

23. A. AUREGGI, F. MINERVINI e A. D'AMORE — Copertura di perdite di sostanza cutanea mediante sospensioni di cellule dermo-epidermiche. (Ricerche sperimentali).

Riassunto. — Dopo aver considerato le difficoltà esistenti nel provvedere adeguatamente alla copertura di estese perdite di sostanza cutanea, gli AA. hanno voluto sperimentare la possibilità di copertura mediante l'inseminamento di sospensioni cellulari dermo-epidermiche.

Le esperienze sono state condotte su di un totale di 26 conigli.

Le sospensioni cellulari, ottenute con idonea tripsinizzazione di lembi dermo-epidermici, si sono mostrate capaci, se poste ad aderire in qualità di elementi autologhi, di sviluppare attivamente portando a rapida guarigione le perdite di sostanza cutanea. Il metodo, sfruttando il potenziale di crescita delle cellule, può rappresentare una economica soluzione alla carenza di epidermide spesso esistente.

Allo scopo di impedire la riepitelizzazione dai bordi delle aree cruentate, sono state attuate due modalità tecniche consistenti nella estroflessione e nella introflessione dei margini della zona cruentata stessa. Con la seconda modalità, introflessione dei margini, si sono avuti risultati veramente soddisfacenti.

Non si è avuto attecchimento definitivo di cellule dermo-epidermiche omologhe tripsinizzate.

Summary. — Having considered the difficulty of providing adequate coverage of large areas affected by skin loss, the authors have experimented the possibility of coverage by means of implantation of cellular dermo-epidermic suspensions.

Experiments have been made on a total of 26 rabbits.

Obtained by trypsinisation of portions of dermal epidermic tissues, the cellular suspensions have been shown to be capable of developing actively, bringing about a rapid recovery of the loss of skin, if made to adhere as homologous elements.

The method, by exploiting the potential of cellular growth, represents an economic solution to the epidermis lack.

In order to avoid production of epithelium from the borders of the operated areas, two techniques have been studied consisting of extroflexion and introflexion of the margins (borders) of the operated zone itself. With the second technique, introflexion of the margin, very satisfactory results were obtained.

There was no permanent growth of the homologous dermo-epidermic cells treated with trypsin.

Nel trattamento delle gravi perdite di sostanza cutanea non si può certo prescindere dalla necessità di una pronta copertura delle vaste superfici cruenta. Spesso però, proprio nei casi più bisognosi, la già estesa perdita di sostanza e le precarie condizioni generali del malato impediscono il prelievo, dai tessuti indenni dell'infortunato stesso, di ampi lembi indispensabili all'innesto autoplastico. Tali condizioni rendono necessario allora l'uso di cute omologa che servirà sì come indiscutibile ed utile mezzo di protezione biologica ma che potrà avere solamente valore del tutto transitorio ben conoscendosi a tutt'oggi la sfavorevole evoluzione dell'omoinnesto nell'uomo.

Fra tante ricerche che si indirizzano al rivestimento delle perdite di sostanza cutanea valendosi di innesti dermo-epidermici auto- ed omo-plastici ci è sembrato opportuno tentare una soluzione più economica alla penuria di epidermide spesso esistente riproponendo un metodo che nel passato già ebbe dei sostenitori ma che è stato poi assai scarsamente impiegato. Intendiamo parlare dell'inseminamento, su superfici cruenta, di elementi cellulari isolati o riuniti in piccoli gruppi quale si può ottenere con mezzi meccanici o biochimici. Facendo uso di sospensioni cellulari si può infatti sfruttare al massimo il potenziale di crescita delle cellule con il vantaggio di poter coprire ampie zone cruenta con materiale relativamente scarso ma posto in condizioni di sviluppare adeguatamente estrinsecando al massimo le proprie riserve energetiche.

MEDAWAR P. B. [1944 ⁽¹⁾] aveva studiato la possibilità di separare mediante digestione triptica il derma dall'epidermide lasciando quest'ultima come un foglio anatomicamente intatto. Tale condizione sperimentale, resa possibile da una probabile elastasi contenuta nei preparati di tripsina (BALO - BANGA, 1949 ⁽²⁾), veniva ripresa da BILLINGHAM R. E. e REYNOLDS J. (1952) ⁽³⁾ i quali riferivano appunto di uno studio condotto sul destino di innesti epidermici puri e di sospensioni di cellule epidermiche. I risultati non erano del tutto incoraggianti perchè le sospensioni di cellule epidermiche si limitavano a ricoprire le superfici cruenta, all'uopo preparate nel medesimo animale donatore, a mo' di un velo sottilissimo, facilmente sollevabile ed asportabile senza presentare per altro, anche a distanza di giorni, alcuna coesione con il tessuto di granulazione sottostante.

Abbiamo pensato di allontanarci dalla metodica seguita da BILLINGHAM e REYNOLDS (³) sottoponendo all'azione della tripsina il lembo dermo-epidermico per intero. La sospensione ottenuta non è quindi costituita di sole cellule epidermiche ma anche di elementi del derma.

