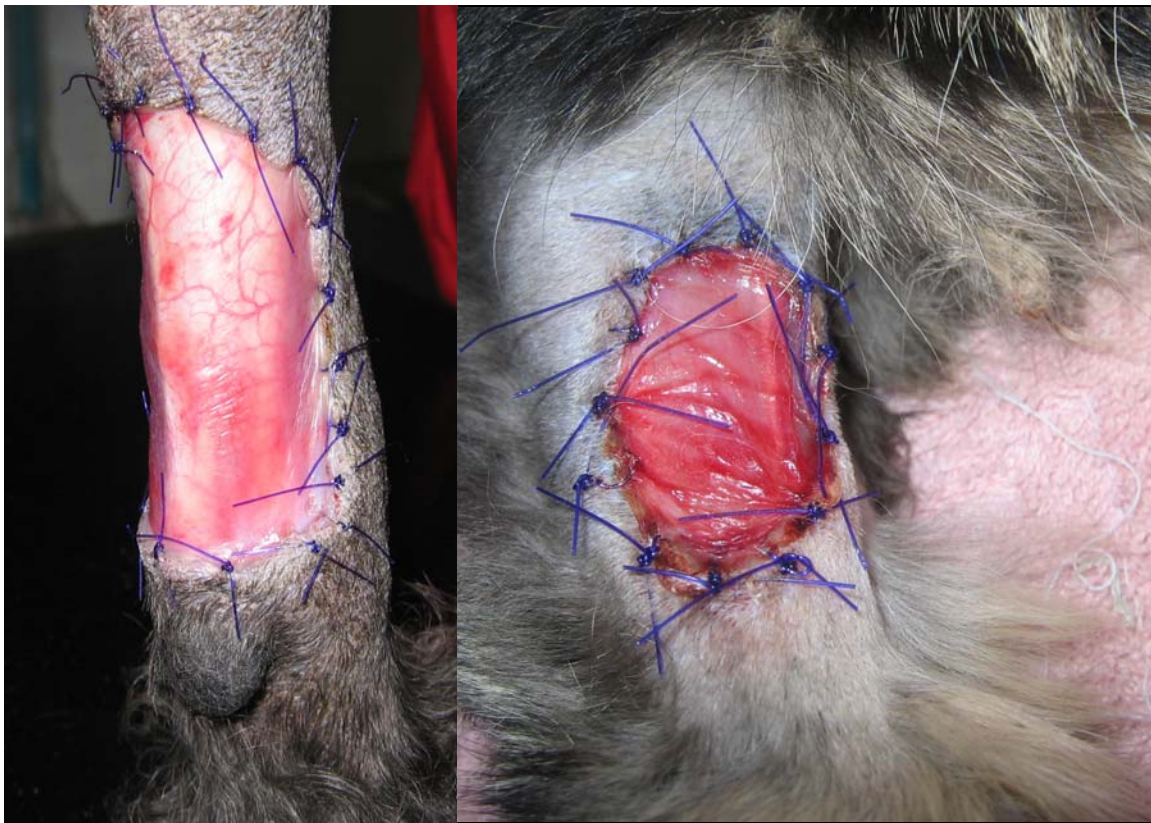


A Cell Vet™ i sårbehandling hos hund og kat



Fagdyrlæge – hovedopgave ved

Mie Løje, Herfølge Dyreklinik, 2005

Resume:

Formålet med undersøgelsen var at afprøve, om der skete en hurtigere heling af sår ved brug af A Cell Vet™ end ved sekundær heling.

Hos 12 hunde og 2 katte med forskellige typer sår blev påsyet A Cell Vet™, og der blev efterfølgende foretaget observation, mål af sårstørrelse og forbindelseskift af såret 1-2 gange ugentlig indtil fuld opheling. Endvidere registreredes eventuelle gener. I undersøgelsen indgik endvidere en kontrolgruppe på 3 hunde, hvor der skete sekundær såropheling uden A Cell Vet™.

I gruppen med A Cell Vet™ sås en gennemsnitlig ophelingstid på cirka 36 døgn og i kontrolgruppen cirka 26 døgn under hensyntagen til sårstørrelse. Objektivt sås ingen forskel i ophelingsresultatet (ardannelse, funktionalitet, ejers tilfredshed) grupperne imellem.

Der fandtes ingen signifikant forskel i ophelingstiden ved brug af A Cell Vet™.

Indledning:

Definition af sårheling:

Behandling af sår er hyppigt forekommende i praksis. Ofte er behandlingen vanskelig og tidskrævende – specielt ved store sår. Samtidig stiller det store krav til både dyrets og ejerens tålmodighed.

Sårheling er en genoprettelse af kontinuiteten af beskadiget væv og reetablering af normalt fungerende væv. Dette sker ved en række komplekse cellulære og biokemiske processer [1]. Sårheling inddeles traditionelt i 3 faser: Inflammationsfasen, proliferationsfasen og remodelleringsfasen.

