesemnificative (fig. 4.12. C).

În a 7-a zi, în zonele stratului musculo-fascial implicate în sutură și în cele adiacente zonei de contact, în lipsa modificărilor necrotice, exsudative și deterrentive, s-a atestat o evoluție a miocitelor în miosimplaste, apoi în mioblaste polinucleare, urmată de apariția cordoanelor celulare orientate abuziv spre țesutul granular al liniei de contact (fig. 4.12. D). Acest fapt poate fi considerat o remultiplicare a miocitelor din fibrele musculare cu semnificație în procesele de plastie și regenerare ale țesuturilor musculare.



Astfel, rezultatele acestui studiu a permis atestarea unor particularități ale morfogenezei proceselor reparativ-regenerative ale țesuturilor fibrilar-musculare animale și ale corelațiilor cu membrana amniotică umană utilizată ca implant.

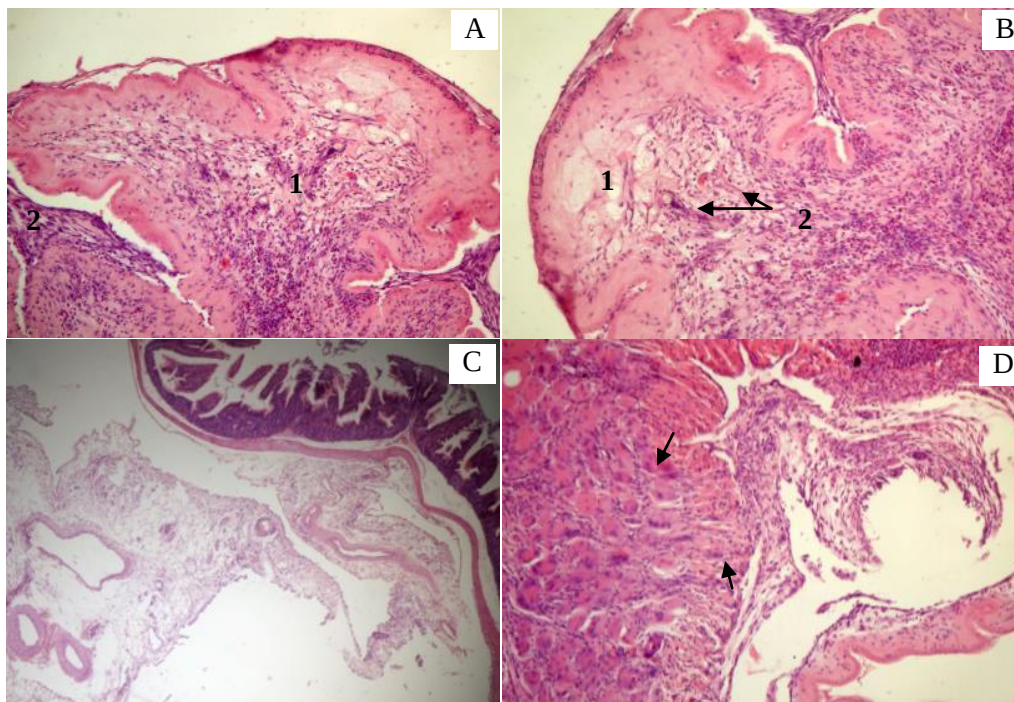


Fig. 4.12. A - membrană amniotică parțial înglobată în țesut granular: 1 - zona matricei conjunctive; 2 - zona stratului epitelial amniocitar, x150; B - zonă de contact: 1 - fenomene de distrofie și degenerescență a stratului compact; 2 - neoformarea granulațiilor vasculo-fibroblastice cu rețea intensă de capilare, x 150; C – segment mezenteric intestinal cu endovasculite discrete reactive, x 75; D - regenerarea stratului muscular - prezența mioblastelor cu evoluție în cordoane celulare orientate spre linia de contact, x 125; Color. H-E.

S-a constatat că histogeneza proceselor regenerative este comparabilă cu histogeneza normală, caracterizându-se prin formarea țesutului conjunctiv manifestată la a 7-a zi prin neoformarea granulațiilor imature proliferativ-celulare și mature fibrovasculare. În aceeași perioadă, histogeneza proceselor regenerative în corelațiile cu implantul avea un aspect mozaic, zonal retardat, caracterizat prin persistarea activă a proceselor inflamatorii exsudative, degenerescente și infiltrative celulare prin prezența PMN, mai accentuate în loturile 1 și 2 comparativ cu lotul 3. Acest fenomen, în opinia noastră, poate fi influențat atât de metoda de prelucrare a implantului cât și de particularitățile fiziologice individuale ale animalelor. După cum se observă în studiul de față, regenerarea prin substituție cu țesut conjunctiv decurge sincron cu regenerarea elementelor fibrilar-musculare.

Persistarea PMN pe diverse arii este o reacție a procesului inflamator direcționată spre degenerescența implantului ca urmare a particularităților proteolitice ale acestora, exprimată în lotul 3 prin migrarea lor mult mai accesibilă în structura implantului. O altă particularitate atestată în relațiile dintre țesuturi și implant a constituit-o tendința formării granulațiilor

generalizate pe suprafața implantului cu aspect de ancorare și de înglobare a acestuia. Formarea de granulații mai excesive cu un aspect monstruos, atestate în unele zone, nu este o organizare reparativ-regenerativă patologică ci mai curând rezultatul unor mici detașări determinate de comportarea fiziologică animală, factori mecanici. Astfel, acestea marchează activitatea reparativ-regenerativă a vindecării per secundam, mai accentuată în cazurile cu dehiscență. Procesele regenerative patologice sub formă de reacții de corp străin cu simplaste gigante polinucleare s-au atestat frecvent în jurul suturilor precum și perifocal la propriile țesuturi musculare degenerative ca rezultat al activității predominante atât de neoformare a granulațiilor comparativ, cât și de lipsa eliberării reziduurilor exsudativ-detersive, acestea rămânând încrustate în granulații. În același context fiind și reacțiile de corp străin la elementele epiteliale amniocitare observate în primele loturi. Procesele aderențiale atestate la nivelul peritoneal în cazurile de implant sunt patologice convențional fiind determinat nu de implantul propriu-zis, dar de eliminările intraperitoneale ale exsudatului sau de masele necrotico-detersive din zona de regenerare.

În cadrul evaluării statistice a proceselor morfopatologice: procesul detersiv (Fig. 4.13 A), nivelului PMN (Fig. 4.13 B), nivelul de maturiție a țesutului de granulație (Fig. 4.13 C), nivelul de modelare fibroplastică (Fig. 4.13 D), nivelul prezenței de simplaste gigantocelulare (Fig. 4.13 E) și nivelul prezenței reacției adezive/distrofice în xenogrefele de membrană amniotică (Fig. 4.13 F), nu s-a determinat deosebire statistică ( $p > 0,05$ ).

Așadar, rezultatele studiului ne permit de a conchide că utilizarea membranei amniotice prelucrată cu glutaraldehidă și formalină în calitate de implant, în pofida durabilității, rezistenței biomecanice și biocompatibilității acceptabile, nu oferă o stabilitate pe termen lung, aplicarea acesteia soldându-se cu dehiscența plăgii postoperatorii, îndeosebi în limitele suturilor de fixare. În acest context, membrana amniotică criopreservată are unele avantaje în ceea ce privește elasticitatea implantului și stabilitatea suturilor de fixare, cât și de o activitate reparativ-regenerativă marcată. Fenomenul de detersie al membranei amniotice este determinat de suprapunerea epitelial-celulară, acest fapt indicând la incorectitudinea modului de aplicare a implantului.

Membrana amniotică poate fi considerată un substituent temporar util al peritoneului și un adjuvant antiaderențial promițător în intervențiile reconstructive ale defectelor peretelui abdominal cu disproporție visceroabdominală, rezultatele obținute justificând necesitatea continuării studiilor clinice de evaluare a eficacității și siguranței aplicării acestui material biologic.

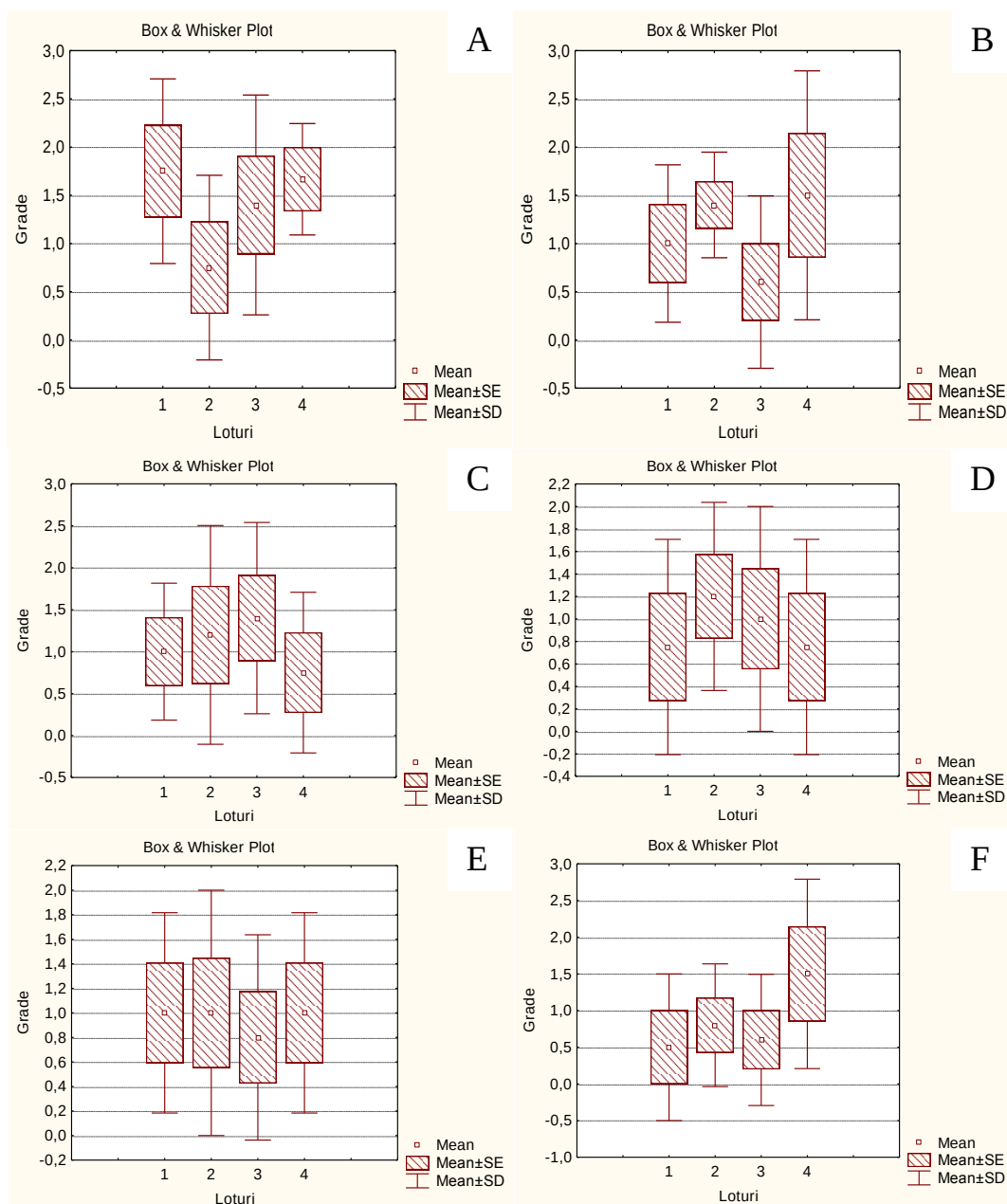


Fig. 4.13. Evaluarea statistică a proceselor morfoopatologice în xenogrefele de membrană amniotică unde 1- lotul 1 (glutaraldehidă), 2 – lotul 2 (formaldehidă), 3 – lotul 3 (criopreservată), 4 – lotul martor (plasă poliesterică); A – nivelului procesului detritiv; B – nivelul PMN; C – nivelul de maturiție a țesutului de granulație; D – nivelul de modelare fibroplastică; E – nivelul prezenței de simplaste gigantocelulare; F – reacția adezivă/distrofică.

#### 4.3. Implantul peritoneal bovin în reconstrucția defectelor majore ale peretelui abdominal anterior în model experimental

Scopul acestui studiu a fost în evaluarea morfologică a răspunsului celular al țesuturilor gazdă la implantul de peritoneu parietal bovin cu scop de închidere a cavității peritoneale în operațiile reconstructive în defectele de dimensiuni majore ale peretelui abdominal la iepuri.

Studiul experimental cu utilizarea peritoneului parietal bovin preservat în formaldehidă a fost efectuat pe un eșantion de 10 iepuri de rasă Californian cu greutatea de  $2,400 \pm 100$ g.,



animalele fiind eutanaziate și supuse cercetărilor morfopatologice la 32 de zile (lotul 1) și 75 de zile (lotul 2) după intervenție. Lotul 3 a inclus 5 iepuri de rasă Californian cu aceeași greutate la care în reconstrucția defectului peretelui abdominal a fost utilizat peritoneul parietal bovin decelularizat.

Rezultatele acestui studiu a permis de a constata că în toate 3 loturi de studiu, perioada postoperatorie a decurs fără complicații septice și fără dehiscență fascială a plăgii postoperatorii.

La animalele a toate 3 loturi de studiu au fost observate proeminenări (bombări) sectoriale de diferite dimensiuni ale peretelui abdominal anterior (fig. 4.14. A), mai bine fiind observate în timpul preparării (fig. 4.14. B, C). La animalele lotului martor astfel de bombări nu au fost observate.

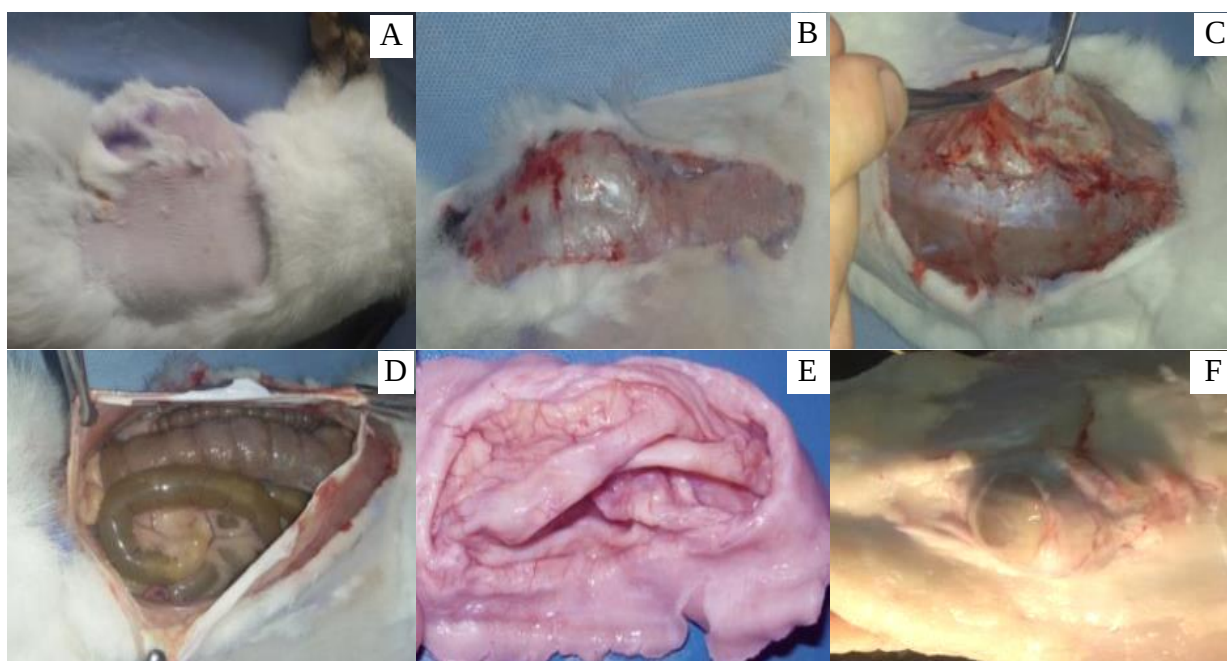


Fig. 4.14. Aspectul macroscopic al peretelui abdominal după 32 zile după închiderea defectului abdominal cu utilizarea grefei de peritoneu parietal bovin prelucrată cu formalină 0,5%: A – se observă bombarea peretelui abdominal; B – aspectul macroscopic al defectului parietal după închidere cu peritoneu bovin (C); D – aspectul macroscopic al organelor cavității abdominale – absența unui proces aderențial semnificativ; E – Macropreparat. Aspectul intern macroscopic al implantului, observându-se consolidarea perfectă a implantului cu marginile defectului parietal și neoformarea de vase sanguine; F – Macropreparat. Aspectul macroscopic al peretelui abdominal după 75 zile după închiderea defectului cu utilizarea grefei de peritoneu parietal bovin prelucrată cu formalină 0,5% (se observă în zona centrală subțiată);

De obicei, implantul era bine consolidat cu țesuturile marginale din jurul defectului parietal al gazdei. Pe suprafața implantului puteau fi observate vase sanguine subțiri, un număr mai mare de vase fiind observate în zonele periferice ale implantului la animalele lotului 2 (fig. 4.14. E). În 2 cazuri din lotul 2 de studiu au fost observate sectoare subțiate semnificativ, localizate în zona centrală a implantului (fig. 4.14. F). La deschiderea cavității peritoneale oarecare modificări patologice ale organelor cavității abdominale nu au fost observate (fig. 4.14. D), cu excepția unor

aderențe fine, ușor detașabile între ansa intestinală și implant, constatate în 2 cazuri din lotul 1 și câte 1 caz din lotul 2 și 3.

În lotul 3 de studiu, într-un singur caz, pe suprafața peritoneală a implantului a fost constatată prezența unei formațiuni chistice cu un conținut sero-gelatinos asociat cu hemoragie, în secțiune transversală pereții chistului având origine din grea și parțial din țesutul neoformat, în care puteau fi atestate focare de hemosideroză cu microcalcifieri (fig. 4.15)

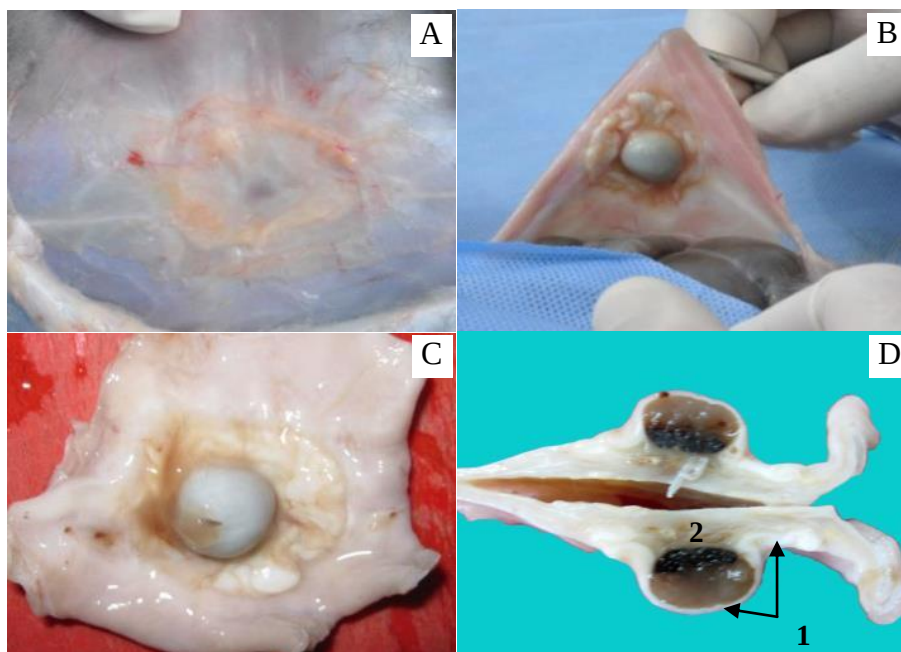


Fig. 4.15. Aspectul macroscopic al suprafeței externe a implantului de peritoneu bovin decelularizat (A) cu prezența unei formațiuni chistice localizate pe suprafața peritoneală (B, C). D – chistul grea în secțiune transversală

Investigațiile histopatologice, efectuate în *lotul 1* de studiu, au relevat procese reparativ-regenerative destul de eficiente, caracterizate prin predominarea fenomenelor de cicatriciere conjunctivă. La nivelul consolidării țesuturilor gazdei și a grea peritoneale bovine implantată putea fi observată prezența unui țesut de neoformare bogat în fibre colagene și țesut conjunctiv lax cu apariția vascularizării sanguine și limfatice. Din partea peritoneală a gazdei (suprafața internă) implantul peritoneal bovin era circumscris de granulații peritoneale neoformate tapetate cu mezoteliu, iar din partea contralaterală (suprafața externă) - de granulații circumscrise de țesutul fibrilar celulo-adipos dermic, astfel grea, în mare parte era înglobată în țesuturi neoformate (fig. 4.16. A). La nivelul liniei de contact consolidată componenta PMN nu a fost atestată, implantul biologic devenind înglobat în manșetă de țesut conjunctiv neoformat, fiind prinsă în aspect de „lacăt”, frecvent fiind observată componenta limfocitară dispersă sau în mici platouri cu tendință spre formarea unor structuri limfoido-foliculare în divers raport întâlnite atât la nivelul din partea pielii, cât și a zonei peritoneale (fig. 4.16. B). În cazurile în care s-a atestat prezența aderențelor focare intestinal-peritoneale, la nivelul liniei de contact cu grea implantată

a fost observată prezența abundentă a componentei celulare mixte limfocitare și celei PMN ne semnificative (fig. 4.16. C).

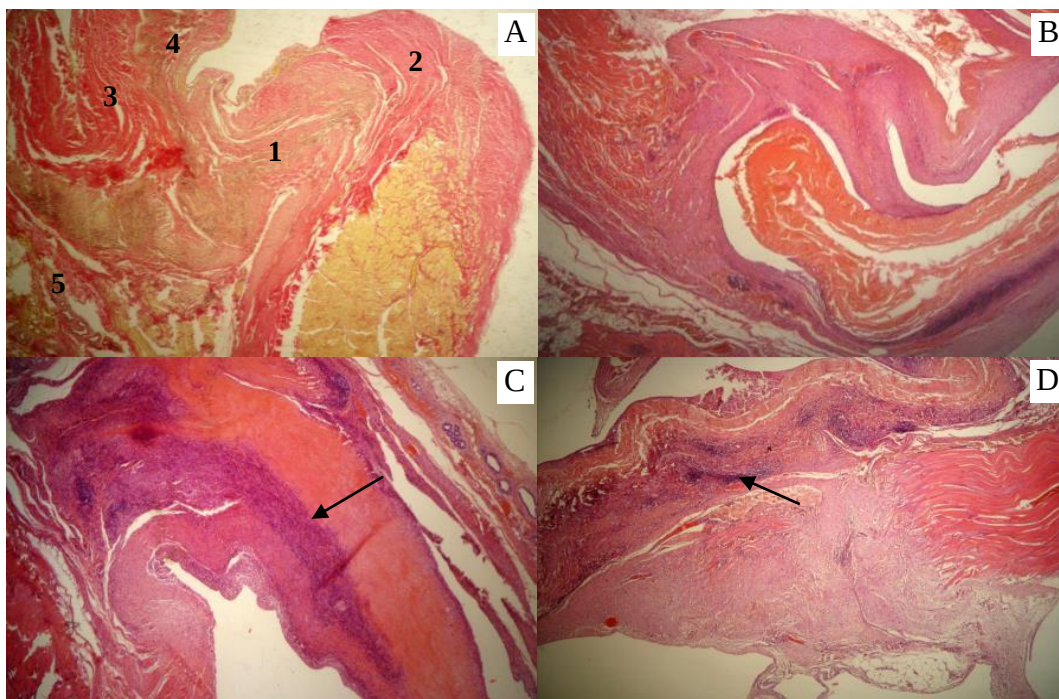


Fig. 4.16. Zona la hotar între grefa de peritoneu bovin și țesuturile gazdă (A): 1- granulații în cicatrici; 2 - țesutul conjunctiv al gazdei; 3 – implantul de peritoneu bovin; 4 - peritoneul neoformat; 5 - zona celulo-adipoasă dermică. x 75. Color. VG; B - grefa de peritoneu bovin înglobată în manjetă de țesut conjunctiv neoformat parțial circumscrisă de infiltrat limfocitar. x25. Color. H-E.; C - proces inflamator polimorfocelular cu predominarea limfocitelor în zona de consolidare a grefei cu țesuturile animale. x25. Color. H-E.; D - aspect de cicatrizare a musculareii cu neoformarea aderențelor peritoneal-intestinale focare. Infiltrat limfocitar în țesutul conjunctiv fibrilar la hotar cu grefa. x25. Color. H-E

La nivelul aderențelor au fost constatate procese active de cicatrizare a musculareii, fibrele conjunctive având un aranjament haotic (fig. 4.16. D), fenomenul dat, în opinia noastră, constituind rezultatul detersiei retardate a maselor necrotice cu evoluția granulațiilor retardate. Explorările efectuate în probele prelevate din zonele apropiate la 2 cm de linia de consolidare, inclusiv în zona centrală, au permis de a constata prezența plastului peritoneal fibrilar neoformat pe toată suprafața abdominală a implantului, pe alocuri fiind ancorată de implant prin prezența elementelor mezenchimale fibrocelulare, pe unele câmpuri fiind observată prezența infiltratelor limfocitare sau polimorfocelulare, ultimele mai frecvent fiind observate din partea dermului.

În probele prelevate la distanță de zona de consolidare dintre țesuturile gazdei și grefa de peritoneu bovin țesuturile neoformate marcau o structură fibrilar-celulară fibroblastică și fibrocitară cu prezența în divers raport a vascularizației funcționale de calibru mic. În zona peritoneului adiacent cu implantul se determina prezența unui număr minim de PMN dispersate.



În unele arii puteau fi atestate simplaste unice polimorfocelulare, acestea marcând o reacție de corp străin la reziduurile de implant necrotizat sau calcificat (fig. 4.17 A).

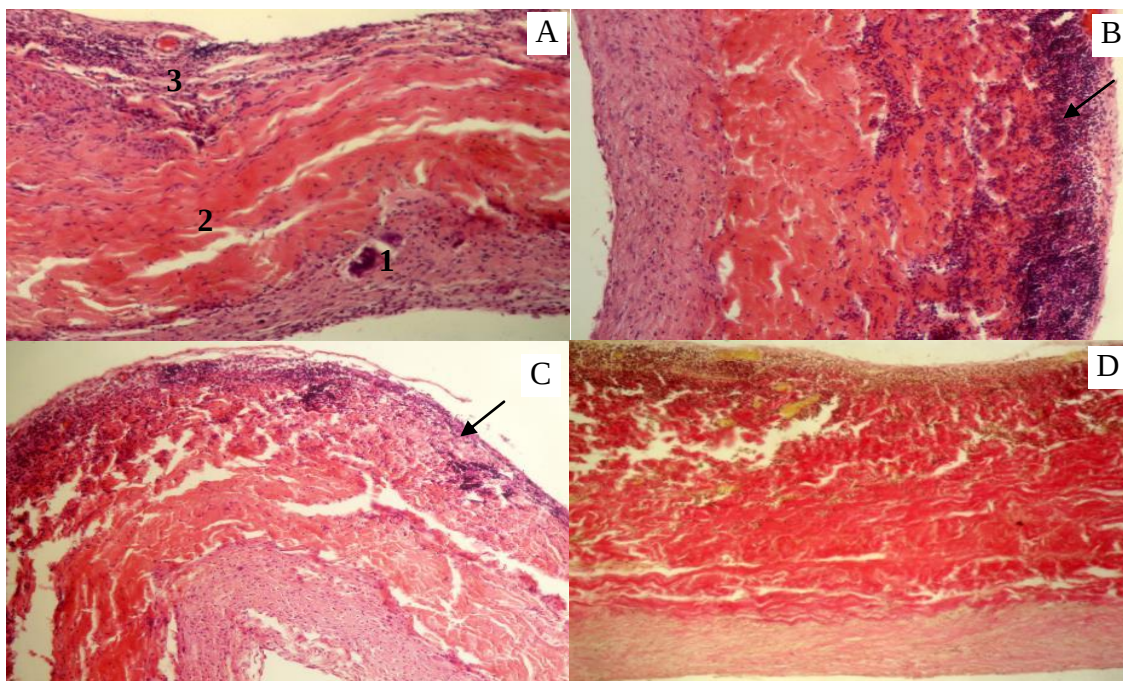


Fig. 4.17. Structura peretelui abdominal la nivel de implant (A): 1 - peritoneul neoformat cu simplaste polinucleare; 2 - implantul strat conjunctiv fibro-celular neoformat cu PMN penetrante în zona adiacentă implantului.  $\times 100$ . Color. H-E; B - peretele abdominal în implant cu persistarea abundentă a componentei celulare limfocitare și PMN cu penetrarea și fascicularea implantului din partea dermului, consolidare a grefei cu țesuturile animale.  $\times 125$ . Color. H-E. C - zona centrală a peretelui abdominal în plastic – procese inflamatorii active în zona cutanee la nivelul implantului cu penetrarea în limite de  $\frac{1}{4}$  din implant.  $\times 100$ . Color. H-E; D - penetrarea activă a procesului inflamator și fibroblastic în aria implantului cu decelerare la 80% din implant.  $\times 100$ . Color. VG

Comparativ cu zona peritoneală cea cutanată era mult mai vascularizată, cu prezența unui proces inflamator comparativ mai accentuat, constituit din limfocite și PMN, inclusiv eozinofile unice. În diverse arii PMN manifestau un caracter penetrant în aria implantului cu particularități de decelerare în fascicule și degenerescență (fig. 4.17 B). În probele prelevate la 3 cm de asemenea s-a constatat prezența procesului inflamator invaziv din partea dermei, comparativ cu cel de pe suprafața internă, care era mai diminuat (fig. 4.17 C, D). Probele prelevate din regiunea centrală erau exprimate prin mezoteliu și o fișie îngustă de țesut fibrilar-celular de neoformare. Ansele intestinale n-au relevat careva procese patologice.

În lotul 2 de studiu (75 de zile după operație) aspectele histomorfologice ale proceselor reparative-regenerative ale țesuturilor gazdei sunt comparabile cu histogeneza proceselor evaluate în normă, nefiind atestate procese regenerative anormale. La nivelul liniei de consolidare s-a atestat o trecere lentă de la țesuturile gazdei la grefa de peritoneu bovin, ultima fiind încrustată în țesutul conjunctiv neoformat (Anexa 1.8. A, B), ceea ce a reflectat procese

reparative-regenerative analogice celor atestate în lotul 1 prin activitatea acestora în mare parte sincronă cu a celor evolute la nivelul țesuturilor gazdei.

Prezența procesului inflamator s-a atestat neuniform de la moderat la marcant predominant de componenta limfocitar-macrofagală, frecvent fiind mai activă din partea plastului conjunctiv din partea dermei comparativ cu cea peritoneală. La limita plastului conjunctiv peritoneal adiacent liniei de consolidare s-au atestat insule de musculatură cu particularități de regenerare (Anexa 1.8. C). În unele zone s-au atestat conglomerate de implant, acestea fiind luate în cont ca aspecte ale procesului de microdehiscentă la etapele precoce ale procesului de regenerare (Anexa 1.8. D).

Din partea plastului conjunctiv neoformat subcutanat s-a relevat frecvent prezența simplastelor polinucleare cu divers grad de infiltrație polimorfocelulară. Modificările morfopatologice la distanță de la linia de consolidare cu peritoneul bovin erau mai exprimate comparativ cu cele determinate în lotul 1, fiind însoțite de inflamație granulomatoasă limfocitar-macrofagală și histiocitară cu prezența simplastelor celulare polinucleare și a unui număr redus de PMN (Anexa 1.9. A. B). Simplastele celulare polinucleare ca și în lotul 1 reprezintă aspecte variabile, în mare parte relevă activitatea macrofagică în dificultate de degenerare a materialului endocitar, activarea lor în cazurile respective nu e orientată microbicid, ci constă în funcția lor alternativă în repararea tisulară (Anexa 1.9. C). Pe unele arii, în probele prelevate din zona centrală s-a constatat predilecția elementului celular limfocitar și mono-histiocitar, simplastele polinucleare fiind unice. Totuși, și la această distanță procesul inflamator asincron manifestă o inflamație cronică activă din partea peretelui subcutaneu a manjetei (Anexa 1.9. D).

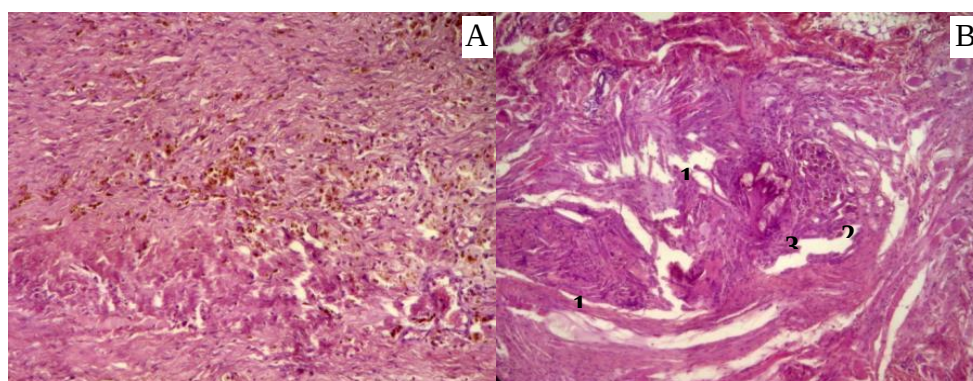


Fig. 4.18.A - hemosideroză focală dispersă în aria țesutului neoformat.  $\times 50$ . Colorație H-E. B - procese sclero-cicatriciale cu prezența reziduurilor de grefă (1) și a firului de sutură (2), microcalcificate (3).  $\times 75$ . Colorație H-E

În lotul 3 de studiu, în aria țesutului conjunctiv neoformat au fost constatate focare mici de hemosideroză dispersă (fig. 4.18. A). Unele zone aveau un aspect sclero-cicatricial, inclusiv în porțiunile adiacente suturilor, pe alocuri cu microcalcificate (fig. 4.18. B)

În cazul dezvoltării formațiunii chistice a implantului investigațiile histologice au permis de a pune în evidență o reducere a intensității procesului inflamator infiltrativ comparativ cu cel proliferativ fibroblastic organizat, care parțial forma peretele chistului (Anexa 1.10. A). În aria peretelui chistului se observau focare de reziduuri microfilamentare ale grefei de comun cu prezența unei mase pseudogelatinoase coloide cu impurități de fluctuate fibrinofile cu amestec de eritrocite (Anexa 1.10. B ). Spre cavitatea peritoneală peretele chistului era constituit din peretele peritoneal intim adeziv cu materialul grefei (Anexa 1.10. C). Adiacent erau prezente reziduuri ale grefei infiltrate cu o componentă celulară PMN cu prezența eozinofiliei (Anexa 1.10. D), acestea fiind despărțite prin țesut fibroplastic neoformat, vascularizat.

Actualmente există puține comunicări referitor la utilitatea xenogrefelor bovine în reconstrucția peretelui abdominal, unele studii experimentale indicând la eficiența tunicii vaginale sau a peritoneului parietal în reconstrucția peretelui abdominal [41]. De asemenea, au fost documentate proprietățile peritoneului bovin de protecție împotriva adeziunilor [299].

Rezultatele examinărilor histomorfologice obținute de noi sunt asemănătoare cu unele comunicări din literatura de specialitate, care indicau la utilizarea peritoneului bovin în plastia herniilor ventrale [52], cu diferența că noi am utilizat peritoneul bovin în reconstrucția peretelui abdominal în condiții de defecte musculofasciale complete cu absența peritoneului.

Analiza rezultatelor obținute ne permite de a conchide că peritoneul bovin parietal fixat în formaldehidă 0,5% dispune de o biocompatibilitate și biorezistență acceptabilă, corelațiile dintre țesuturile gazdă și grefă, cât și neoformarea structurilor fibrilar-celulare și neovascularizarea pe suprafața implantului, reflectând procese reparative-regenerative favorabile și oferind o consolidare stabilă a implantului biologic în închiderea defectelor majore ale peretelui abdominal în model experimental. Peritoneul bovin fixat în formaldehidă 0,5% induce un proces inflamator cronic de diversă intensitate, care pe fondalul fenomenelor degenerative reprezintă un dezavantaj important în stabilitatea proprietăților mecanice și a funcționalității neoperitoneului format după înlocuirea treptată a implantului. Implantul de peritoneu bovin fixat în formaldehidă 0,5% nu induce dezvoltarea unui proces aderențial intraabdominal, dovadă promițătoare în favoarea utilizării acestui material biologic în procedeul de poziționare intraperitoneală în spațiul retromuscular (retrorectal) a acestei grefe biologice cu acoperirea conținutului abdominal în operațiile reconstructive ale peretelui cavității abdominale. În lotul de studiu cu utilizarea implantului de peritoneu bovin decelularizat au fost obținute unele rezultate mult mai eficiente privind procesele de fibrilogeneză (fibroză). Formarea chistului probabil este un rezultat a acumulării masei fibrinoase dintre țesutul gazdă și grefă.



#### 4.4. Răspunsul celular local în plastia defectului abdominal cu pericard bovin și fascie bovină prezervate în formaldehidă în model experimental pe iepuri

Pericardul bovin, începând cu anul 1974, este folosit pe larg în chirurgia reconstructivă datorită caracteristicilor structurale originale și proprietăților mecanice excepționale [40], înregistrându-se performanțe în chirurgia cardiovasculară, urologie și oftalmologie [183]. Având o stabilitate mecanică excelentă și rezistență față de infecții, pericardul bovin este destul de util în reconstrucția defectelor peretelui abdominal [2]. Cu toate acestea, în literatura de specialitate sunt comunicări unice despre folosirea acestui material biologic în închiderea defectelor congenitale ale peretelui abdominal [300].

Scopul studiului a fost în evaluarea comparativă postoperatorie a modificărilor macroscopice și microscopice locale ce se dezvoltă după reconstrucția defectelor majore ale peretelui abdominal provocate experimental la iepuri cu utilizarea grefelor de pericard bovin și fascie bovină prezervate în formaldehidă.