Confortati da recenti studi condotti nell'Istituto Superiore di Sanità [RAVAIOLI L., 1959 (⁴); PENSO G. e RAVAIOLI L., 1960 (⁵) per i quali si sarebbe dimostrata, mediante esperienze in vitro (sieroprecipitazione) ed in vivo (shock anafilattico nella cavia), la perdita della specificità di specie in cellule sottoposte al trattamento con tripsina, abbiamo ritenuto opportuno spingere la nostra ricerca anche nel campo degli elementi omoplastici il cui attecchimento costituirebbe evidentemente la soluzione migliore e più efficace.

PIANO DELLE RICERCHE

Gli esperimenti sono stati condotti su conigli adulti del peso oscillante fra 1.500 e 2.000 g. Previa anestesia locale novocainica, accurata rasatura e seguendo rigorose regole di asepsi, il prelievo degli innesti viene eseguito mediante il dermatome di Padgett-Bishop dalla superficie del dorso. I lembi dermo-epidermici prelevati sono dello spessore di mm 0,5-0,7 e delle dimensioni di cm 10 × 4 circa. Le zone donatrici vengono medicate con garza vasellinata sterile protetta all'esterno da strisce di nastro adesivo.

Il lembo finemente tagliuzzato viene lavato ripetutamente con soluzione di Hanks sterile ed introdotto poi in un matraccio di vetro Pyrex contenente tripsina Difco 1:250 diluita allo 0,25 in soluzione tamponata di Hanks.

Nel corso della esperienza vengono seguite tre modalità di tripsinizzazione: tripsinizzazione a caldo, tripsinizzazione a freddo per 12 ore, tripsinizzazione a freddo per 6 ore solamente. Al termine di detta fase gli elementi cellulari, ormai isolati o riuniti in piccoli gruppi a causa della depolimerizzazione della sostanza intercementante, vengono liberati dalla tripsina, lavati ripetutamente con soluzione tamponata di Hanks e centrifugati poi a 1.500 giri per 5 min. Il sedimento, costituito esclusivamente di cellule del derma e dell'epidermide isolate o riunite come detto in piccoli gruppi, rappresenta il materiale atto ad essere trasferito, come elemento di copertura autologo od omologo, su superfici cruenti appositamente ricavate dal dorso del padiglione auricolare Ds. di un coniglio ricettore. Al termine dell'inseminamento, effettuato in sottilissimo strato mediante apposita spatola, sulla zona operata viene allestita, con garza e nastro adesivo, una medicazione modicamente compressiva che

viene poi rimossa solamente dopo otto giorni. Naturalmente viene anche affrontato il problema dei controlli allo scopo di premunirci da eventuali cause di errore o di inesatta valutazione. I controlli vengono allestiti cruentando nel coniglio ricettore anche la superficie dorsale dell'orecchio sinistro omettendone l'inseminamento e medicando detta zona con tecnica identica.

Nel corso dell'esperienza, allo scopo di impedire o almeno di limitare la possibilità di una riepitelizzazione dai margini della zona cruentata ed inseminata, riepitelizzazione capace di falsare i risultati o di renderne difficile l'interpretazione, i bordi dell'area cruentata stessa vengono eversi od introversi. Tale ultimo accorgimento si rivelerà, come vedremo, alquanto efficace.

Questo nelle grandi linee lo svolgimento dell'esperienza che in definitiva si presenta articolata nei seguenti cinque lotti:

I lotto: uso di sospensioni cellulari ottenute mediante tripsinizzazione a caldo;

II lotto: uso di sospensioni cellulari ottenute mediante tripsinizzazione a freddo prolungata per 12 ore;

III lotto: uso di sospensioni cellulari ottenute mediante tripsinizzazione a freddo per sole 6 ore;

IV lotto: uso di sospensioni cellulari ottenute mediante tripsinizzazione a freddo per 6 ore ed *eversione* dei margini della zona ricettrice;

V lotto: uso di sospensioni cellulari ottenute sempre mediante tripsinizzazione a freddo per 6 ore ed *introflessione* dei margini della zona ricettrice.

PROTOCOLLO DEGLI ESPERIMENTI

Il I lotto comprende 5 conigli. L'esperienza consiste nel prelievo di un lembo dermo-epidermico dal dorso di tre dei cinque animali e nell'allestimento della sospensione cellulare mediante tripsinizzazione a caldo. L'inseminamento delle cellule così tripsinizzate viene fatto esclusivamente sulle superfici cruente del padiglione auricolare destro. L'orecchio sinistro serve come controllo.

I tre animali donatori ricevono elementi cellulari autologhi mentre negli altri due conigli si provvede alla copertura con sospensione di cellule omologhe.

All'atto della prima medicazione, effettuata in ottava giornata, si constata la parziale epitelizzazione (circa il 60% della perdita di sostanza) delle superfici cruente. Le aree di controllo sono completamente sco-

perle, lucenti, sanguinanti. Nei giorni successivi si assiste ad una progressiva riduzione delle zone inizialmente epitelizzate che scompaiono poi del tutto in periodi compresi fra 12 e 15 giorni. Non si notano differenze di comportamento fra gli elementi cellulari autologhi e quelli omologhi.