1. *Inflammationsfasen (dag 0-5):* Koageldannelse, cellemigration (neutrofile granulocytter og siden makrofager og lymfocytter) med henblik på fagocytose og debridement samt matrixsyntese og angiogenese. Her ses frigivelse af mange forskellige biologisk aktive stoffer (inflammationsmediatorer) [1, 2, 3].
2. *Proliferationsfasen (dag 3- 14):* Hvis betændelsen er under kontrol, fortsætter såret i proliferationsfasen, hvor der dannes granulationsvæv. Der sker indvækst af fibroblaster, endothelceller og myofibriller. Flere vækstfaktorer og cytokiner deltager i aktivering af disse. Fibroblasterne sørger for dannelse af glycosaminoglycaner, fibronectin, hyaluronsyre og collagen, der udgør hovedparten af extracellulær matrix. Funktionen er at udfylde defekten, beskytte mod infektion og danne overflade for indvækst af epithelceller, der kun sker fra sårrandene. Collagen i matrix er ansvarlig for strækstyrken i såret [1, 2, 3, 4].
3. *Remodelleringsfasen (dag 7 – 30 ... op til 1 år):* Så snart extracellulær matrix er dannet i granulationsvævet, begynder remodelleringen. Dannelsen af fibroblaster og kapillærer reduceres. Collagen aflejres fortsat, men samtidig sker der en nedbrydning samt remodellering med dannelse af større collagenfibre, hvorved der sker en gradvis øgning i sårstyrke. Efter 1 uge har såret ca. 3 % af vævets normale styrke, efter 3 uger ca. 20 % og efter ca. 3 mdr. 80 %, og derefter er der ingen øgning i styrke [2]. Der sker altså en ardannelse, hvilket undertiden kan medføre kontraktur og dermed nedsat mobilitet i området [1, 2, 3].

Alle former for sår gennemløber disse faser med glidende overgange, men på forskellig tid, afhængig af hvilken type sår det er.

Sårlukning og heling:

Her skelnes der typisk mellem primær eller sekundær heling. Den primære heling vil sige lukning af såret med suturer. Denne kan yderligere opdeles i primær sutur, forsinket primær sutur og sekundær sutur. Primær sutur bruges ved rene eller rene kontaminede sår. Det er den mest fordelagtige sårbehandling, da alle sårets faser afkortes betydeligt og komplet heling sker hurtigt.

Forsinket primær sutur bruges ved rene kontaminede sår eller kontaminede sår, hvor fuldstændig debridement ikke er mulig. Suturerne lægges efter intensiv sårbehandling, typisk 2-5 dage. Såret skal være fri for infektion, og der skal være lyserødt granulationsvæv. Suturering foretages efter at sårrande er skåret frisk blødende.

Sekundær sutur kan bruges til kontaminede sår, eller hvor der er stor vævsbeskadigelse. Som ved forsinket primær heling lægges suturer først, når der er vitalt lyserødt granulationsvæv uden infektion. Dette vil ofte kunne lade sig gøre efter 5. dagen. Fordelen ved forsinkede og sekundære suturer er, at helingen fremskyndes, og der bliver mindre arvæv.

Sekundær heling vil sige lukning af sår ved granulation, kontraktion af sårrande og dannelse af epitheldække. Sekundær heling vælges ofte ved inficerede sår med stor vævsbeskadigelse, eller hvor sårrandene ikke kan nå sammen. Såret heler hurtigst under forbindelse, da sårfaserne herved får optimale muligheder [1, 3, 5].

Den optimale sårbehandling bør rettes mod, at helingstiden skal være så kort og smertefri som muligt, at der ikke opstår gener og komplikationer for patienten, at det kosmetiske resultat bliver acceptabelt, og at der opnås fuld funktion af vævet.

De forhold, der har betydning for såropheling, er *fugtighed* (understøtter debridement og dermed mulighed for granulationsvæv og epithelialisering), *pH* (pH omkring 6 hæmmer bakterievækst), *sårtemperatur* (konstant temperatur omkring 30° C øger heling), *iltension* (lavt overfladeiltryk hæmmer dannelsen af de vævsskadelige frie oxygenradikaler), og *infektion* (bakterier, makrofager og granulocytter producerer collagenase – heling nedsættes) [1, 4]. Disse faktorer bør tilgodeses ved behandlingen.

Sårbehandling ved sekundær heling:

Vævsbeskadigelser efter traumer eller operation kan være så store, at sårrandene ikke kan nå sammen ved suturering. Dette kan eksempelvis ses efter fjernelse af tumores på lemmerne. I disse tilfælde afventer man normalt ophealing per sekundam.

Igennem tiden er der anvendt mange forskellige metoder til heling af åbne sår: Topisk behandling med f.eks. antibiotika, steroider, vaseline, sukker, aloe vera, klorhexidin eller vandholdige geler (eks. Intrasite Gel, Duoderm) [2, 4, 6, 7]. Forbindinger, hvor primærlaget er imprægneret med lignende stoffer som ved topisk behandling. Hudtransplantationer eller kirurgisk rekonstruktion af huden bruges ved meget store læsioner, hvor der er risiko for tidlig lukning af sårrandene, så epitheldækket og dermed huden bliver skrøbelig [3, 4, 8].

Udviklingen inden for sårbehandling fortsætter. De sidste nye behandlingsprincipper orienterer sig mod den tredje af undergrupperne inden for *vævsrekonstruktion* (tissue engineering):

1. *Gen- eller cellebaseret teknik*, hvor værtsceller dyrkes udenfor organismen for senere at blive implanteret igen [9]
2. *Bioaktiv molekylær teknik*, hvor der implanteres f.eks. vækstfaktorer ind i det traumatiserede væv (eks. stimulation af knoglevæv) [9]
3. *Gitterbaseret teknik*, hvor gitteret, der består af extracellulær matrix, fremmer indvækst og differentiering af celler. Der eksisterer flere forskellige former for gitre, udviklet fra forskellige væv, hvoraf et af dem er A Cell Vet™ [9].