Lotul a inclus 10 animale (iepuri de rasă *Chinchila* cu greutatea de  $2400 \pm 100\text{g}$ .) supuse intervenției chirurgicale de închidere a defectului peretelui abdominal cu grefă de pericard bovin prezervată în formaldehidă 0,5% și 5 iepuri de aceeași rasă și greutate la care s-a folosit în calitate de implant grefă de fascie bovină prezervată în formaldehidă 0,5%.

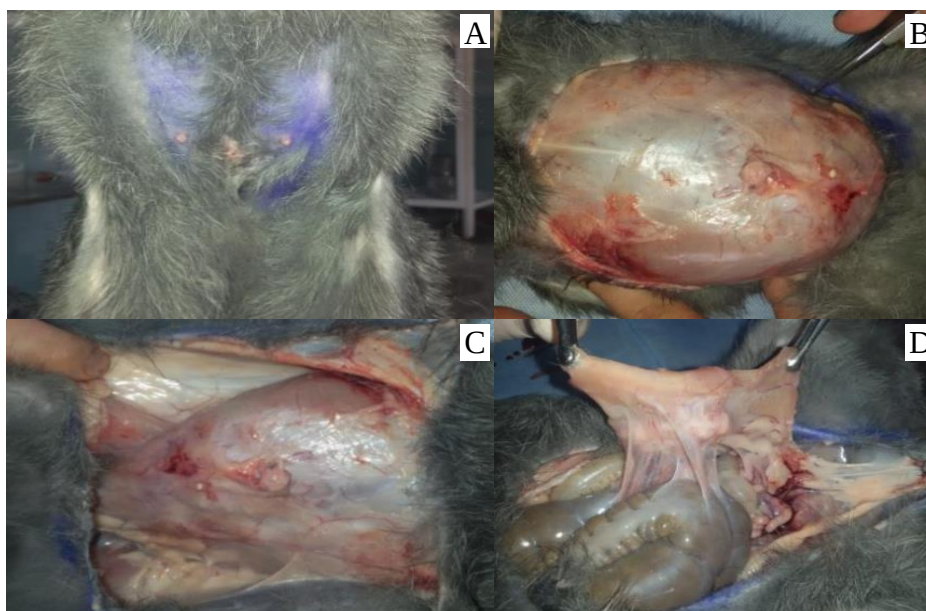


Fig. 4.19. Aspectul macroscopic al peretelui abdominal după 32 zile după închiderea defectului abdominal cu utilizarea grefei de pericard bovin prelucrată cu formalină 0,5%. A - abdomenul animalului este obișnuit; B, C – aspectul macroscopic extern al defectului închis cu pericard bovin; D – prezența unui proces aderent al cavității peritoneale.

Nici unul din animalele supuse experimentului nu au decedat. Complicații septice sau dehiscența plăgii nu a fost constatată nici într-un caz (fig. 4.19. A), pe când semne de hernie

incizională postoperatorie a fost constatată la un singur animal din lotul 2 (eutanaziate după 75 de zile).

Examenul macroscopic al suprafeței externe a implantului a constatat că aceasta era aderată la stratul subcutanat printr-un strat subțire de țesut fibros neovascularizat (fig. 4.19. B, C), fiind observate vase sanguine îndeosebi în zonele periferice ale implantului, procesul de vascularizare fiind mai accentuat în lotul 2 de studiu. La 2 animale din lotul 1 au fost constatate aderențe dense multiple între implant și ansele intestinale (fig. 4.19. D), la 3 animale fiind observate aderențe nenumeroase fine și ușor detașabile.

În lotul 2 de studiu a fost constatăată restructurarea țesuturilor de granulații și a granulațiilor fibro-vasculare într-un țesut conjunctiv ordonat, pe diverse arii cu prezența unor aspecte dezordonate. În probele prelevate din regiunea liniei de consolidare (fig. 4.20.) a fost stabilită formarea unei zone intermediare de țesut conjunctiv bine diferențiat, uneori cu prezența unor reziduuri în calcifiere pe suprafața peritoneală.

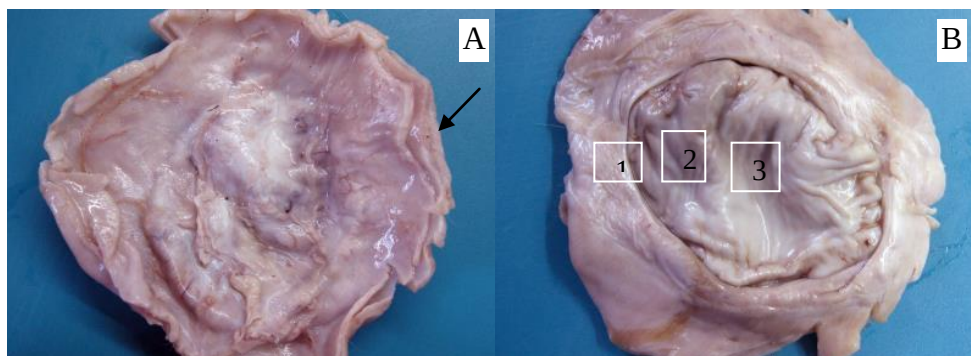


Fig. 4.20. Macropreparat. Regiunea liniei de consolidare (lotul 2 de studiu). A - suprafața subcutanată a implantului cu o structură polistratificată neuniformă; B - suprafața peritoneală a implantului cu linia de consolidare și țesuturile adiacente

În lotul 2 de studiu în toate cazurile a fost observată dezvoltarea aderențelor între ansele intestinale și suprafața internă a bioimplantului, cât și interintestinale, fără a provoca semne de obstrucție intestinală. La animalele lotului 3 de studiu a fost observată bombarea nesemnificativă a zonei cu defect parietal închis cu grefă de fascie bovină, având dimensiuni până la 1,5-2,5 cm, la prepararea ulterioară constatându-se o extindere moderată a implantului fără sectoare de dehiscență a liniei de sutură (fig. 4.21. A, B). Pe ambele suprafețe subcutanată și peritoneală ale implantului puteau fi observate vase sanguine neoformate (fig. 4.21. B). Pe suprafața peritoneală, circumferențial, pe linia de sutură au fost atestate sectoare gălbuie, care s-au dovedit a fi zone de calcinoză (fig. 4.21. C). Surprinzător, dar în lotul 3 aderențe între implant și ansele intestinale nu au fost constatate (fig. 4.21. D), în 2 cazuri fiind observate câteva aderențe fine, ușor detașabile interintestinale.

La investigațiile histologice ale lotului 1 de studiu, la nivelul zonei de contact între grefa de pericard bovin și peritoneu a fost atestată pe arii extinse o zonă celulară din PMN cu elemente eozinofile în aria căreia s-au relevat reziduuri abrupte ale implantului cu o activitate de penetrare în țesutul implantului (Anexa 1.11. A), marginile reziduurilor manifestau prezența elementelor leucocitare cu activitate de fagocitare (Anexa 1.11. B).

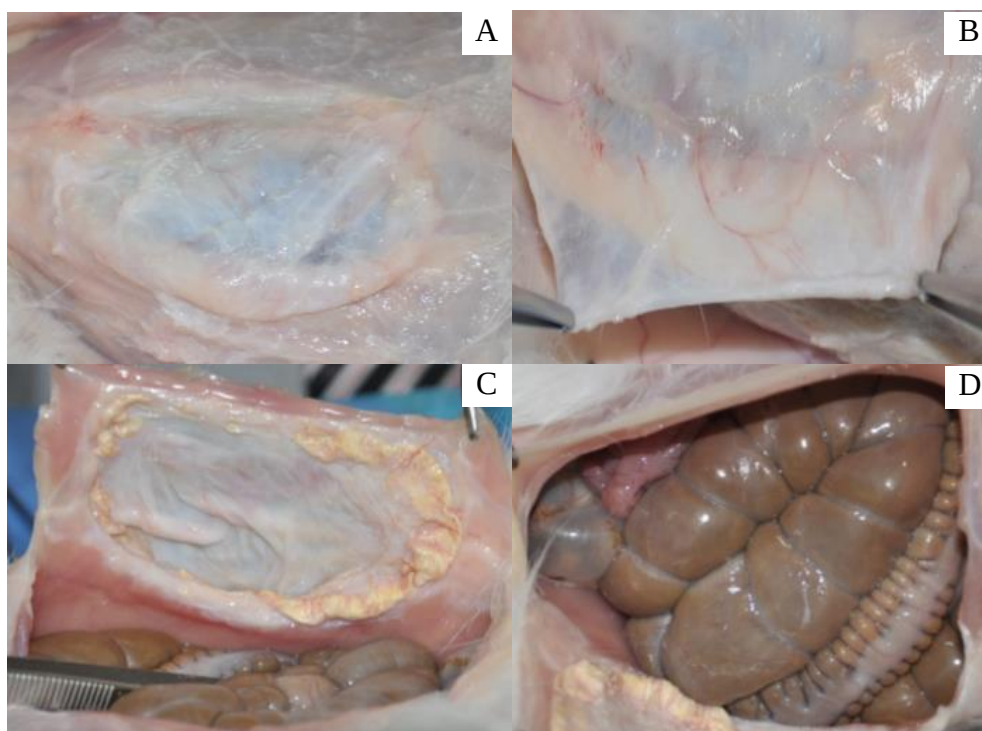


Fig. 4.21. A – aspectul macroscopic al suprafeței subcutanate a implantului; B – vase sanguine neoformate de pe suprafața implantului extins; C – suprafața peritoneală a implantului cu sectoare de culoare gălbuie în regiunea liniei de sutură, lipsa aderențelor între ansele intestinale și implant; D - aspectul conținutului abdominal fără proces aderențial.

Țesutul de neoformare de pe suprafața peritoneală adiacent buretelui leucocitar în divers raport era dotat cu elemente limfocitare, uneori macrofagale. La limita dintre buretelul leucocitar s-a constatat prezența proceselor inflamatorii exudativ necrotice cu activarea celor proliferative vasculare din partea granulațiilor fibro-vasculare (Anexa 1.11. C). O particularitate atestată în aceste cazuri a fost prezența abceselor acute abacteriene în zona granulațiilor fibro-vasculare de neoformare (Anexa 1.11. D).

Procesele inflamatorii cu PMN și procesele de degenerescență a grefei de implant s-au manifestat activ, cu excepția zonei componentei fibroase elastice unde predominau cu predilecție fibrele elastice relevând o activitate mult mai redusă (Anexa 1.11. E) În ce privește procesele regenerative ale țesuturilor gazdei, în special cele interstițiale conjunctive și musculare acestea relevau o histogeneză comparabilă normei, doar cu excepția că pe unele arii se atestau granulații fibrilar celulare excesive, în special la nivelul proceselor aderențiale. (Anexa 1.11. F).



În opinia noastră, procesele atestate în aceste cazuri tind spre cronicizarea procesului inflamator, o cauză fiind consolidarea redusă a implantului cu țesutul neoformat cu detașare și returnarea proceselor inflamatorii exudativ-necrolitice cu neoformarea granulațiilor noi, fapt ce caracterizează și particularitățile de reparare-regenerare per secundam.

În lotul 2 de studiu, la nivelul implantului putea fi atestată prezența manșetei conjunctive cu includerea în divers raport a reziduurilor de implant (fig. 4.22. A). Pe unele arii manșeta conjunctivă, care conținea țesut conjunctiv de neoformare, avea grosimi variabile, iar implantul putea conține microcalcifieri fiind observate reacții inflamatorii limfo-monocitare și macrofagale (fig. 4.22. B).

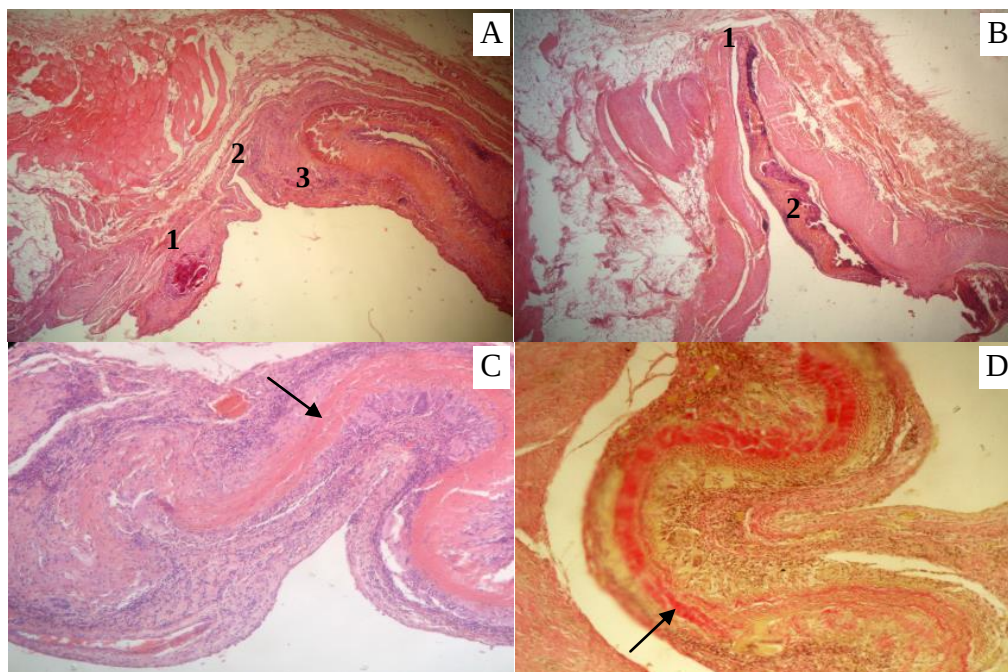


Fig. 4.22. A - zona de graniță: 1 - reziduu calcificat în zona peritoneală a gazdei; 2 - segmentul conjunctiv de consolidare; 3 - manjeta conjunctivă neoformată, implantul  $\times 25$ . Color. H-E; B - zona de graniță: 1 - segmentul conjunctiv de consolidare; 2 - grea cu manjetă conjunctivă  $\times 25$ . Color. H-E; C - grea de pericard bovin înglobată în manjetă de țesut conjunctiv vascularizat cu fenomene de degenerescență în agresivitate polimorfocelulară  $\times 25$ . Color. H-E; D - Implant cuprins în manjetă conjunctivă și proces inflamator cu simplaste polinucleare  $\times 25$ . Color. VG.

La nivelul zonei de contact, procesul inflamator manifesta un caracter mozaic mult mai accentuat la o distanță nesemnificativă de la linia de consolidare. Procesul inflamator era caracterizat de componenta celulară limfo-monocitară și macrofagală cu neoformarea simplastelor polimorfocelulare și în număr nesemnificativ PMN cu predilecție la marginea grefei de pericard bovin. La nivelul manșetei, în zona peritoneală frecvent a fost atestată o rețea sanguină bine diferențiată și ramificată (fig. 4.22. C). La nivelul stratului conjunctiv elastic (bogat în fibre elastice) procesele de degenerescență a grefei erau cu mult mai reduse (fig. 4.22. D).

La distanța de 1,5-2,0 cm de la linia de consolidare, inclusiv în zona centrală, grefa de pericard bovin manifesta aspecte de reziduuri în platouri sau în mici insulițe cu reacție granulomatoasă și prezența simplastelor polinucleare, fiind mai accentuate în prezența componentei conjunctiv-elastice (Anexa 1.12. A, B, C). În această perioadă (70 zile postoperator) reacțiile granulomatoase gigantomcelulare și reticulare marchează activitatea proceselor de resorbție a implantului, care se desfășoară asincron și în mozaic, pe unele arii la o distanță de 2 cm și zonele centrale fiind atestate doar prezența pulvirulentă a reziduurilor de implant sau lipsa acestora cu consolidarea pereților fostei manjete (Anexa 1.12. D, E, F).

Investigațiile histologice efectuate circumferențial la nivelul liniei de contact între implant (grefă de fascie bovină) și țesuturile gazdei și a unei zone în limitele de 1,5 cm în ambele părți au permis de a constata modificări variate, dar, comparativ cu lotul 1 și 2, cu o reducere semnificativă a procesului inflamator. Pe unele arii au fost observate prezența de reziduuri necrotizate de implant circumscrise în chenar de depuneri de calciu cu reacție perifocală granulomatoasă nesemnificativă (Anexa 1.13. A). Pe arii vaste, la linia de graniță s-a detectat lipsa implantului sau a calcifierii, fiind cert relevate două plasturi (fâșii) de țesut conjunctiv neoformat dens, cu predominarea plăcii peritoneale (Anexa 1.13. B), componenta conjunctivă fiind relevată mai bine în colorația cu picrofuxină (Anexa 1.13. C, D). Pe unele arii, depunerile de calciu purtau caracter răspândit, inclusiv în limitele de 1,5 cm de la linia de graniță, având aspecte de focare (Anexa 1.13. E) sau în platouri circumscrise de două plasturi conjunctive. Adiacent cu depunerile de calciu se atesta edem al peritoneului, iar uneori în focar prezența unor aderențe laxe celulare (Anexa 1.13. F).

În aspect mozaic, în lipsa calcificărilor și a reziduurilor de implant, în limitele preparatelor examinate au fost observate procese inflamatorii granulomatoase între plăcile conjunctive, inclusiv în aria țesutului conjunctiv de neoformare cu prezența simplaștilor celulari polinucleari (fig. 4.23. A). Procesele granulomatoase au fost atestate pe diverse arii la acest nivel din zona implantului printre fasciculi conjunctivi (fig. 4.23. B). Examinările morfopatologice efectuate în probele tisulare prelevate la distanța de > de 1,5 cm de la linia de suprapunere a implantului de fascie bovină cu țesuturile gazdei, în zona regională, pe o distanță de 2,5-3,0 cm nu au fost observate calcifieri, reziduuri de implant sau granuloame, lipsa ultimelor convingător demonstrând absența certă a elementelor acestui implant (fig. 4.23. C, D). Totuși, cu o discreție majoră s-a atestat prezența unui focar inflamator limfocitar-macrofagal cu simplaste unice la nivelul tunicii peritoneale neoformate, observat în proiecția microaderențelor menționate mai sus. Pe arii extinse a acestei zone s-a determinat prezența de țesut conjunctiv neoformat în două straturi bine diferențiate, unul mai dens, al doilea mai lax (fig. 4.23. D), peritoneul pe unele arii marcând o îngroșare nesemnificativă.

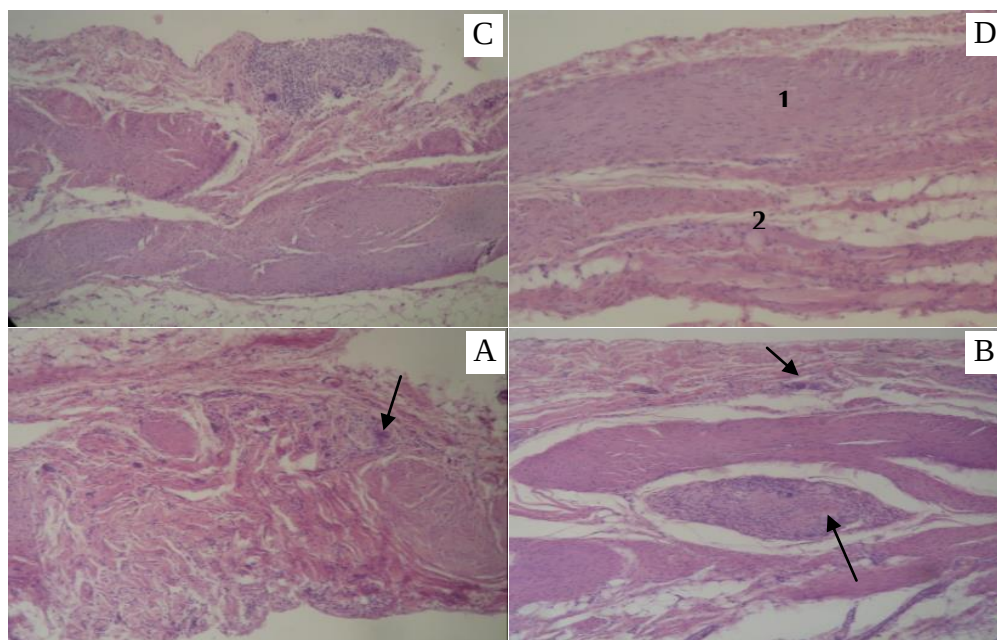


Fig. 4.23. A - simplaste gigante polinucleare disperse printre fasciculi de țesut conjunctiv  $\times 100$ . Color. H-E; B - granuloame cu simplaste polinucleare printre fasciculi fibrilari-conjunctivi la distanța de 1,3 cm de la frontieră  $\times 100$ . Color. H-E; C - microgranulom celular la nivelul peritoneului la distanța de 2,8 cm de la graniță  $\times 100$ . Color. H-E; D - plast conjunctiv de neoformație în două plăci conjunctive densă sub-peritoneală (1) și laxă sub celulo-adipoasă subcutană (2)  $\times 100$ . Color. H-E;

De menționat că placa conjunctivă dedublată manifesta o grosime variabilă pe diverse arii, atât ale ambelor plăci precum și asincron.

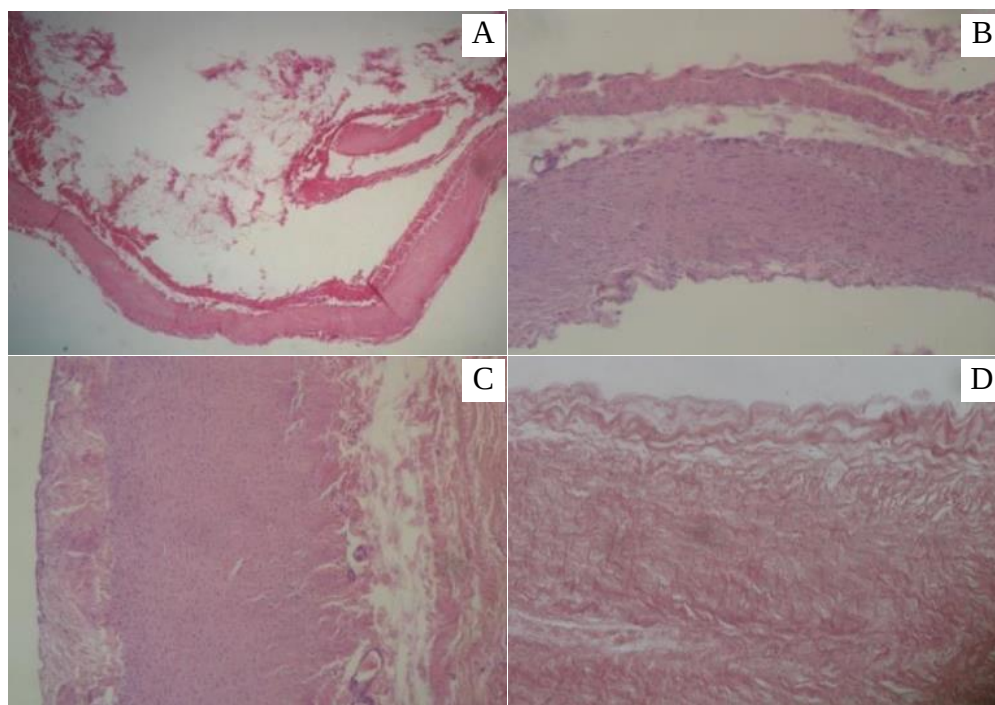


Fig. 4.24. A - aspect histomorfologic al plastului conjunctiv neoformat cu substituirea completă a implantului  $\times 25$ . Color. VG; B - placa conjunctivă neoformată în 2 plăci cu aspect celular diferențiat  $\times 100$ . Color. H-E; C - accentuarea tunicii peritoneale pe contul compoziției conjunctive aceluare  $\times 200$ . Color. H-E; D - accentuarea fibrelor elastice la nivelul tunicii peritoneale și a țesutului conjunctiv neoformat.  $\times 250$ . Color. cu orceină.



Examenul efectuat în probele prelevate din zona centrală din diferite direcții a relevat o placă conjunctivă fină de neoformație, bine diferențiată, conturată de peritoneu și țesut celulo-adipos subcutanat, constituită din 2 plăci, una mai groasă, mult mai densă și a doua mai subțire și mai laxă, delimitate prin țesut celulo-adipos dotat cu vase de calibru mediu și mic orientate magistral cu ramificații spre plăcile conjunctive (fig. 4.24. A). La amplificarea mai mare s-a atestat un țesut bine celularizat de fibrocyte mature și unele fibroblaste (fig. 4.24. B). Prezența componentei celulare accentuează prezența unui țesut neoformat benign bine stratificat fibrilar sau uneori persistarea aspectului haotic dar viabil funcțional în lipsa aspectelor cicatriciale.

În zonele unde s-a atestat îngroșarea tunicii peritoneale cu prezența aspectului tisular conjunctiv (fig. 4.24. C), în colorația cu orceină s-a atestat prezența țesutului conjunctiv elastic în abundență, ultimile pot fi luate în cont ca procese benigne ce pot avea loc, și nu ca procese displazice (fig. 4.24. D).

În cadrul evaluării statistice a proceselor morfopatologice s-a determinat că procesul detersiv nu prezintă o deosebire statistică ( $p > 0,05$ ) (Fig. 4.25 A), pe când nivelului PMN în lotul de studiu cu utilizarea pericardului bovin decelularizat a manifestat cel mai înalt grad ( $p \leq 0,05$ ), iar lotul martor prezintă cel mai redus grad de PMN ( $p < 0,05$ ) (Fig. 4.25 B). La studiul statistic al nivelului prezenței granulațiilor mature și imature în xenogrefele de pericard, peritoneu și fascie bovină prelucrate cu formaldehidă s-a constatat că nivelul granulațiilor în loturile 1 și 3 este similar, relevând o deosebire statistică la nivel de 5% ( $p < 0,05$ ) de loturile 2 și 4 (Fig. 4.25 C). La evaluarea statistică a nivelului remodelării fibroplastice s-a determinat că lotul martor prezintă un nivel înalt al acestui proces, deosebindu-se statistic ( $p < 0,05$ ) cu nivelul acestuia în loturile 1 și 2, pe când comparativ cu lotul 3 nu este relevată deosebire statistică ( $p > 0,05$ ), astfel, manifestându-se un nivel înalt al remodelării fibroplastice în lotul 3 (Fig. 4.25 D).

Conform datelor statistice morfopatologice s-a stabilit, că nivelul prezenței simplastelor gigantocelulare în loturile de studiu nu prezintă o deosebire statistică ( $p > 0,05$ ) (Fig. 4.25 E).

La evaluarea nivelului anormalităților țesutului neoformat în xenogrefele de pericard, peritoneu și fascie bovină prelucrate cu formaldehidă, s-a determinat un nivel redus de anormalități ale țesutului neoformat în lotul 3, care de rând cu lotul 4 (martor) se deosebesc cu suport statistic ( $p > 0,05$ ), de loturile 1 și 2 ce au prezentat un nivel înalt de anormalități.

Metodele standard de prelucrare cu formaldehidă au ca scop atenuarea răspunsului imun la xenogrefe, în același timp existând un risc sporit de oboseală a țesuturilor cu progresarea proceselor degenerative și calcificării, care se pot datora citotoxicității și modificărilor inflamatorii, aceste fenomene fiind constatate și de noi în utilizarea experimentală a grefelor de pericard bovin.

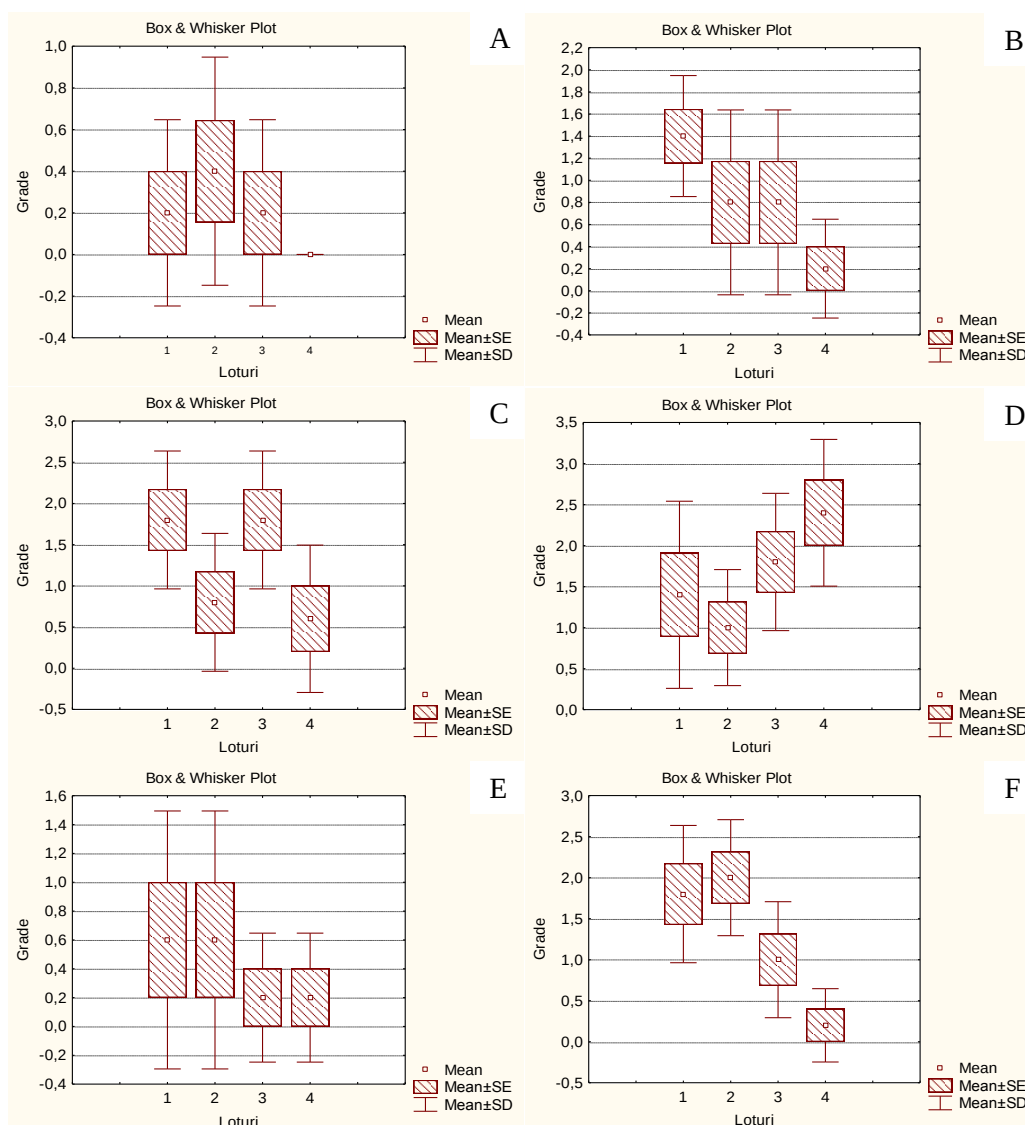


Fig. 4.25. Evaluarea statistică a proceselor morfopatologice în xenogrefele de pericard, peritoneu și fascie bovină prelucrate cu formaldehidă unde 1- lotul 1 (pericard bovin Formol), 2 – lotul 2 (peritoneu bovin Formol), 3 – lotul 3 (fascie bovină Formol), 4 – lotul martor; A – nivelul procesului deterisiv; B – nivelul PMN; C – nivelul țesutului de granulație; D – nivelul de remodelare fibroplastică; E – nivelul prezenței de simplaste gigantocelulare; F – prezența anormalităților țesutului neoformat

#### 4.5. Concluzii la capitolul 4

1. Procedul Bianchi permite o îmbunătățire evidentă a rezultatelor tratamentului în cazurile de gastroschizis fără o disproporție visceroabdominală semnificativă, pe când în formele de gastroschizis cu disproporție visceroabdominală metodele tradiționale sunt caracterizate de rezultate modeste.
2. Utilizarea grefei de pericard bovin induce procese inflamatorii exudativ-necrotice care au ca rezultat degenerescența treptată neuniformă a implantului, reacțiile gigantocelulare și reticulare marcând resorbția asincronă în mozaic a implantului.

Totodată, procesele regenerative în țesuturile gazdă sunt marcate de dezvoltarea țesutului interstițial conjunctiv și neovascularizare, modificările țesuturilor musculare relevând o histogeneză comparabilă normei, cu excepția unor arii în care se atestau granulații fibrilar celulare excesive, în special la nivelul proceselor aderențiale.

3. Evaluarea răspunsului celular în lotul 3 de studiu a permis de a conchide că utilizarea grefelor de fascie bovină este caracterizată de un proces inflamator redus și procese regenerative-constructive semnificativ mai avansate comparativ cu utilizarea grefei de pericard bovin, cu neoformarea unui țesut conjunctiv benign viabil bine stratificat și cu substituirea a 90-95% din grefa de fascie bovină implantată.
4. În cazurile de defecte fasciale majore ale peretelui abdominal anterior, grefa de pericard bovin dispune de o rezistență și biocompatibilitate acceptabilă, având proprietăți de stabilizare a peretelui abdominal datorate dezvoltării stratului de țesut conjunctiv localizat între implant și stratul subcutanat, aceste argumente fiind în favoarea utilizării acestei bioproteze în reconstrucția omfalocelului sau în herniile ventrale. În același timp există riscul de dezvoltare a procesului aderențial abdominal, determinând utilizarea limitată a acestui material biologic în procedeele de reconstrucție a peretelui abdominal cu substituția peritoneului, de exemplu în gastroschizis.
5. Grefa de fascie bovină prezervată în formaldehidă are acțiune iritantă și inflamatorie nesemnificativă asupra anselor intestinale comparativ cu pericardul bovin și nu induce dezvoltarea unui proces aderențial abdominal semnificativ, acest fapt permițând utilizarea ei în închiderea defectelor fasciale abdominale fiind plasată în contact direct cu conținutul abdominal.

## **5. EVALUAREA COMPARATIVĂ A POTENȚIALULUI DE REGENERARE ÎN UTILIZAREA UNOR XENOGREFE BOVINE DECELULARIZATE ÎN RECONSTRUCȚIA DEFECTELOR PERETELUI ABDOMINAL ANTERIOR ÎN MODEL EXPERIMENTAL**

### **5.1. Evaluarea *in vivo* a xenogrefelor aceluare de fascie bovină în reconstrucția defectelor peretelui abdominal în model experimental pe porci**

În literatura de specialitate sunt descrise multiple abordări de reconstrucție a defectelor peretelui abdominal, inclusiv tehnica de separare a componentelor, reconstrucții cu lambouri pediculare și libere, utilizarea implantelor sintetice și biologice etc., aceste metode având ca obiectiv principal protejarea conținutului abdominal și restabilirea suportului funcțional. Deși implanturile chirurgicale sintetice sunt capabile să asigure o biocompatibilitate și rezistență acceptabilă necesară în susținerea organelor cavității abdominale, utilizarea lor este asociată cu dezvoltarea unor efecte adverse, inclusiv incapsularea fibroasă, infecția, eroziuni, expulsia plasei, fistule, obstrucții intestinale etc. [293]. Intervențiile chirurgicale reconstructive cu utilizarea țesuturilor musculofasciale de la distanță sunt asociate cu o morbiditate postoperatorie, dereglări funcționale și deficiențe de volum a regiunii donatoare. Utilizarea implanturilor biologice constituie o abordare nouă, alternativă în reconstrucția și regenerarea țesuturilor moi cu rezultate promițătoare, care ar putea oferi o sursă accesibilă de țesuturi cu proprietăți adecvate [286]. Pentru a evita răspunsul inflamator advers, prezent în cazurile de utilizare a transplanturilor de organe, este necesară îndepărtarea eficientă a componentelor celulare și a structurilor antigenice, decelularizarea eficientă fiind extrem de importantă, indiferent dacă sursa este alogenă sau xenogenă. În acest context, actualmente în reconstrucția peretelui abdominal sunt disponibile mai multe grefe decelularizate (matrițe extracelulare) atât de origine umană (alogene), cât și de origine animală (xenogene), testarea proprietăților și eficacității acestor biomateriale fiind în permanentă atenție [193].

Scopul acestui studiu a fost în evaluarea fezabilității utilizării fasciei bovine în substituția experimentală a planului fascial cu scop de reconstrucție în defectele majore ale peretelui abdominal anterior în model experimental.

Lotul de studiu cu utilizarea grefelor decelularizate de fascie bovină a fost efectuată pe porci de rasă Landrace cu vârsta de 5 săptămâni (3 animale), la care a fost indus chirurgical defectul peretelui abdominal de dimensiuni 10 x 5,0 cm cu implicarea tuturor straturilor, inclusiv a peritoneului, ulterior, animalele au fost eutanaziate după 90 zile de la intervenție.

În lotul de animale experimentale nu au fost constatate complicații postoperatorii sau cazuri de hernie incizională ventrală. În toate cazurile plaga postoperatorie s-a cicatrizat primar. În procesul de mobilizare, în regiunea defectului peretelui abdominal închis cu grefă

decelularizată de fascie bovină s-a atestat o zonă de țesut fibros dens acoperit cu țesut adipos (fig. 5.1. A).

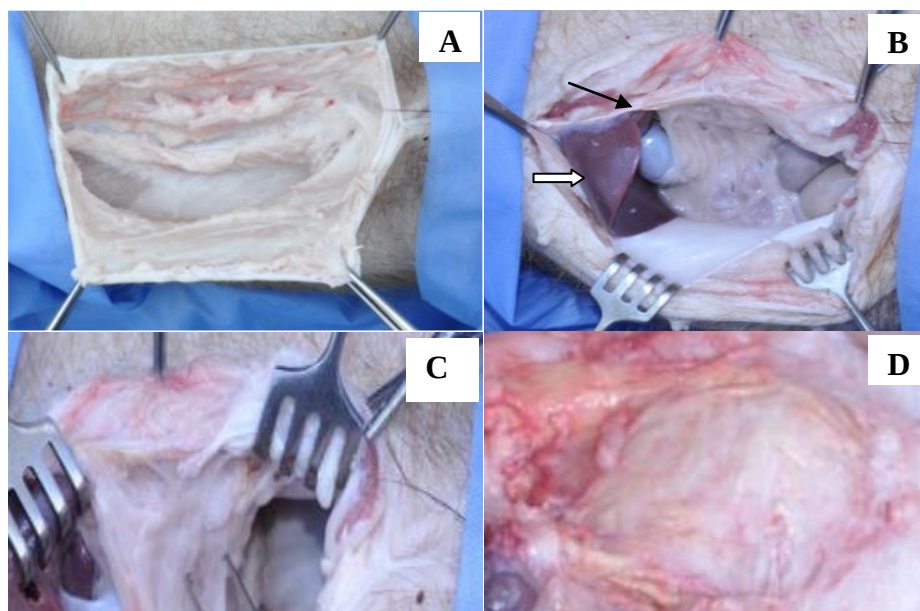


Fig. 5.1. Aspectul macroscopic al suprafeței externe a zonei de reconstrucție a defectului peretelui abdominal cu grefă decelularizată de fascie bovină: A – până la deschiderea cavității peritoneale; B, C – aderarea omentului la suprafața internă a implantului; D – aspectul macroscopic al suprafeței interne a implantului după detașarea omentului.