Il II lotto è costituito, al pari del precedente, di 5 animali ed anche in questo caso il prelievo viene effettuato mediante il dermatomo dal dorso di tre conigli donatori. La sospensione cellulare viene ora ottenuta tripsinizzando a freddo i lembi dermo-epidermici per un periodo di 12 ore. Al termine di questa operazione il materiale, lavato e centrifugato, viene posto ad aderire in qualità di elemento autologo sul padiglione auricolare cruentato dei tre animali donatori ed in qualità invece di innesto omologo sul padiglione auricolare dei restanti due conigli.

Sia all'atto della prima medicazione che nelle successive osservazioni non si notano differenze fra le aree di controllo e quelle insemenate. Queste ultime non presentano infatti alcun segno di attecchimento del materiale innestato sia esso autologo od omologo.

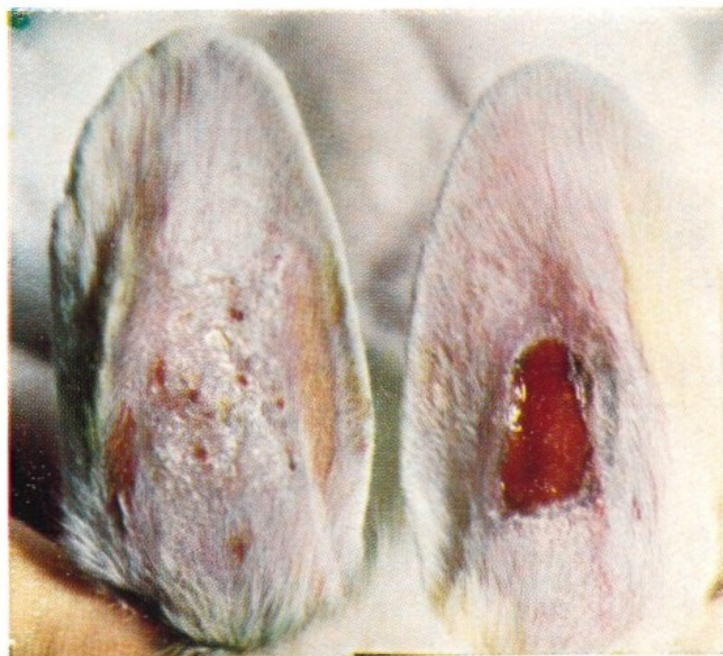
Il III lotto risulta composto di 6 conigli. La tripsinizzazione dei lembi dermo-epidermici viene praticata a freddo per il tempo di sei ore solamente. A tale variante ci inducono i risultati negativi conseguiti nel precedente lotto di esperimenti, risultati verosimilmente imputabili ad una troppo prolungata azione della tripsina sulle cellule destinate alla copertura delle perdite di sostanza cutanea. In quattro conigli vengono effettuati insemenamenti con materiale autologo mentre nei restanti due animali si usano cellule omologhe. Anche in questo gruppo, al pari dei precedenti, sulla superficie dorsale del padiglione auricolare sinistro si allestiscono le aree di controllo.

La prima medicazione, effettuata sempre in ottava giornata, consente di osservare una soddisfacente completa epitelizzazione in tre dei quattro conigli innestati con materiale autologo (Fot. 1). Nel quarto animale sia la superficie trattata che quella di controllo sono preda di un esteso processo suppurativo. Nei giorni successivi il comportamento delle aree insemenate si mantiene del tutto confortante e nel termine di circa 15 giorni le perdite di sostanza insemenate sono completamente riparate. Contemporaneamente nell'altro orecchio, quello di controllo, la zona cruentata va progressivamente riducendosi per contrazione e riabitazione dai margini. Al diciottesimo giorno del decorso postoperatorio tuttavia è ancora possibile rilevare la netta differenza esistente fra queste aree di controllo, che presentano una zona centrale ancora granuleggiante e sanguinante, e le aree invece trattate che si presentano ormai del tutto guarite (Fot. 2).

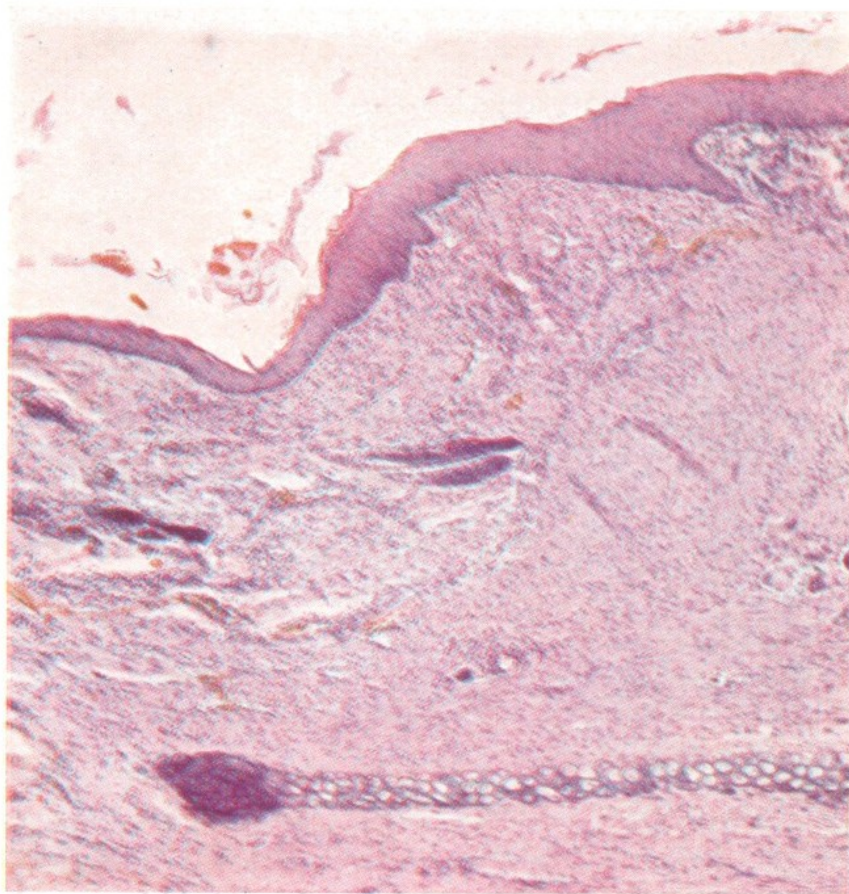
Preparati istologici allestiti con frammenti prelevati venti giorni dopo l'operazione mostrano una perfetta adesione del materiale insemen-