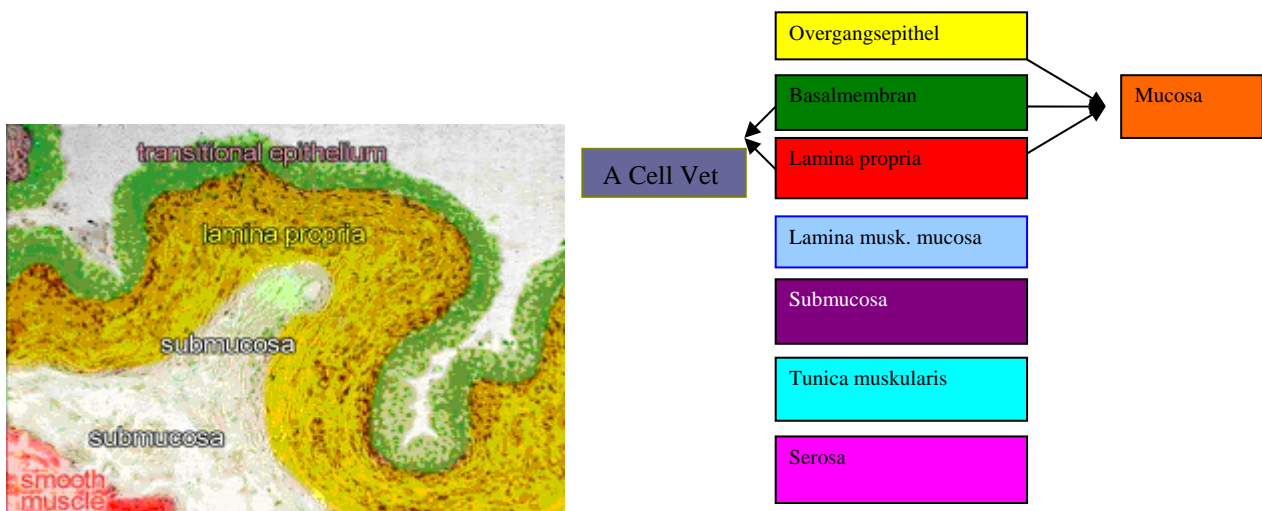
Vævsgitre består af extracellulær matrix udvundet fra forskellige organer (f.eks. tyndtarmssubmucosa, ventrikelsubmucosa, leverens basalmembran eller fra urinblære-submucosa). Disse findes både med og uden basalmembran. Fordelen ved at benytte denne form for vævsrekonstruktion skulle være at nedsætte ophealingstiden samt få et mere funktionelt resultat i forhold til ophealing per sekundam.

Det sidste nye indenfor vævsgitre er A Cell Vet™, der til forskel fra de tidligere både består af en side med og en side uden basalmembran [9].



Beskrivelse af A Cell Vet™:

A Cell Vet™ er fremstillet af væv fra SPF svineblærer - mere specifikt fra lagene omkring lamina propria og basalmembranen. De superficielle epithellag samt de dybereliggende muskellag er fjernet. Dermed er kun den extracellulære matrix (ECM) tilbage, som er totalt acellulært. Denne ECM fungerer som et stillads/gitter ved ophealing af forskelligt væv. A Cell Vet™ gitre er udformet som plader i forskellig størrelse, men alle med en tykkelse på 80 µm. Pladerne har en forside og en bagside, altså to overflader. Den ene består af ECM *med* basalmembran (specielt velegnet til vækst af endothel- og epithelceller: hud, urinveje, luftveje, mavetarm) og den anden side af ECM *uden* basalmembran (specielt velegnet til vækst af dybereliggende væv, f.eks. senevæv).



Figur 1: Svineblærevæg:

Kilde: P. Gregory, Biology laboratory specialist at Tyler junior college.

Extracellulær matrix:

ECM består af en blanding af proteiner, glycoproteiner, proteoglycaner, cytokiner og vækstfaktorer arrangeret i en tredimensionel struktur. Cellemigration, proliferation og den 3-dimensionelle ophealing af sår er stærkt afhængig af matrix-sammensætning. Extracellulær matrix findes i alle væv og organer, men det er ikke alle typer ECM, der er velegnede som gitre. De typer væv, hvorfra ECM kan bruges, er dermis fra huden, submucosa fra tyndtarme og urinblærer, pericardiet, lever og achilles-sener [9, 10, 11, 12, 13, 14].

Collagen udgør størstedelen af proteinet i ECM. Der er flere typer collagen, hver med sin funktion:

1. Type I collagen, som der er mest af, medvirker til at give ECM strækstyrke. Samtidig har det meget lav antigenicitet, hvilket gør det velegnet til applikation på/i organismen.
2. Type III giver en mere elastisk struktur.
3. Type IV sørger for binding af endothelceller. Type VI collagen hjælper med at binde type I og glycosaminoglycaner sammen [9, 10, 11, 14].

Fibronectin og laminin er proteiner, der findes specielt i basalmembranens ECM. De sørger for binding af flere forskellige celletyper, bl.a. endothelceller, og er derfor afgørende for dannelse af blodkar. Laminin menes at have betydning for dannelse af normalt fungerende væv i modsætning til arvæv [11].