Zone slabe sau dehiscența liniei de sutură nu s-au constatat. La deschiderea cavității peritoneale s-a determinat aderarea omentului la suprafața internă a implantului (fig. 5.1. B, C), care ușor putea fi desprins (fig. 5.1. D).

Examenul macroscopic al piesei de rezecție excizată lateral în limitele la 2 cm de la linia de sutură (fig. 5.2. A) a permis de a constata o zonă de țesut conjunctiv acoperită de țesut grasos cu prezența musculaturii la periferie. Suprafața internă avea o nuanță pal gălbuie neuniformă, cu aderențe fine ale ometului (fig. 5.2. B). În secțiune perpendiculară pe suprafață putea fi atestată o grosime de 2,4 - 2,7 cm a zonei conjunctive (fig. 5.2. C)

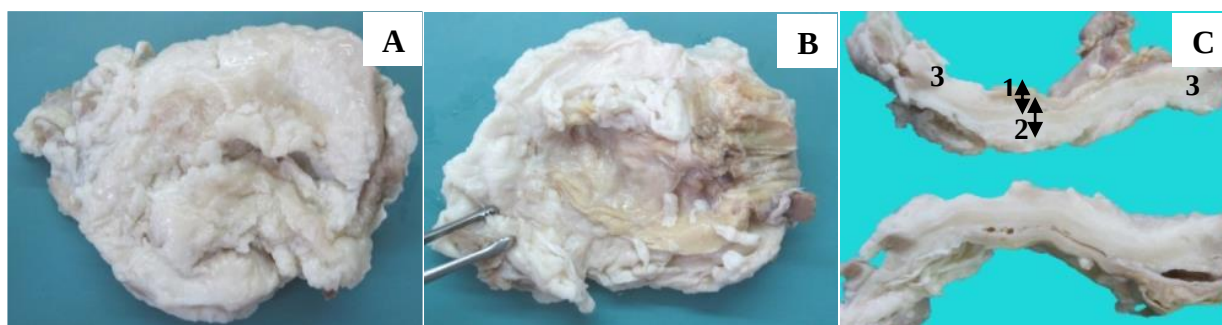


Fig. 5.2. Aspect macroscopic al suprafeței externe a implantului (A), suprafeței interne (B) și în secțiune transversală (C): 1 - zona conjunctiv-fibroasă cu elemente de grefă; 2 - țesut grasos; 3 - țesut muscular



Examenul histologic al pieselor prelevate la linia de frontieră între implant și țesuturile gazdei a relevat un tablou variat manifestat prin prezența grefei de fascie parțial înglobată în țesut conjunctiv neoformat și în țesut celulo-adipos secundat de prezența unui proces inflamator polimorfocelular cu predilecție limfocitar, cu neoformarea structurilor pseudofoliculare limfoide. La nivelul țesutului conjunctiv s-a observat o calcinoză a implantului (fig. 5.3. A.), controlateral fiind atestate semne de alunecare a implantului, în aceste zone fiind detectate procese fibroze, iar din partea suprafeței externe fiind observat prezența unui plast celular conjunctiv neoformat matur (fig. 5.3. B).

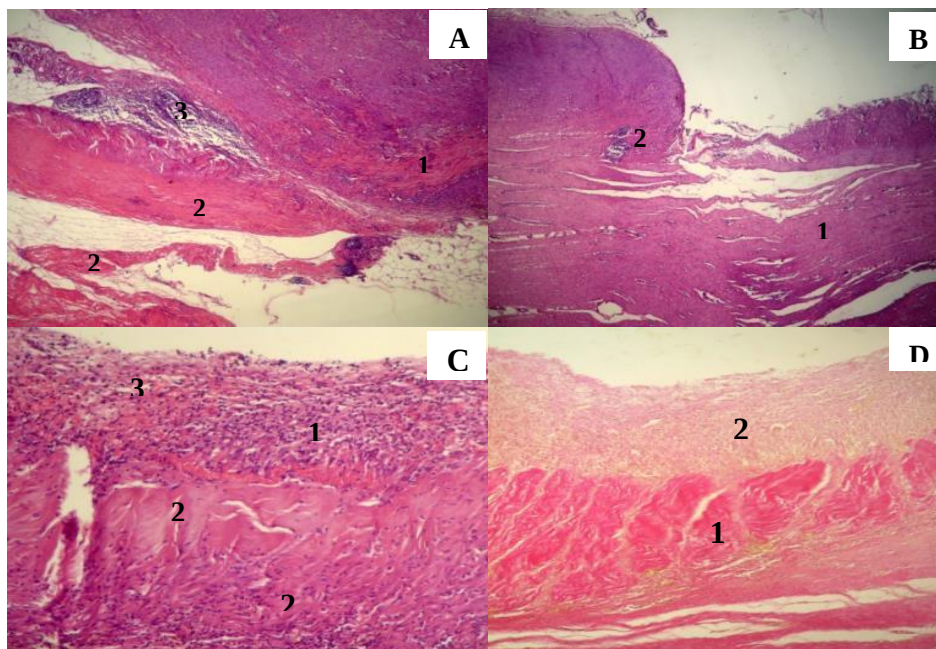


Fig. 5.3. A - zona de frontieră cu prezența grefei de implant în aria țesutului conjunctiv neoformat (1); 2 - plaste de grefă în aria țesutului adipos neoformat; 3 - structuri pseudofoliculare limfoide; B - zonă de frontieră unde lipsesc elementele de implant: 1 - țesut conjunctiv neoformat; 2 - infiltrate mici limfocitare în aria țesutului neoformat; C - reziduri de implant înglobate în țesut conjunctiv neoformat: 1 - rezid de implant agresat de simplaste celulare polinucleare; 2 - țesut conjunctiv neoformat cu o zonă din fibre de collagen; 3 - țesut conjunctiv zona peritoneală cu elemente polimorfocelulare; D - zonă conjunctivă externă cu prezența fibrelor colegenizate (1) și zona internă a țesutului conjunctiv neoformat bogată în elemente celulare

La distanțe nesemnificative de la frontieră au fost constatate reziduuri ale implantului incrustate în țesut conjunctiv neoformat hiper celularizat, care conținea fibroblaste, elemente monocitar-macrofagale și simplaste, acestea fiind direcționate spre reziduurile de implant și având o contribuție semnificativă în distrucția lor (fig. 5.3. C). La nivelul țesutului neoformat a fost observată o zonă de țesut collagenizat (fig. 5.3. D). În unele arii a fost atestată incrustarea implantului în masa de țesut conjunctiv neoformat, care avea un caracter mult mai fibrozant spre suprafața externă comparativ cu zonele interne direcționate spre cavitatea peritoneală. Deseori

putea fi observat aspectul șerpuitor al implantului, care, probabil se poate datora în rezultatul întreruperii lui în zonele centrale și excentrice (Anexa 1.14. A).

În toate probele investigate, la diferite nivele, pe proiecția implantului în masa țesutului neoformat se atestau reziduuri de implant agresate de componentul celular polimorfocelular și de simplaste celulare polinucleare, fapt ce pledează pentru o diversă reactivitate celulară inflamatorie cu prezența unei fibrogeneze latente, periodice (Anexa 1.14. B, C, D). Adiacent, în aria țesutului conjunctiv erau prezente structuri pseudo-foliculare și foliculare limfoide. Modificările respective au avut un aspect mozaic și haotic, inclusiv pe toată aria. Într-un caz, în ariile orientate spre suprafața internă au fost observate zone de aderențe cu suprafața ficatului și zone de calcinoză ale implantului (Anexa 1.14. E).

Rolul de bază al biomaterialelor folosite în chirurgia reconstructivă este de a oferi un suport mecanic temporar și dezvoltarea unui țesut de regenerare de mărime și formă controlată [72]. Ideal, materialul biologic ar trebui să aibă proprietăți mecanice adecvate aplicabilității dorite, rezistență la infecție după implantare, să dispună de proprietăți de remodelare cu țesutul gazdă, cu proprietăți mecanice și biologice identice cu cele ale țesutului lipsă, să dispună de proprietăți de revascularizare și infiltrare cu celule, elasticitate etc. Mai multe studii au constatat că implanturile biologice, provenite din diferite surse, contribuie la îmbunătățirea regenerării țesuturilor prin revascularizare, migrație de leucocite și repopulare celulară, astfel având un rol benefic în reconstrucția peretelui abdominal, minimizându-se teoretic complicațiile asociate cu utilizarea materialelor sintetice [68].

În literatura de specialitate există multiple comunicări care descriu eficiența unor materiale biologice derivate din diferite surse: umane, porcine sau bovine [138]. Dintre materialele biologice de origine umană, utilizarea matriței aceluare dermale umane (AlloDerm) reprezintă opțiunea cea mai răspândită în reconstrucția defectelor peretelui abdominal, inclusiv a celor congenitale [272].

Au fost constatate anumite performanțe și în cazurile de utilizare a grefelor biologice xenogene, inclusiv: colagenul dermic porcine (Permacol) [135], matriță porcine de submucoasă intestinală (Surgisis) [57], matriță aceluare dermală porcine [278], pericardul aceluare bovin [186], matriță aceluare dermală bovină etc. [314].

În literatura de specialitate sunt puține studii care prezintă rezultatele utilizării grefelor de fascie ca potențial material biologic în chirurgia reconstructivă, mai frecvent fiind evaluat materialul autolog de fascie lată umană [93]. Xenogrefele de fascie bovină nu sunt descrise pe larg ca potențial material biologic, existând studii experimentale unice, care au comunicat despre utilizarea acestora în reconstrucția defectelor musculare și peritoneale induse experimental,

constatând că acest material biologic posedă o toleranță bună, durată de resorbție lungă și poate fi utilizat cu scopuri clinice [166].

Rezultatele acestui studiu experimental permit de a conchide că implantul decelularizat de fascie bovină este caracterizat de o reacție inflamatorie polimorfă, preponderența spectrului celular indicând la dominarea proceselor de regenerare activă cu remodelarea țesuturilor și invadarea celulelor gazdă, țesuturile implantului xenogen fiind supuse unei degradări treptate și substituite cu țesut conjunctiv neoformat al gazdei.

## **5.2. Particularitățile de regenerare tisulară a xenogrefelor decelularizate de pericard bovin utilizate în reconstrucția defectelor peretelui abdominal anterior în model experimental**

Pericardul bovin reprezintă un țesut biologic bogat în collagen, utilizat pe scară largă ca biomaterial natural în modelarea unei varietăți de bioproteze în chirurgia cardiovasculară [183, 206], în chirurgia reconstructivă a defectelor țesuturilor moi și în defectele complexe ale peretelui abdominal [186].

Îndepărtarea componentelor celulare din grefele biologice cu păstrarea matricei extracelulare permite o remodelare tisulară mai bună datorită antigenității reduse, proceselor de degradare ale grefei, recelularizarea cu celulele gazdei, formării unei matrice extracelulare noi și neovascularizării [235]. Deși utilizarea implantelor biologice decelularizate reprezintă o performanță în chirurgia reconstructivă, interacțiunea de lungă durată a acestor biomateriale xenogene cu țesuturile locale și sistemele fiziologice ale pacientului, precum și procesele de regenerare induse de acestea nu sunt elucidate. Posibilitatea de a prevedea biocompatibilitatea și consecințele nedorite ale acestor grefe biologice pot reduce la minimum riscul pentru pacient, ceea ce a și determinat actualitatea temei abordate [235].

Scopul prezentului studiu a fost evaluarea potențialului de regenerare al grefelor decelularizate de pericard bovin utilizate ca opțiune de închidere a defectelor peretelui abdominal în model experimental.

Lotul de studiu a fost constituit din porci de rasă Landrace supuși operațiilor reconstructive a defectelor congenitale ale peretelui abdominal (lotul 1 – 3 animale) și a defectului total al peretelui abdominal creat chirurgical (cu implicarea tuturor straturilor, inclusiv a peritoneului) cu pericard bovin decelularizat (lotul 2 – 3 animale). Animalele au fost eutanaziate și investigate peste 30 zile (3 animale) și 90 zile de la intervenția chirurgicală (3 animale).

În lotul 1 de studiu nu s-au înregistrat complicații postoperatorii, inclusiv hernii incizionale ale peretelui abdominal anterior. În toate 3 cazuri plăgile postoperatorii s-au cicatrizat primar (fig. 5.4. A). După mobilizarea suprafeței externe a zonei de aplicare a grefei de pericard

bovin nu au fost constatate bombări, zona dată fiind destul de compactă din contul țesutului fibros pe care s-a dezvoltat țesut adipos (fig. 5.4. B).

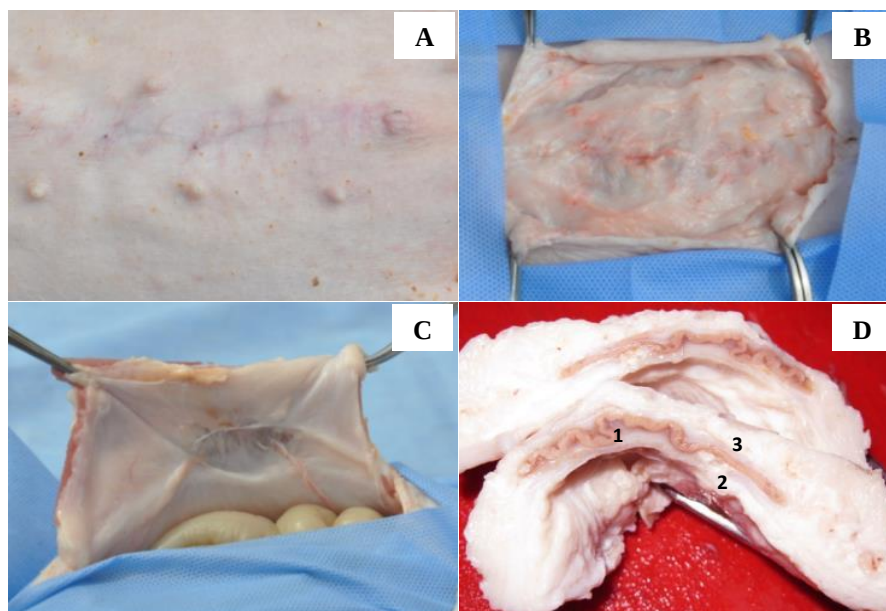


Fig. 5.4. A – aspectul cicatricii postoperatorii, B – aspectul macroscopic al zonei externe a regiunii de aplicare a impantului de pericard bovin; C – aspectul macroscopic al suprafeței peritoneale a regiunii de aplicare a impantului de pericard bovin; D - regiunea implantului (macropreparat): 1 - .grafa de implant; 2 - zona internă conjunctivă peritoneală; 3 - zona externă conjunctivă celulo-adipoasă.

La deschiderea cavității abdominale nu s-au depistat aderențe (fig. 5.4. C). La revizia macroscopică, grefa se prezenta ca o fâșie deformată, ondulată, de culoare cafeniu-pal, mai accentuată la margini, cuprinsă de țesut conjunctiv, mai exprimat din partea peritoneală (fig. 5.4. D).

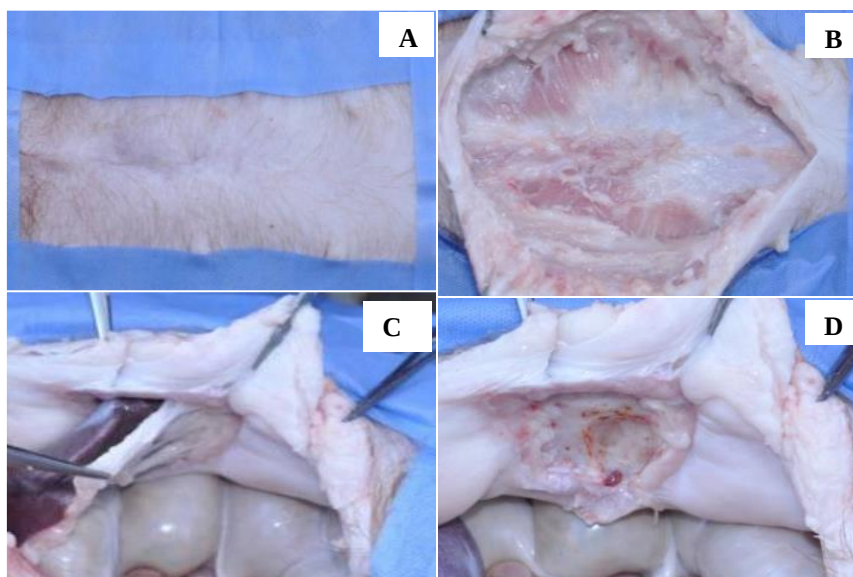


Fig. 5.5 Aspectul macroscopic al zonei de aplicare a grefei de pericard bovin acelar în timpul sacrificării (explicații în text).



În lotul 2 de studiu careva complicații nu au fost înregistrate, plaga postoperatorie cicatrizându-se primar (fig. 5.5. A, B). La deschiderea cavității abdominale s-a constatat aderarea lobului stâng al ficatului la regiunea inciziei operatorii (2 cazuri), în toate 3 cazuri omentul fiind aderat intim la suprafața internă a implantului.

În cavitatea abdominală nu au fost observate aderențe interintestinale (fig. 5.5. C). După detașarea omentului de la suprafața internă a implantului au fost observate puncte de hemoragie (fig. 5.5. D).

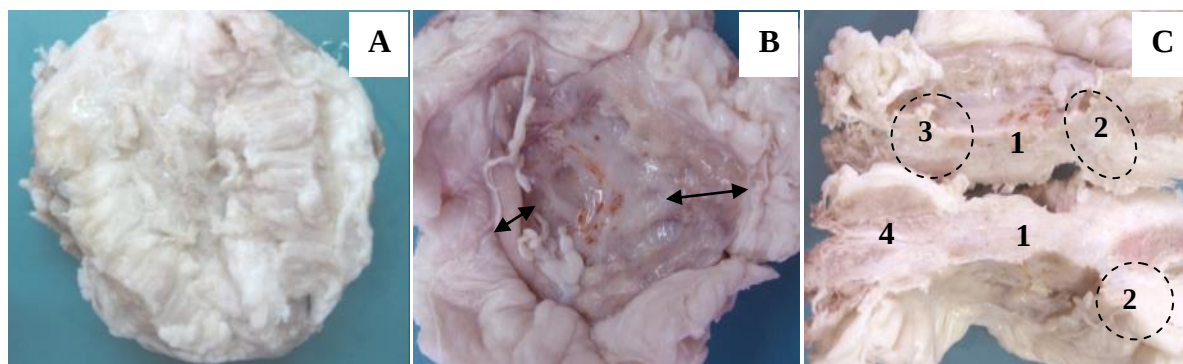


Fig. 5.6 Aspect macroscopic al piesei rezecționale a zonei de aplicare a grefei de pericard bovin acelular; A - suprafața externă: 1 - platoul conjunctiv-fibros; 2 - țesut muscular; B - suprafața internă cu aspect de burelet osificat; C - implantul în secțiune perpendiculară: 1 - platoul conjunctiv-fibros; 2 - zona osteogenă în burelet; 3 - zona osteocartilaginoasă în platou; 4 - țesut muscular.

După rezecția circulară a zonei de aplicare a implantului, la examenul macroscopic s-a constatat că suprafața externă este dominată de țesut fibros dur elastic (fig. 5.6. A). Suprafața internă a implantului se prezenta sub formă de placă dură, trabeculară, cu focare mici de hemosideroză. La periferie era prezent un burelet incomplet de grosime variabilă (0,2-0,6 cm), care avea consistență dură (osoasă) care corespundea limitelor liniei de sutură cu o lățime de 0,5-1,3 cm (2 cazuri) sau chiar 2,3 cm (1 caz) (fig. 5.6. B). În secțiune, zona implantului avea o grosime de 1,7 - 2,5 cm, la nivelul bureletului având aspect spongios (fig. 5.6. C).

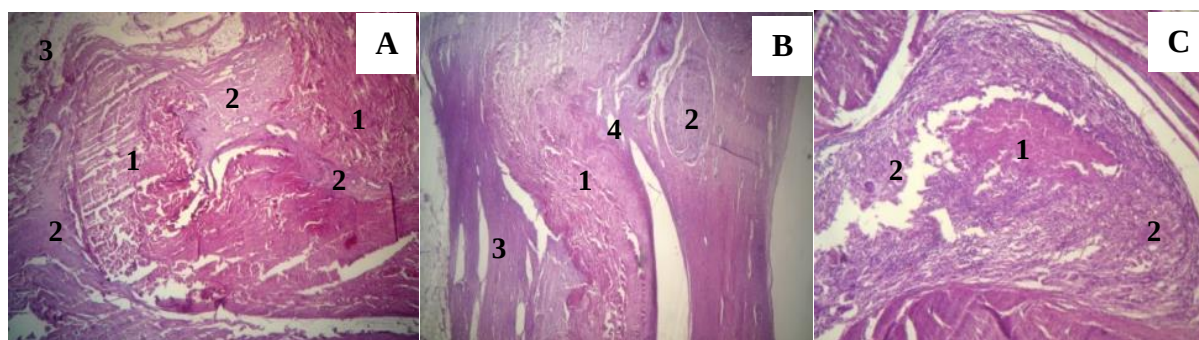


Fig. 5.7. A - regiunea de frontieră: 1 - grefa de implant; 2 - zona internă conjunctivă peritoneală; 3 - zona externă conjunctivă celulo-adipoasă; B - regiunea marginală: 1 - grefa de implant; 2 - granuloame din simplaste gigantocelulare polinucleare, inclusiv cu calcinoză; 3 - țesut conjunctiv fibrilar neoformat; 4 - zona de penetrare proliferativă a componentei fibrilar celulare a implantului; C - structura granulomului: 1 - elemente necrotizate în aria granulomului; 2 - țesut granulomatos din simplaste gigantocelulare, component macrofagal-limfocitar și fibrilar-conjunctiv.



Rezultatele examenului histologic efectuat în lotul 1 de studiu au permis de a constata că la capete grefa era cuprinsă de țesut conjunctiv fibros vascularizat. La limita dintre grefă și țesutul propriu se observa prezența unei reacții invazive focale sau zonale fibrilar-celulare, cu predominarea fibroblastelor din partea țesutului conjunctiv neoformat și cu penetrare în divers raport în marginile grefei (fig. 5.7. A). La acest nivel s-au evidențiat și modificări granulomatoase, cu predilecție din partea zonei peritoneale, de diverse dimensiuni, cu simplaste celulare polinucleare, unele cu necroză în centru, altele cu calcinoză. Frecvent în aria granuloamelor s-au atestat fragmente de țesut asemănător cu grefa (fig. 5.7. B, C).

La nivelul de interacțiune activă a țesutului-gazdă neoformat cu grefa de implant s-a atestat din partea grefei o zonă de degenerescență de tipul distrofiei în picături de hialină, asociată cu degenerescență necrotică și invadarea componentei celulare fibroblastice (Anexa 1.15.).

Concomitent cu activitatea proliferativă fibroblastică s-a atestat prezența elementelor limfocitare și monocitare, macrofagelor, inclusiv proliferarea componentei endoteliocitare vasculare. Fibrele implantului au suportat modificări de intumescență (fig. 5.8. A). La acest nivel, pe unele arii, s-a observat o intensitate diversă a componentei celulare polimorfe, cu prezența în proporție diferită a simplastelor gigantomcelulare polinucleare cu aspecte de înglobare fagocitară a picăturilor de hialină (fig. 5.8. B, C, D).

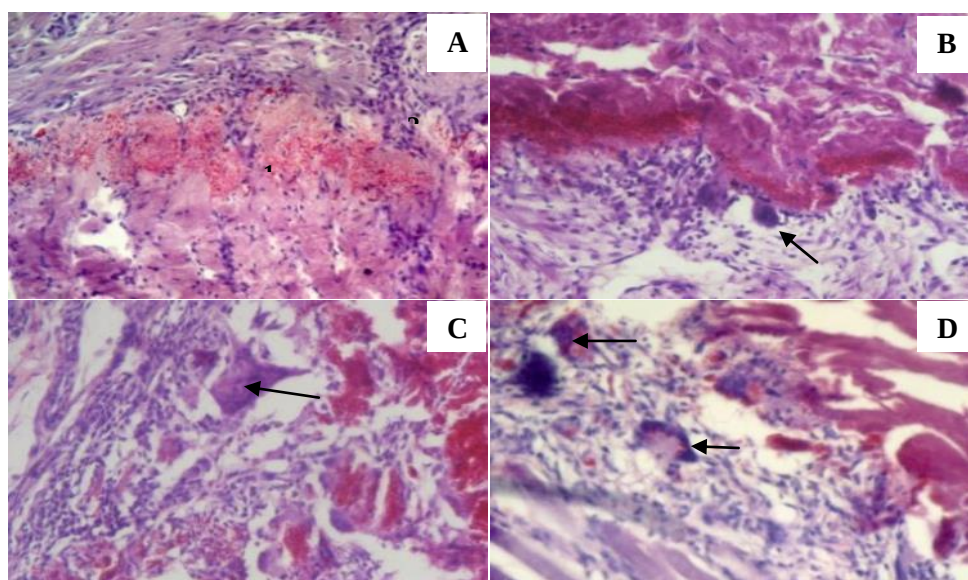


Fig. 5.8. A - zona de interacțiune grefă-țesut-gazdă: 1 - grefa cu intumescență și degenerescență hialină; 2 - procese proliferative penetrante fibrilar fibrocelulare și celular mixte; B - reacție gigantomcelulară la linia de intersecție a țesuturilor; C - focare de degenerescență hialină invadate de component celular polimorf cu formarea simplastelor gigantomcelulare de origine macrofagală cu înglobarea hialinei; D - simplaste macrofagale cu gigante polinucleare căptușite cu picături de hialină.

Rezultatele examenului histologic, efectuat în toate 3 cazuri de utilizare a grefei decelularizate de pericard bovin în reconstrucția defectelor totale ale peretelui abdominal

inclusiv celui peritoneal (lotul 2), au permis de a constata că la 90 zile de la operație celulele inflamatorii practic au dispărut.

În același timp au fost puse în evidență procese proliferative ale țesutului fibros cu orientare haotică sau orientare în cordoane conjunctive. În toate 3 cazuri au fost depistate focare caracteristice de metaplazie cartilaginoasă și osoasă manifestate prin sectoare hipercelularizate, cu prezența fibroblastelor și a unor insulițe de țesuturi cartilaginoase și trabecular imature, plasturi de țesut osos trabecular în proporții diferite în zona dintre grefă și țesuturile gazdei, care uneori puteau fi observate și în zonele centrale (fig. 5.9).

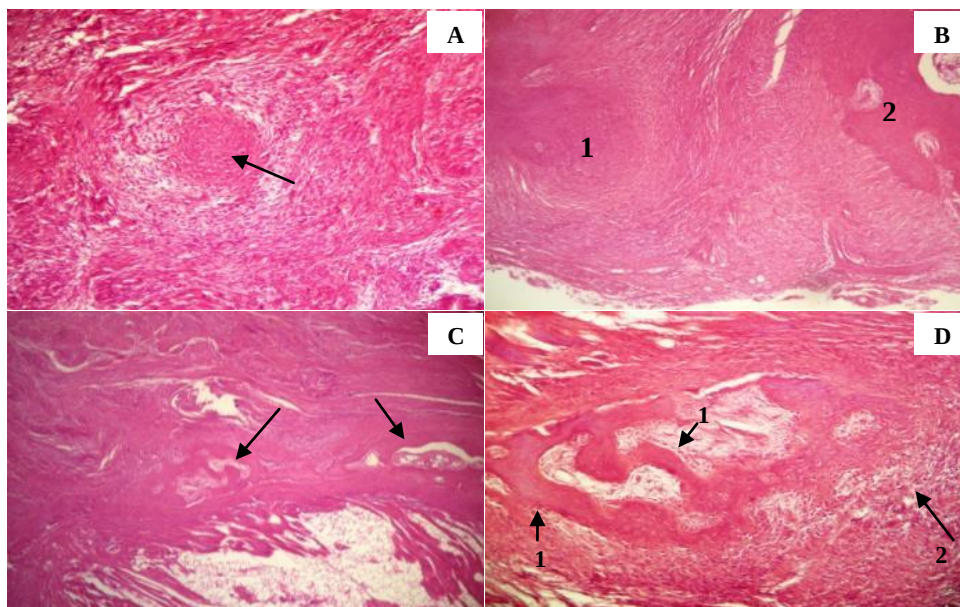


Fig. 5.9. A - insulă de cartilaj mezenchimal imatur în masa de țesut conjunctiv fibroblastic localizată la 2,5 cm de la zona de frontieră dintre țesuturi; B - insulă de cartilaj mezenchimal imatur în masa de țesut conjunctiv (1) și placă osoasă trabeculară imatură (2) în zona adiacentă bureletului de la linia frontierei; C - zonă la 1,2 cm de la burelet unde se depistează plăci de os trabecular imatur la limita cu țesutul gazdei; D - insulă osteogenă trabeculară imatură înconjurată de celule de origine osteoblastică (1) și fibroblastică (2) .

La nivelul bureletului și în zona subiacentă grefei de pericard bovin, într-un caz au fost atestate plăci osteogene mature de tip osteoid cu aspect trabecular aleatoriu cu diminuarea elementelor osteoblaste la nivel trabecular și periinsular, unde țesutul conjunctiv a devenit mult mai dens, formând o fâșie periostică (Anexa 1.16. A). În 2 cazuri, țesutul neoformat patologic se prezenta pe alocuri printr-o componentă osteocartilaginoasă (Anexa 1.16. B), sau, uneori, printr-o placă osteogenă trabeculară, care putea atinge în proporție diferită zona centrală a implantului xenogen (Anexa 1.16. C), câmpurile intertrabeculare fiind căptușite cu țesut adipos acelular. În zonele centrale ale implantului frecvent puteau fi observate platouri de țesut conjunctiv cu aspect de cordoane orientate haotic cu fascicule colagene în asocieri cu țesut mezenchimal (Anexa 1.16. D, E, F).



În 2 cazuri, în bioptatele prelevate din zonele centrale spre suprafața internă (peritoneală) au fost atestate focare de hemosideroză (fig. 5.10. A). Pe unele sectoare, corespunzătoare aspectului lacunar a fost constatată o stratificare a țesutului conjunctiv, dinspre peritoneu, marcând un aspect lax cu fascicule neurovasculare distanțate, pe când din partea suprafeței externe era mult mai dens cu aspecte proliferative a fibroblastelor (fig. 5.10. B). În unele probe din aria zonei centrale au fost observate platouri de țesut conjunctiv lax în aria celui dens, la periferie cu infiltrat limfocitar, uneori cu neoformarea structurilor pseudofoliculare și prezența hemosiderozei (fig. 5.10. C) În toate cazurile, la o distanță de până la 2,2 cm de la linia de frontieră, țesutul peritoneal era constituit din țesut conjunctiv matur, limitat în divers raport de țesut adipos. (fig. 5.10. D).

În pofida progreselor relevante în cazurile de utilizare a grefelor decelularizate de pericard bovin au fost constatate și unele complicații cum ar fi deteriorarea matricei biologice și degenerarea țesuturilor determinate de calcificarea implanturilor. Rezultatele noastre sunt în concordanță cu datele publicate de unii autori, care au constatat dezvoltarea focarelor de metaplazie osteocartilaginoasă în perioada postoperatorie tardivă în cazurile de utilizare a xenogrefelor decelularizate de pericard bovin prezervate în glutaraldehidă în operațiile reconstructive ale vaselor magistrale în studii experimentale pe animale.

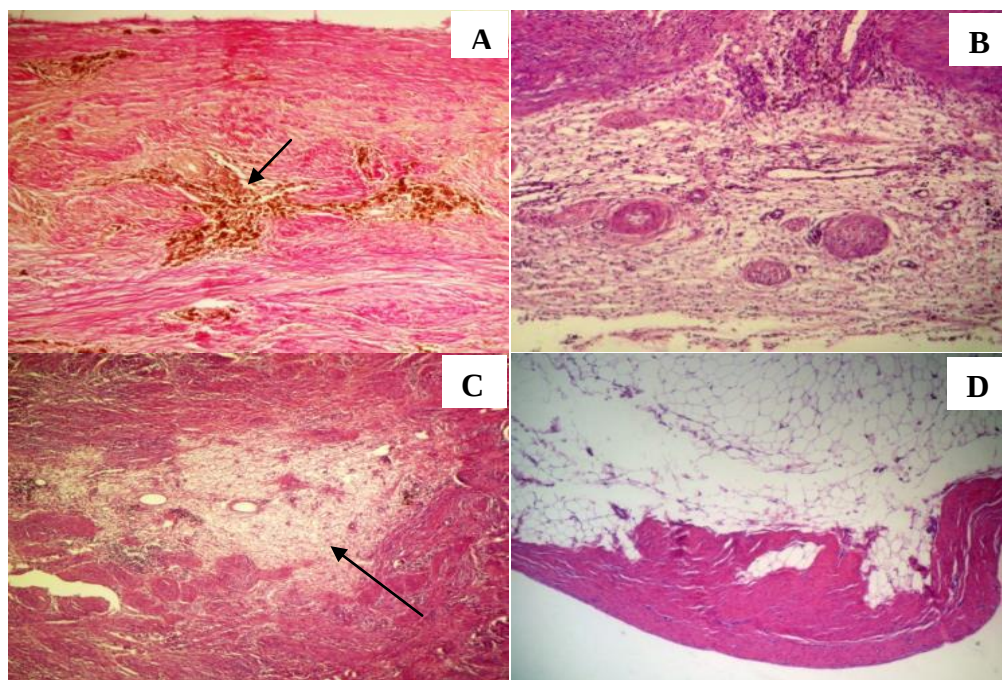


Fig. 5.10. A - zona medială cu hemosideroză micromacrofocală; B - țesut conjunctiv spre zona peritoneală și compact spre suprafața externă, fascicule neurovasculare distanțate; C - platouri de țesut conjunctiv lax mezenchimal pătruns de rețea vasculară; D - aspectul structural al peritoneului la distanță.

Metaplazia condroidă și/sau osoasă este considerată de unii autori o modificare reversibilă cu implicarea fibroblastelor și miofibroblastelor, având ca una dintre cauze ischemia. Așadar,

grefa acelulară de pericard bovin se caracterizează prin rezistență și durabilitate, favorabil pentru reconstrucția defectelor majore ale peretelui abdominal. În cadrul proceselor regenerativ-reparatorii ale grefelor de pericard bovin acelular utilizate în reconstrucția defectelor totale ale peretelui abdominal, de rând cu procesele de fibrogeneză, au loc și procese de metaplazie cu diferențiere în condroblaste ce induc neoformarea focarelor de cartilaj în implantul biologic, care, ulterior funcționează ca un factor de osificare encondrală cu formarea focarelor de osteogeneză și osificare trabeculară. Rezultatele obținute impun necesitatea unor studii suplimentare pentru a clarifica rolul acestor modificări în dezvoltarea unor potențiale complicații postoperatorii la distanță.

### 5.3. Evaluarea fezabilității peritoneului parietal bovin decelularizat în reconstrucția defectelor peretelui abdominal. Studiu experimental.

Testarea peritoneului heterogenic în reconstrucția peretelui abdominal a fost efectuată la sfârșitul anilor 60 ai secolului trecut. Ulterior, unele studii au constatat rolul de protecție a acestui material biologic împotriva aderențelor locale [299]. Există studii experimentale care încurajează utilizarea tunicii vaginale parietale bovine în calitate de implant în practica clinică [41].

Scopul studiului a fost de a evalua eficiența grefelor decelularizate de peritoneu bovin în reconstrucția a defectelor complete de perete abdominal în model experimental pe porci.

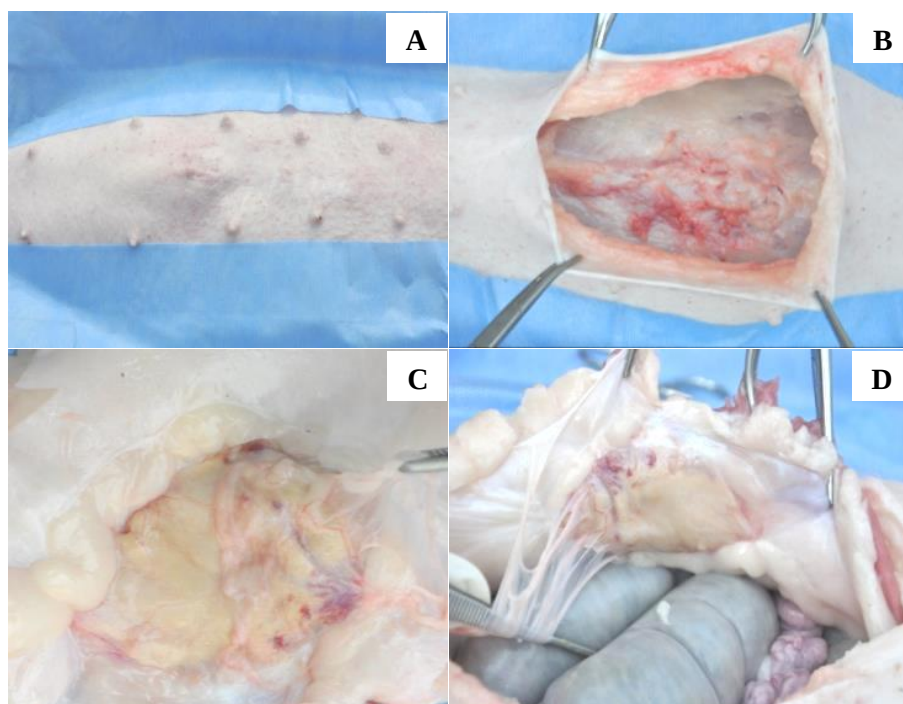


Fig. 5.11. A – aspectul cicatricii zonei de incizie a peretelui abdominal anterior; B – aspectul suprafeței exterioare a implantului; C – aspectul suprafeței peritoneale a implantului; D – zona implantului cu aderarea epiploonului.