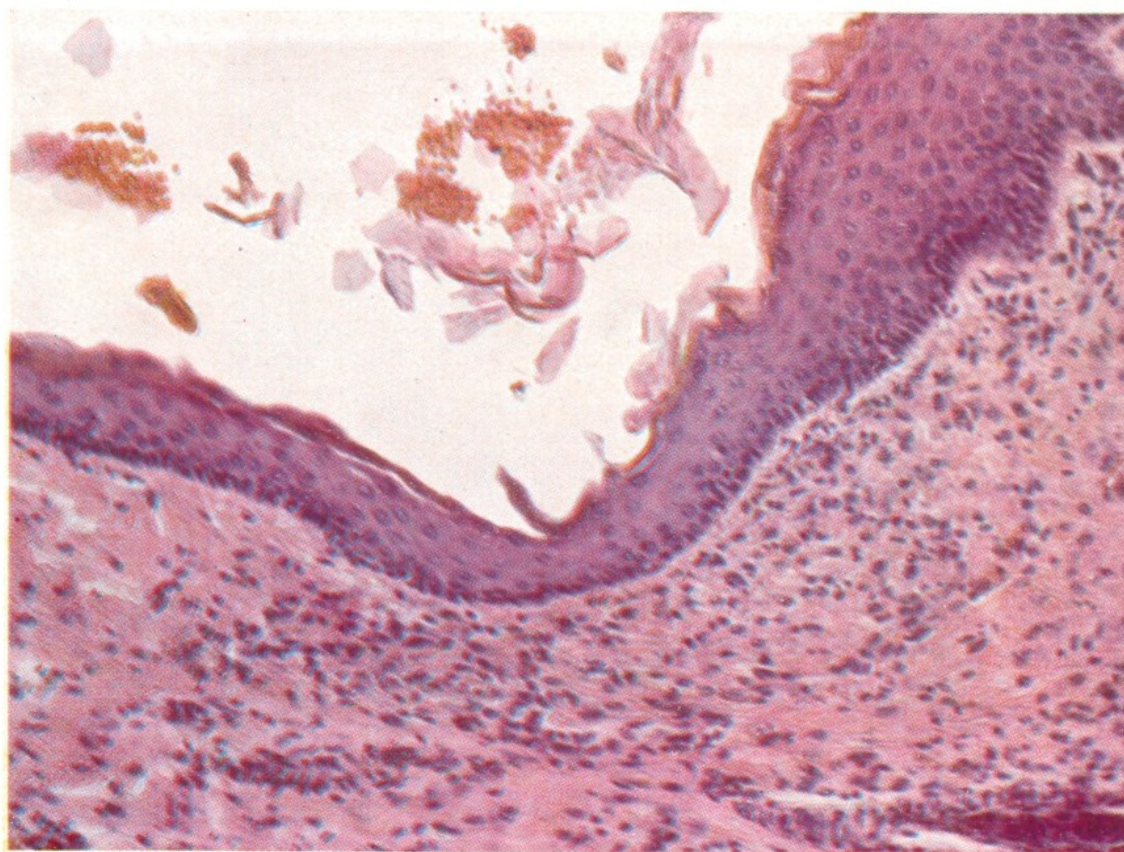
Fot. 1. - Lotto III. Medicazione in VIII gg. Si osserva a sinistra la completa epitelizzazione ad opera di un sottile velo epidermico; a destra l'area di controllo cruenta.



Fot. 2. - Lotto III - Medicazione in XVIII gg. A sinistra si osserva completa guarigione, a destra l'area di controllo, benchè contratta, è ancora cruenta.



Fot. 3. - Lotto III - Sezione istologica condotta a livello del margine della zona insemata 22 gg. dopo l'intervento. (emat-eosina 75 x).