Glycosaminoglycaner (chondroitinsulfat, heparin, heparansulfat, hyaluronsyre) er med til at give ECM en gelatinøs konsistens. Mange vækstfaktorer og cytokiner har receptorer for heparin, hvorfor disse stoffer tiltrækkes.

Koncentrationen af vækstfaktorer (og deres inhibitorer) i ECM er lille, men der er mange forskellige af dem, eksempelvis endothelcelle vækstfaktor (VF), fibroblast VF, epithelcelle VF, transforming VF, keratinocyt VF og trombocyt VF [10, 11].

Det teoretiske grundlag for A Cell Vet™:

Efter applikation af A Cell Vet™ til traumestedet sker der hurtigt en tiltrækning af celler fra sårrandene. Inden for de første dage ses invasion af endothelceller, leucocytter og monocytter, hvilket betyder, at der meget hurtigt dannes karforsyning. Allerede på dette tidspunkt begynder selve A Cell Vet™-materialet at nedbrydes. Efter ca. 14 dage tiltrækkes mere vævsspecifikke celler, såsom glatte og tværribede muskelceller, epithelceller og fibroblaster afhængig af, i hvilket væv A Cell Vet™ er placeret [10, 11, 12, 14, 15, 16]. Endvidere menes cirkulerende multipotente stamceller fra knoglemarven at deltage i opbygningen. Disse stamceller er fundet i stort antal i det ECM-implanterede ophelede væv [12, 14]. De cellulære processer, der styrer migration, proliferation og differentiering af stamcellerne i A Cell Vet™, er endnu ukendte.

Efter 8 - 12 uger skulle vævet være fuldt ophelet og A Cell Vet™ forsvundet. Undersøgelser tyder på, at vævsgitrene fjernes via blodbanen og udskilles i urinen [11, 15]. Der er ingen tegn på afstødning af ECM - tværtimod er der i forsøg med mus fundet et Th2-lymfocyt immunrespons. Disse Th2-lymfocytter producerer forskellige interleukiner og cytokiner, som hindrer aktivering af Th1-lymfocytter og dermed makrofager. Resultatet bliver en accept af implantatet [11, 17]. (Hvis der skete aktivering af Th1-lymfocytter, ville der produceres interleukiner, som aktiverede makrofager, hvilket ville medføre afstødning af det implanterede væv.) [11, 17].

Ved opheling af væv bør der ikke ses nekrose og meget lidt arvævsdannelse. Dette kan skyldes, at de acellulære ECM vævsgitre ikke er kemisk modificerede eksempelvis med aldehyder (de er kun behandlet med 0,1 % pereddikesyre og renses i sterilt vand) i modsætning til de konventionelle vævsgitre (f.eks. Alloderm, der er kemisk behandlet human dermis, eller Contigen, som er kemisk behandlet bovin type I collagen) [10, 11, 16]. Samtidig nedbrydes de konventionelle gitre ikke, men forbliver indkapslet i vævet. De acellulære vævsgitre har desuden vist sig at have en lokal antimikrobiel effekt over for E. coli og Staph. aureus [18].

A Cell Vet™ formodes således at virke som byggestillads for vævet, og samtidig bliver det selv hurtigt nedbrudt og absorberet. Helingstiden skulle forkortes, granulationsvævsfasen reguleres, og der bør ses opheling til normalt fysiologisk fungerende væv [11, 13, 14, 15].

Indikationer for brug af vævsgitre:

Ifølge litteraturen er mulighederne for anvendelse af vævsgitre mangeartede. Indikationer er eksempelvis åbne hudlæsioner, cornealæsioner, mundhulekirurgi, rekonstruktion af blære – og bugvæg m.m.

Spievack lavede et forsøg med hunde, hvor han fjernede den ene thyroidbrusk og stemmelæbe. Efter applikation af ECM helede det på tre måneder op til histologisk, næsten normalt udseende væv [14].

Rekonstruktion af læderet diafragma med A Cell Vet™ på et føl førte til normal funktion [19].

Perforerende mavesår hos rotter blev lukket i løbet af 21 dage med granulationsvæv efter påsugning af vævsgitre. På 21. dagen var der begyndt at vokse normalt mucosavæv ind fra kanterne [20].

I en undersøgelse fra 2002 har man sammenlignet resultater med ECM-gitre og 3 andre gitre (et syntetisk nonresorberbart, et syntetisk resorberbart og et kemisk behandlet biologisk gitter). Man fjernede dele af bugvæggen på rotter og hunde og erstattede den med disse forskellige gitre. Vævet helede op i alle tilfælde, men forskellen var, at vævet hos de dyr, der havde fået påsyet ECM-gitre, helede med organiseret collagen, tværstribet muskulatur og fedtvæv. De tre andre grupper helede med tæt arvæv [16].

Welch et al. brugte ECM til at udfylde meniskdefekter. Kontrolgruppen fik lavet meniskdefekter uden udfyldning. Der blev ikke fundet rekonstruktion af meniskvæv. Derimod blev der dannet fibrøst bindevæv i enkelte defekter – både i ECM- og kontrolgruppen. Forfatterne peger på, at en mulig årsag kan være defektens placering. Denne blev lavet i den avaskulære del af menisken [21].

Ud over pladerne findes A Cell Vet™ også i pulverform. Denne angives eksempelvis at kunne bruges ved seneskader, hvorved senen heler op uden arvæv og til fuld funktion; mod inkontinens hos tæver ved injektion af A Cell Vet™ omkring den indre urethralåbning; og periarticulært ved arthrotiske led [13, 9].