Studiul dat a fost efectuat pe 4 porci de rasa *Landrace* cu masa  $21 \pm 1$  kg, sacrificați la a 90-a zi post-implantare. Toate animalele au supraviețuit după operația de reconstrucție a defectului complet al peretelui abdominal, perioada postoperatorie evoluând fără complicații. Plaga postoperatorie s-a cicatrizat primar (fig. 5.11. A). Cazuri de dezvoltare a herniilor incizionale nu au fost constatate (fig. 5.14. B), xenogrefa biologică aderând intim la țesuturile înconjurătoare (fig. 5.11. C). La deschiderea cavității abdominale s-a constatat aderarea sectorială a omentului la grefă. Careva aderențe interintestinale sau aderarea anselor intestinale la grefa de peritoneu bovin nu au fost observate (fig. 5.11. D). Nu au fost constatate nici dezvoltarea fistulelor intestinale.

Macroscopic, suprafața externă subcutană a implantului era acoperită de țesut celulo-adipos (fig. 5.12. A). Linia de aplicare a suturilor în toate cazurile a fost ermetică, intactă. Suprafața internă a implantului era zonal netedă, cu rețea vasculară moderat accentuată și țesuturi celulo-adipoase fibrilare, care formau o suprafață lacunară-granulară. Peritoneul adiacent fiind lucios (fig. 5.12. B). În secțiune, zona implantului era caracterizată de grosimi mai diminuate, cu o consistență variată dur-elastică sau dură, având aspect stratificat. La periferie, la nivelul aplicării suturilor, parțial avea o consistență elastică pe alocuri dură, iar pe unele arii la secționare puteau fi atestate zone de o duritate osteo-cartilaginoasă sau pseudocalcifiantă (fig. 5.12. C), modificările respective fiind atestate segmental pe circumscripția grefei, respectiv manifestau un aspect mai cărămiziu (fig. 5.12. D ).

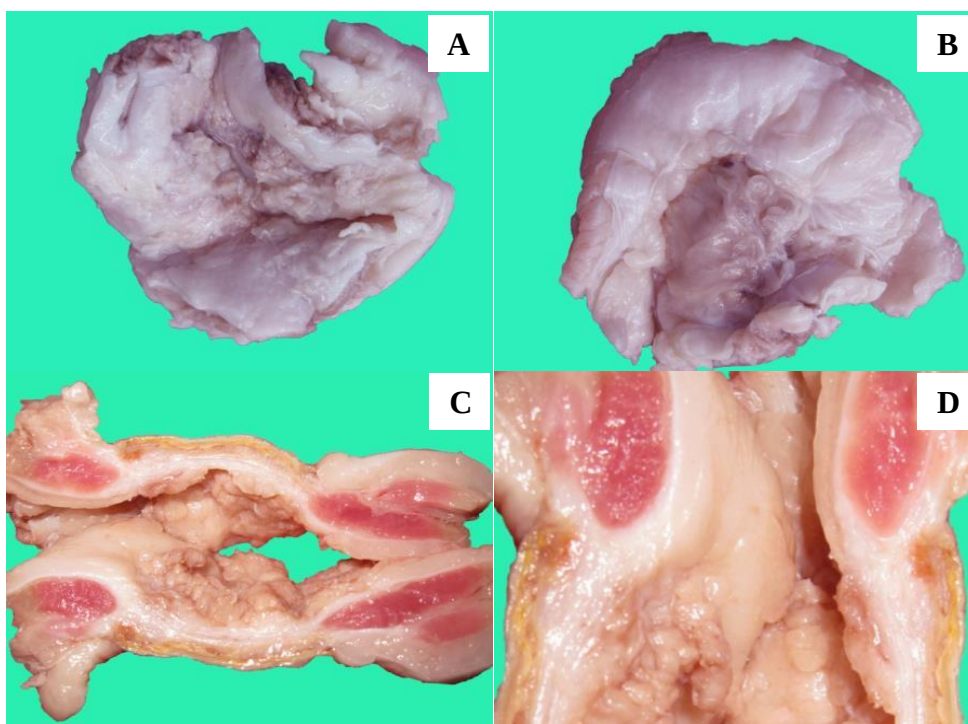


Fig. 5.12. A - Suprafața subcutană a implantului; B - suprafața peritoneală a implantului; C - implantul în secțiune; D - focare cu aspect gri-cărămiziu la nivelul frontierei grefă-gazdă. Piesă anatomo-chirurgicală.



La 90 de zile de la implantarea grefei decelularizate de peritoneu bovin, palpator și în secțiune zona implantului păstrează o deviere comparativă retractilă, dur-elastică a țesuturilor neo-formate. Concomitent cu țesutul fibrilar albicios dur-elastic se atestă și fâșii tisulare de culoare gri pală și gălbuie-brună, acesta relevând o intercalare ușoară între ele, fiind localizate preponderent pe suprafața peritoneală a grefei.

Investigațiile histologice efectuate în acest lot de studiu pe zone: periferică la frontiera implantului și cea excentrică și centrală, au permis de a determina modificări regenerative și adaptative atât analogice cu loturile experimentale precedente (vezi. cap. 5.1 și 5.2), precum și cu unele abateri la limita corelațiilor dintre grefa de peritoneu bovin cu țesuturile gazdei (Anexa 1.17. A, B).

Particularitățile comune cu loturile precedente au constat în faptul că grefa de peritoneu bovin decelularizat, în rezultatul proceselor regenerative devine captată în masa de țesut conjunctiv neoformat, devenind un țesut protector și concomitent o matrice mai mult temporară.

Sub acțiunea componentei polimorfocelulare se produc diverse procese degenerescente ale implantului și menținerea în regim activ al proceselor de fagocitare-evacuare a detritusului implantic și ale proceselor regenerative ce induc neoformarea țesutului conjunctiv. Astfel, la limita suprapunerii grefei cu țesuturile gazdei a fost atestată neoformarea țesutului conjunctiv bine diferențiat și organizat în două straturi cu înglobarea componentei de țesut fibrilar celulo-adipos, în aria căruia în divers raport puteau fi observate reziduuri ale grefei sub formă de structuri fasciculare sau intercalate cu țesut conjunctiv neoformat sclerogenizat în aspect de bucle (Anexa 1.17. B). În zonele de o consistență mai dură s-a determinat o masă tisulară polimorfă conjunctivă granulomatoasă cu predominarea complexelor gigantocelulare polinucleare de tipul corpiilor străini, uneori fiind prezente impurități reziduale ale grefei de peritoneu bovin. Structurile granulomatoase marceau aspecte pseudonodulare circumscrise de țesut conjunctiv la periferia unui țesut conjunctiv dens spongios fibrilar (Anexa 1.17. D). Zonele matricial-celulare ale implantului erau caracterizate de prezența unui spectru celular cu o componentă polimorfocelulară marcată prin limfocite, histiocite, PMN în divers raport, macrofage și simplaste gigante polimorfocelulare secondate cu aspecte de cuiburi și elemente fibroblastice și fibre conjunctive neoformate orientate haotic (Anexa 1.17. E). În ce privește componenta PMN în perioada respectivă aceste celule puteau fi observate în număr mic, dispersate sau în mici aglomerări, cu predominarea componentei eozinofile comparativ cu cea neutrofilă, nefiind orientată spre grefă. Pe unele arii intensitatea celulară și reziduurile de grefă erau în coraport variat. Concomitent a fost observată apariția lipofagilor și a lipocitelor (Anexa 1.17. F).

Coraportul dintre grefă, matricea celulară și țesuturile neoformate frecvent era variat și în aspect de mozaic (fig. 5.13.). Spre zona excentrică componenta fibrilară fibroplastică și

fibrocitară treptat devenea mai predominantă și mai organizată fiind constatată prezența intercalărilor cu reziduurile grefei în asociere cu simplastele gigantocelulare de tipul corpiilor străini și macrofage (fig. 5.13. A).

Pe unele arii componenta polimorfocelulară era cu mult mai redusă, iar activitatea celulară către reziduurile grefei - diminuată, perifocal fiind determinată apariția structurilor pseudofoliculare limfocitare (fig. 5.13. B).

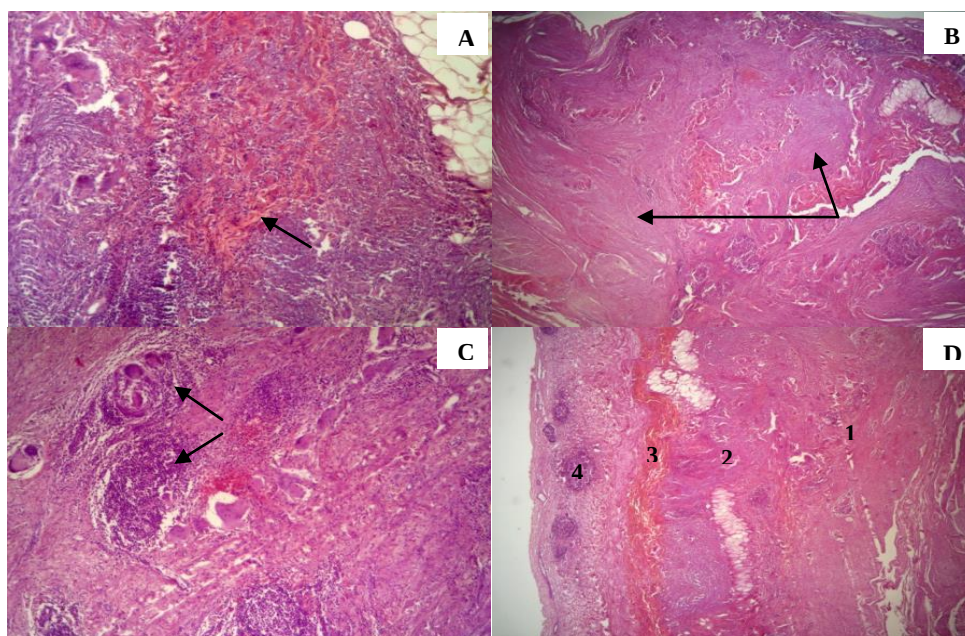


Fig. 5.13. A - reziduuri ale grefei în intercalări cu componenta fibrilar fibroblastică și fibrilară populată de simplaste macrofagale gigante polinucleare; B - predominarea țesutului conjunctiv neofomat cu diminuarea matricei polimorfocelulare proliferativ invazive a implantului; C - granuloame active polimorfocelulare în jurul simplastelor gigantocelulare polinucleare; D - stratificarea țesuturilor: 1 - platou conjunctiv neoformat cu mici granuloame în resorbție, 2 - insule de țesut celulo-adipos cu lipocite gigante și țesuturi cicatriciale, 3 - plasturi de grefă, 4 - structuri folicular limfocitare în componenta fibrilar conjunctivă neoformată.

Infiltratele limfocitare care includeau un amestec de neutrofile, histiocite și macrofage, de rând cu abundența simplastelor giganto-celulare polinucleare reflectau particularități de fagocitare cu formarea de noi granuloame (fig. 5.13. C). Treptat, pe unele arii spre zona centrală structurile tisulare preluau un aspect stratificat cu prezența modificărilor sclero-cicatriciale situate între grefă și țesuturile neoformate. Structurile foliculare limfocitare prezentau o migrare spre suprafața peritoneală, deseori fiind orientate în lanț (fig. 5.13. D).

În probele prelevate din zonele centrale ale implantului (fig. 5.14. A) s-a determinat că odată cu distanțierea de la zonele adiacente de țesuturile gazdă componenta și activitatea celulară diminuează. Totuși reziduurile implantului persistă, fiind cuprinse între țesutul sclero-cicatricial

și celulo-adipos la exterior și țesuturile neoformate din partea suprafeței peritoneale cu prezența perifocală a structurilor limfoide foliculare, unele cu centre mici germinative (fig. 5.14. B). Pe alocuri erau prezente intercalări dinte țesutul conjunctiv sclero-cicatricial și reziduurile grefei de peritoneu bovin (fig. 5.14. C). În focar, implantul se contopea cu peritoneul gazdă. Concomitent cu modificările cicatriciale în unele câmpuri persistau structuri granulomatoase care aveau aspect discent (fig. 5.14. D).

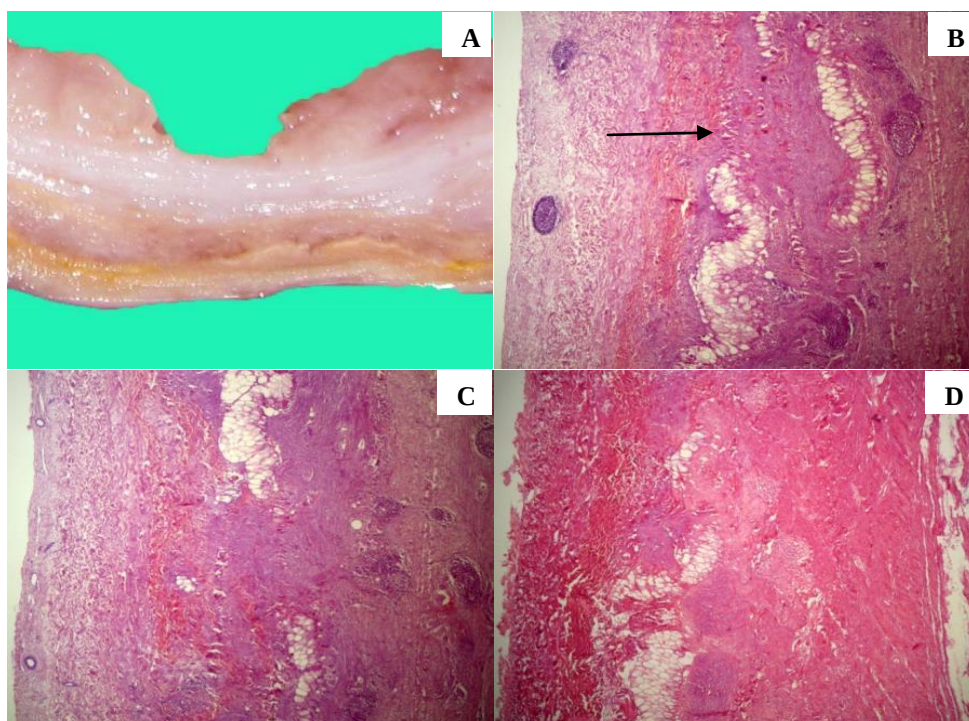


Fig. 5.14. A - aspect macroscopic stratificat și dezordonat al țesuturilor la nivelul implantului în zona medie; B - modificări sclero-cicatriciale cu implicarea și reziduurilor grefei, care parțial sunt cuprinse în procesele sclero-cicatriciale; C - modificări sclero-cicatriciale reziduale cu prezența reziduurilor de grefă; D - diminuarea procesului cu modificări sclero-cicatriciale și persistarea unor granuloame cu tendință spre rezorbție.

Conform evaluării statistice a proceselor morfoopatologice s-a determinat că procesul deterisiv nu prezintă o deosebire statistică ( $p > 0,05$ ) (Fig. 5.15 A), pe când PMN au fost depistate la un nivel sporit cu suport statistic ( $p \leq 0,05$ ) (Fig. 5.15 B). În cadrul studiului statistic al nivelului prezenței granulațiilor nu s-a determinat o deosebire statistică între loturile de studiu ( $p > 0,05$ ), cu toate că lotul martor a prezentat cel mai redus nivel al granulațiilor ( $p < 0,05$ ). (Fig. 5.15 C). La fel și în cazul studierii nivelului procesului de remodelare fibroplastică nu s-a determinat deosebire statistică între loturi ( $p > 0,05$ ) (Fig. 5.15 D). Conform datelor statistice morfoopatologice s-a stabilit că nivelul prezenței simplastelor gigantocelulare în lotul 3 este similar aceluiași proces din lotul martor cu deosebire statistică între loturi ( $p < 0,05$ ). (Fig. 5.15

E). Conform rezultatelor obținute s-a stabilit că cel mai înalt nivel de anormalități ale țesutului neoformat s-a atestat în loturile 1 și 2, pe când loturile 3 și 4 prezintă cel mai redus nivel al acestui proces, statistic semnificativ deosebit de primele două loturi ( $p < 0,05$ ) (Fig. 5.15 F).

Așadar, în timp, procesele inflamatorii direcționate de gazdă spre remodelarea grefei odată cu distanțiere spre zonele centrale diminuează în intensitate, reziduurile de grefă fiind observate cu predilecție în zonele centrale comparativ cu cele marginale în care persistă o matrice polimorfocelulară care invadează grefa. Prin diminuarea proceselor inflamatorii și substituirea lor prin modificări sclero-cicatriciale sau țesut celulo-adipos, prezența unor reziduuri de implant acellularizat relevă că acesta poate fi prezent fără a provoca un sechestrul sau un granulom piogen.

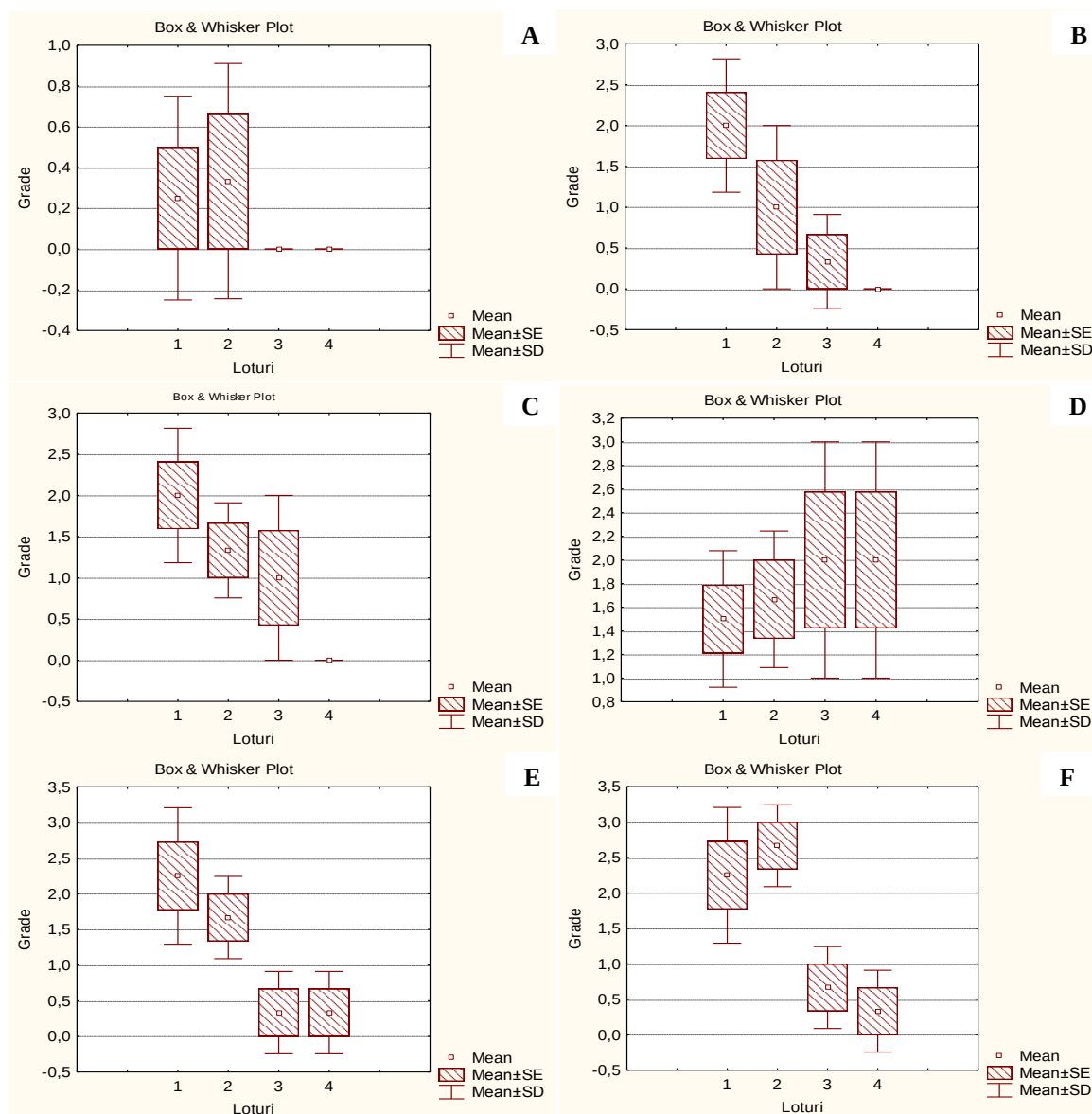


Fig. 5.15. Evaluarea statistică a proceselor morfopatologice în xenogrefele de pericard, peritoneu și fascie bovină decelularizate unde 1- lotul 1 (peritoneu bovin decelularizat), 2 – lotul 2 (pericard bovin decelularizat), 3 – lotul 3 (fascie bovină decelularizată), 4 – lotul martor; A – nivelul procesului deterșiv; B – nivelul PMN; C – nivelul țesutului de granulație; D – nivelul de remodelare fibroplastică; E – nivelul prezenței de simplaste gigantocelulare; F – prezența anormalităților țesutului neoformat

#### 5.4. Concluzii la capitolul 5

1. Utilizarea grefei aceluare de fascie bovină decelularizată este caracterizată de dominarea proceselor de regenerare activă cu remodelarea țesuturilor și invadarea celulelor gazdă, țesuturile implantului xenogen fiind supuse unei degradări treptate și substituite cu țesut conjunctiv neoformat al gazdei, rezultatele obținute justificând utilitatea acestui material biologic xenogen în chirurgia reconstructivă a defectelor peretelui abdominal, această opțiune necesitând studii imunologice comparative și clinice suplimentare.
2. Grefa aceluare de pericard bovin se caracterizează prin rezistență și durabilitate acceptabilă în reconstrucția defectelor majore ale peretelui abdominal, de rând cu procesele de fibrogeneză fiind constatate și procese de metaplazie cu neoformarea focarelor de cartilaj și osificare trabeculară în implantul biologic, fapt ce impune necesitatea unor studii suplimentare pentru a clarifica rolul acestor modificări în dezvoltarea unor potențiale complicații postoperatorii la distanță.
3. În cazurile de utilizare a grefei aceluare de peritoneu bovin, reziduurile de grefă pot fi observate cu predilecție în zonele centrale fără a provoca un sechestru sau un granulom piogen comparativ cu zonele marginale în care persistă o matrice polimorfocelulară care invadează grefa.



## CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI

### Concluzii

1. Ținând cont de particularitățile modificărilor structurale și morfofuncționale ale defectului malformativ, de faptul că rezultatele tratamentului chirurgical la distanță sunt influențate de mai mulți factori de risc congenitali și dobândiți, constatate și descrise în capitolele respective, aceste date subliniază încă o dată actualitatea unui studiu de elaborare a noi metode de plastie a defectului congenital al peretelui abdominal anterior.
2. Rezultatele studiului actual a permis de a stabili rate semnificativ sporite ale malformațiilor congenitale asociate atât în lotul bolnavilor cu gastroschizis (53,12%), cât și în cel cu omfalocel (61,02%), spectrul acestora fiind dominat de malformațiile tractului digestiv și cele cardiovasculare, care împreună cu prematuritatea, greutatea mică la naștere, sindromul de compartiment și generalizarea procesului infecțios-septic, au influențat semnificativ evoluția și prognosticul nefavorabil al bolii.
3. Modificările structurale ale musculaturii netede intestinale, asociate cu modificările displazice, dismaturitatea ganglioneuronală și disganglioza intestinală, de rând cu modificările inflamatorii și distrofice depistate în ansele intestinale la nou născuți cu gastroschizis, sunt implicate direct în disfuncțiile de contractilitate disfazică a anselor intestinale eviscerate și responsabile de dereglările persistente de peristaltism și tranzit intestinal cu instalarea ileusului paralic persistent și cu implicații nefavorabile în evoluția și exodul bolii.[8]
4. Modificările regionale în gastroschizis sunt dominate de o disconcordanță de maturizare marcantă a elementelor musculofasciale și ganglioneuronale, indiferent de termenul de gestație, asociată cu dezordonarea miocitelor și a fasciculelor musculare, cu hipertrofia miocitelor, cu dereglări ale intensității de expresie imunohistochimică a structurilor neuronale, dovadă a prezenței unor dereglări funcționale neuromusculare atât în preajma defectului, cât și la distanță.
5. În caz de omfalocel necomplicat, de dimensiuni majore, cu disproporție viscer abdominală semnificativă, ținând cont de structura arhitecturală a sacului, există condiții favorabile pentru procesele reparative cu epitelizarea treptată a sacului și transformarea în hernie ventrală, fapt ce justifică conduita conservativă în formele date ale malformației, ceea ce explică rata scăzută a letalității în lotul studiat.
6. Utilizarea membranei amniotice prelucrată cu glutaraldehidă și formalină în calitate de implant, în pofida durabilității, rezistenței biomecanice și biocompatibilității acceptabile, nu oferă o stabilitate pe termen lung, în acest context, membrana amniotică

criopreservată având unele avantaje, care de rând cu o activitate reparativ-regenerativă marcată, poate fi considerată un substituent temporar util al peritoneului și un adjuvant antiaderențial promițător în intervențiile reconstructive ale defectelor peretelui abdominal cu disproporție visceroabdominală [124].

7. Necâtând la calitățile acceptabile de rezistență și durabilitate a grefelor de peritoneu și pericard bovin decelularizat au fost constatate unele dezavantaje severe, cum ar fi dezvoltarea unui proces inflamator cronic semnificativ, procesele de metaplazie osteocartilaginoasă, care pot contribui la dezvoltarea unor complicații severe, în acest context utilizarea grefelor acelulare de fascie bovină a fost caracterizată de dezvoltarea unor procese de regenerare activă cu remodelarea țesuturilor regionale și invadarea celulelor gazdă, țesuturile implantului fiind supuse unei degradări treptate și substituite cu țesutul conjunctiv neoformat al gazdei, acest fapt justificând eficiența comparativă a acestui material biologic xenogen ca opțiune alternativă în plastia defectelor congenitale ale peretelui abdominal [225].

## **Recomandări practice**

1. Persistența sindromului de dismotilitate intestinală la nou-născuții cu gastroschizis servește ca indicație pentru amânarea corecției chirurgicale radicale a malformației, în aceste cazuri impunându-se necesitatea biopsiei peretelui intestinal.
2. Caracterul proceselor reparative determinate în structura arhitecturală a sacului embrional în omfalocel justifică conduita conservativă în formele severe cu disproporție visceroabdominală ale malformației, determinând o rată comparativ scăzută a letalității în acest lot de pacienți.
3. În afectarea intraamnională există riscul de penetrare a componentului infecțios-inflamator al omfalocelului, îndeosebi în cazurile rezolvate cu întârziere, cu o posibilă contaminare postnatală.
4. Membrana amniotică umană criopreservată poate fi utilizată în calitate de substituent temporar al peritoneului la nou-născuții cu gastroschizis cu asocierea sindromului de dismotilitate intestinală persistentă și un adjuvant antiaderențial promițător în intervențiile reconstructive ale defectelor peretelui abdominal cu disproporție visceroabdominală.
5. Ținând cont de disponibilitatea, particularitățile proprietăților de histocompatibilitate locală cu crearea condițiilor favorabile pentru migrarea și atașarea celulelor gazdă în xenogrefele bovine decelularizate de pericard, fascie și peritoneu, utilizarea acestora contribuie la facilitarea dezvoltării țesuturilor proprii, astfel contribuind la menținerea durabilității și rezistenței mecanice pe perioade îndelungate de timp după reconstrucția defectelor majore ale peretelui abdominal anterior, în acest context fascia bovină având unele avantaje.

## Bibliografie

1. Ciobanu O., Stoica A., Zavate A. ș.a. Laparoschisis – Considerații clinico-terapeutice. Craiova Medicală. 2007. 9(4):314-7.
2. Gudumac Eva, Babuci S., Tica C., Petrovici V., Nacu V., Ionescu C., Negru I. Comparative cellular local response in abdominal defect plastic surgery with bovine pericardium and bovine fascia preserved in formaldehyde in experimental rabbits. Ars Medica Tomitana. 2017. 2(23):83-93.
3. Ionescu S., Andrei B., Tirlea S., Bunea B.M., Lixandru E. et al. Considerations on gastroschisis repair. Chirurgia (Bucur.). 2013. 108(4):509-15.
4. Ionescu S., Mocanu M., Andrei B. ș.a. Diagnosticul difețial al defectelor de perete abdominal – omfalocel versus gastroschisis. Chirurgia (Bucur.). 2014. 109(1):7-14.
5. Rădulescu M., Ulmeanu E.C., Nedelea M., Comșa A. Diagnosticul ecografic prenatal al gastroschisului. Rev. Rom. Pediatr. 2012. 4:340-8.
6. Spinei L., Ștefăneț S., Moraru C., Copcelea A., Boderscova L. Noțiuni de bază de epidemiologie și metode de cercetare. Casa edit.-poligr. Bons Offices. Chișinău. 2006. P.168.
7. Țârcă E., Aprodu S.G., Straticiu-Ciongradiu I., Goția D.G. Aspecte clinico-evolutive în cazul omfalocelului sindrom. Rev. Rom. Pediatr. 2013. 2:171-5.
8. Бабуч С., Тика К., Петрович В., Синицина Л., Жалбэ А., Негру И. Структурные изменения кишечной стенки в реализации синдрома нарушения моторики кишечника у детей с гастрошизисом. Росс. Вест. Дет. Хир., Анест. Реаним. 2016. 4:13-9.
9. Бисалиев Б.Н. Оптимизация лечения гастрошизиса. Автореф. дисс. к.м.н. Москва. 2011. 20 с.
10. Веселый С.В., Грона В.Н., Перунский В.П. и др. Методы диагностики и лечения гастрошизиса и омфалоцеле у детей. Перинат. и Педиатр. 2006. 3(27):1-7.
11. Грона В.Н., Перунский В.П., Веселый С.В. и др. Оптимизация лечения врожденных расщелин передней брюшной стенки у детей. Укр. Ж. Хир. 2008. №1. С.105-12.
12. Доржиев Б.Д. Ранняя диагностика и лечение гастрошизиса у детей по материалам республиканского перинатального центра и отделения детской хирургии ГК БСМП г. Улан-Удэ за период 2003-2007. Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. 2(66):32-4.
13. Зарифьян А.Г., Нартаева А.К. Особенности системы крови у детей. Уч. Метод. Пос. Бишкек. КРСУ. 2015. 28 с.
14. Киреев С. С., Ларченко В. И. Интенсивная терапия и периоперационный период у новорожденных детей с врожденными пороками развития. Неонатология, хирургия та перинатальна медицина. 2012. 2(4):91-103.
15. Морозов Д.А., Филиппов Ю.В., Никитина А.С. и др. Варианты хирургического лечения омфалоцеле. Саратовский научно-мед.журнал. 2007. 2(16):23-5.
16. Плохих Д. А. Хирургическое лечение гастрошизиса с висцероабдоминальной диспропорцией. Автореф. дисс. к.м.н. Кемерово, 2007. 22 с.
17. Слепов А.К., Грасюкова Н.И., Весельский В.Л. и др. Частота задержки внутриутробного развития плода и его влияние на течение и прогноз при гастрошизисе. Перинат. Педиатр. 2014. 2(58):16-20.
18. Слепов А.К., Грасюкова Н.И., Сорока В.П., Пономаренко А.П. Сравнительная характеристика анатомических особенностей и состояния эвентрированных органов при гастрошизисе у детей, рожденных естественным путем и с помощью кесарева сечения. Перит. Педиатр. 2014. 3(59):16-20.
19. Стронина С. Н., Клестова Е. О. Современные подходы к диагностике и лечению гастрошизиса в Белгородской области. Молодой ученый. 2015. 23:379-81.

20. Теплякова О.В., Зубков В.В., Пырегов А.В. и др. Особенности акушерско-гинекологического анамнеза женщин и факторы риска формирования висцеро-абдоминальной диспропорции у плодов с гастрошизисом. *Акушерство и Гинекол.* 2015. 9:42-6.
21. Теплякова О.В., Зубков В.В., Пырегов А.В. Современный взгляд на предикторы возникновения, пренатальную диагностику и особенности ведения новорожденных детей с гастрошизисом. *Акушерство и Гинекол.* 2015. 5:10-4.
22. Ушакова И.А. оптимизация тактики ведения беременности и родов у женщин с врожденными аномалиями желудочно-кишечного тракта и брюшной стенки плода. Автореферат дисс. к.м.н. Москва. 2009. 24 с.
23. Хаматханова Е.М., Кучеров Ю.И., Подуровская Ю.Л. и др. Гастрошизис: проблемы, первый опыт, алгоритм врачебной тактики. 2011. 1:36-41.
24. Abdelhafeez H., Schultz J.A., Ertl A., Cassidy L.D., Wagner A.J. The risk of volvulus in abdominal wall defects, *J. Pediatr. Surg.* 2015. 50(4):570-2.
25. Abouelnasr K.S., Zaghloul A.E., Karrouf G.I. Comparative evaluation of glycelized bovine pericardium implant with prolene mesh for closure of large abdominal wall defects in dogs. *Iranian J. Vet. Res.* 2014. 15(3):211-7.
26. Agrawal V., Almond P.S., Reyna R., Emran M.A. Successful three stage repair of a large congenital abdominal region defect. *J. Ped. Surg. Case Rep.* 2015. 3:230-3.
27. Akakpo-Numado G.K., Gnassingbe K., Boume M.A. et al. Emergency treatment of a ruptured huge omphalocele by simple suture of its membrane. *Ann. Surg. Innov. and Research.* 2012. 6:2.
28. Akhtar J., Skarsgard E.D. Associated malformations and the "hidden mortality" of gastroschisis. *J. Pediatr. Surg.* 2012. 47:911-6.
29. Akhtar T., Alladi A., Siddappa O.S. Giant omphalocele in an adolescent boy. *Indian J. Surg.* 2015. 77(2):157-8.
30. Akinkuotu A.A., Sheikh F., Olutoye O.O., Lee T.C., Fernandes C.J. et al. Giant omphaloceles: surgical management and perinatal outcomes. *J. Surg. Res.* 2015. 198:388-92.
31. Aldridge B., Ladd A.P., Kepple J., Wingle T., Ring C., Kokoska E.R. Negative pressure wound therapy for initial management of giant omphalocele. *Am. J. Surg.* 2016. 211:605-9.
32. Ali B., Shetty A., McKee J. A novel approach for the closure of challenging giant omphalocele. *J. Ped. Surg. Case Rep.* 2015. 3:485-8.
33. Allen R.G., Wrenn E.L. Jr. Silon as a sac in the treatment of omphalocele and gastroschisis. *J. Pediatr. Surg.* 1969. 4:3-8.
34. Allin B.S.R., Irvine A., Patni N., Knight M. Variability of outcome reporting in Hirschsprung's disease and gastroschisis: a systematic review. *Sci. Rep.* 2016. 6:38969. doi: 10.1038/srep38969.
35. Almond S., Roxana R., Barganski N., Emran M.A. Nonoperative management of a giant omphalocele using a silver impregnated hydrofiber dressing: a case report. *J. Pediatr. Surg.* 2010. 45:1546-9.
36. Al-Zaiem M.M. Management of omphalocele using the sac supportive. *Saudi Med. J.* 2007. 28(5):755-8.
37. Ammar S.A. Management of giant ventral hernia by polypropylene mesh and host tissue barrier: trial of simplification. *J. Clin. Med. Res.* 2009. 1(4): 226-9.
38. Arnold M.A., Chang D.C., Nabaweesi R. et al. Risk stratification of 4344 patients with gastroschisis into simple and complex categories. *J. Pediatr. Surg.* 2007. 42:1520-5.
39. Aspelund G., Langer J.C. Abdominal wall defects. *Curr. Pediatr.* 2006. 16:192-8.
40. Athar Y., Zainuddin S.L.A., Berahim Z. et al. Bovine pericardium: a highly versatile graft material. *Inter. Med. J.* 2014. 21(3):321-4.
41. Ayele T., Zuki A.B., Noorahan B.M., Noordin M.M. Tissue engineering approach to repair abdominal wall defects using cell-seeded bovine tunica vaginalis in a rabbit model. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2010. 21(5):1721-30.