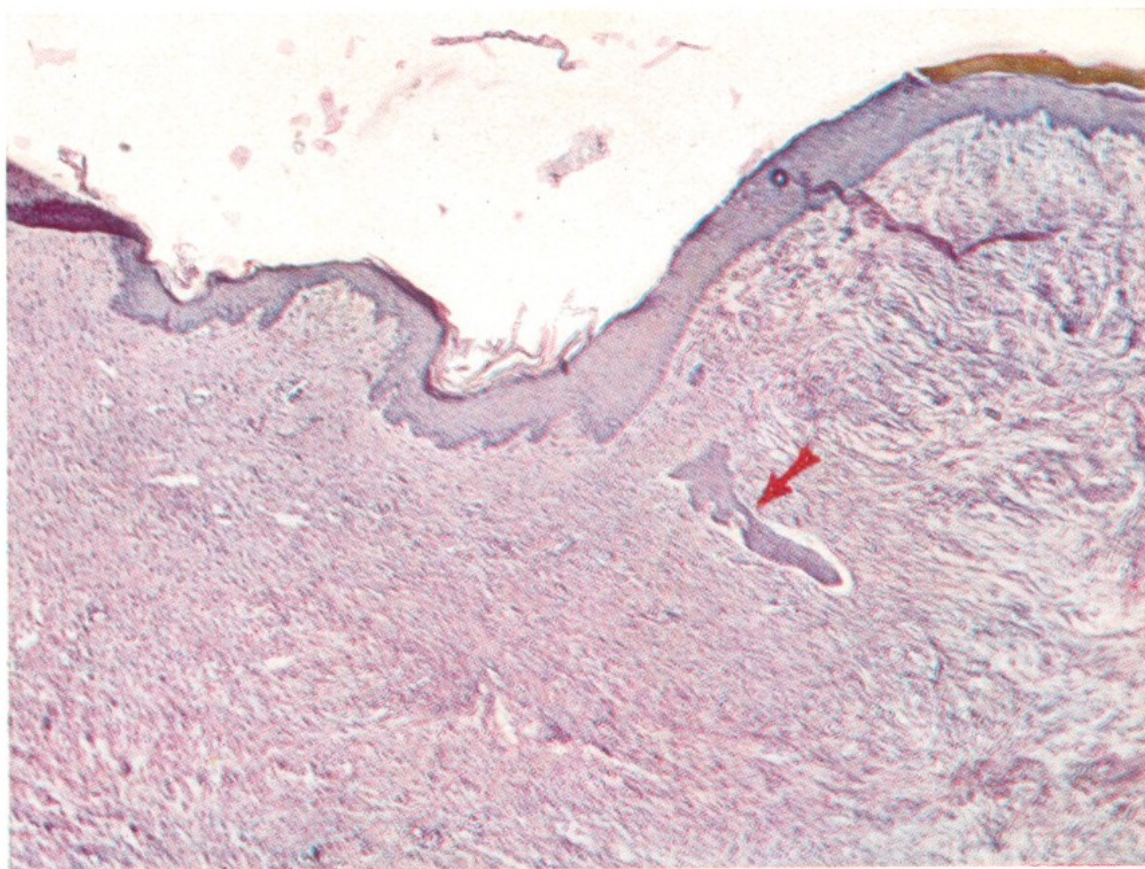
Fot. 4. - Lotto III - Dettaglio della fig. precedente. Si osserva a maggiore ingrandimento la zona di transizione fra cute normale ed area insemata. (emat-eosina 150 x).



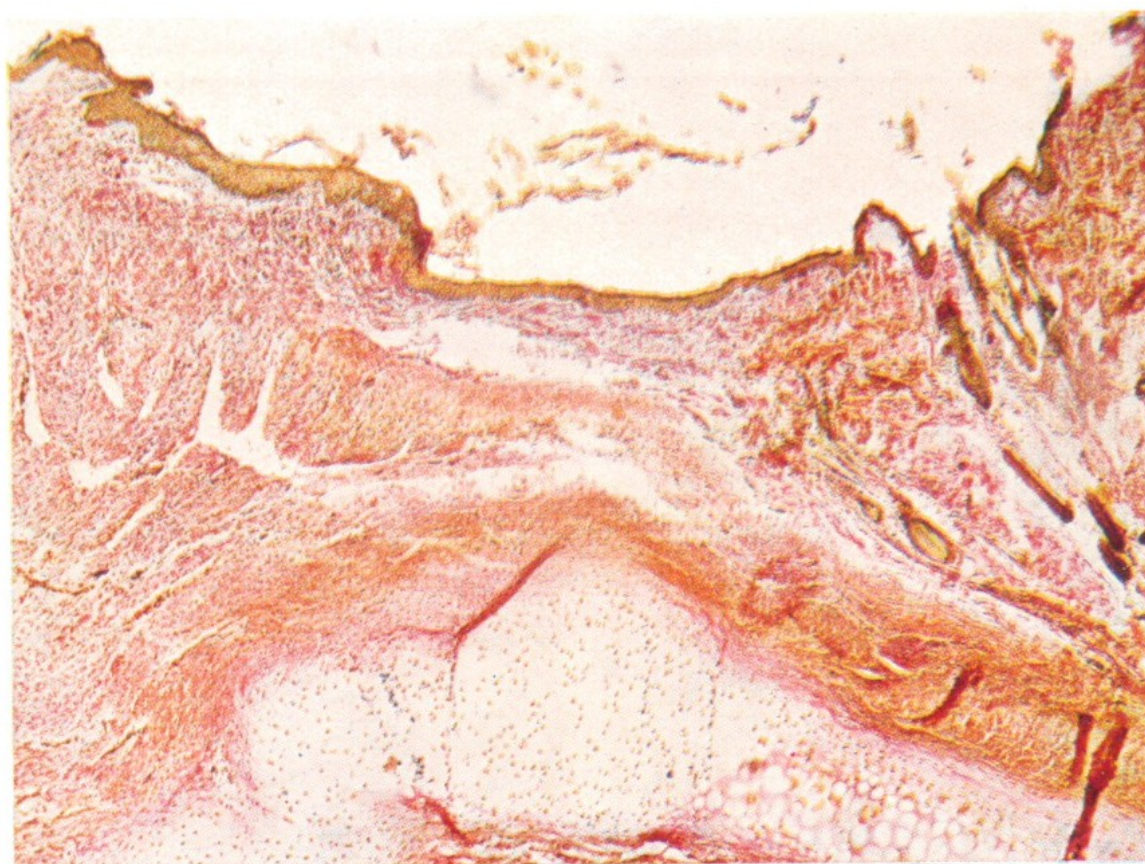
Fot. 5. - Lotto V - Medicazione in XII gg. Si osservano sia a Ds. che a Sin. i margini alquanto sollevati ed introflessi. La zona insemata (a Sin.) è completamente coperta; l'area di controllo (a Ds.) è cruenta.