På denne baggrund findes det relevant at undersøge om der sker en hurtigere og bedre sårpheling ved brug af A Cell Vet™ i forhold til sekundær heling.

Materiale og metoder:

Forsøgsmaterialet bestod af tilfældigt udvalgte hunde og katte med sår på ekstremiteter eller hale. Disse sår var fremkommet enten som følge af infektion eller efter fjernelse af tumores. De blev opdelt i to grupper, hvor den ene blev behandlet med påsyning af A Cell Vet™ og den anden (kontrolgruppen) uden.

Følgende fremgangsmåde blev anvendt: Første gang hunden/katten blev præsenteret i klinikken med tumores/infektioner på lemmer/hale, fik de tilbudt extirpation/debridement af disse med efterfølgende påsyning af A Cell Vet™. På dag 1 fik hunden præ med atropin, Plegicil og Metadon. Den blev bedøvet med Propofol, og narkosen blev vedligeholdt med Isofluran. Kattene blev bedøvet med Zoletilblanding. Patienterne blev forberedt til operation lege artis, dog blev der skyllet grundigt efter med sterilt saltvand (A Cell Vet™ tåler ikke desinfektionsstoffer). Tumoren (årsagen) blev fjernet og A Cell Vet™ blev klippet, i et for såret passende stykke. Herefter blev A Cell Vet™ påsyet sårrandene med PDS-suturer. Forbinding med 2 lag blev anlagt – kontaktlaget bestod af gazetamponer gennemvædet med sterilt saltvand og afsluttet med Vet Flex. Der blev sendt væv til histologisk undersøgelse hos VetMedLab. Alle patienter blev behandlet med smertestillende og antibiotika før indgrebet. Postoperativt blev behandlet med Cefa Cure tabletter i 10 dage. Hundene blev tillige smertedækket med Rimadyl tabletter i 5 dage.

Forbindingen blev skiftet 1-2 gange ugentligt, og såret blev målt i cm. Foto blev ligeledes taget. Såret blev beskrevet, og eventuelle gener noteret.

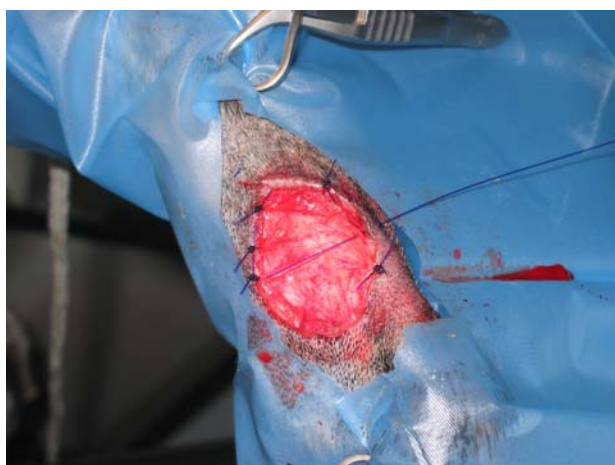
Kontrolgruppen (3 styk) gennemgik samme procedure bortset fra, at der på disse patienter ikke blev påsyet A Cell Vet™.

Patienterne blev fulgt, indtil der var opheling af såret med epitheldække.

Undersøgelsen foregik i perioden fra 18. august 2004 til og med 9. september 2005. Alle på nær to patienter var fra Herfølge dyreklinik.

Tabel 1. Race, køn, alder og tumortype på dyr behandlet med A Cell Vet™ og på dyr i kontrolgruppen.

Dyr nr:	Gruppe	Race	Køn	Alder	Tumortype
1	+ A Cell Vet™	Labr	Tæve	05-09-95	Hårfoll cyste
2	+ A Cell Vet™	Labr bland	Tæve	-96	Histiocytom
3	+ A Cell Vet™	Gl dansk hønse	Han	31-07-01	Slikkegranulom
4	+ A Cell Vet™	Whwt	Han	30-01-04	Histiocytom
5	+ A Cell Vet™	Irish s. Coat terr	Tæve	09-01-96	Foll cyste
6	+ A Cell Vet™	Collie	Han	24-04-96	Foll cyste
7	+ A Cell Vet™	Labr	Han	?	Skår trædepude
8	+ A Cell Vet™	Pudel	Kast. Han	03-08-95	Hæmangiopericytom (ond)
9	+ A Cell Vet™	Huskat	Ster. Hun	02-04-93	Koagel i blodkar
10	+ A Cell Vet™	Norsk skovk	Kast. Han	27-03-98	Tricoblastom
11	+ A Cell Vet™	Soft wh terr	Kast. Han	16-04-94	Epitheliom
12	+ A Cell Vet™	Collie	Tæve	20-09-99	Amput tå
13	+ A Cell Vet™	Ruh hønse	Tæve	30-04-95	Dyb pyodermi
14	+ A Cell Vet™	D/s grdhund	Han	13-10-04	Histiocytom
15	Uden A Cell Vet™ (kontrol)	D/s grdhund	Tæve	31-08-95	Mal lymfom (ond)
16	Uden A Cell Vet™ (kontrol)	Gravhund	Han	25-08-96	Histiocytom
17	Uden A Cell Vet™ (kontrol)	Schæfer	Tæve	04-06-98	Hårfoll nevus



Tabel 2: Placering af operationssår og størrelsen af dette.