42. Azimi H., Ashouri M., Masoumi K. Comparison of bovine fascia and "Evolution" membrane in regeneration on parietal bone of rabbit. *J. Dent. Sch.* 2012. 30(2):78-85.
43. Azuara-Blanco A., Pillai C.T, Dua H.S. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction. *Br. J. Ophthalmol.* 1999. 83:399-402.
44. Baerg J., Thirumoorthi A., Hopper A. Respiratory management of the newborn with an omphalocele. In: Aly H., Abdel-Hady H. (ed.). *Respiratory management of newborns.* InTech. 2016. P.26-49. <http://dx.doi.org/10.5772/63735>
45. Baerg J.E., Thirumoorthi A., Hopper A.O., Tagge E.P. The use of ECMO for gastroschisis and omphalocele: Two decades of experience. *J. Pediatr. Surg.* 2017. 52:984-8.
46. Bali C., Papakostas J., Georgiou G. et al. A comparative study of sutured versus bovine pericardium mesh abdominal closure after open abdominal aortic aneurysm repair. *Hernia.* 2015. 19:267-71.
47. Baradaran-Rafii A., Aghayan H.R., Arjmand B., Javadi M.A. Amniotic membrane transplantation. *Iran J. Ophthalm. Res.* 2007. 2(1):58-75.
48. Barbetakis N., Samanidis G., Paliouras D. et al. Intraoperative tracheal reconstruction with bovine pericardial patch following iatrogenic rupture. *Patient Saf Surg.* 2008. 2:4.
49. Barbuto R.C., de Araujo I.D., de Oliveira Bonomi D. et al. Use of the amniotic membrane to cover the peritoneal cavity in the reconstruction of the abdominal wall with polypropylen mesh in rats. *Rev. Col. Bras. Cir.* 2015. 42(1):49-54.
50. Bargy F., Beaudoin S. Comprehensive developmental mechanisms in gastroschisis. *Fetal Diagn. Ther.* 2014. 36:223-30.
51. Barlas M., Yagmurlu A., Bingol-Kologlu M., Atasay B. Use of bovine pericardium for congenital absence of left diaphragm. *J. Ankara Med. School.* 2003. 25(2):99-102.
52. Bastos E.L.S., Fagundes D.J., Taha M.O. et al. The role of bovine preserved peritoneum in rats ventral hernia. A histological evaluation. *Acta Cir. Bras.* 2006. 21(5):328-31.
53. Bauman B., Stephens D., Gershon H. et al. Management of giant omphaloceles: a systematic review of methods of staged surgical vsnonoperative delayed closure. *J. Peiatr. Surg.* 2016. 51:1725-30.
54. Bauman D.P., Butler C.E. Bioprosthetic mesh in abdominal wall recon.struction. *Semin. Plast. Surg.* 2012. 26:18-24.
55. Beasley S.W., Jones P.G. Use of mercurochrome in the management of the large exomphalos. *Aust. Paediatr. J.* 1986. 22(1):61-3.
56. Benjamin B., Wilson G.N. Anomalies associated with gastroschisis and omphalocele: Analysis of 2825 cases from the Texas Birth Defects Registry. *J. Pediatr. Surg.* 2014. 49: 2014. 514-9.
57. Beres A., Christion-Lagay E.R., Romao R.L.P., Langer J.C. Evaluation of Surgisis for patch repair of abdominal wall defects in children. *J. Pediatr. Surg.* 2012. 47:917-9.
58. Bergholz R., Boettcher M., Reinshagen K., Wenke K. Complex gastroschisis is a different entity to simple gastroschisis affecting morbidity and mortality - A systematic review and meta-analysis. *J. Pediatr. Surg.* 2014. 49:1527-32.
59. Bertin K.D., Odehouri-Koudou T.H., Sounkere M. et al. Techniques and results of the conservative treatment of giant omphalocele with 2% disodium aqueous eosin. *Clinics Mother Child Health.* 2013. 11:1 <http://dx.doi.org/10.4172/2090-7214.1000157>.
60. Bianchi A., Dickson A.P. Elective delayed reduction and no anesthesia: 'minimal intervention management' for gastroschisis. *J. Pediatr. Surg.* 1998. 33:1338-40.
61. Bianchi D.W., Crombleholme T.M., Alton M.E. *Gastroschisis; in fetology: Diagnosis and management of the fetal patient.* New York. McGraw-Hill. 2000. pp 473-82.
62. Blazer S., Zimmer E.Z., Gover A., Bronshtein M. Fetal omphalocele detected early in pregnancy: associated anomalies and outcomes. *Radiology.* 2004. 232(1):191-5.
63. Blondin D., Turowski B., Schaper J. Fetal MRI. *Rofo.* 2007. 179(2):111-8.

64. Boia E.S., Iacob R.E., Adam O. et al. Surgical treatment of gastroschisis using silimed gastroschisis container – case report. *J. Pediatr.* 2006. 9 (35-36):39-45.
65. Burns N.K., Jaffari M.V., Rios C.N., Mathur A.B., Butler C.E. Non-crosslinked porcine acellular dermal matrices for abdominal wall reconstruction. *Plast. Reconstr. Surg.* 2010. 125(1):167-76.
66. Calcagnotto H., Muller A.L., Leite J.C. et al. Associated factors for perinatal mortality in gastroschisis. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* 2013. 35(12):549-53.
67. Carnaghan H., Baud D., Lapidus-Krol E., Ryan G., Shah P.S. et al. Effect of gestational age at birth on neonatal outcomes in gastroschisis. *J. Pediatr. Surg.* 2016. 51:734-8.
68. Caso Maestro O., Abradelo de Usera M., Justo Alonso I. et al. Porcine acellular dermal matrix for delayed abdominal wall closure after pediatric liver transplantation. *Pediat Transplant.* 2014. 18:594-8.
69. Ceccanti S., Falconi I., Frediani S., Boscarelli A., Musleh L., Cozzi D.A. Umbilical cord sparing technique for repair of congenital hernia into the cord and small omphalocele. *J. Pediatr. Surg.* 2017. 52:192-6.
70. Chen C.P. Syndromes and disorders associated with omphalocele (III): single gene disorders, neural tube defects, diaphragmatic defects and others. *Taiwan J. Obstet. Gynecol.* 2007. 46(2):111-20.
71. Chen C.P., Lin C.J., Chen Y.Y., Wang L.K., Chern S.R. et al. 3q26.31–q29 duplication and 9q34.3 microdeletion associated with omphalocele, ventricular septal defect, abnormal first-trimester maternal serum screening and increased nuchal translucency: Prenatal diagnosis and aCGH characterization. *Gene.* 2013. 532:80-6.
72. Chena F.M., Liuc X. Advancing biomaterials of human origin for tissue engineering. *Progress in Polymer Sci.* 2016. 53:86-168.
73. Chesley P.M., Ledbetter D.J., Meehan J.H. et al. Contemporary trends in the use of primary repair for gastroschisis in surgical infants. *Am. J. Surg.* 2015. 209:901-6.
74. Choi H.J., Kim K.B., Kwon Y.M. Effect of amniotic membrane to reduce postlaminectomy epidural adhesion on a rat model. *J. Korean Neurosurg. Soc.* 2011. 49:323-8.
75. Chopra A., Thomas B.S. Amniotic Membrane: a novel material for regeneration and repair. *J. Biomim. Biomater. Tissue Eng.* 2013. 18:106. Doi:10.4172/1662-100X.1000106.
76. Christison-Lagay E.R., Kelleher C.M., Langer J.C. Neonatal abdominal wall defects. *Semin. Fetal & Neonat. Med.* 2011. 16:164-72.
77. Clemens M.W., Selber J.C., Liu J. et al. Bovine versus porcine acellular dermal matrix for complex abdominal wall reconstruction. *Plast. Reconstr. Surg.* 2013. 131:71-9.
78. Clifton M.S., Heiss K.F., Keating J.J. et al. Use of tissue expanders in the repair of complex abdominal wall defects. *J. Pediatr. Surg.* 2011. 46:372-7.
79. Coda A., Lamberti R., Martorana S. Classification of prosthetics used in hernia repair based on weight and biomaterial. *Hernia.* 2012. 16(1):9-20.
80. Corey K.M., Hornik C.P., Laughon M.M., McHutchison K., Clark R.H., Smith P.B. Frequency of anomalies and hospital outcomes in infants with gastroschisis and omphalocele. *Early Human Develop.* 2014. 90:421-4.
81. Corona-Rivera J.R., Nieto-Garcia R., Lopez-Marure E. et al. Associated congenital anomalies in infants with isolated gastroschisis: a single-institutional experience. *Am. J. Med. Geenet. A.* 2016. 170(2):316-21.
82. Crovetto R.M. Bovine fascia in the reconstruction of hernias and eventrations. *Prensa Med. Argent.* 1957. 44(16):1212-4.
83. Dalton B.G., Gonzalez K.W., Reddy S.R., Hendrickson R.J., Iqbal C.W. Improved outcomes for inborn babies with uncomplicated gastroschisis. *J. Pediatr. Surg.* 2017. 52:1132-4.
84. David K.M., Robert S.S., Stringer M.D. et al. Abdominal Wall Defects. *Pediatric Surgery and Urology: Long Term Outcomes.* London. 1998. p. 243-56.

85. Davis J.W. Skin transplantation with a review of 550 cases at the Johns Hopkins Hospital. *John Hopkins Med. J.* 1910. 15:307.
86. Davis N.M., Kurpios N.A., Sun X. et al. The chirality of gut rotation derives from lefteright asymmetric changes in the architecture of the dorsal mesentery. *Dev. Cell.* 2008. 15:134e45.
87. de Buys Roessingh A.S., Damphousse A., Ballabeni P. et al. Predictive factors at birth of the severity of gastroschisis. *World J. Gastrointest. Pathophysiol.* 2015. 6(4):228-34.
88. deVries P.A. The pathogenesis of gastroschisis and omphalocele. *J. Pediatr. Surg.* 1980. 15:245e51.
89. Di Cesare A. Giant omphalocele: What's the way to go? *J. Pediatr. Neonatal. Care.* 2014. 1(4): 00024. DOI: 10.15406/jpnc.2014.01.00024.
90. Diaz-Prado S., Muinos-Lopez E., Hermida-Gomez T. et al. Human amniotic membrane as an alternative source of stem cells for regenerative medicine. *Differentiation.* 2011. 81:162-71.
91. Dietrich-Ntoukas T., Hofmann-Rummelt C., Kruse F.E., Schlötzer-Schrehardt U. Comparative analysis of the basement membrane composition of the human limbus epithelium and amniotic membrane epithelium. *Cornea.* 2012. 31:564-9.
92. Dikshit V.K., Gupta R.K., Gupta A.R. et al. Use of composite mesh in gastroschisis: a unique approach. *Afr. J. Paediatr. Surg.* 2015. 12(2):148-51.
93. Disa J.J., Klein M.H., Goldberg N.H: Advantages of autologous fascia versus synthetic patch abdominal reconstruction in experimental animal defects. *Plast. Reconstr. Surg.* 1996. 97:801-6.
94. Doi T., Puri P., Bannigan J., Thompson J. Eya1 and Eya2 gene expression is down-regulated during somitic myogenesis in the cadmium-induced omphalocele chick model. *J. Pediatr. Surg.* 2012. 47:1123-7.
95. Doi T., Puri P., Bannigan J., Thompson J. Msx1 and Msx2 gene expression is downregulated in the cadmium-induced omphalocele in the chick model. *J. Pediatr. Surg.* 2010. 45:1187-91.
96. Dorweiler B., Kayser C., Zipp F. et al. Long-term performance of the bovine pericardium patch in conventional carotid endarterectomy. *Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2015. 63(02): 168-74.
97. Dribin T., McAdams R.M. A neonate with gastroschisis and hydrocephalus complicated by central diabetes insipidus. *J. Ped. Surg. Case Rep.* 2014. 2:366-8.
98. Dua H.S., Gomes J.A., King A.J., Maharajan V.S. The amniotic membrane in ophthalmology. *Surv. Ophthalmol.* 2004. 49:51-77.
99. Dubrovsky G., Sacks G.D., Friedlander S., Lee S. Understanding the relationship between hospital volume and patient outcomes for infants with gastroschisis. *J. Ped. Surg.* 2017. 52(12):1977-80.
100. Duhamel B. Embryology of exomphalos and allied malformations. *Arch. Dis. Child.* 1963. 38:142-7.
101. Eamer G.J., Alfraih Y., Stein N., Bailey K. Splenic and pancreatic torsion after giant omphalocele repair. *J. Ped. Surg. Case Rep.* 2017. 25:40-3.
102. Ekot E.A., Emordi V.C., Osifo D.O. Does omphalocele major undergo spontaneous closure? *J. Surg. Case Rep.* 2017; 8:1-3.
103. Ein S.H., Langer J.C. Delayed management of giant omphalocele using silver sulphadiazine cream: an 18-year experience. *J. Pediatr. Surg.* 2012. 47:494-500.
104. Fairbairn N.G., Randolph M.A., Redmond R.W. The clinical applications of human amnion in plastic surgery. *J. Plast., Reconstr. & Aesthet. Surg.* 2014. 67:662-75.
105. Fear W. Congenital extrusion of abdominal viscera: return: recovery. *Br. Med. J.* 1878. 2:518-20.
106. Feldkamp M.L., Botto L.D., Byrne J.L. et al. Clinical presentation and survival in a population-based cohort of infants with gastroschisis in Utah, 1997-2011. *Am. J. Med. Genet. A.* 2016. 170(2):306-15.
107. Feldkamp M.L., Bowles N.E., Botto L.D. AEBP1 gene variants in infants with gastroschisis. *Berth Defects Res. A Clin. Mol. Teratol.* 2012. 94(9):738-42.
108. Feldkamp M.L., Carey J.C., Sadler T.W. Development of gastroschisis: review of hypotheses, a novel hypothesis, and implications for research. *Am. J. Med. Genet. A.* 2007. 143 A(7):639-52.

109. Filisetti C., Costanzo S., Marinoni F., Vella C., Klersy C., Riccipetitioni G. Effectiveness and properties of the biological prosthesis Permacol™ in pediatric surgery: A large single center experience. *Ann. Med. and Surg.* 2016. 7:48-54.
110. Foglia R., Kane A., Becker D. et al. Management of giant omphalocele with rapid creation of abdominal domain. *J. Pediatr. Surg.* 2006. 41:704-9.
111. Folkerth R.D., Habbe D.M., Boyd T.K. et al. Gastroschisis, destructive brain lesions, and placental infarction in the second trimester suggest a vascular pathogenesis. *Pediatr. Dev. Pathol.* 2013. 16(5):391-6.
112. Fomovsky G.M., Thomopoulos S, Holmes JW. Contribution of extracellular matrix to the mechanical properties of the heart. *J. Molecul. Cell. Cardiology.* 2010. 48(3), 490-496.
113. Francisco J.C., Cunha R.C., Simeoni R.B. et al. Amniotic membrane as a potent source of stem cells and a matrix for engineering heart tissue. *J. Biomed. Sci. Engin.* 2013. 6:1178-85.
114. Friedman A.M., Ananth C.V., Siddiq Z., D'Alton M.E., Wright J.D. Gastroschisis: epidemiology and mode of delivery, 2005e2013. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2016. 215(348):e1-9.
115. Fuentes S., Marti E., Delgado M.D., Gomez A. Management of the sequelae of severe congenital abdominal wall defects. *Arch. Plast. Surg.* 2016. 43:258-64.
116. Ghahramani L., Jahromi A.B., Dehghani M.R. et al. Evaluation of repair in duodenal perforation with human amniotic membrane: an animal model (dog). *Adv. Biomed. Res.* 2014. 3:113.
117. Gharib M., Ure B.M., Klose M. Use of amniotic grafts in the repair of gastroschisis. *Pediatr. Surg. Int.* 1996. 11:96-9.
118. Gillian E., Stark R.A., Meehan J.J., Javid P.J. Outcomes of bedside sutureless umbilical closure without endotracheal intubation for gastroschisis repair in surgical infants. *Am. J. Surg.* 2017. 213:958-62.
119. Goncalves F.L.L., Bueno M.P., Schmidt A.F., Figueira R.L., Sbragia L. Treatment of bowel in experimental gastroschisis with a nitric oxide donor. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2015. 212(383):e1-7.
120. Green R.F., Moore C. Incorporating genetic analyses into birth defects cluster investigations: strategies for identifying candidate genes. *Birth. Defects Res. A Clin. Mol. Teratol.* 2006. 76:798-10.
121. Grevious M.A., Cohen M., Jean-Pierre F., Herrmann G.E. The use of prosthetic in abdominal reconstruction. *Clin. Plastic Surg.* 2006. 33:181-97.
122. Grigore M., Iliev G., Gafiteanu D., Cojocaru C. The fetal abdominal wall defects using 2D and 3D ultrasound. Pictorial essay. *Med. Ultrason.* 2012. 14(4):341-7.
123. Gross R.E. A new method for surgical treatment of large omphalocele. *Surgery.* 1948. 24:277-83.
124. Gudumac E., Babuci S., Petrovici V., Nacu V., Tica C., Negru I. Histological evaluation of the efficiency of human amniotic membrane used in experimental reconstruction of the anterior abdominal wall defects. În: *Jurnalul Pediatriei. Timișoara, România, 2016, vol. XIX, nr. 75-76, p. 69-78. ISSN 2360-4557.*
125. Harris J., Poirier J., Selip D. et al. Early closure of gastroschisis after silo placement correlates with earlier enteral feeding. *J. Neonat. Surg.* 2015. 4:28.
126. Hayek D., Massanyi E., Mancuso M., Krepkovich K., Garrison A. Superior vesical fissure concealed by giant omphalocele: A case report. *J. Ped. Surg. Case Rep.* 2016. 114:26-8.
127. Heider A.L., Strauss R.A., Kuller J.A. Omphalocele: Clinical outcomes in cases with normal karyotype. *Am. J. Obst/ Gynecol.* 2004. 190:135-41.
128. Henry M.J., Preventza O., Cooley D.A/ et al. Left ventricular aneurysm repair with use of a bovine pericardial patch. *Tex. Heart Inst. J.* 2014. 41(4):407-10.
129. Hernandez Siverio N., Lopez-Tomassetti M., Fernandez E., Mario TroyanoLuque J. Gastroschisis: primary closure using umbilical cord strengthened by a polypropylene mesh. *J. Perinat. Med.* 2007. 35(3):249-51.
130. Hey W. Practical observations in surgery. London: Cadell and Davis; 1803. p. 228.

131. Hombalkar N.N., Rafe A., Prakash G.D. Left-sided gastroschisis with caecal agenesis: a rare case report. *Afr. J. Paediatr. Surg.* 2015. 12(1):74-5.
132. Hood K., Millikan K., Pittman T. et al. Abdominal wall reconstruction: a case series of ventral hernia repair using the component separation technique with biologic mesh. *Am. J. Surg.* 2013. 205:322-8.
133. Hosseinpour A.R., Adsuar-Gómez A., González-Calle A., Moruno-Tirado A., García-Angleu F. et al. Follow-up of a simple method for aortic valve reconstruction with fixed pericardium in children. *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* 2017. doi: 10.1093/icvts/ivx123.
134. Hoyme H.E., Higginbottom M.C., Jones K.L. The vascular pathogenesis of gastroschisis: intrauterine interruption of the omphalomesenteric artery. *J. Pediatr.* 1981. 98:228-31.
135. Hsu P.W., Salgado C.J., Kent K. et al. Evaluation of porcine dermal collagen (Permacol) used in abdominal wall reconstruction. *J. Plast. Reconstr. Aest. Surg.* 2009. 62:1484-9.
136. Huang G., Ji S., Luo P. et al. Accelerated expansion of epidermal keratinocyte and improved dermal reconstruction achieved by engineered amniotic membrane. *Cell Transpl.* 2013. 22:1831-44.
137. Hwang P.J., Kousseff B.G. Omphalocele and gastroschisis: an 18-year review study. *Genet. Med.* 2004. 6:232-6.
138. Iacco A., Adeyemo A., Riggs T., Janczyk R. Single institutional experience using biological mesh for abdominal wall reconstruction. *Am. J. Surg.* 2014. 208:480-4.
139. Iijima K., Igawa Y., Imamura T. et al. Transplantation of preserved human amniotic membrane for bladder augmentation in rats. *Tissue Eng.* 2007. 13:513-24.
140. Ikoma N., Chen L., Andrassy R.J. Technical note: component separation technique with double-layered biologic mesh placement for neonate with large gastroschisis. *J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg.* 2014. 67(9):e230-1.
141. Inoue S., Odaka A., Muta Y. et al. Coexistence of congenital diaphragmatic hernia and abdominal wall closure defect with chromosomal abnormality: two case reports. *J. Med. Case Rep.* 2016. 10(1):19.
142. Insausti C.L., Blanquer M., Bleda P. et al. The amniotic membrane as a source of stem cells. *Histol. Histopathol.* 2010. 25:91-8.
143. Insausti C.L., Rodriguez M., Castellanos G., Moraleta J.M. Propiedades inmunomoduladoras de las células madre de la membrana amniótica. Nuevas perspectivas. *Rev. Hematol. Mex.* 2014. 15:11-20.
144. Islam S., Gollin G., Koehler S., Wagner A.J. Gastroschisis. *Pediatr. Surg. Nat.* 2017. <https://www.pedsurglibrary.com/apsa/view/Pediatric-Surgery-NaT/829060/all/Gastroschisis>.
145. Izant R.J., Brown F. Current embryology and treatment of gastroschisis and omphalocele. *Arch. Surg.* 1966. 93:49-53.
146. Jasso-Victoria R., Olmos-Zuniga J. R., Gutierrez-Marcos L. M. et al. Usefulness of bovine pericardium as interpositional graft in the surgical repair of nasal septal perforations (experimental study). *J. Investig. Surg.* 2003. 16(4):209-17.
147. Jiang W., Zhang J., Lv X. et al. Use of small intestinal submucosal and acellular dermal matrix grafts in giant omphaloceles in neonates and a rabbit abdominal wall defect model. *J. Pediatr. Surg.* 2016. 51:386-73.
148. Jin H., Han J.W., Oh C., Kim H.Y., Jung S.E. Perforated Meckel's diverticulum in omphalocele. *J. Pediatr. Surg. Case Rep.* 2017. 17:28-30.
149. Jona J.Z. The gentle touch technique in the treatment of gastroschisis. *J. Pediatr. Surg.* 2003. 38(7):1036-8.
150. Jones P.G. Exomphalos (syn. Omphalocele). A review of 45 cases. *Arch. Dis. Child.* 1963. 38:180-7.
151. Kale A., Kale E., Akdeniz N., Canoruc N. Elevated amniotic fluid amino acid levels in fetuses with gastroschisis. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2006. 39:1021-5.
152. Kancherla V., Raisanen S., Gissler M. et al. Placenta previa and risk of major congenital malformations among singleton births in Finland. *Birth Defects Res. (Part A)*. 2015. 103:527-535.



153. Kapan S., Kapan M., Goksoy E., Karabicak I., Oktar H. Comparison of PTFE, pericardium bovine and fascia lata for repair of inisional hernia in rat model, experimental study. *Hernia*. 2003. 7:39-43.
154. Kar I.B., Singh A.K., Mohapatra P.C. et al. Repair of oral mucosal defects with cryopreserved human amniotic membrane grafts: prospective clinical study: *Oral and Maxillofac. Surg.* 2014. 43(11):1339-44.
155. Karaman A., Aydin H., Goksu K. Concomitant omphalocele, anencephaly and arthrogryposis associated with trisomy 18. *Genet. Couns.* 2015. 26(1):77-9.
156. Karaman M., Tuncel A., Sheidaei S. et al. Amniotic membrane covering for facial nerve repair. *Neural. Regen. Res.* 2013. 8(11):975-82.
157. Kethman W.C., Sinclair T.J.C., Abrajano C.T., Chao S., Wall J.K. Case Report: Rapid staged abdominal closure using Gore-Tex mesh as a bridge to primary omphalocele sac closure. *J. Ped. Surg. Case Rep.* 2016. 9:37-9.
158. Khan A.N., Macdonald S., Sabih D. Gastroschisis imaging. *Medscape*. 2016. <https://emedicine.medscape.com/article/403800-overview>.
159. Kheirkhah A., Johnson D.A., Paranjpe D.R. et al. Temporary sutureless amniotic membrane patch for acute alkaline burns. *Arch. Ophthalmol.* 2008. 126(8):1059-66.
160. Kim B., Hyeon J., Lee M. et al. Placental mesenchymal dysplasia with fetal gastroschisis. *J. Pathol. Transl. Med.* 2015. 49(1):71-4.
161. Kim J.S., Kim J.C., Na B.K. et al. Amniotic membrane patching promotes healing and inhibits proteinase activity on wound healing following acute corneal alkali burn. *Exp. Eye Res.* 2000. 70(3):329-37.
162. King A.E., Paltoo A., Kelly R.W. et al. Expression of natural antimicrobials by human placenta and fetal membranes. *Placenta*. 2007. 28:161-9.
163. King K.S., Albino F.P., Bhanot P. Biologic mesh for abdominal wall reconstruction. *Chronic Wound Care Manag. Res.* 2014. 1:57-65. <https://doi.org/10.2147/CWCMR.S58816>.
164. Koay A.C.A., Yew Y.H., Ngo C.T. et al. The use of preserved bovine pericardium for emergency temporizing graft in corneal perforation. *Med. J. Malaysia*. 2008. 63(5):421-2.
165. Koizumi N., Fullwood N.J., Bairaktaris G. et al. Cultivation of corneal epithelial cells on intact and denuded human amniotic membrane. *Invest. Ophthalm. & Visual Sci.* 2000. 41:2506-13.
166. Komender A., Lesiak-Cyganowska E. Some biological properties of bovine trypsinized fascia xenografts. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. 1981. 29(4):485-9.
167. Komuro H., Hoshino N., Urita Z. et al. Patogenic implications of remnant vitelline structures in gastroschisis. *J. Pediatr. Surg.* 2010. 45(10):2025-9.
168. Koob T.J., Lim J.J., Massee M. et al. Properties of dehydrated human amnion/chorion composite grafts: Implications for wound repair and soft tissue regeneration. *J. Biomed. Mater. Res. Part B*. 2014:00B:000-000.
169. Kumar H.R., Jester A.L., Ladd A.P. Impact of omphalocele size on associated conditions. *J. Pediatr. Surg.* 2008. 43:2216-9.
170. Kundal V.K., Gajdhar M., Kundal R. et al. Omphalocele major with absent lower limb. *Indian J. Surg.* 2015. 77(1):70-1.
171. Kunz L.H., Gilbert W.M., Towner D.R. Increased incidence of cardiac anomalies in pregnancies complicated by gastroschisis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2005. 193:1248-52.
172. Kunz S.N., Tieder J.S., Whitlock K., Jackson J.C., Avansino J.R. Primary fascial closure versus staged closure with silo in patients with gastroschisis: A meta-analysis. *J. Pediatr. Surg.* 2013. 48:845-57.
173. Kuriu Y., Yamagishi H., Otsuji E. et al. Regeneration of peritoneum using amniotic membrane to prevent postoperative adhesions. *Hepatogastroenterology*. 2009. 56(93):1064-8.
174. Lafer D.J. Rectus muscle transection for visceral replacement in gastroschisis. *Surgery*. 1968. 63:988-90.

175. Lambropoulos V., Mylona E., Mouravas V. et al. Repair of postoperative abdominal hernia in a child with congenital omphalocele using porcine dermal matrix. HPC. Case Rep. 2016. Art. ID 1828751. 5 pag. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/1828751>
176. Lamquami S., Mamouni N., Errarhay S. et al. Antenatal diagnosis of isolated omphalocele. Pan Afr. Med. J. 2015. 21:233.
177. Landisch R.M., Massoumi R.L., Christensen M., Wagner A.J. Infectious outcomes of gastroschisis patients with intraoperative hypothermia. Journal of surgical research. 2017. 215: 93-7.
178. Lara R.C., Lucon A.M., Arap S. Urethroplasty using a bovine pericardium graft: an experimental study using normal urethras from dogs. Brazil. J. Med. Biol. Res. 2004. 37: 327-31.
179. Le Quesne G.W., Reilly B.J. Functional immaturity of the large bowel in the newborn infant. Radiol Clin North Am 1975. 13:331-42.
180. Ledbetter D.J. Congenital abdominal wall defects and reconstruction in pediatric surgery: gastroschisis and omphalocele. Surg. Clin. North Am. 2012. 92:713-27.
181. Ledbetter D.J. Gastroschisis and omphalocele. Surg. Clin. N. Am. 2006. 86:249-60.
182. Li W., He H. Kawakita T. et al. Amniotic membrane induces apoptosis of interferon-  $\gamma$  activated macrophages in vitro. Exp. Eye Res. 2006. 82(2):282-92.
183. Li X., Guo Y., Zegler K. et al. Current usage and future directions for the bovine pericardial patch. Ann. Vasc. Surg. 2011. 25(4):561-8.
184. Liang Y.L., Kang L., Tsai P.Y., Cheng Y.C., Ko H.C. et al. Prenatal diagnosis of fetal omphalocele by ultrasound: A comparison of two centuries. Taiwanese J. Obstetr. Gynecol. 2013. 52:258-63.
185. Lilja H.E., Schulten D. Repair of giant omphalocele in a premature neonate with non-cross-linked porcine acellular dermal matrix (Strattice Tissue Matrix). J. Ped. Surg. Case Rep. 2016. 12:27-30.
186. Limpert J.N., Desai A.R., Kumpf A.L. et al. Repair of abdominal wall defects with bovine pericardium. Am. J. Surg. 2009. 198(5):e60-5.
187. Linnaus M.E., Donato B., McMahon L., Chambliss L., Notrica D.M. A case of traumatic rupture of a giant omphalocele and liver injury associated with transverse lie and preterm labor. J. Ped. Surg. Case Rep. 2016. 14:4-7.
188. Liu J., Sheha H., Fu Y. et al. Update on amniotic membrane transplantation. Expert Rev. Ophthalmol. 2010. 5:645-61.
189. Liu Z., Tang R., Zhou Z. et al. Comparison of two porcine-derived materials for repairing abdominal wall defects in rats. PLoS ONE. 2011. 6(5):e20520. doi:10.1371/journal.pone.0020520.
190. Lo V., Pope E. Amniotic membrane use in dermatology. Int. J. Dermatol. 2009. 48:935-40.
191. Loeffelbein D.J., Rohleder N.H., Eddicks M. et al. Evaluation of human amniotic membrane as a wound dressing for split-thickness skin-graft donor sites. BioMed. Res. Int. 2014. Art. Id 572183. 12 pag. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/572183>.
192. Luo D., Wu L., Wu H. et al. Anesthetic management of a neonate receiving prenatal repair of gastroschisis. Int. J. Clin. Exp. Med. 2015. 8(5):8234-7.
193. Luo X., Kulig K. M., Finkelstein E. B. et al. In vitro evaluation of decellularized ECM-derived surgical scaffold biomaterials. J. Biomed. Mater. Res. Part B. 2017. 105B:585-93.
194. Mack A.J., Rogdo B. Giant omphalocele: current perspectives. Res. Rep. Neonatol. 2016. 6:33-9.
195. Malhotra C., Jain A.K. Human amniotic membrane transplantation: different modalities of its use in ophthalmology. World J. Transplant. 2014. 4(2):111-21.
196. Malkawi H.Y., Qublan H.S., Al-Ghweri A.S. Omphalocele containing bowel, liver and spleen. A case report. JRMS. 2005. 12(1):35-7.
197. Marshall J., Salemi J.L., Tanner J. P. et al. Prevalence, correlates, and outcomes of omphalocele in the United States, 1995-2005. Obstet. Gynecol. 2015. 126(2):284-93.
198. Marshall Niles S. G., Mitchell-Fearon K., Gill M. I., DeSouza C. J., Fearon I. C., Abel C. A. et al. Mortality-related factors in gastroschisis – a Jamaican perspective. J. Pediatr. Surg. 2017. 52:530-3.

199. Mastroiacovo P., Lisi A., Castilla E.E. et al. Gastroschisis and associated defects: an international study. *Am. J. Med. Genet. A* 2007. 143:660-71.
200. Masui D., Fukahori S., Asagiri K., Ishii S., Saikusa N. et al. Wandering spleen associated with omphalocele in a neonate: An unusual case with non-operative management. *J. Pediatr. Surg. Case Rep.* 2017. 24:8-11.
201. Masuko T.S., Costa-Neto J.M., Daleck C.R. et al. Histologic and ultrastructural studies of experimental calcaneostenoplasty in dogs with bovine peritoneum. *Microscopy and Microanalysis.* 2007. 13:262-3.
202. Materna-Kiryluk A., Wieckowska B., Wisniewska K. et al. Geospatial clustering of gastroschisis in Poland: data from the Polish Registry of congenital malformations (PRCM). *Int. J. Occup. Med. Environ. Health.* 2016. 29(3):461-70.
203. McClellan E.B., Shew S.B., Lee S. et al. Liver herniation in gastroschisis: incidence and prognosis. *J. Pediatr. Surg.* 2011. 46:2115-8.
204. McNair C., Hawes J., Urquhart H. Caring for the newborn with an omphalocele. *Neonat. Net.* 2006. 25(5):319-27.
205. Meller D., Pauklin M., Thomasen H. et al. Amniotic membrane transplantation in the human eye. *Dtsch. Arztebl. Int.* 2011. 108:243.
206. Mendoza-Novelo B., Alvarado-Castro D.I., Mata-Mata J.L. et al. Stability and mechanical evaluation of bovine pericardium cross-linked with polyurethane prepolymer in aqueous medium. *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.* 2013. 33(4):2392-8.
207. Mermet I., Pottier N., Sainthillier J.M. et al. Use of amniotic membrane transplantation in the treatment of venous leg ulcers. *Wound Rep. Reg.* 2007. 15:459-64.
208. Miller E.A., Goldin A., Tse G.N., Tse R. Extended component separation for repair of high ventral hernia in pediatric omphalocele. *Plast. Reconstr. Surg. Glob. Open.* 2015. 3:e503.
209. Miranda da Silva Alves F., Miranda M.E., Aguir M.J., Bouzada M.C. Nutritional management and postoperative prognosis of newborns submitted to primary surgical repair of gastroschisis. *J. Pediatr. (Rio J.)*. 2016. [www.dx.doi.org/10.1016/j.ped.2015.07.009](http://www.dx.doi.org/10.1016/j.ped.2015.07.009).
210. Mirza B., Sheikh A. An unusual case of gastroschisis. *APSP J. Case Rep.* 2010. 1:2.
211. Mitul A.R. Initial conservative management of exomphalos major with gentian violet. *J. Neonatal. Surg.* 2012. 1(4):51.
212. Mohajeri G., Omid M., Melali H. et al. Bronchial stump closure with amniotic membrane in animal model. *J. Res. Med. Sci.* 2014. 19(3):211-4.
213. Mohammadi A.A., Seyed Jafari S.M., Kiasat, M. et al. Effect of fresh human amniotic membrane dressing on graft take in patients with chronic burn wounds compared with conventional methods. *Burns.* 2013. 39:349.
214. Molinaro F., Angotti R., Bindi E., Pellegrino C., Messina M. et al. Segmental intestinal dilatation associated with omphalocele. *J. Pediatr. Surg. Case Rep.* 2017. 26:1-3.
215. Moore T.C., Stokes G.E. Gastroschisis. Report of two cases treated by a modification of the gross operation for omphalocele. *Surgery.* 1953. 33:112-20.
216. Morris M.W., Westmoreland T., Sawaya D.E., Blewett C.J. Staged closure with negative pressure wound therapy for gastroschisis with liver herniation: A case report. *J. Pediatr. Surg.* 2013. 48:E13-E15.
217. Mucke T., Loeffelbein D.J., Holzle F. et al. Intraoral defect coverage with prelaminate epigastric fat flaps with human amniotic membrane in rats. *J. Biomed. Mater. Res. B Ap. Biomat.* 2010. 95:466-74.
218. Muschaweck U. Umbilical and epigastric hernia repair. *Surg. Clin. N. Am.* 2003. 83:1207-21.
219. Mutanen A., Kolvusalo A., Pakarinen M. Complicated gastroschisis is associated with greater intestinal morbidity than gastroschisis or intestinal atresia alone. *Eur. J. Pediatr. Surg.* 2017. DOI: 10.1055/s-0037-1607198.

220. Mutlu A.E., Boztosun A., Goze F. et al. Effects of allograft amniotic membrane use on adhesion formation after cesarean section in pregnant rat. *Bratisl. Lek. Listy*. 2013. 114(2):62-6.
221. Najibpour N., Ahmed M.A.A.H., Bananzadeh A. et al. The effect of human amniotic membrane as a covering layer on propylene mesh in decrease of adhesion after laparotomy in the rabbit. *Comparative Clin. Pathol.* 2016. 25(1):131-5.
222. Najibpour N., Jahantab M.B., Hosseinzadeh M., Roshanravan R., Moslemi S., et al. The effects of human amniotic membrane on healing of colonic anastomosis in dogs, *Ann. Colorectal Res.* 2013. 1(3):97-100.
223. Nakatsu H., Ueno T., Oga A., Nakao M., Nishimura T. et al. Influence of mesenchymal stem cells on stomach tissue engineering using small intestinal submucosa. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 2015. 9:296-304.
224. Nam N.F., Kaneko J.S., Intelizano P.M., Ferreira R.M., Oliveira N.M. et al. Left-sided gastroschisis associated with situs inversus totalis. *J. Ped. Surg. Case Rep.* 2018. 28:6-8.
225. Negru I., In vivo evaluation of xenogeneic acellular bovine fascia grafts in the reconstruction of abdominal wall defects in swine experimental model. *MJPS. Pediatric Surgery International Conference "Performances and Perspectives in the Pediatric Surgery Development"*. Chisinau, 2017, p. 66-70 ISSN 2587-3210.
226. Nichol P.F., Corliss R.F., Yamada S. et al. Muscle patterning in mouse and human abdominal wall development and omphalocele specimens of humans. *Anat. Rec.* 2012. 295( 12):2129-40.
227. Obermiller J.F., Hodde J.P., McAlexander C.S. et al. A comparison of suture retention strengths of three biomaterials. *Med. Sci. Monit.* 2004. 10(1):PI1-PI5.
228. Olesevich M., Alexander F., Khan M., Cotman K. Gastroschisis revisited: role of intraoperative measurement of abdominal pressure. *J. Pediatr. Surg.* 2005. 40:789-92.
229. Olmos-Zuniga J. R., Jasso-Victoria R., Sotres-Vega A. et al. Evaluation of the use of bovine pericardium in non-anatomical lung resections in dogs. *Rev.Investig. Clinica.* 2002. 54:334-41.
230. Owen A., Maeven S., Johnson P. et al. Gastroschisis: a national cohort study to describe contemporary surgical strategies and outcomes. *J. Pediatr. Surg.* 2010. 45:1808-16.
231. Paeini-Vayghan G., Peirovi H., Niknejad H. Inducing of angiogenesis is the net effect of the amniotic membrane without epithelial cells. *Irn. J. Med. Hypotheses Ideas.* 2011. 5:16.
232. Panitch H.B. Pulmonary complications of abdominal wall defects. *Paediat. Resp. Reviews.* 2015. 16:11-7.
233. Parida L., Pal K., Al Buainain H., Elshafei H., Staged closure of giant omphalocele using synthetic mesh. *APSP J Case Rep.* 2014. 5(3): 27.
234. Partridge E.A., Hanna B.D., Panitch H.B., Rintoul N.E., Peranteau W.H. et al. Pulmonary hypertension in giant omphalocele infants. *J. Pediatr. Surg.* 2014. 49:1767-77.
235. Parvathy Thampi, Divakaran Nair, Lalithakunjam R. et al. Pathological effects of processed bovine pericardial scaffolds – a comparative in vivo evaluation. *Artificial Organs.* 2013. 37(7):600-5.
236. Pascual G., Sotomayor S., Perez-Lopez P., Bujan J., Bellon J.M. Long term behavior of biological prostheses used as abdominal wall substitutes. *Histol. Histopathol.* 2014. 29:139-49.
237. Pascual G., Sotomayor S., Rodriguez M. Repair of abdominal wall defects with biodegradable laminar prostheses: polymeric or biological? *PLoS ONE.* 2012. 7(12):e52628. doi:10.1371/journal.pone.0052628.
238. Patel R.V., More B., Sinha C.K., Rajimawale A. Inferior gastroschisis. *BMJ Case Rep.* 2013. doi:10.1136/bcr-2013-200416.
239. Peranteau W.H., Tharakan S.J., Partridge E., Herkert L. Rintoul N.E. et al. Systemic hypertension in giant omphalocele: An underappreciated association. *J. Pediatr. Surg.* 2015. 50: 1477-80.
240. Pereira R.M., Tatsuo E.S., Simo A.C. et al. New method of surgical delayed closure of giant omphaloceles; Lazaro da Silva technique. *J. Pediatr. Surg.* 2004. 39(7):1111-5.