Fot. 6. - Lotto V. - Medicazione in XXV gg. I margini sono ancora ben sollevati. A Sin. si ha guarigione completa; a Ds. la zona di controllo è cruenta nè mostra contrazione o riepitelizzazione dai margini.



Fot. 7. - Lotto V - Sezione istologica condotta a livello del bordo della zona insemata 25 gg. dopo l'operazione. La freccia indica un tratto del lembo introverso distaccatosi ed inglobato nello spessore del tessuto rigeneratosi per la moltiplicazione degli elementi insemati. (emat-eosina 75 x).



Fot. 8. - Lotto V - Sezione istologica praticata in XXV gg. del decorso postoperatorio. A Sin. la zona insemata ove mancano gli annessi ma le cellule sono ben stipate ed aderenti al pericondrio che presenta una reazione al trauma operatorio. A Ds. cute normale (Van Gieson 85 x).

zato al pericondrio. La reazione parvicellulare è scarsa ed il potenziale di crescita delle cellule ha portato ad una rapida guarigione istologica (Fot. 3-4).

Abbiamo per ora volutamente tralasciato di considerare il destino dei due animali trattati con cellule dermo-epidermiche omologhe. Mentre nelle fasi iniziali e cioè fino alla decima giornata circa la evoluzione di queste cellule ripete il comportamento di quelle autologhe, successivamente si nota un rapido e progressivo assottigliamento dello strato di copertura che in 15 giorni circa non è quasi più riconoscibile. La guarigione di queste aree cruentate avviene, al pari di quelle di controllo, per contrazione e riabitazione dai margini.

Nel IV lotto, comprendente 4 conigli, non ci si allontana, per l'allestimento delle sospensioni cellulari, dalla metodica seguita nel precedente lotto. Anche in questo caso infatti i lembi dermo-epidermici vengono sottoposti a tripsinizzazione a freddo per sei ore solamente.

La variante apportata in questo nuovo gruppo di esperimenti consiste nella estroflessione dei margini della zona cruentata. I lembi, una volta estroflessi, vengono mantenuti in tale posizione da un punto in seta posto alla estremità distale del lembo medesimo (Fig. 1 - a). Tale accorgimento viene attuato allo scopo di derimere ogni dubbio riguardante il reale attecchimento degli elementi insemnati e la reale loro facoltà moltiplicativa atta in ultima analisi a ricoprire per intero l'area appositamente cruentata. Dalle zone estroflesse infatti non dovrebbe potersi avere processo di riepitelizzazione.

All'atto della prima medicazione i risultati però non sono incoraggianti. Mentre infatti l'epitelizzazione delle aree insemnate, tutte con materiale autologo, è completa e soddisfacente, il comportamento dei margini estroflessi è invece assai deludente. In due casi questi si presentano completamente necrosati verosimilmente per interruzione dell'apporto sanguigno nel punto di flessione del lembo medesimo. Distaccatasi la parte periferica la superficie prossimale prolifera rendendo quindi vano il nostro accorgimento. Negli altri due conigli invece i lembi eversi non presentano alcuna nota di necrosi ma, ripiegandosi su sé stessi, si liberano del punto di ancoraggio tornando ad affacciarsi e a proliferare col loro bordo libero verso la perdita di sostanza cutanea. L'ulteriore osservazione degli animali operati consente tuttavia di rilevare ancora una volta il felice esito della copertura mediante insemnamento di cellule dermo-epidermiche autologhe tripsinizzate.