Dyr nr	Placering af operationssår Hale/prox lem/dist lemmer	Sår i cm ² efter operation
1	Distalt	6
2	Distalt	7,5
3	Distalt	6
4	Distalt	2,25
5	Hale	3
6	Hale	6
7	Distalt	10,2
8	Distalt	25
9	Distalt	6,25
10	Distalt	7
11	Hale	15
12	Distalt	6
13	Proximalt	70
14	Distalt	3,75
15	Distalt	5
16	Distalt	2,55
17	Proximalt	24

Statistisk analyse:

Effekten af behandling med A Cell Vet™ (+/-) er undersøgt i forhold til tid til opheling (ved en variansanalyse) og gener under opheling (ved Fishers exact test). Variansanalysen benyttes til at teste, om der er signifikant forskel på gennemsnitlig tid til opheling mellem de 2 forskellige grupper (+A Cell Vet™ /- A Cell Vet™). Endvidere testes effekten af tumortype (godartet/ondartet), placering (prox, dist, hale) og sårstørrelse (i cm²) på tiden til opheling. Variansanalysen er foretaget ved at inkludere de fire forklarende variable i modellen samtidig. Herefter er ikke-signifikante variable fjernet en ad gangen (den mest ikke-signifikante først). Den resulterende model indeholder kun variable, der er signifikante på 5 % signifikansniveau. Forudsætningerne for at benytte en variansanalyse er undersøgt ved en test for normalfordeling samt vurdering af ens varianser for alle observationer.

Sammenhæng mellem behandling (+/- A Cell Vet™) og forekomst af gener under opheling er undersøgt ved Fishers exact test. Fishers exact test er et eksakt test, hvor det almindelige chi-square test er en approximation til Fishers exact test. Grundet den begrænsede størrelse af antal

patienter i undersøgelsen, er Fishers exact test benyttet frem for den sædvanlige approximation ved en chi-square test. Der er anvendt et 5 % signifikansniveau.

RESULTATER:

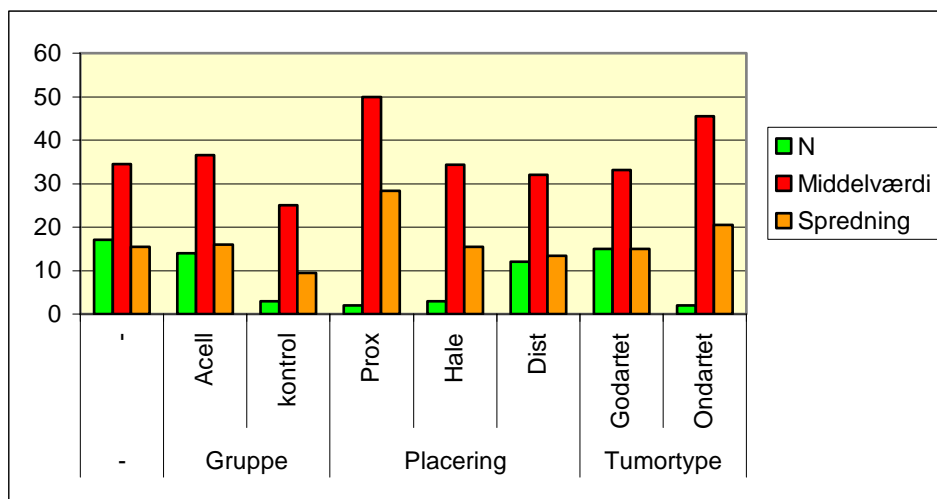
I undersøgelsen indgik 18 dyr - 15 hunde og 3 katte. Af disse udgik en kat pga. vanskeligheder med at få forbindingen til at blive liggende. Tabel 3 angiver patientmaterialet og tiden i dage til opheling samt eventuelle gener før, under og efter behandlingen.

Tabel 3: Tid til heling samt gener under forløbet.

Dyr nr	Tid til opheling i dage	Gener i forløbet:		
		Før	Under	Efter
1	29	Halt	emfysem på 4.dg	nej
2	29	Nej	bid i forb.	nej
3	27	Bid i ben	bid i forb.	bid i ben
4	19	Nej	nej	nej
5	19	Nej	nej	nej
6	34	Nej	nej	nej
7	40	Slik, bid	nej	nej
8	60	Nej	bid i forb.	nej
9	53	Halt	hæv. pote 3-4 dg	nej
10	25	Nej	nej	nej
11	50	Nej	nej	nej
12	35	Halt	bid i forb.	nej
13	70	Slik,bid	betænd, slik	slik
14	22	Slik,bid	nej	nej
15	31	Nej	nej	nej
16	14	Nej	nej	nej
17	30	Nej	bid i forb.	nej

Tabel 4. Oversigt over tid til opheling i dage, med angivelse af antal observationer (N), middelværdi og spredning.

Variabel	Niveau	N	Middelværdi	Spredning
-	-	17	34,5	15,5
Gruppe	A Cell Vet™	14	36,6	16,0
	kontrol	3	25	9,5
Placering	Proximalt	2	50	28,3
	Hale	3	34,3	15,5
	Distalt	12	32	13,4
Tumortype	Godartet	15	33,1	15,0
	Ondartet	2	45,5	20,5



Figur 2: Værdierne fra tabel 4 vist i søjlediagram.