241. Pet G.E., Stark R.A., Meehan J.J., Javid P.J. Outcomes of bedside sutureless umbilical closure without endotracheal intubation for gastroschisis repair in surgical infants. *Am. J. Surg.* 2017. 213:958-62.
242. Peters N.C.J., Vissert Hooft M.E., Ursem N.E., Eggink A.J., Wijnen R.M.H. et al. The relation between viscerio-abdominal disproportion and type of omphalocele closure. *Eur. J. Obstetr. Gynecol. Reprod. Biol.* 2014. 181:294-9.
243. Petter-Puchner A.H., Fortelny R.H., Mika K. et al. Human vital amniotic membrane reduces adhesions in experimental intraperitoneal onlay mesh repair. *Surg. Endosc.* 2011. 25(7):2125-31.
244. Petter-Puchner A.H., Fortelny R.H., Walder N. et al. Adverse effects associated with the use of porcine cross-linked collagen implants in an experimental model of incisional hernia repair. *J. Surg. Res.* 2008. 145(1):105-10.
245. Phillips J.D., Raval M.V., Redden C. et al. Gastroschisis, atresia, dysmotility: surgical treatment strategies for a distinct clinical entity. *J. Pediatr. Surg.* 2008. 43:2208-12.
246. Port-Lis M., Leroy C., Manouvrier S., Escande F., Passemard S. et al. A familial syndromal form of omphalocele. *Eur. J. Med. Genet.* 2011. 54:337-40.
247. Puligandla P.S., Baird R., Skarsgard E.D., Emil S., Laberge J.M. Outcome prediction in gastroschisis – The gastroschisis prognostic score (GPS) revisited. *J. Pediatr. Surg.* 2017. 52:718-21.
248. Rad M.M., Amiri F.T., Mirhoseini M., Ghasemi M., Mirzaei M., Mosaffa N. Application of allogeneic fibroblast cultured on acellular amniotic membrane for full-thickness wound healing in rats. *Wounds.* 2016. 28(1):14-9.
249. Raia-Barjat T., Stadler A., Varlet M.N., Fanget C., Noblot E. et al. Accuracy of antenatal ultrasound signs in predicting the risk for bowel atresia in patients with gastroschisis. *Eur. J. Obstetr. & Gynecol. Reprod. Biol.* 2016. 203:116-20.
250. Ramirez O.M., Ruas E., Dellon A.L. “Components separation” method for closure of abdominal-wall defects: an anatomic and clinical study. *Plast. Reconstr. Surg.* 1990. 86(3):519-26.
251. Rastegarpour A., Cheung M., Vardhan M., Ibrahim M.M., Butler C.E., Levinson H. Surgical mesh for ventral incisional hernia repairs: Understanding mesh design. *Plast. Surg.* 2016. 24(1):41-50.
252. Rattana-arpa S., Lapmahapaisan S., Siriussawakul A. Perioperative glycaemic control for preterm infant with transient neonatal hyperglycaemia and gastroschisis. *BMC Res. Notes.* 2016. 9:140. DOI: 10.1186/s13104-016-1957-y.
253. Redford D.H., McNay M.B., Whittle M.J. Gastroschisis and exomphalos: precise diagnosis by midpregnancy ultrasound. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 1985. 92:54-9.
254. Rennekampff H. O., Dohrmann P., Fory R., Fandrich F. Evaluation of amniotic membrane as adhesion prophylaxis in a novel surgical gastroschisis model. *J. Invest. Surg.* 1994. 7(3):187-93.
255. Rex D., Chowdhury M.M., O'Malley A.J. et al. Gastroschisis with Hirschsprung's disease: a therapeutic dilemma. *J. Pediatr. Surg.* 2010. 45:1724-6.
256. Riggle R.M., Davis J.L., Drugas G.T., Riehle K.J. Fatal Clostridial necrotizing enterocolitis in a term infant with gastroschisis. *J. Ped. Surg. Case Rep.* 2016. 14: 29-31.
257. Risby K, Jakobsen MS, Qvist N. Congenital abdominal wall defects: staged closure by dual mesh. *J Neonat Surg.* 2016; 5:2.
258. Risby K., Husby S., Qvist N., Jakobsen M.S. High mortality among children with gastroschisis after the neonatal period: A long-term follow-up study. *J. Pediatr. Surg.* 2017. 52:431-6.
259. Ritter M., Campana H., Ermini M.L. et al. Gastroschisis and young mothers: What makes them different from other mothers of the same age? *Birth Defects Res. A Clin. Mol. Teratol.* 2015. 103(6):536-43.
260. Roelof L.A.J., Geutjes P.J., Hulsbergen-van de Kaa C.A. et al. Prenatal coverage of experimental gastroschisis with a collagen scaffold to protect the bowel. *J. Pediatr. Surg.* 2013. 48:516-24.
261. Ryckman J., Aspirot A., Laberge J.M. et al. Intestinal venous congestion as a complication of elective silo placement for gastroschisis. *Semin. Pediatr. Surg.* 2009. 18:109-12.



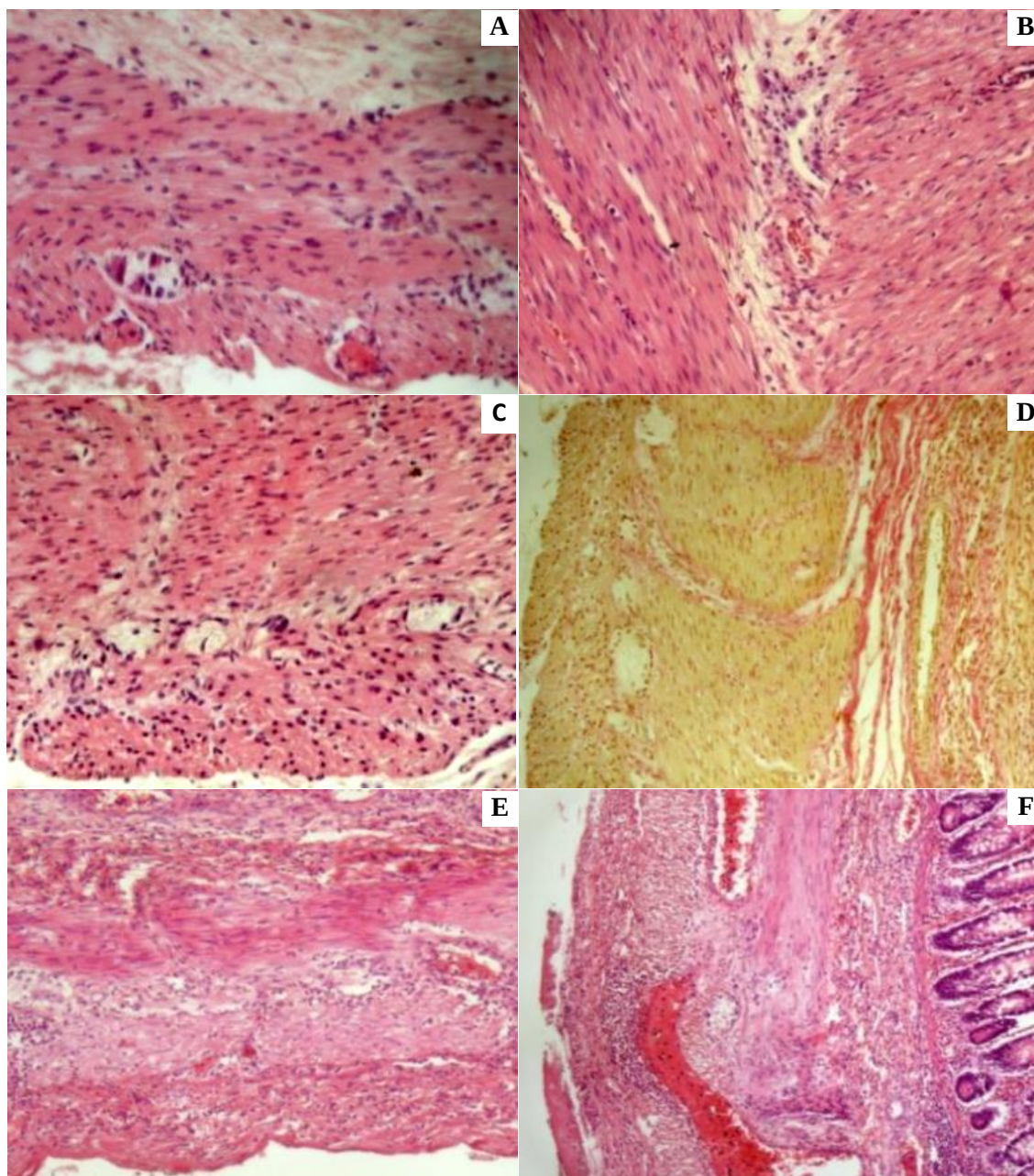
262. Sangkhathat S., Patrapinyokul S., Chiengkriwate P. et al. Infectious complications in infants with gastroschisis: an 11 year review from a referral hospital in southern Thailand. *J. Pediatr. Surg.* 2008. 43:473-8.
263. Sarwar I., Sultana R., Nisa R.U., Qayyum I. Vaginoplasty by using amnion graft in patients of vaginal agenesis associated with Mayor-RokitanskyKuster-Hauser syndrome. *J. Ayub Med. Coll. Abbottabad.* 2010. 22:7-10.
264. Schlueter R.K., Azarow K.S., Hines A.G. et al. Identifying strategies to decrease infectious complications of gastroschisis repair. *J. Pediatr. Surg.* 2015. 50(1):98-101.
265. Schmidt A.F., Goncalves A., Bustorff-Silva J.M. et al. Does staged closure have a worse prognosis in gastroschisis? *Clinics.* 2011. 66(4):563-6.
266. Schuster S.R. A new method for the staged repair of large omphaloceles. *Surg. Gynecol. Obstet.* 1967. 125:837-50.
267. Seashore J.H., MacNaughton R.J., Talbert J.T. Treatment of gastroschisis and omphalocele with biological dressings. *J. Pediatr. Surg.* 1975. 10(1):9-17.
268. Serber J., Stranzinger E., Geiger J.D., Teitelbauma D.H. Association of gastroschisis and choledochal cyst. *J. Pediatr. Surg.* 2009. 44:E23-E26.
269. Shah R.S., Parelkar S.V., Sanghvi B.V., Gupta R.K., Mudkhedkar K.P.. Staged repair of giant exomphalos major using tissue expanders. *J. Ped. Surg. Case Rep.* 2016. 13:13-7.
270. Shakeri S., Haghpanah A., Khezri A. et al. Application of amniotic membrane xenograft for urethroplasty in rabbit. *Int. Urol. Nephrol.* 2009. 41:895-901.
271. Shaw A. The myth of gastroschisis. *J. Pediatr. Surg.* 1975. 10:235-44.
272. Shawyer A.C., Bailey K., Cameron B.H. The use of Alloderm for a giant omphalocele with a ruptured sac and inadequate skin coverage. *J. Ped. Surg. Case Rep.* 2013. 1:267-9.
273. Sherif E., Noah C., Tiffany Ch. et al. Contemporary 2-year outcomes of complex gastroschisis. *J. Pediatr. Surg.* 2012. 47:1521-8.
274. Shi Y., Farinelli C.K., Chang M.S., Carpenter Ph.M. Left-sided gastroschisis with placenta findings: case report and literature review. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2012. 5(3):243-6.
275. Shimazaki J., Kosaka K., Shimmura S., Tsubota K. Amniotic membrane transplantation with conjunctival autograft for recurrent pterygium. *Ophthalmology.* 2003. 110:119-24.
276. Singh A.K., Shenoy Y.R. Skin substitutes: An Indian perspective. *Indian J. Plast. Surg.* 2012. 45:388-95.
277. Sinkey R.G., Habli M.A., South A.P. et al. Sonographic markers associated with adverse neonatal outcomes among fetuses with gastroschisis: an 11-year, single-center review. *Am. J. Obstet Gynecol.* 2016. 214(2):275.e1-7. doi: 10.1016/j.ajog.2015.09.081.
278. Siy R.W., Pferdehirt R.E., Izaddoost S.A. Non-crosslinked porcine acellular dermal matrix in pediatric abdominal wall reconstruction: a case series. *J. Pediatr. Surg.* 2017. 52:639-43.
279. Slater N.J., van der Kolk M., Hendriks T. et al. Biologic grafts for ventral hernia repair: a systematic review. *Am. J. Surg.* 2013. 205:220-30.
280. Spencer B. Problems in rectal biopsy due to immaturity of ganglion cells in seminar on pseudo-Hirschsprung's disease and related disorders. *Arch. Dis. Child.* 1966. 41:149.
281. Spitz L. A historical vignette: gastroschisis. *J. Pediatr. Surg.* 2008. 43:1396-7.
282. Sriworarak R., Suthiwongsing A., Ratanasuwan T., Niramis R. Clinical outcomes of omphalocele: An analysis of 124 patients. *The Thai J. Surg.* 2010; 31:48-53.
283. Stevenson R.E., Hall J.G., Goodman R.M. Human malformations and related anomalies. New. York: Oxford University Press. 1993. pp. 882-5.
284. Suson K.D., Novak T.E., Gupta A.D., Benson J., Sponseller P., Gearhart J.P. Neuro-orthopedic manifestations of the omphalocele, exstrophy, imperforate anus, spinal defects complex. *J. Urol.* 2010. 184:1651-5.

285. Taguchi T., Masumoto K., Ieiri S. et al. New classification of hypoganglionosis: congenital and acquired hypoganglionosis. *J. Pediatr. Surg.* 2006. 41:2046-51.
286. Takanari K., Hong Y., Hashizume R. Et al. Abdominal wall reconstruction by a regionally distinct biocomposite of extracellular matrix digest and a biodegradable elastomer. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 2016. 10:748-61.
287. Tao H., Fan H. Implantation of amniotic membrane to reduce postlaminectomy epidural adhesions. *Eur. Spine. J.* 2009. 18:1202-12.
288. Tehrani F.A., Ahmadiani A., Nikmejad H. The effects of preservation procedures on antibacterial property of amniotic membrane. *Cryobiol.* 2013. 67:293-8.
289. Tekin S., Tekin A., Kucukkartallar T. et al. Use of chorioamniotic membrane instead of bogota bag in open abdomen: now I do it? *World J. Gastroenterol.* 2008. 14(5):815-6.
290. Thepcharoennirund S. Primary fascial closure in 112 infants with gastroschisis. *J. Med. Assoc. Thai.* 2005. 88(4):492-7.
291. Thompson J.M., Bannigan J.G. Omphalocele induction in the chick embryo by administration of cadmium. *J. Pediatr. Surg.* 2007. 42:1703-9.
292. Toda A., Okabe M., Yoshida T., Nikaido T. The Potential of amniotic membrane/amnion-derived cells for regeneration of various tissues. *J. Pharmacol. Sci.* 2007. 105:215-28.
293. Todros S., Pavan P.G., Natali A.N. Synthetic surgical meshes used in abdominal wall surgery: Part I - materials and structural conformation. *J. Biomed. Mater. Res. Part B.* 2017. 105B:689-99.
294. Tomita T., Hayashi N., Okabe M. et al. New dried human amniotic membrane is useful as a substitute for dural repair after skull base surgery. *J. Neurol. Surg. B.* 2012. 73:302-7.
295. Torfs C.P., Christianson R.E., Iovannisci D.M. et al. Selected gene polymorphisms and their interaction with maternal smoking, as risk factors for gastroschisis. *Birth. Defects Res. A Clin. Mol. Teratol.* 2006. 76:723-30.
296. Tran D.A., Truong Q.D., Nguyen M.T. Topical application of Povidone-Iodine solution (Betadine) in the management of giant omphalocele. *Dermatology.* 2006. 212:88-90.
297. Travassos D.V., van Ferde A.M., Kramer W.L.M. Management of a giant omphalocele with non-cross-linked intact porcine-derived acellular dermal matrix (stattice) combined with vacuum therapy. *Eur. J. Pediatr. Surg. Rep.* 2015. 3:61-3.
298. Tsai M.C., Chen S.N. Hypothermia and sepsis: the major causes of mortality in gastroschisis. *Zhonghua Min. Guo. Xiao Er. Ke Yi Xue Hui Za Zhi.* 1995. 36:328-30.
299. Uema R.T., Fazan V. P. S., Cherri J., Eli Piccinato C. Bovine peritoneum protection role on Intestinal adhesions to a vascular graft: A morphological analysis. *J. Morphol.* 2008. 26(2):269-74.
300. Uludag M., Citgez B., Ozkaya O. et al. Effects of amniotic membrane on the healing of normal and high-risk colonic anastomoses in rats. *Int. J. Colorectal. Dis.* 2009. 24:809-17.
301. Valdez J.A.L., Coyolt D.M.C., Vega C.A.V. New embryological hypothesis, genetics and epidemiology of gastroschisis. *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.* 2011. 68(3):224-31.
302. van Eijck F.C., Aronson D.A., Hoogeveen Y.L., Wijnen R.M.H. Past and current surgical treatment of giant omphalocele: outcome of a questionnaire sent to authors. *J. Pediatr. Surg.* 2011. 46:482-8.
303. van Eijck F.C., van Vlimmeren L.A., Wijnen R. et al. Functional, motor developmental, and long-term outcome after the component separation technique in children with giant omphalocele: A case control study. *J. Pediatr. Surg.* 2013. 48:525-32.
304. van Eijck F.C., Wijnen R.M., van Goor H. The incidence and morbidity of adhesions after treatment of neonates with gastroschisis and omph.: a 30-year review. *J. Pediatr. Surg.* 2008. 43(3):479-83.
305. Vermeij-Keers C., Hartwig N.G., van der Werff J.F. Embryonic development of the ventral body wall and its congenital malformations. *Semin. Pediatr. Surg.* 1996. 5:82-9.
306. Vissick C. An umbilical hernia in a newly born child. *Lancet.* 1873.1:829.

307. Wang X., Xie J., Tan L. Epithelium of human fresh amniotic membrane has antimicrobial effects in vitro. *Afr. J. Microbiol. Res.* 2012. 6(21):4533-7.
308. Wang Y., Xu Y.D., Li J.S. Cholangioplasty by using a patch of bovine pericardium in treatment of stricture of extrahepatic bile duct. *ZhonghuaWaiKeZaZhi.* 1994. 32(5):269-70.
309. Ward E.P., Wang A., Thangarajah H., Lazar D., Bickler S., et al. Preemptive Ladd in congenital diaphragmatic hernia and Abdominal Wall defects does not reduce the risk of future volvulus. *J. Pediatr. Surg.* 2017., <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2017.08.067>
310. Watanabe S., Suzuki T., Hara F., Yasui T., Uga N., Naoe A. Omphalocele and gastroschisis in newborns: Over 16 years of experience from a single clinic. *J. Neonatal. Surg.* 2017. 5;6(2):27. doi: 10.21699/jns.v6i2.530.
311. Watkins D.E. Gastroschisis. *Va. Med.* 1943. 70:42-5.
312. Werbeck R., Koltai J. Umbilical cord as temporary coverage in gastroschisis. *Eur. J. Pediatr. Surg.* 2011. 21:292-5.
313. Whitehouse J.S., Gourlay D.M., Masonbrink A.R. et al. Conservative management of giant omphalocele with topical povidone-iodine and its effect on thyroid function. *J. Pediatr. Surg.* 2010. 45:1192-7.
314. Wietfeldt E.D., Hassan I., Rakinic J. Utilization of bovine acellular dermal matrix for abdominal wall reconstruction: a retrospective case serie. *Ost. Wound Manag.* 2009. 55(8):52-6.
315. Wilson R.D., Johnson M.P. Congenital abdominal wall defects: An update. *Fetal Diagn. Ther.* 2004. 19:385-98.
316. Wooten K.E., Ozturk C.N., Ozturk C., Laub P., Aronoff N., Gurunluoglu R. Role of tissue expansion in abdominal wall reconstruction: A systematic evidencebased review. *J. Plastic, Reconstr. Aesth. Surg.* 2017. 70:741-51.
317. Yatim R.M., Kannan T.P., Ab Hamid S.S., Shamsudin S.H. Effects of different processing methods of human amniotic membrane on the quality of extracted RNA. *Arch. Orofac. Sci.* 2013. 8(2):47-53.
318. Yazdy M.M., Mitchell A.A., Werler M.M. Maternal genitourinary infections and the risk of gastroschisis. *Am. J. Epidemiol.* 2014. 180(5):518-25.
319. Yelisseyev N.T. Application of preserved heteroperitoneum for plastic operation of postoperational ventral hernia. *Acta Chir Plast.* 1970; 12:77-84.
320. Youssef F., Gorgy A., Arbash G., Puligandla P.S., Baird R.J. Flap versus fascial closure for gastroschisis: a systematic review and meta-analysis. *J. Pediatr. Surg.* 2016. 51:718-25.
321. Youssef F., Laberge J.M., Puligandla P., Emil S. Determinants of outcomes in patients with simple gastroschisis. *J. Pediatr. Surg.* 2017. 52:710-4.
322. Zama M., Gallo S., Santecchia L. et al. Early reconstruction of the abdominal wall in giant omphalocele. *Br. J. Plast. Surg.* 2004. 57:749-53.
323. Zani-Ruttenstock E., Zani A., Paul A., Diaz-Cano S., Ade-Ajayi N. Interstitial cells of Cajal are decreased in patients with gastroschisis associated intestinal dysmotility. *J. Pediatr. Surg.* 2015. 50:750-4.
324. Zelen C.M., Serena T.E., Snyder R.J. A prospective, randomised comparative study of weekly versus biweekly application of dehydrated human amnion/chorion membrane allograft in the management of diabetic foot ulcers. *Int. Wound J.* 2014. 11:122-8.

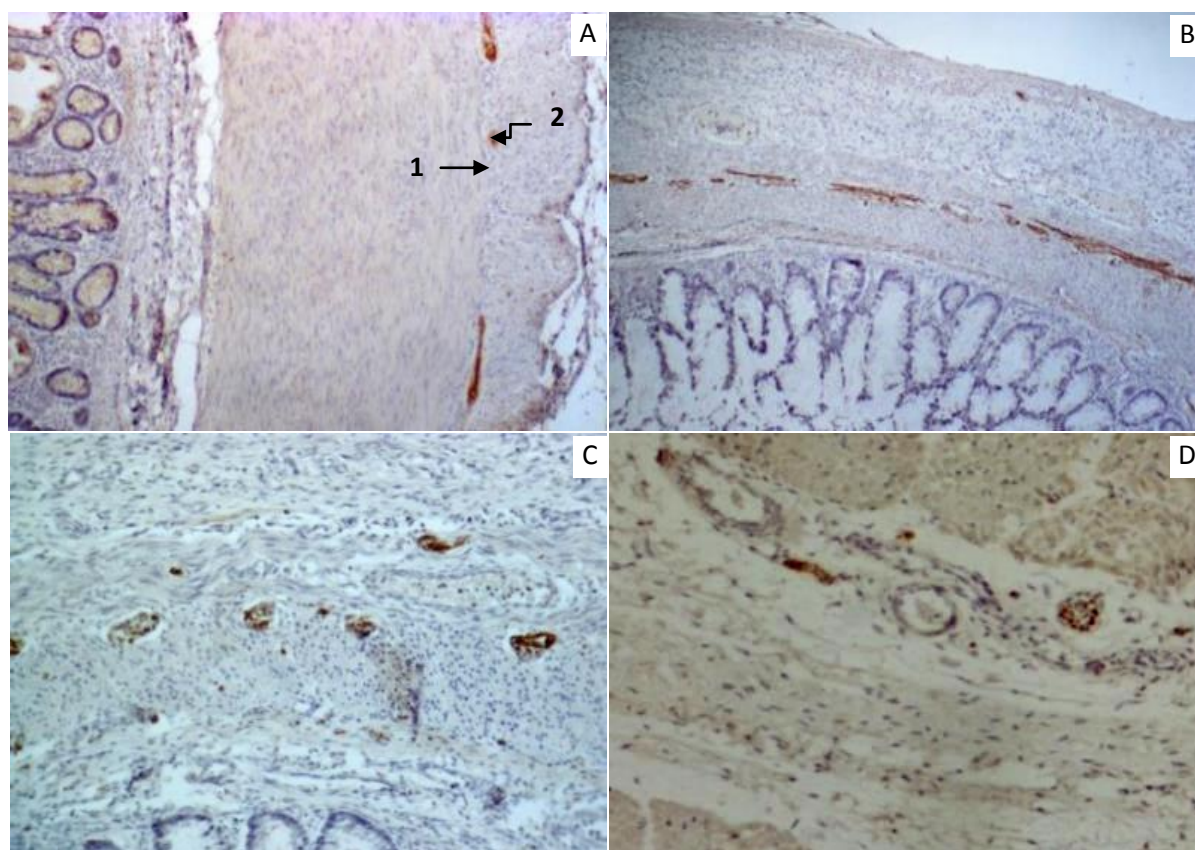
## ANEXE

### Anexa 1.1 Material Ilustrativ

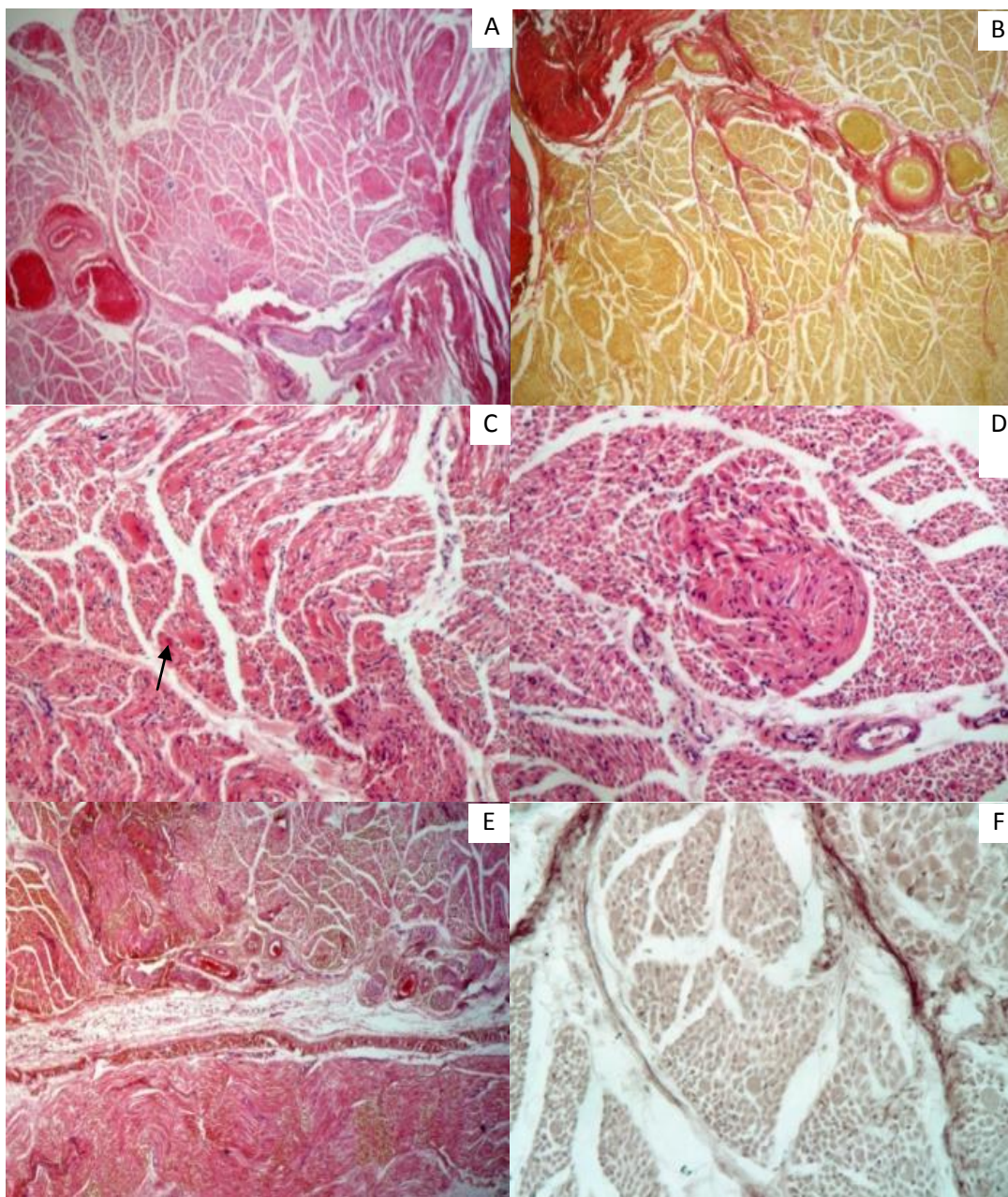


Anexa 1.1. Modificări morfopatologice neuromusculare enterice. A - hipertrofia fasciculelor musculare cu dismaturitate ganglionară mienterică la nivelul intestinului subțire.  $\times 100$ . Color. H&E; B - dismaturitate ganglioneuronală mienterică la nivelul intestinului gros.  $\times 50$ . Color. H&E; C - ganglioneuron mienteric cu distrofie granulară la nivelul intestinului gros.  $\times 50$ . Color. H&E; D - structuri ganglioneuronale mienterice cu dismaturitate a celulelor neuronale și distrofie vacuolară.  $\times 50$ . Color. H&E; E - viscerită peritoneală exsudativă fibrinoleucocitară asociată cu un proces inflamator al structurilor ganglioneuronale mienterice.  $\times 50$ . Color. H&E; F - Aspect histologic al intestinului gros cu component structural normal asociat cu distrofie ganglioneuronală mienterică, ectazii vasculare de stază și viscerită exsudativă fibrinoleucocitară.  $\times 50$ . Color. H&E.



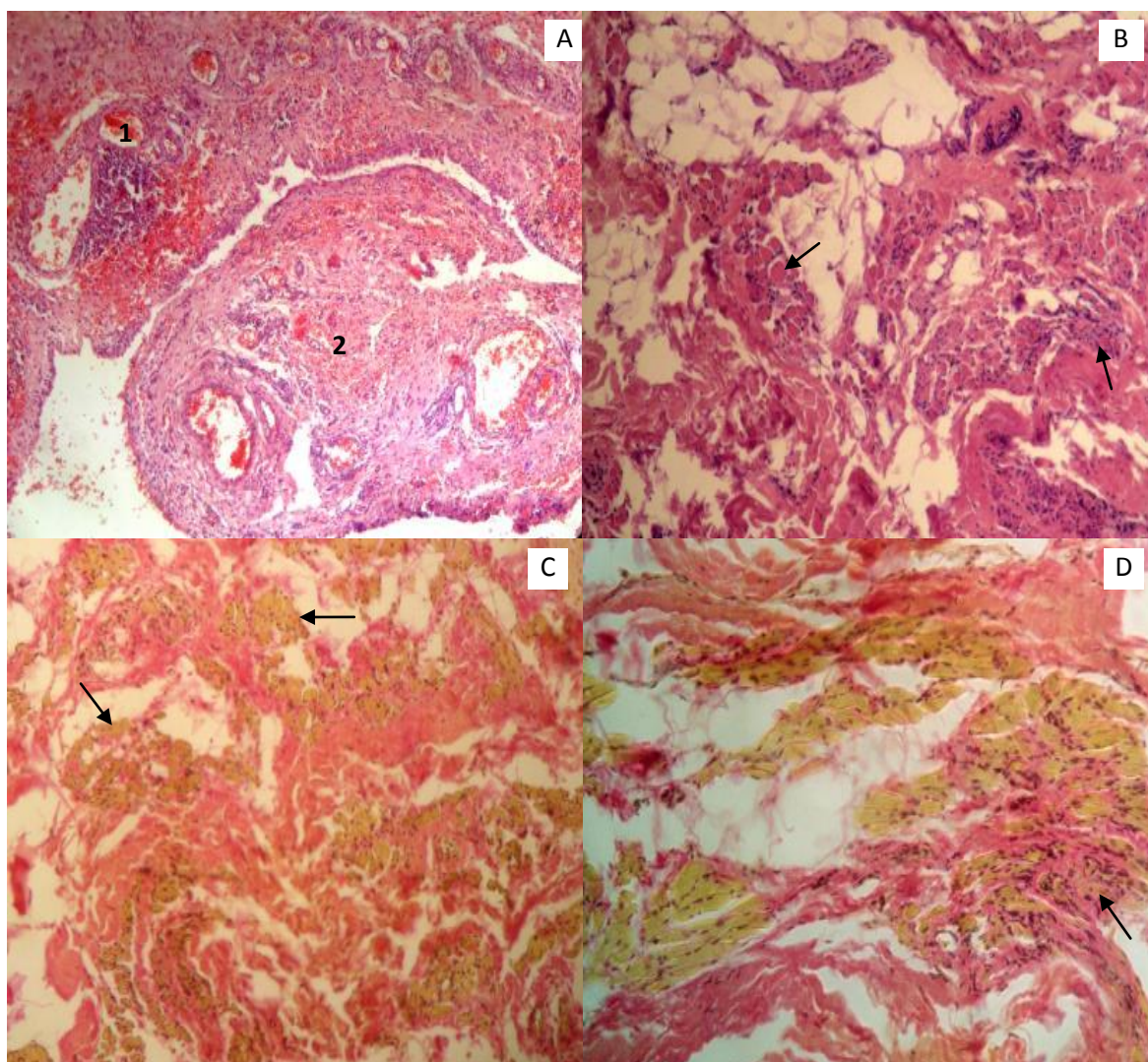


Anexa 1.2. Modificări imunohistochimice constatate la nivelul anselor eviscerate. A - Intestinul subțire eviscerat. Expresie imunohistochimică variată a NFP: 1- neuroni cu reacția 3+; 2 - neuroni cu reacția „0” în unul și același ganglioneuron.  $\times 25$ ; B - Intestin colonic intraabdominal. Expresie imunohistochimică a NFP cu reacția 3+ la o repartitie anatomică normală a structurilor nervoase mienterice.  $\times 25$ ; C - intestinul gros: expresie imuno-histochimică cu semnificație 3+ (1) și „0” a NFP în localizarea haotică a structurilor nervoase mienterice.  $\times 75$ ; D - expresie imunohistochimică a NFP cu semnificația 3+ la o repartitie anatomică redusă a structurilor nervoase mienterice.  $\times 25$ .