Il V lotto è costituito di 6 animali. La sospensione cellulare viene preparata, al pari di quanto fatto nei lotti III e IV, mediante tripsinizzazione a freddo per sei ore.

I risultati non certo felici ottenuti con la estroflessione dei margini delle zone cruentate ci inducono a cambiare tale tecnica. In questo nuovo esperimento infatti i bordi, contrariamente a quanto fatto in precedenza, vengono introflessi. Una volta che si è allestita l'area di perdita

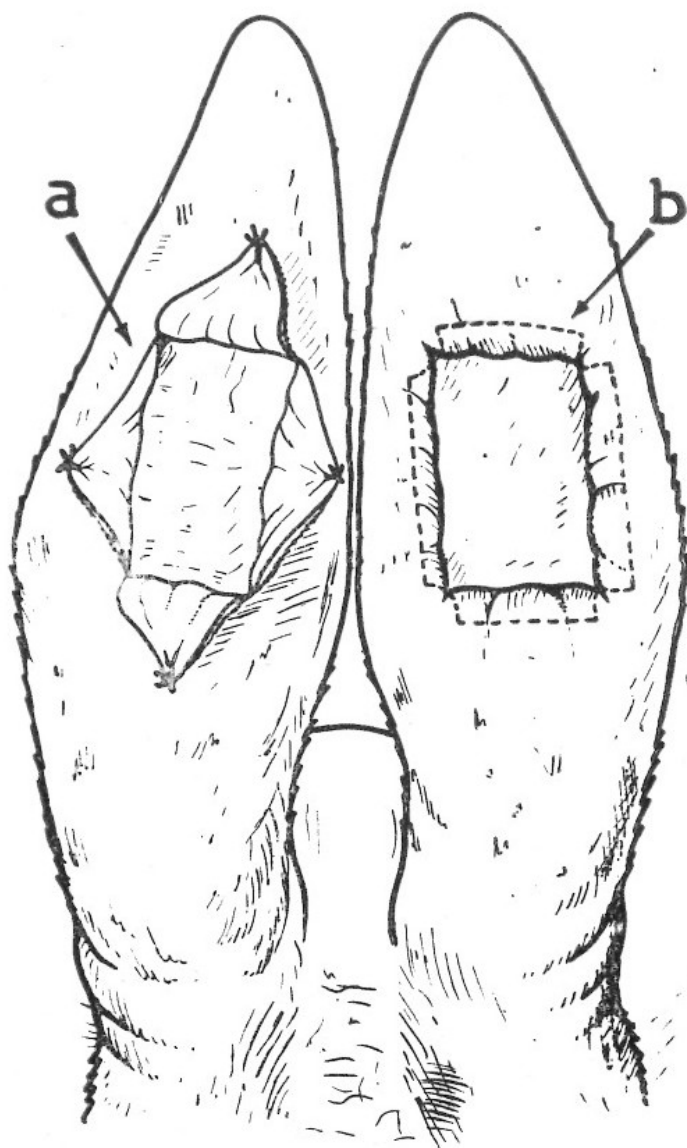


Fig. 1. - In «A» è schematizzata la tecnica impiegata nel IV lotto: estroflessione dei margini della zona cruentata. In «B» è schematizzata invece la tecnica della introflessione dei margini attuata nel V lotto di esperimenti.

di sostanza asportando i tessuti superficiali fino al pericondrio, i bordi della zona così preparata vengono scollati per tutta la loro lunghezza e per una profondità di circa 1 cm. Successivamente, sollevati con due pinze, vengono ripiegati in dentro a livello del loro margine libero. Tale introflessione, logicamente ripetuta per tutti e quattro i lati di ciascuna area cruentata, viene mantenuta esclusivamente con l'ausilio della medicazione compressiva sovrastante (Fig. 1 - b). Dei sei animali di questo

gruppo, quattro vengono trattati con materiale autologo e due con elementi omologhi.

All'atto della prima medicazione, effettuata come già detto in ottava giornata, tutte le aree insemenate si presentano epitelizzate, di colore rosa, leggermente umide. I controlli, allestiti anche in questo caso sul padiglione auricolare sinistro, si presentano lucenti, assolutamente privi di copertura e sanguinanti. I bordi si mantengono sollevati dai piani circostanti a causa della loro introflessione. Non si notano segni di riepitelizzazione marginale (Fot. 5). L'ulteriore evoluzione dell'esperienza conferma il felice esito iniziale ed in 20 giorni circa le aree insemenate con materiale autologo si presentano completamente guarite. La loro superficie è bianco-rosa, opaca, ricoperta qua e là di sottilissime lamelle biancastre facilmente asportabili. I margini si presentano più o meno sollevati ed introflessi nei loro bordi liberi.

La mancata riepitelizzazione marginale fa sì che le aree di controllo, anche a distanza di venti giorni dall'intervento, si presentino ancora arrossate, lucenti, umide, ricoperte solo a tratti di croste color giallastro. La contrazione di queste zone di controllo, al contrario di quanto osservato nel III lotto di esperimenti (vedi Fot. 2), è ora minima (Fot. 6).