Tid til opheling afhængig af gruppen (+/- A Cell Vet™):

Hvis der i den statistiske model tages højde for både tumortype, sårstørrelse og placering af sår, er der i de to grupper ingen signifikant effekt ($p=0,34$) på helingstiden. For tid til opheling har gruppen (+/-A Cell Vet™) en betydning ($p=0,033$), hvis der udelukkende tages hensyn til effekten af tumortype og sårstørrelse. Ophelingen foregår ifølge denne beregning hurtigere uden A Cell Vet™ end med A Cell Vet™.

Gruppen har ingen signifikant effekt ($p=0,133$) på helingstid, hvis der kun er taget hensyn til sårstørrelse. Dvs. at sår af samme størrelse heler på samme tid, hvad enten man benytter A Cell Vet™ eller ej.

Gener i forbindelse med opheling :

Ud af de 17 dyr havde 8 gener under opheling svarende til 47,06 %. Generne var slikken/biden i forbindelse, ødem i pote og en hund fik på 4. dagen emfysem op ad benet. Fordelingen var 7 fra A Cell Vet™ gruppen og 1 fra kontrolgruppen. Der var således 9 dyr uden gener, hvoraf 2 var fra kontrolgruppen. Ved en Fishers exact test blev fundet en p-værdi på 1,0. Der er ikke signifikant sammenhæng mellem grupper og gener under opheling. Dvs. at sandsynligheden for gener under opheling er den samme for dyr behandlet med A Cell Vet™ som for dem uden.

Tid til opheling afhængig af om årsagen til operation var ond - eller godartet:

Årsagen til operation viste sig i 2 ud af 17 tilfælde at være ondartede tumores. En hund i A Cell Vet™ gruppen havde et hæmangiopericytom, og en hund i kontrolgruppen havde et malignt lymfom. Ved en variansanalyse kunne lige akkurat ($p= 0,049$) påvises signifikant forskel af tumortype (ond/god) på helingstiden. Dette var betinget af, at der samtidig blev taget hensyn til grupper og sårstørrelse. Hvis der derudover blev taget hensyn til placering af sår, kunne der ikke vises effekt ($p= 0,25$). Der kunne ikke påvises signifikant effekt af tumortyper alene på helingstiden ($p= 0,30$).

Således heler de god- og ondartede tumores på den samme tid, hvis der tages hensyn til gruppe, sårstørrelse og placering. Tager man kun hensyn til gruppe og sårstørrelse, opnås en signifikant effekt, hvor de godartede heler hurtigere end de ondartede. Tages der kun hensyn til tumortype, ses ingen signifikant forskel i ophelingstid.

Tid til opheling afhængig af placering af sår:

Der kan ikke vises signifikant effekt af placeringen af sår på ophelingstiden, når der tages hensyn til alle variabler (gruppe, sårstørrelse, tumortype). Tid til opheling er den samme, uanset om såret sidder proximalt, distalt eller på halen.

Tid til opheling afhængig af sårstørrelse alene:

Der vises en statistisk forskel i helingstid i forhold til sårstørrelse, uanset hvilke variabler der tages højde for. Dvs. at der er en signifikant effekt af sårstørrelse ($p=0,04$) på helingstid. Små sår heler hurtigere end store sår.

DISKUSSION:

Denne undersøgelse viste generelt set ingen signifikant forskel i sårenes ophelingstid, hvad enten man benyttede A Cell Vet™ eller lod sårene hele pr. sekundam. I en enkelt beregning sås dog en forskel, idet der blev fundet hurtigere opheling pr. sekundam.

I undersøgelsen var de variable parametre +/- A Cell Vet™, sårstørrelse i cm², sårets placering, godartet/ondartet og gener i forbindelse med behandlingen. Alle sår heledes tilfredsstillende op, ligesom alle ejere var tilfredse med ophelingsresultatet. Alle sår blev hver gang målt, bedømt og beskrevet af den samme person.

Der er i litteraturen ikke fundet tilsvarende sammenlignelige undersøgelser, men der er dog – som ovenfor nævnt – udført adskillige andre undersøgelser med brug af vævsgitre til opheling af forskellige væv. I nogle af disse har man fundet en markant bedre ophelingskvalitet ved brug af ECM, hvorimod der ikke er undersøgelser, som angiver forbedring af ophelingstiden.

Fra starten blev forventet en bedring af såvel ophelingstid som – resultat, hvilket ikke blev opnået i denne undersøgelse. Det må dog tages med et vist forbehold, da patientmaterialet – særlig i kontrolgruppen – var meget lille.

Endvidere blev sårene målt i cm², hvilket ikke siger noget om formen på såret. Et stjerneformet sår bør have et hurtigere helingspotentiale end et rundt sår med samme areal. Dermed skulle sårets omkreds måske have indgået i de variable parametre. Her kunne også nævnes andre faktorer, som hundens alder, køn, race og konkurrerende lidelser.

Et problem ved skift af forbindelse, der kan have influeret på resultatet, var, at forbindingen sad fast i såroverfladen på trods af fugtede gazetamponer. En del A Cell Vet™ er muligvis gået tabt her. Det kan diskuteres, om ikke der burde skiftes forbindelse mindst hver anden dag, hvis man skal holde fast i brugen af fugtede gazetamponer.