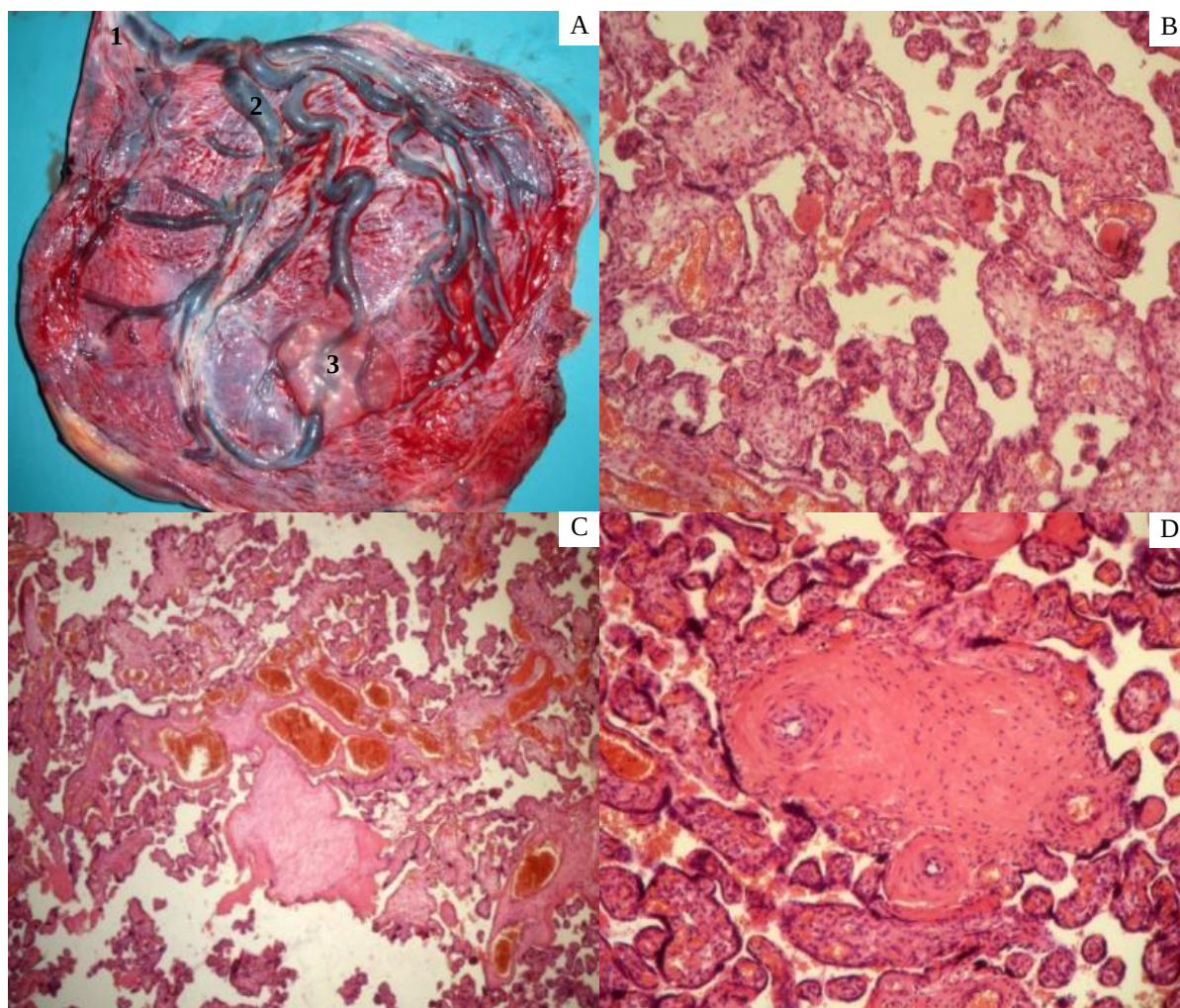
Anexa 1.3. A - dismaturitate a musculaturii abdominale cu semne de hiper- și hipotrofie.  $\times 50$ . Color. H&E; B - Diferențiere slabă a țesutului conjunctiv în țesutul muscular.  $\times 50$ . Color. H&E; C - Musculara abdominală. Discronism morfologic al miocitelor și al fasciculelor cu hipertrofie asincronă dispersă a miocitelor.  $\times 100$ . Color. H&E; D - Musculara abdominală. Fascicule cu dezorganizare haotică a miocitelor sub formă de pseudonoduli cu hipertrofie asincronă.  $\times 100$ . Color. H&E; E - Fascicule vasculo-nervoase în zonele fasciilor intermusculare.  $\times 50$ . Color. H&E; F - impregnare coloră a fibrelor elastice din spațiile interfasciculare musculare cu orceină.  $\times 100$ . Color. histochimică cu orceină



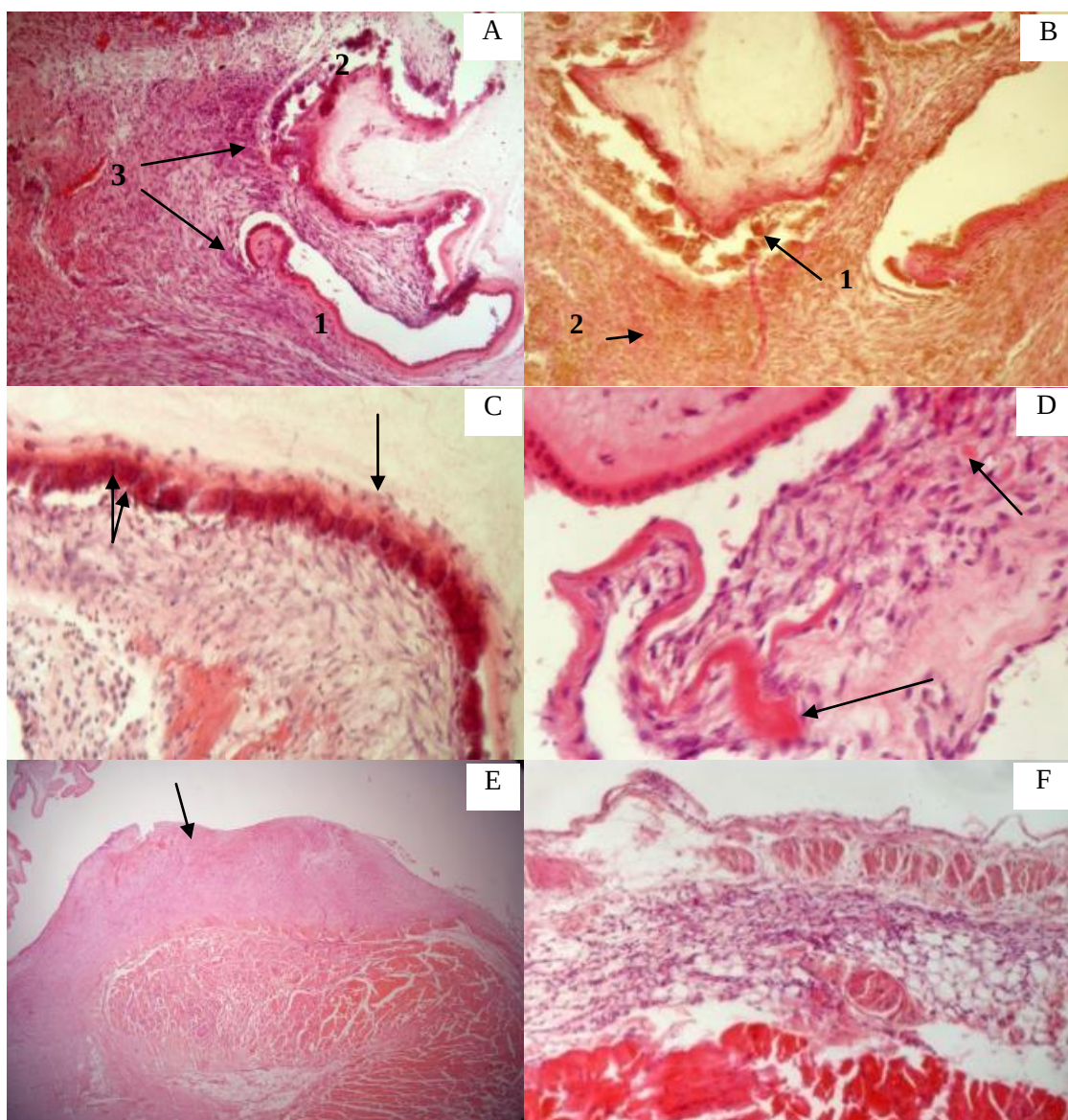


Anexa 1.4. Aspecte histopatologice ale componentei musculare abdominale A - structura internă a peretelui omfalocelului: 1 - bridă fibro-vasculară cu rețea vasculară tapetată cu mezoteliu; 2 – pseudofolicul limfocitar perivascular în peretele omfalocelului în zona limitrofă.×25; B – fascicule musculare dezordonate cu aspect de hipertrofie în componenta tisulară fibrilar-conjunctivă și celulo-adipoasă.×75; C – platou de țesut abdominal ușor ordonat, cu fibre musculare hipertrofiate.×75; D – insulițe de fibre musculare și miocite cu aspect de întumescență și atrofie în mase de țesut conjunctiv.×75. Colorație H-E (A, B) și VG (C,,D)



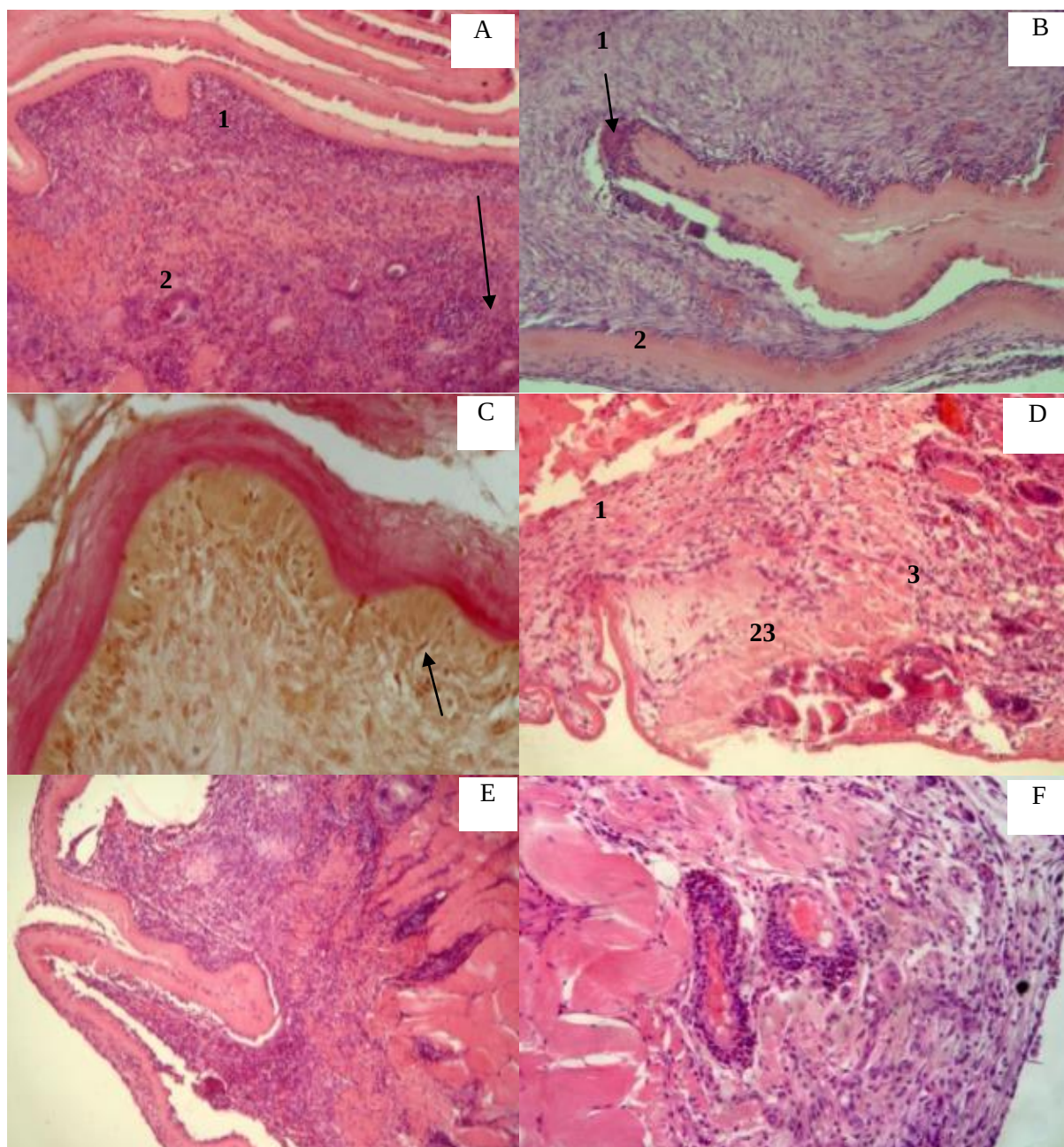


Anexa 1.5. A - complex placentar la 40 s/g: 1- inserție marginală de cordon; 2 - dilatare varicoasă a rețelei venoase corioamnionale; 3- chist seros. *Piesă macroscopică*. B - corion vilozitar – deficiență a componentei conjunctive cu aspect de monstruozitate și rețea venoasă ectaziată congestivă în focar.  $\times 100$ . Corion vilozitar – angioectazie varicoasă congestivă a rețelei venoase a vilozităților trunculare.  $\times 25$ . Color. H&E; D - Angiopatie arterială hipertrofico stenozantă la nivelul vilozităților trunculare.  $\times 25$ . Color. H&E

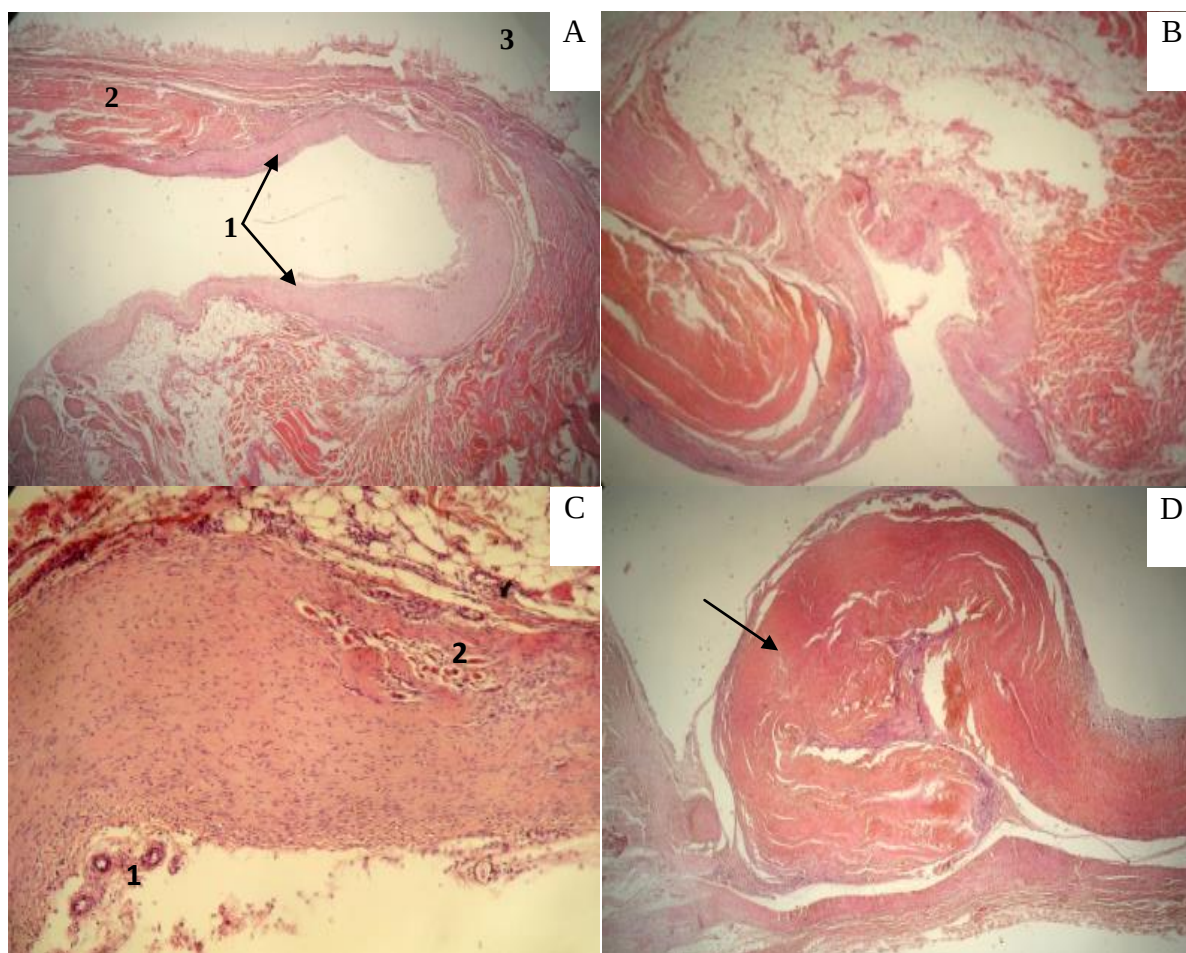


Anexa 1.6. A - granulații în zona mezenchimal- peritoneală: 1 - consolidare intimă cu stratul matricial al amniosului; 2 - detensionare focală a amniosului în zona amniocitară; 3 - simplaste celulare celulare polinucleare x 75; B - imagine ce precede amplificarea: 1- reacție în simplaste gigantocelulare polinucleare; 2 – depozite filiforme de collagen și de fibre conjunctive fine. x 120; C - migrație transepitelială a fibroblastelor la frontieră cu amniosul x 100; D - fascicule ale amniosului conjunctiv dens în aria granulațiilor cuprinse de fibroblaste cu aspect spiralat x 120; E - procese de granulații excesive și proliferativ-fibroblastice peritoneale în imediata apropiere de linia de contact x 75; F - edem reactiv al peritoneului și țesuturilor celulo-adipoase la distanță x 75. Color. H-E.



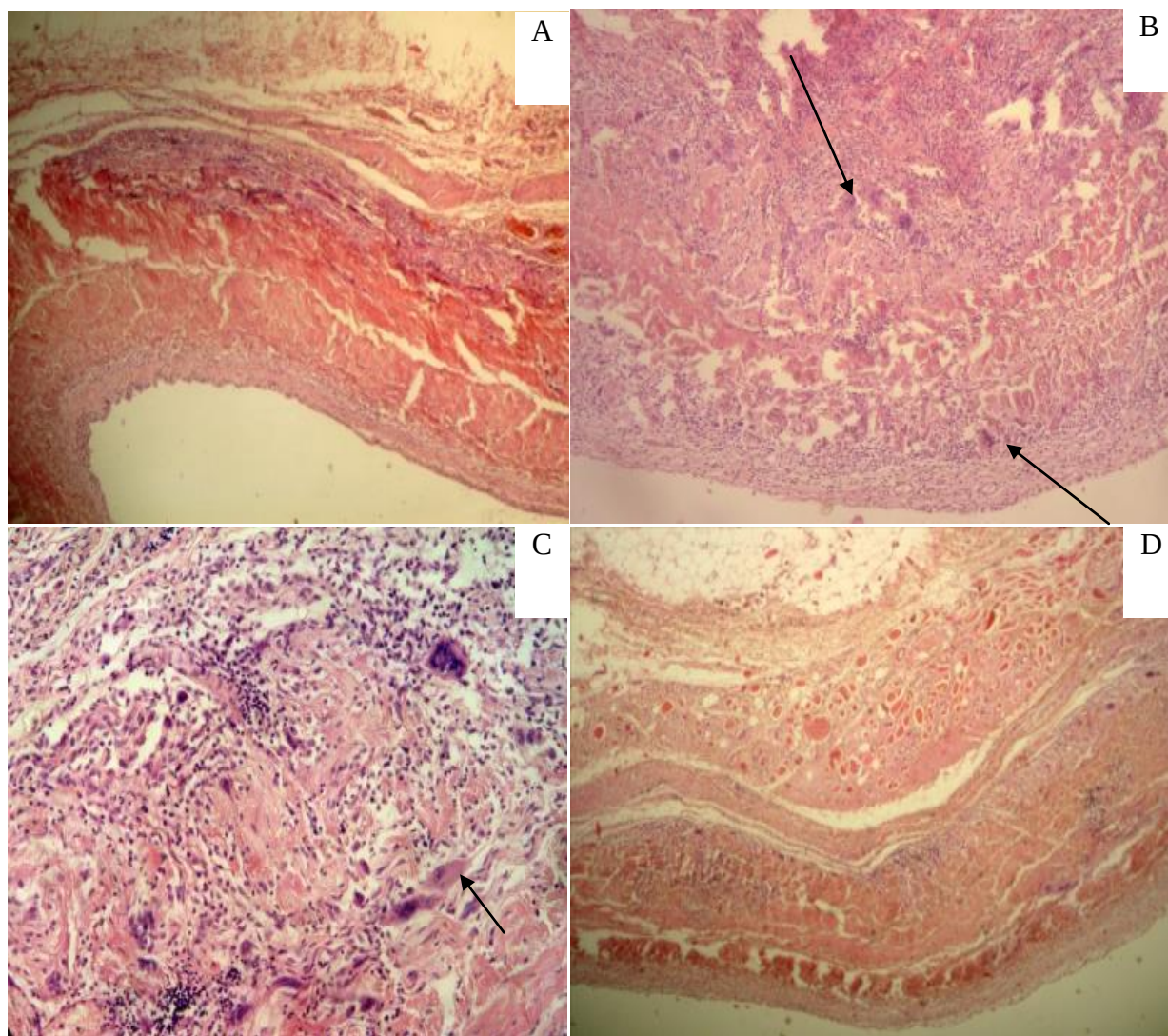


Anexa 1.7. A - platou de granulații imature interpus între musculară și amnios: 1- hipercelularizare cu PMN – eozinofile; 2- simplaste polinucleare de origine musculară cu aranjare (→) în mici cordoane. x 25; B - aspecte ale colelației țesutului animal cu implantul: 1- amnios cu calcifiere ale epiteliului și detașare parțială; 2 – amnios lipsit de componenta amniocitară înglobat în granulație x 75, *Color. H-E*; C - zona de contact – platou de granulații cu fenomen de penetrare a PMN și implantare a fibroblastelor în componenta amniocitară. x 200, *Color. VG*; D - procese de regenerare a țesutului conjunctiv-muscular: 1 - amnios; 2 -granulații; 3- regenerare a țesutului muscular și angiogeneză. x 100; E - fenomen de detersiune a amnionului la suprapunerea cu suprafața amniocitară, granulații imature cu PMN asociate cu vasculite perifocare la nivelul stratului muscular, x 75; F - perivascularite polimorfocelulare cu predominarea componentei eozinofile la hotar cu stratul musculo-fascial x 100. *Color. H-E*

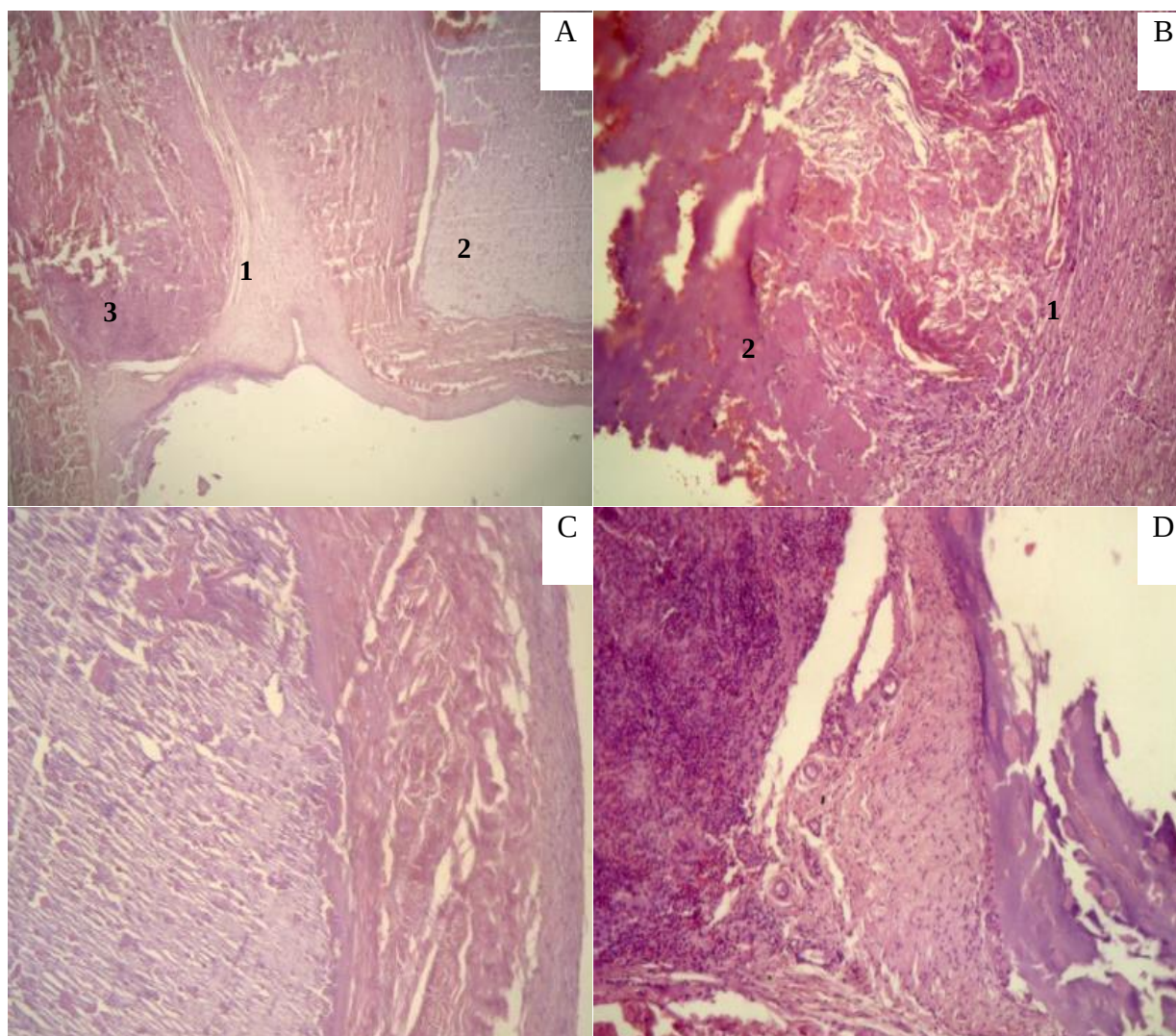


Anexa 1.8. Aspect a proceselor reparativ regenerative la hotar cu implantul de peritoneu bovin (A): 1 - stratul conjunctiv peritoneal; 2 - implantul; 3 - stratul conjunctiv subcutaneu.  $\times 25$ . Color. H-E; B - plast conjunctiv intermediar dintre țesuturile gazdei și inplanul de peritoneu bovin dificil dezvoltat.  $\times 25$ . Color. H-E; C - plast conjunctiv neoformat cu rețea vasculară (1) și insulițe de musculară cu aspecte reginerare.  $\times 75$ . Color. H-E; D - aglomerări ale grefei de peritoneu bovin încapsulate în țesut conjunctiv neoforma la linia de consolidate.  $\times 25$ . Color. H-E



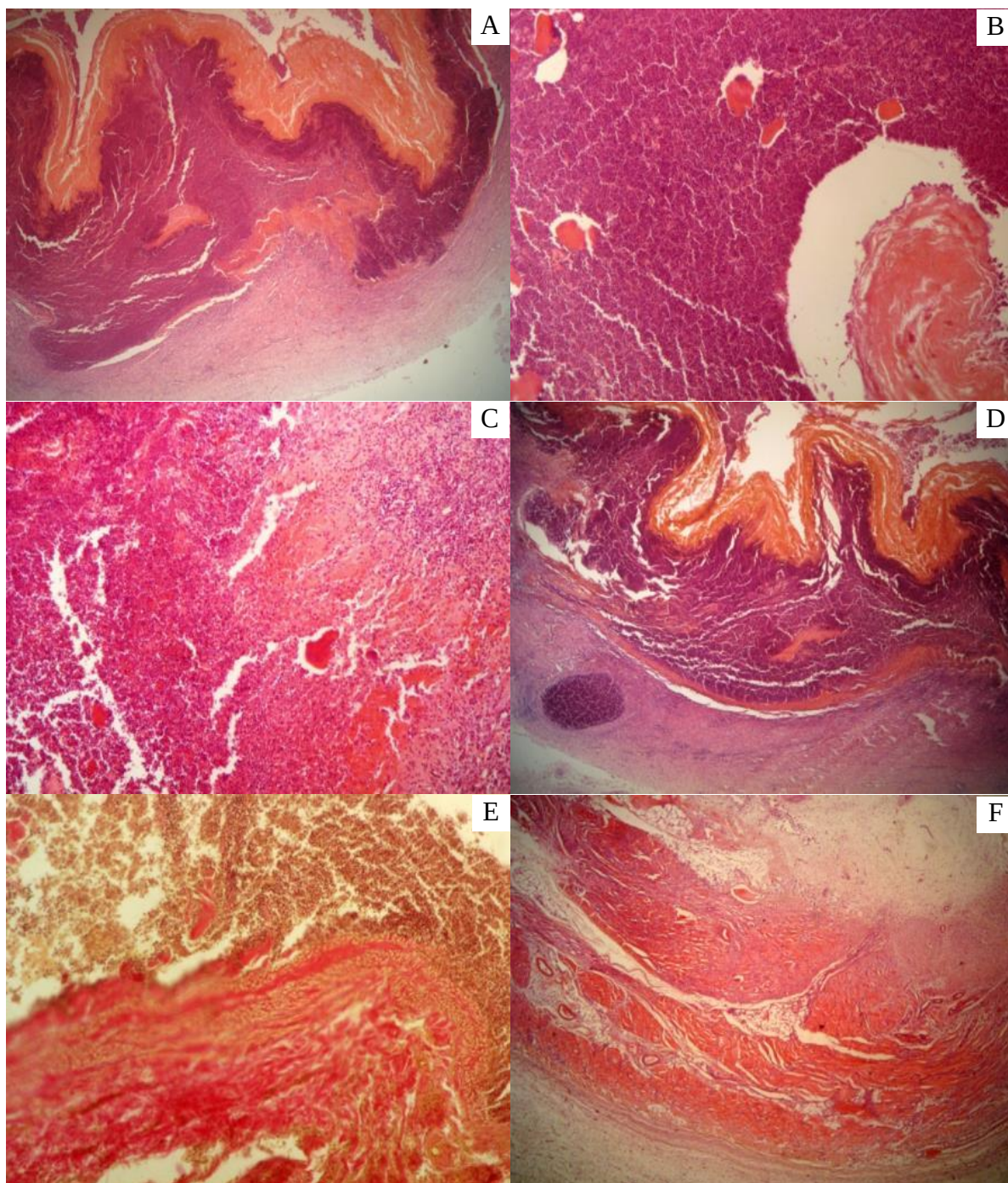


Anexa1.9. A - proces inflamator granulomatos cu simplaste celulare polinucleare la nivelul manșetei conjunctive neoformate.  $\times 25$ . Color.H-E; B - platouri de implant cu reacție agresivă inflamatorie granulomatoasă macrofagală la distanță de la linia de frontieră.  $\times 25$ . Color. H-E; C - reacție inflamatorie macrofagală limfocitară cu simplaste gigante polinucleare.  $\times 125$ . Color. H-E; D - proces inflamator limfocita-macrofagal în aria implantului cu particularități degenerative.  $\times 25$ . Color. H-E



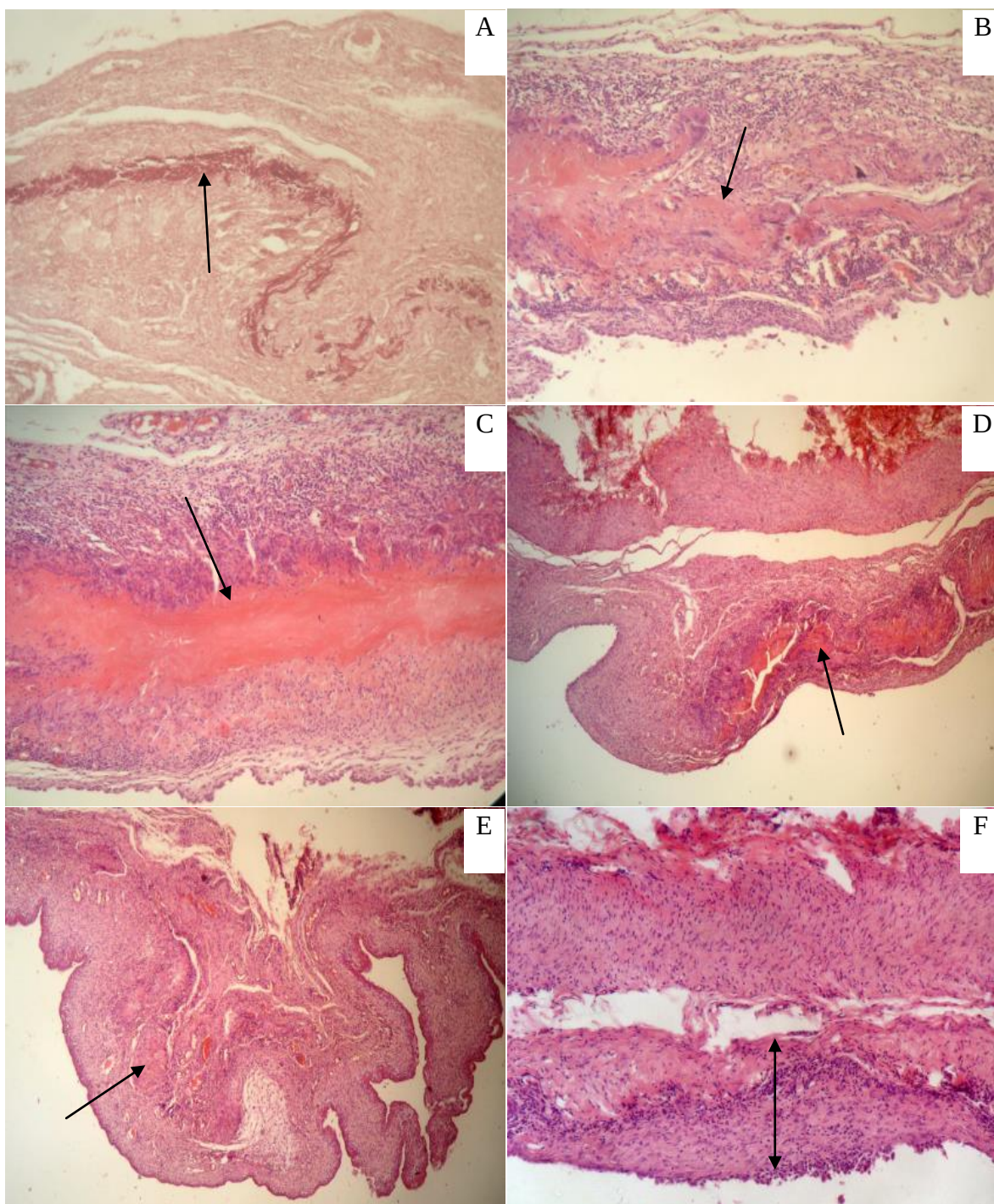
Anexa 1.10. Aspecte histologice în cazul dezvoltării unei formațiuni chistice a implantului de peritoneu bovin decelularizat. A: 1 - țesut neoformat; 2 - chist circumscriș de grefă; 3 - fragmente de grefă cu infiltrație PMN.  $\times 25$ . Colorație H-E. B - peretele chistului: 1 - elemente de grefă; 2 - mase fibrinofile cu amestec de eritrocite.  $\times 25$ . Colorație H-E. C - zona peritoneală a chistului: 1 - țesuturile peritoneale; 2 - cavitatea chistică  $\times 50$ . Colorație H-E. D - aspect histologic de ansamblu: 1 - lumenul chistului; 2 - țesut neoformat fibroplastic în aspect de sept; 3 - reziduri de grefă infiltrate cu PMN și eozinofilie.  $\times 25$ . Colorație H-E





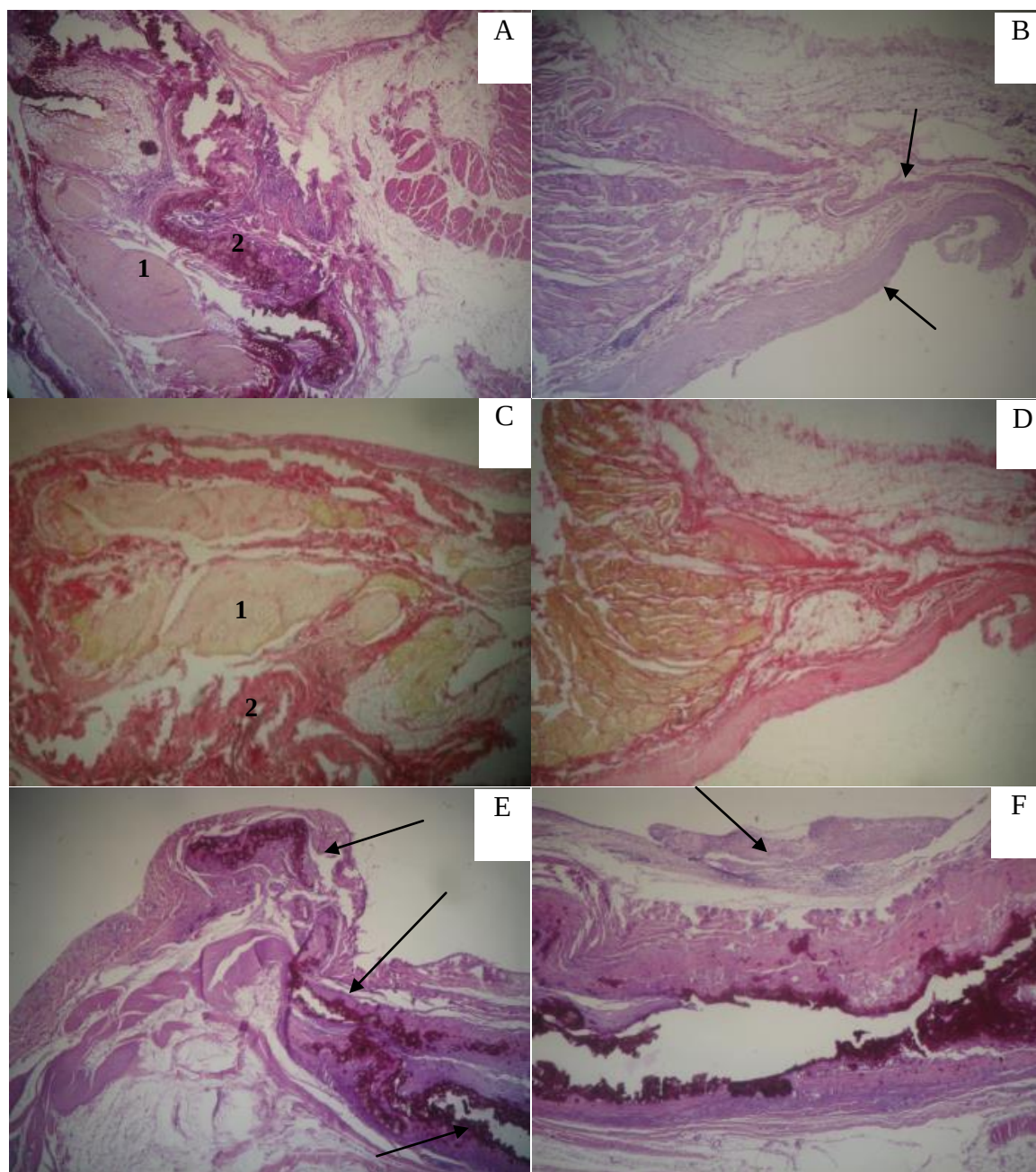
Anexa 1.11. A - persistarea procesului inflamator cu PMN cu manifestări de degenerescență a implanțului  $\times 25$  Color. H-E; B - reziduuri de implant în masa leucocitară PMN cu fenomene de fagocitoză a leucocitelor  $\times 75$ . Color. VG; C - returnarea proceselor exudative necrotice în zona de interacțiune cu implantul  $\times 100$ . Color. H-E; D - aspecte de cronicizare a procesului inflamator în zona de interacțiune cu implantul biologic.  $\times 75$ . Color. H-E; E - procese de degenerescență și invadare cu PMN a implantului  $\times 100$ . Color. H-E; F - procese regenerative a țesuturilor musculare a gazdei comparabile cu histogeneza regenerării în normă  $\times 75$ . Color. H-E





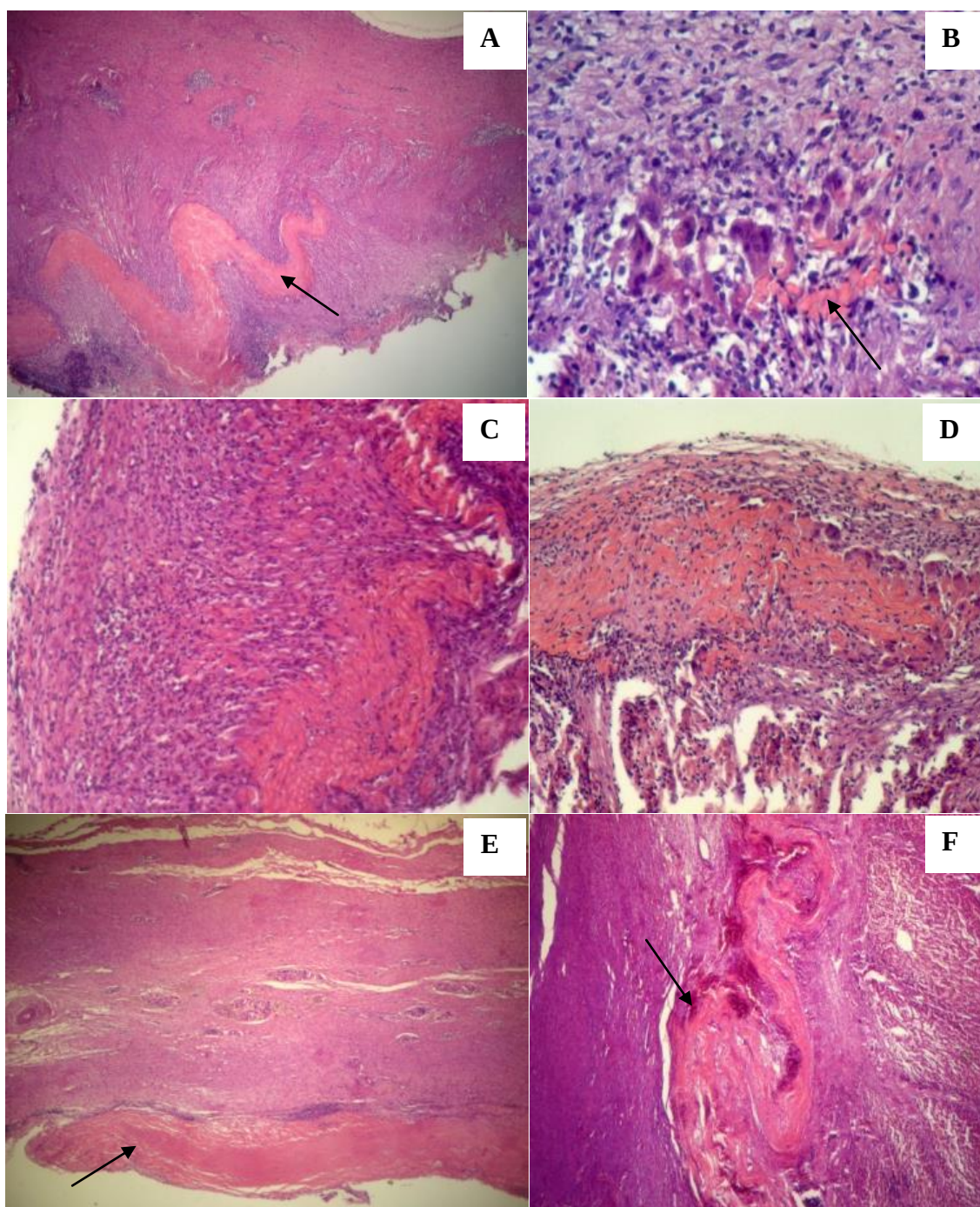
Anexa 1.12. A - țesut conjunctiv elastic al implantului  $\times 25$ . Color. cu orceină; B - reziduuri de implant în manjetă conjunctivă cu reacție accentuată granulomatoasă  $\times 25$ . Color. H-E; C - platurii de implant cu fenomene de degenerescență  $\times 25$ . Color. H-E; D - insulițe de implant înconjurată cu reacție granulomatoasă  $\times 25$ . Color. H-E; E - mici granuloame din celule gigante polinucleare, mici impurități de implant  $\times 25$ . Color. H-E; F - lipsa implantului și consolidarea pereților conjunctivi ai manjetei  $\times 25$ . Color. H-E.





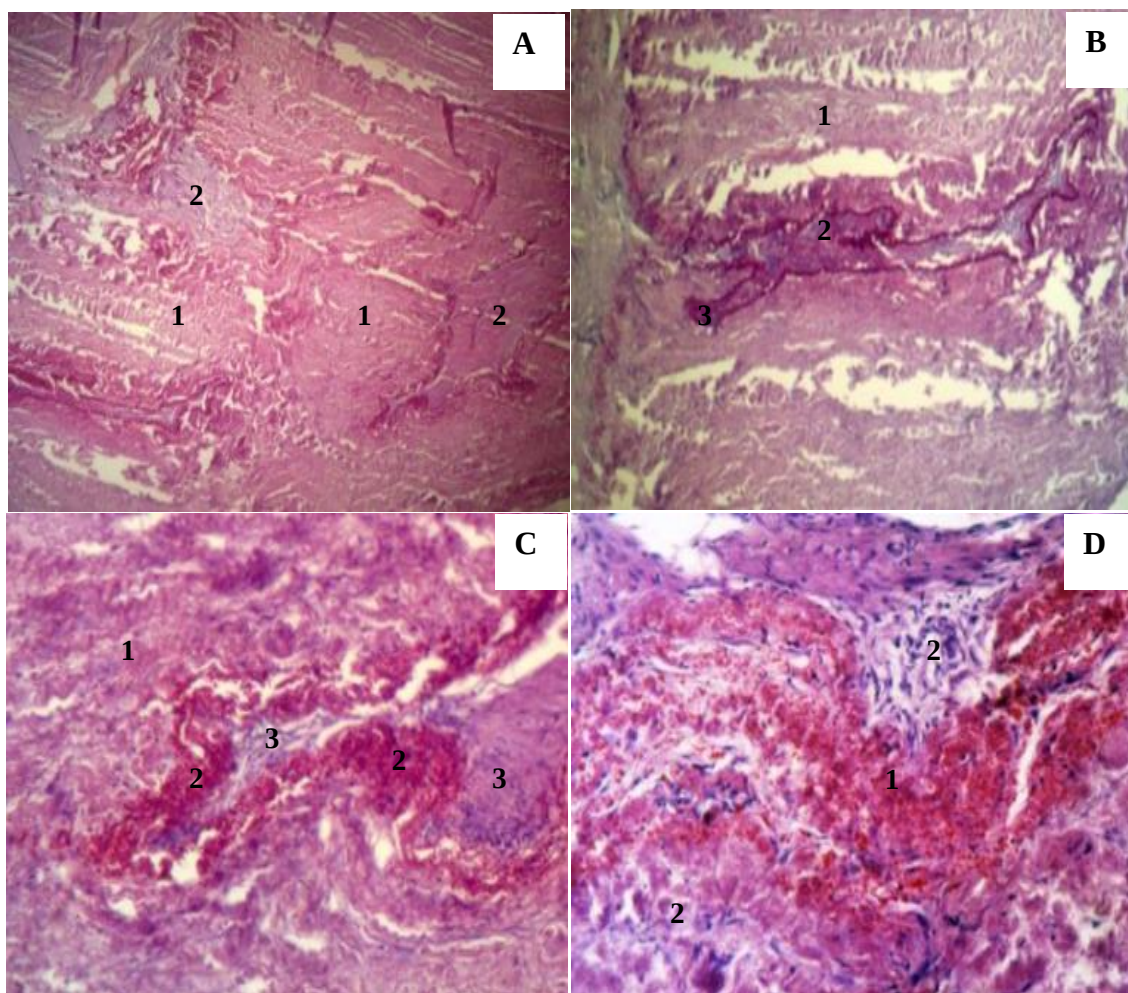
Anexa 1.13. A - zona de graniță: 1 - reziduri de implant necrotizate; 2- reziduri de implant circumscrise de calcifieri cu reacție perifocală focală granulomatoasă.  $\times 25$ . Color. H-E; B - zona de graniță: lipsa procesului inflamator, se observă diferențierea a 2 straturi neformate conjunctive pe suprafața peritoneală și cea subcutanată  $\times 25$ . Color. H-E; C - zona de graniță: 1 - reziduuri de implant necrotizat; 2- circumscrise de calcifieri și țesut conjunctiv dens  $\times 25$ . Color. VG; D - zona de graniță: 1 - reziduuri de implant necrotizate; 2 - circumscrise de calcifieri cu reacție perifocală focală g granulomatoasă  $\times 25$ . Color. H-E; E - calcinoză focală circumscrisă de fâșii conjunctive fibrilare dense  $\times 25$ . Color. VG; F - calcinoză în platou circumscrisă de plăcile conjunctive. Reacție seroasă peritoneală cu microaderențe tinere celulare  $\times 25$ . Color. VG. Calcinoză în platou circumscrisă de plăcile conjunctive. Reacție seroasă peritoneală cu microaderențe tinere celulare  $\times 25$ . Colorația VG



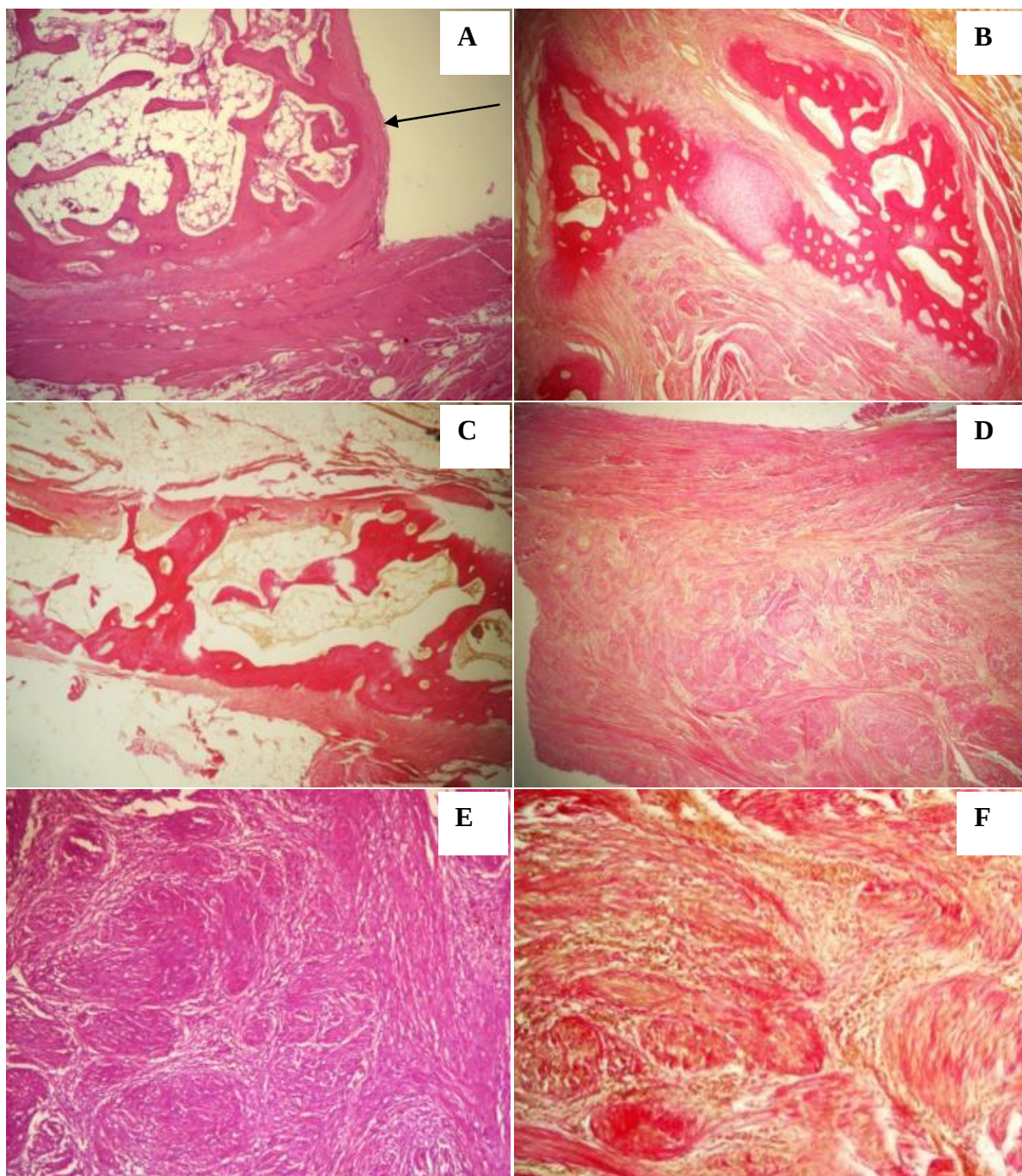


Anexa 1.14. A – aspectul histologic al zonei de frontieră - implant în aspect undulant în aria țesutului conjunctiv neoformat, hipercelularizat de populație polimorfocelulară; B - reziduri de implant agresate de simplaste celulare macrofagale polimorfocelulare; C - reziduri de implant în disjunctie pe contul activității progresive celulare polimorfocelulare; D - reziduri de greșă în disjunctie penetrate de fibroblaste, limfocite, leucocite solitare înconjurate de celulare polimorfocelulare; E - plast de implant pe suprafața peritoneală - în plastul de țesut conjunctiv structuri granulomatoase cu celule gigante; F - reziduri de implant cuprinse între capsula ficatului și plastul fibros conjunctiv neoformat peritoneal.



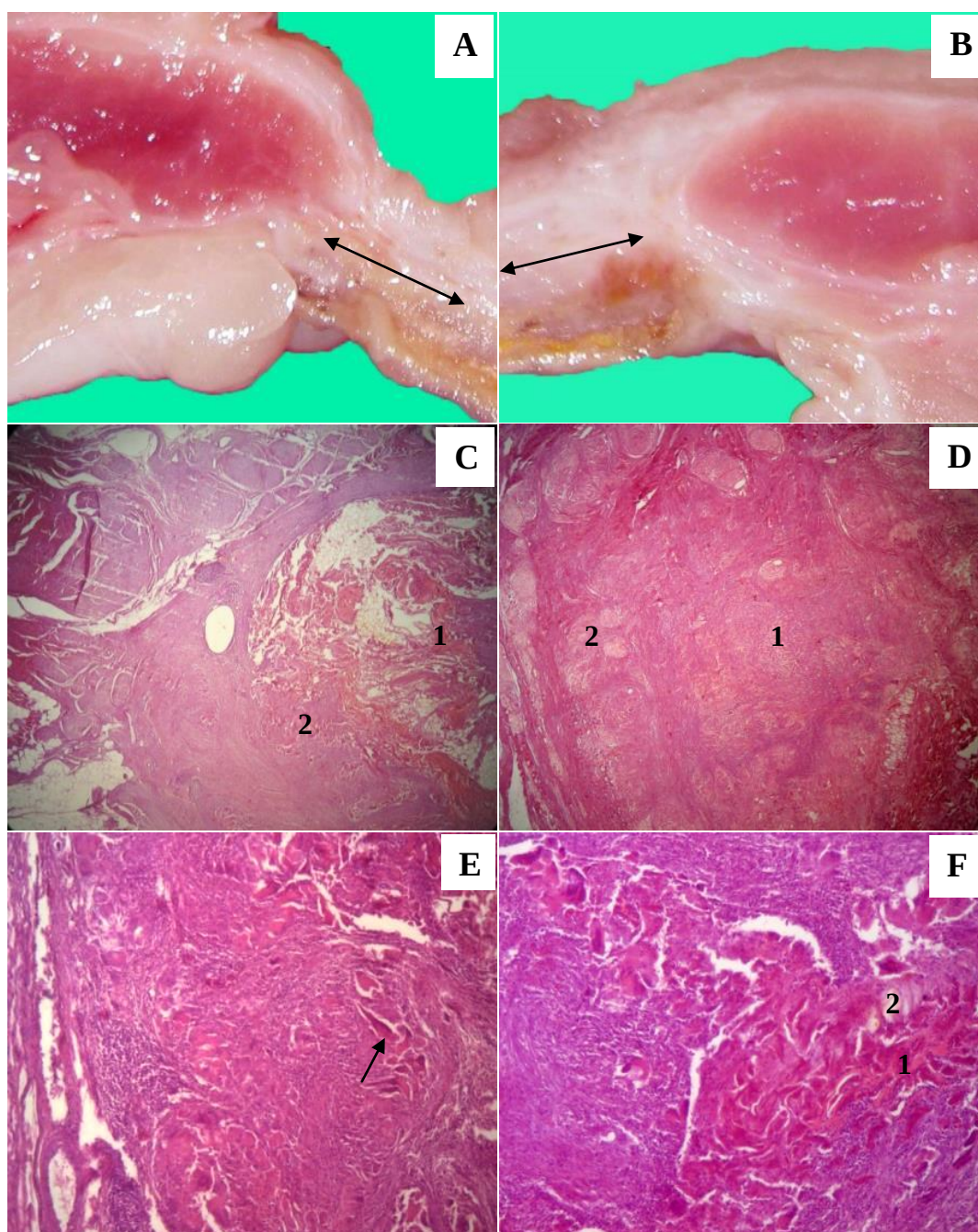


Anexa 1.15. A - aspecte de interacțiune a țesuturilor: 1 - grefa de implant; 2 - țesutul conjunctiv fibrilar celular penetrat în aria grefei. B - secvență din A la mărire mai mare: 1 - grefa de implant; 2 - fâșie de țesut conjunctiv fibrilar-celular fibroblastic penetrat în grea; 3 – distrofie; C - zona de interacțiune dintre grea și țesutul conjunctiv neoformat: 1- grefa de implant; zona de distrofie în picături de hialină; 2- invadarea țesutului conjunctiv fibrilar celular; D – aspecte de degenerescență în picăturile de hialină a grefei cu penetrarea fibroblastelor: 1 - degenerescență în picături de hialină a grefei; 2 - penetrarea fibroblastelor în aria degenerescenței.



Anexa 1.16. A - zona bureletului osificată; B - structuri osteocartilaginoase mature localizate în masa țesutului conjunctiv neoformat; C - placă osteogenă în zona medială cu periost și țesut celulo-adipos; D - plast conjunctiv neoformat cu fibre colagene orientate haotic în divers raport; E - cordoane de țesut conjunctiv neoformat cu aspecte active și proliferative ale fibroblastelor; F - cordoane de țesut conjunctiv neoformat cu fibre colagene în asociere cu țesut mezenchimal.





Anexa 1.17.. A - jonțiunea dintre țesuturi cu aspect stratificat fibrilar celulo-adipos; B - jonțiunea dintre țesuturi cu aspect stratificat dereglat culoare gălbui-brună; C - intercalări a reziduurilor de greșă și componenta fibrilar celulo-adipoasă înglobate în țesut neoformat (1) și infiltrat granulomatos macrofagal intermediar (2); D - platou de țesut conjunctiv fibrilar dens spongios (1) circumscris cu granuloame și cu simplaste gigantocelular polinucleare (2); E - masă matricial-celulară cu activitate a simplastelor gigantocelular polinucleare; F - reziduuri de greșă (1) înglobate într-o matrice celulară activă cu



|                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                                                                         |                                                                                                           |
| REPUBLICA MOLDOVA                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                           |
| Agenția de Stat pentru<br>Proprietatea Intelectuală                                                                                                                                                                      |                                                                                                           |
| <b>CERTIFICAT</b><br>DE ÎNREGISTRARE A OBIECTELOR<br>DREPTULUI DE AUTOR ȘI DREPTURILOR CONEXE                                                                                                                            |                                                                                                           |
| SERIA OȘ NR. 5604<br>DIN 02.05.2017                                                                                                                                                                                      |                                                                                                           |
| Eliberat în temeiul Legii nr.139/2010 privind dreptul de autor<br>și drepturile conexe, obiectul de pe verso a fost înregistrat în Registrul<br>de Stat al obiectelor protejate de dreptul de autor și drepturile conexe |                                                                                                           |
|                                                                                                                                       | Director General<br> |
| CHIȘINĂU                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                           |



**Seria:** OȘ (operă științifică)

**Numărul de înregistrare:** 5604

**Data înregistrării:** 04.04.2017

**Numărul cererii:** 346

**Denumirea obiectului:** „IMPLANTUL PERITONEAL BOVIN ÎN  
RECONSTRUCȚIA DEFECTELOR MAJORE ALE  
PERETELUI ABDOMINAL ANTERIOR ÎN MODEL  
EXPERIMENTAL”

**Autori:**

Gudumac Eva **IDNP:** 0970204885588

Babuci Stanislav **IDNP:** 0950506888317

Petrovici Vergil **IDNP:** 2001042021787

Nacu Viorel **IDNP:** 0982602017160

Negru Ion **IDNP:** 2001040269103

**Titularii drepturilor patrimoniale:**

U.S.M.F "NICOLAE TESTEMIȚANU" din Republica Moldova

**IDNO:** 1007600000794

I.M.S.P "INSTITUTUL MAMEI ȘI COPILULUI"

**IDNO:** 1003600151643

**L.Ș.**



**Șef Direcție Drept de Autor**







## UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE „NICOLAE TESTEMIȚANU”

“APROB”

Prorector pentru activitatea științifică  
IP USMF „Nicolae Testemițanu” din RM

Prof. univ., dr. hab. în șt. med.,

Gh.ROJNOVEANU

“ ” 2017 a.

ACTUL nr. 11

### DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:** *”Implantul peritoneal bovin în reconstrucția defectelor majore ale peretelui abdominal anterior în model experimental”*
2. **Autorii:** Gudumac Eva, dr.hab.,prof.univer, Babuci Stanislav dr.hab, conf.cercet, Petrovici Vergil, dr.în șt.med., Nacu Viorel, dr. hab., prof. univer, Negru Ion, doctorand,
3. **Numărul inovației** 5550 din 01 martie 2017a.
4. **Unde și când a fost implementată:** Propunere este implementată ca material didactic și științifico-practic în CN ȘP CP „Natalia Gheorghiu” (Gudumac Eva, Babuci S., Nacu V., Negru I) și în Serviciul de Morfopatologie IMȘIC (V. Petrovici) în perioada 2016 – ianuarie 2017.
5. **Eficacitatea implementării:** Eficacitatea implementării constă în determinarea particularităților de morfogeneză a proceselor reparative și compensator – adaptive dintre grefă de implant și organismul gazdă în reconstrucția defectelor majore ale peretelui abdominal ca element novator. Peritoneul de bovin utilizat ca grefă de implant dispune de o biocompatibilitate și biorezistență acceptabilă, corelațiile dintre țesuturile gazdă și grefă, reflectând procese reparative-regenerative favorabile și oferind o consolidare stabilă a implantului biologic în închiderea defectelor majore ale peretelui abdominal în model experimental. Rezultatelor obținute au fost expuse la conferințe științifico-practice, fiind acceptate ca un nou concept științifico-didactică și de perspectivă în managementul medico-chirurgical.
6. **Obiecții/Propuneri:** Implementarea metodei propuse de autori și utilizată în activitatea didactică este o lucrare științifică experimentală, bine argumentată clinico-morfologic este accesibilă tehnic, deschide noi perspective în optimizarea managementului medico-chirurgical și pronosticul perioadei post-operatorii. Fiind accesibil tehnic, eficace și argumentată economic-financiar, metoda este utilă de a fi aplicată și în intervențiile de plastie a defectelor congenitale la copii.

Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere

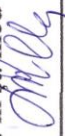
Director a IMSP IMȘIC  
Dr.în șt.med., conf. univ.

Șef departament știință,  
Prof. univ., dr. hab.în șt. med.

Sergiu GLADUN

Ghenadie CUROCICHIN



|                                                                                                                                                                                                       |  |                                                                                                                                                                                         |  |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
|                                                                                                                    |  | <b>AL REPUBLICII MOLDOVA</b>                                                                                                                                                            |  |
| <b>MINISTERUL SĂNĂTĂȚII</b>                                                                                                                                                                           |  | <b>IMSP INSTITUTUL MAMEI ȘI COPILULUI</b><br><small>(IMSP IMȘIC) MD - 2062, Chișinău, str. Burebista, 93</small>                                                                        |  |
|                                                                                                                    |  | <b>CERTIFICAT DE INOVATOR</b>                                                                                                                                                           |  |
| <b>Nr. 01-13/288</b>                                                                                                                                                                                  |  | <b>din. 06 martie 1017a.</b>                                                                                                                                                            |  |
| acordat în temeiul art.16 al Legii nr.138-XV din 10.05.2001<br>privind dreptul de autor                                                                                                               |  |                                                                                                                                                                                         |  |
| Numele,<br>Prenumele<br>Locul,<br>de muncă                                                                                                                                                            |  | <b>NEGRU Ion</b><br><b>Chirurgie septică, CN ȘPCP „Natalia Gheorghiu”, IMSP IMȘIC</b><br><b>Pentru inovația</b>                                                                         |  |
| <b>”Implantul peritoneal bovin în reconstrucția defectelor majore ale peretelui abdominal anterior în model experimental”</b>                                                                         |  | Director IMSP Institutul Mamei și Copilului<br>dr. în șt. med. conf. univ.,<br> <b>Sergiu GLADUN</b> |  |
| Vice director<br>cercetare, inovare, transfer tehnologic<br>prof. univ., dr. în șt. med<br> <b>Ninel REVENCO</b> |  |                                                                                                     |  |





## INSTITUȚIE MEDICO-SANITARĂ PUBLICĂ INSTITUTUL MAMEI ȘI COPILULUI

“APROB”

Director a IMSP IMȘIC R.Moldova

Dr. în șt. med., conf. universitar

Sergiu GLADUN

nr 01-13/288 din 06. 03 20 18

### ACTUL

#### DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI

- Denumirea propunerii spre implementare:** ”Implantul peritoneal bovin în reconstrucția defectelor majore ale peretelui abdominal anterior în model experimental”
- Importanța propunerii.** Este un concept novator metodologic clinico-morfologic bazat pe un studiu de cercetare în intervențiile de plastie a defectelor abdominale de dimensiuni majore remodelate experimental pe iepuri prin utilizarea grefelor de peritoneu bovin, preconizat ca moment didactic și predictiv în optimizarea managementului medico-chirurgical.
- Autorii propunerii:** Gudumac Eva, Babuci Stanislav, Petrovici Vergil, Nacu Viorel, Negru Ion
- Sursa de informație:** Prezenta propunere este elaborată experimental și evaluată clinico-morfologic prin cercetări a materialului unui eșantion din 15 iepuri, efectuate prin colaborare a Catedrelor de Chirurgie, Anatomie topografică și chirurgie operatorie, Laboratorul –Infecții chirurgicale la copii USMF „Nicolae Testemițanu” și Serviciul Morfopatologie a IMSP IMȘIC în perioada anului 2016.
- Unde și când sa implementat** Propunere este implementată ca material didactic și științifico-practic în CN ȘP CP „Natalia Gheorghiu” (Gudumac Eva, Babuci S., Negru I) și în Serviciul de Morfopatologie IMȘIC (V. Petrovici) în perioada 2016 – ianuarie 2017.
- Eficacitatea implementării:** Eficacitatea explorărilor experimentale constă în capacitatea peritoneul bovin utilizat ca grefă de implant să dispună de o biocompatibilitate și biorezistență acceptabilă, corelațiile dintre țesuturile gazdă și grefă reflectând procese reparative-regenerative favorabile și oferind o consolidare stabilă a implantului biologic în închiderea defectelor majore ale peretelui abdominal în model experimental. Rezultatelor obținute au fost expuse la conferințe științifico-practice, fiind acceptate ca un nou concept științifico-didactic și de perspectivă în managementul medico-chirurgical.
- Obiecții/Propuneri:** Metodologia medico-chirurgicală experimentală confirmată prin evaluarea clinico-morfologică, propuse de autori este accesibilă tehnic, deschide noi perspective în optimizarea managementului medico-chirurgical și pronosticul perioadei post-operatorii. Fiind accesibil tehnic, eficace și argumentată economic financiar metoda poate fi preconizată de a fi implementată în intervențiile de plastie ale defectelor congenitale.

Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere

Șef CN ȘP CP „Natalia Gheorghiu”  
dr. în med.

Vice director  
cercetare, inovare, transfer tehnologic  
Prof. univ., dr. hab. în șt. med.

Natalia COJUȘNEANU

Ninel REVENCO

## **DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII**

Subsemnatul, declar pe răspundere personală că materialele prezentate în teza de doctor în științe medicale sunt rezultatul propriilor cercetări și realizări științifice. Sunt conștient că, în caz contrar, urmează să suport consecințele în conformitate cu legislația în vigoare.

**Negru Ion**

28.02.2019

## INFORMAȚII PERSONALE

Negru Ion



📍 Mun. Chișinău str. Valea Crucii, bl. 24, ap. 2 R. Moldova

☎ 022-566-061 📠 069241779

✉ [ionnegru@yahoo.com](mailto:ionnegru@yahoo.com)

💬 Skype- ionnegru

Sexul M | Data nașterii 14/11/1983 | Naționalitatea moldovean

## LOCUL DE MUNCA

Șef secție Chirurgie Septică  
Doctorand USMF "Nicolae Testemițanu"

## EXPERIENȚA PROFESIONALĂ

- 10.09.2014 până în prezent șef secție chirurgie septică al IMSP Institutul Mamei și Copilului;
- 15.03.2017 până în prezent medic chirurg în Departamentul Primiri Urgente IMSP Institutul Mamei și Copilului;
- 01.10.2014 până în prezent – membru al comitetului de etică al IMSP Institutul Mamei și Copilului;
- 17.01.2017 până în prezent – secretar AO "Societatea Națională de Chirurgie Pediatrică";
- Iulie 2014 – până în prezent – secretar editorial al revistei "Moldavian Journal of Pediatric Surgery";
- 10.07.2012 – 10.09.2014 – Medic chirurg pentru acordarea asistenței medicale chirurgicale urgente în IMSP Institutul Mamei și Copilului;
- 01.10.2013 – 30.12.2015 – Medic chirurg de urgență în departamentul medicină urgentă IMSP Spitalul Clinic Municipal de copii "V. Ignatenco";
- Septembrie 2013 – iunie 2014 – cercetător științific stagiar în laboratorul de corecție chirurgicală a viciilor congenitale la copii;
- 01.10.2013 – 30.09.2014 – Manager marketing și vânzări în ÎCS "Centrul de Diagnostic German" SRL;
- 01.11.2010 – 01.10.2013 – Asistent marketing în ÎCS "Centrul de Diagnostic German" SRL;
- Cercetător științific stagiar în laboratorul de corecție chirurgicală a viciilor congenitale la copii IMSP Institutul Mamei și Copilului;
- 28.02.2008 – 31.12.2010 – Asistent medical în secția de anestezie și terapie intensivă în Centrul Național Științifico-Practic de Medicină Urgentă;
- 01.04.2006 – 09.02.2009 – Asistent medical în IMSP Spitalul Clinic de Traumatologie și Ortopedie;

## EDUCAȚIE ȘI FORMARE

- 25.01. - 29.01.2016 - "Patologia chirurgicală a ficatului. Aspecte de diagnostic și tratament". Metodologie didactică Lectură, USMF "N.Testemițanu".
- 27.01. – 30.01.2015 - "Malpraxisul în bolile profilului chirurgical. Aspecte de diagnostic și tratament. Metodologie didactică", Lectură. USMF "N.Testemițanu".
- 29.09. – 17.10.2014 - "Urgențe chirurgicale în pediatrie". USMF "N.Testemițanu".
- 2014 – 2018 – Doctorand Catedra de chirurgie, ortopedie și anesteziologie pediatrică.
- 2008 – 2012 – Rezidențiat Catedra de chirurgie, ortopedie și anesteziologie pediatrică.
- 2002 – 2008 – Facultatea de Medicină Generală al USMF "Nicolae Testemițanu"
- 1999 – 2002 – Liceul Teoretic "M. Eminescu" or. Cimișlia

## COMPETENȚE PERSONALE

Limba(i) maternă(e) limba română

Alte limbi străine cunoscute

|               | INTELEGERE |        | VORBIRE                    |              | SCRIERE |
|---------------|------------|--------|----------------------------|--------------|---------|
|               | Ascultare  | Citire | Participare la conversație | Discurs oral |         |
| Limba engleză | C1         | C1     | C1                         | B2           | C1      |
| Limba Rusă    | C2         | C2     | C2                         | C2           | C1      |

Competențe de comunicare ▪ bune competențe de comunicare dobândite prin experiența proprie în diferite programe sociale

Competențe organizaționale/manageriale ▪ Competențe manageriale dobândite pe parcursul activării în funcție de șef secție chirurgie septică al IMSP Institutul Mamei și Copilului și manager în departamentul marketing în Centrul de Diagnostic German

Competențe dobândite la locul de muncă ▪ Punctualitate  
▪ Lucru în echipă  
▪ Planificare  
▪ Coordonare

Competențe informatice ▪ o bună cunoaștere a instrumentelor Microsoft Office™

Permis de conducere ▪ categoria A, B



## LISTA LUCRĂRILOR

### ȘTIINȚIFICE, ȘTIINȚIFICO-METODICE, DIDACTICE

ale dlui **Negru Ion**, doctorand, Catedra de chirurgie, ortopedie și anesteziologie pediatrică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova, șef secție Chirurgie Septică a IMSP Institutul Mamei și Copilului, publicate la teza de doctor în științe medicale cu tema: ”Optimizarea metodei de plastie a defectelor congenitale ale peretelui abdominal anterior”, specialitatea 321.14 - Chirurgie pediatrică.

### LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE

- **Articole în diferite reviste științifice din străinătate recunoscute**

- a. Бабуч С., Тика К., Петрович В., Синицина Л., Жалбэ А., **Неру И.** Структурные изменения кишечной стенки в реализации синдрома нарушения моторики кишечника у детей с гастрошизисом. В: Российский Вестник Детской Хирургии, Анестезиологии и Реаниматологии. Москва, Россия 2016, 6(4), с.13-19. ISSN 2219-4061.
- b. Gudumac E., Babuci S., Petrovici V., Nacu V., Tica C., **Negru I.** Histological evaluation of the efficiency of human amniotic membrane used in experimental reconstruction of the anterior abdominal wall defects. În: Jurnalul Pediatriei. Timișoara, România, 2016, vol. XIX, nr. 75-76, p. 69-78. ISSN 2360-4557.
- c. Gudumac E., Babuci S., Tica C., Petrovici V., Nacu V., Ionescu C., **Negru I.** Comparative cellular local response in abdominal defect plastic surgery with bovine pericardium and bovine fascia preserved in formaldehyde in experimental rabbits. În: ARS Medica Tomitana Constanța, România, 2017, p. 83-93. ISSN 1841-4036.

- **Articole în reviste științifice din Registrul Național al revistelor de profil, cu indicarea categoriei:**

- categoria B

- d. Babuci S., **Negru I.** Evoluția strategiilor de corecție chirurgicală în omfalocel la nou-născuți. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale. Chișinău, 2015, 1(46), p. 335-338. ISSN 1857-0011.

- categoria C

5. Babuci S., Malai A., **Negru I.** Contemporary concepts in laparoschisis. În: Anale științifice ale Asociației Chirurgilor Pediatri "Natalia Gheorghiu". Chișinău, 2013, p. 21-26. ISSN 1857-0631.
6. Babuci S., **Negru I.** Concepții științifice în aplicarea clinică a membranei amniotice în chirurgia reconstructivă (rev. lit.). În: Arta Medica. Chișinău, 2016, 1(58), p. 26-29. ISSN 1810-1852.
7. **Negru I.** Profilul histomorfopatologic regional al defectul congenital al peretelui abdominal anterior la nou-născuți cu gastroschisis. În: Arta Medica. Chișinău, 2017, 3(64), p. 33-37. ISSN 1810-1852

- **Articole în culegeri științifice naționale**

8. Babuci S., Petrovici V., Nacu V., **Negru I.** Particularitățile modificărilor histomorfologice ale țesuturilor regionale în gastroschisis la nou-născuți. În: Arta Medica. Rezumatele conferinței științifice Nicolae Anestiadi – nume etern al chirurgiei basarabene. Chișinău, 2016, 3(60):24. ISSN: 1810-1852.

9. Babuci S., Petrovici V., Nacu V., **Negru I.** Aspecte morfopatologice în omfalocelul necomplicat la nou-născuți, În: Arta Medica. Rezumatele conferinței științifice Nicolae Anestiadi – nume etern al chirurgiei basarabene. Chișinău, 2016. 3(60):25. ISSN: 1810-1852.
- **Articole în materialele congreselor, conferințelor, simpozioanelor științifice internaționale în republică:**
10. **Negru I.** Particularities of tissue regeneration of decellularized bovine pericardium xenografts used in the reconstruction of the anterior abdominal wall defects in the experimental model. În: Moldavian Journal of Pediatric Surgery. Pediatric Surgery International Conference “Performances and Perspectives in the Pediatric Surgery Development”. Chișinău, 2017, p. 71-76. ISSN 2587-3210.
11. **Negru I.** In vivo evaluation of xenogeneic acellular bovine fascia grafts in the reconstruction of abdominal wall defects in swine experimental model. În: Moldavian Journal of Pediatric Surgery. Pediatric Surgery International Conference “Performances and Perspectives in the Pediatric Surgery Development”. Chișinău, 2017, p. 66-70 ISSN 2587-3210.
- **Teze în materialele congreselor, conferințelor, simpozioanelor științifice internaționale peste hotare:**
12. Станислав Бабуч, Петрович В., Наку В., **Нерпу И.** Применение амниотической мембраны в экспериментальной реконструкции брюшной стенки. В: Российский Вестник Детской Хирургии, Анестезиологии и Реаниматологии. Приложение. Материалы II съезда детских хирургов России. Москва, 2016, с. 35. ISSN 2219-4061.
13. **Negru I.** Particularitățile morfopatologice ale rețelei ganglioneuronale mienterice intestinale la nou-născuți cu gastroschisis. În: Jurnalul Pediatrului. Al 8-lea Congres Național al Societății Române de Chirurgie Pediatrică” Urgențe chirurgicale la copil”. Timișoara, România, 2016, vol. XIX, supliment 1, p. 101. ISSN 2360-4557.
14. **Negru I.** Aspecte morfopatologice ale anșelor intestinale eviscerate în gastroschisis la nou-născuți. În: Jurnalul Pediatrului. Al 8-lea Congres Național al Societății Române de Chirurgie Pediatrică” Urgențe chirurgicale la copil”. Timișoara, România, 2016. vol. XIX, supliment 1, p. 25. ISSN 2360-4557.

#### **LUCRĂRI ȘTIINȚIFICO-METODICE ȘI DIDACTICE**

- **Manuale pentru învățământul universitar:**
- 15. Babuci S., Malai A., **Negru I.** Gastroschisis. În: Babuci S. Patologia chirurgicală abdominală la copii. Chișinău: F.E-P. „Tipografia Centrală”, 2013, p. 34-45. ISBN 978-9975-53-567-0.
- 16. Babuci S., Malai A., **Negru I.** Omfalocel. În: Babuci S. Patologia chirurgicală abdominală la copii. Chișinău: F.E-P. „Tipografia Centrală”, 2013, p. 46-57. ISBN 978-9975-53-567-0.