Skulle man derfor lave en mere definitiv sammenligning mellem brug af A Cell Vet™ og almindelig konservativ sårbehandling, burde den derfor omfatte:

1. Et større antal patienter
2. En yderligere specificering af sårets form
3. En bedre type forbindelse *eller* hyppigere forbindingsskift

Derudover kunne man vælge at inkludere andre faktorer for den enkelte patient som angivet ovenfor (alder, køn, race, konkurrerende lidelser etc.).

KONKLUSION:

I denne undersøgelse findes ingen forskel i ophelingstid og funktionelt resultat af sår med og uden brug af A Cell Vet™. Nogen endegyldig konklusion kan dog ikke drages af det foreliggende materiale, da antallet af patienter er for lille.

TAK:

Tak til Scanvet og VetMedLab for sponsorering af hhv. A Cell Vet™ og histologiske undersøgelser samt tak til statistiker Anette Kjær Ersbøl, KVL for hjælp til den statistiske del af opgaven.

REFERENCELISTE:

1. Waldron, D.R., Zimmerman-Pope, N.: Superficial skin wounds. I: Slatter, D.(ed.). Textbook of small animal surgery. W.B.Saunders, Philadelphia 2003, pp 259-273.
2. Gregory, C.R.: Wound healing and influencing factors.I: Fowler, D., Williams, J.M.(ed.). Manual of canine and feline wound management and reconstruction. BSAVA, 1999, pp 13-23.
3. Pavletic, M.M.: Basic principles of wound healing. I: Pavletic, M.M. (ed). Atlas of small animal reconstructive surgery. W.B. Saunders, Philadelphia 1999, pp 11-19.
4. Fitch, R.B., Swaim, S.F.: The role of epithelialization in wound healing. Compendium on continuing education for the practicing veterinarian 1995, vol 17 (2), 167-177.
5. Johnston, D.E.: The processes in wound healing. Journal of the american animal hospital association 1977, vol 13, 186-196.
6. Lee, A.H., Swaim, S.F., McGuire, J.A., Hughes, K.S.: Effects of nonadherent dressing materials on the healing of open wounds in dogs. Journal of the american veterinary medical association 1987, vol 190 (4), 416-422.
7. Scott, D.W., Walton, D.K.: Clinical evaluation of a topical treatment for canine acral lick dermatitis. Journal of the american animal hospital association 1984, vol 20, 565-570.
8. Aper, R., Smeak, D.: Complications and outcome after thoracodorsal axial pattern flap reconstruction of forelimb skin defects in 10 dogs, 1989-2001. Veterinary surgery 2003, vol 32, 378-384.
9. Badylak, S.F.: Nye behandlingsprincipper af traumatiseret væv med nyudviklet extracellulær matrix (ECM) og heling via rekruttering af organismens egne stamceller til traumeapplikationsstedet. Noter fra gæsteforelæsning på KVL 02-07-2004, 1-4, 22-28.
10. Badylak, S.F.: The extracellular matrix as a scaffold for tissue reconstruction. Cell & developmental biology 2002, vol 13, 377-383.
11. Badylak, S.F.: Xenogeneic extracellular matrix as a scaffold for tissue reconstruction. Transplant immunology 2004, vol 12, 367-377.
12. Badylak, S.F., Park, K., Peppas, N., McCabe, G., Yoder, M.: Marrow-derived cells populate scaffolds composed of xenogeneic extracellular matrix. Experimental hematology 2001, vol 29, 1310-1318.

13. Acell, inc.: Instruction for veterinary use of A Cell Vet™ scaffold.
14. Huber, E.H., Spievack, A., Ringel, R.L., Simmons-Byrd, A., Badylak, S.: Extracellular matrix as a scaffold for laryngeal reconstruction. *Annals of otology, rhinology & laryngology* 2003, vol 112 (5),428-433.
15. Record, R.D., Hillegonds, D., Simmons, C., Tullius, R., Rickey, F.A., Elmore, D., Badylak, S.F.: In vivo degradation of 14C-labeled small intestinal submucosa (SIS) when used for urinary bladder repair. *Biomaterials* 2001, vol 22, 2653-2659.
16. Badylak, S., Kokini, K., Tullius, B., Simmons-byrd, A., Morff, R.: Morphologic study of small intestinal submucosa as a body wall repair device. *Journal of surgical research* 2002,vol 103, 190-202.
17. Allman, A.J., McPherson, T.B., Badylak, S.F., Merrill, L.C., Kallakury, B., Sheehan, C., Raeder, R.H., Metzger, D.W.: Xenogeneic extracellular matrix grafts elicit a TH2-restricted immune respons. *Transplantation* 2001, vol 71 (11), 1631-1640.
18. Sarikaya, A., Record, R., Wu, C., Tullius, B., Badylak, S., Ladisch, M.: Antimicrobial activity associated with extracellular matrices. *Tissue engineering* 2002, vol 8 (1), 63-71.
19. Jarløv, N.: Personlig meddelelse 2005.
20. De la Fuente, S.G., Gottfried, M.R., Lawson, D.C., Harris, M.B., Mantyh, C.R., Pappas, T.N.: Evaluation of porcine-derived small intestine submucosa as a biodegradable graft for gastrointestinal healing. *Journal of gastrointestinal surgery* 2003, vol 7, 96-101.
21. Welch, J.A., Montgomery, R.D., Lenz, S.D., Plouhar, P., Shelton, W.R.: Evaluation of small-intestinal submucosa implants for repair of meniscal defects in dogs. *American journal of veterinary research* 2002, vol 63, 427-431.