In XXV giornata del decorso postoperatorio si prelevano frammenti per l'allestimento dei preparati istologici. Nel prelievo si ha cura di interessare la zona di transizione così da avere da un lato la superficie inseminata e dall'altro il tessuto normale del padiglione auricolare del coniglio. Nella prima microfotografia (Fot. 7) si nota la sezione di un tratto del lembo introverso ormai distaccatosi ed inglobato completamente nello spessore del tessuto rigeneratosi in virtù della moltiplicazione degli elementi inseminati. Sia in questo che nel preparato successivo (Fot. 8) si osservano a sinistra elementi giovani, discretamente addensati, aderenti ai piani sottostanti e privi di annessi. Nella parte destra dei campi fotografici si osserva il normale aspetto istologico del padiglione auricolare.

Per quanto riguarda infine il destino delle aree insemenate con elementi dermo-epidermici omologhi diremo che ad una fase iniziale, durata fino alla XV giornata, del tutto confortante e simile per andamento a quella presentata dalle cellule autologhe, ha fatto seguito una lenta ma progressiva involuzione con scomparsa pressochè completa delle aree di iniziale epitelizzazione in tempi oscillanti fra i 20 ed i 30 giorni.

DISCUSSIONE

Le esperienze, condotte su di un totale di 26 conigli, hanno portato a risultati che crediamo di un certo interesse.

Le sospensioni cellulari, ottenute tripsinizzando lembi dermo-epidermici, sono in grado, se insemenate su superfici cruenta in qualità di elementi autologhi, di estrarre il loro potenziale di crescita portando alla copertura di perdite di sostanza cutanea.

Di grande importanza si è rivelato il trattamento con tripsina. Risultati negativi si sono infatti avuti nel I e nel II lotto di esperimenti usando sospensioni cellulari ottenute sia mediante tripsinizzazione a caldo che mediante tripsinizzazione a freddo per un tempo piuttosto lungo (12 ore). Tali dati sono in contrasto con quanto viene usualmente fatto per l'allestimento delle colture cellulari in vitro. In tali casi il tessuto di origine viene per l'appunto sottoposto all'azione della tripsina a caldo o a freddo per 12 ore circa. Le cellule ricavate con questo procedimento sono poi capaci di sviluppare una volta che siano distribuite nelle provette di coltura. Nelle nostre esperienze gli elementi dermo-epidermici ottenuti con tali procedimenti non sono stati invece idonei alla estrinsecazione della loro potenziale vitalità. Crediamo che il contrasto sia però solamente apparente in quanto ben diverse sono le condizioni ottimali, sia per pabulum che per temperatura, all'uopo create nell'allestimento delle colture da quelle invece che le sospensioni cellulari trovano sulla superficie cruentata dell'orecchio del coniglio. E' sufficiente un transitorio stato di shock o una modesta diminuzione delle capacità vitali perchè gli elementi cellulari non riescano, in tali disagiate condizioni di ambiente, a nutrirsi, a moltiplicarsi, a sopravvivere.

Risultati positivi sono stati ottenuti tripsinizzando i lembi dermo-epidermici a freddo per sei ore solamente. Le sospensioni cellulari ottenute con tale metodica sono state usate, come elementi autologhi, nel III, IV e V lotto di esperimenti su di un totale di 12 animali. Di questi ben 11 presentavano fin dalla prima medicazione esito del tutto soddisfacente confortato poi del resto dalle successive osservazioni. Nel dodicesimo animale si aveva suppurazione della zona inseminata.

I controlli, eseguiti in tutti gli animali cruetando e lasciando poi senza copertura un'area del padiglione auricolare controlaterale a quello della vera esperienza, sono venuti a guarigione in tempi molto più lunghi esitando altresì in cicatrici retratte.

Allo scopo di derimere anche la facile obiezione di una epitelizzazione marginale abbiamo voluto attuare nel IV e nel V lotto di esperimenti una modalità tecnica capace di impedire o almeno di ritardare al

massimo la crescita di epitelio dai bordi della zona cruentata. Soddisfacente si è rivelata la introflessione dei margini mentre risultati negativi si sono avuti estroflettendo i medesimi. Riteniamo che la tecnica della introflessione dei margini, per altro di assai semplice attuazione anche perchè mantenuta solo mediante la sovrastante medicazione compressiva, possa risultare di una certa utilità anche in altre sperimentazioni nel campo degli innesti dermo-epidermici.

Non si è voluto tralasciare il tentativo di ottenere l'attecchimento di cellule omologhe tripsinizzate. Sebbene il numero degli animali trattati sia stato assai esiguo (quattro solamente in quanto in altri quattro conigli coperti con materiale omologo questo era ottenuto con tripsinizzazione inidonea) tuttavia i risultati costantemente negativi non possono che indurre a pessimistiche conclusioni. Non vogliamo assolutamente sminuire o mettere in dubbio quanto asserito da altri sperimentatori ⁽⁴⁾ ⁽⁵⁾ circa la perdita della specificità di specie in cellule sottoposte al trattamento con tripsina. Verosimilmente gli elementi di analisi da loro attuati (sieroprecipitazione e shock anafilattico) sono da ritenersi meno sensibili della sperimentazione eseguita con l'inseminamento diretto del materiale omoplastico.

In nessun caso l'osservazione degli esperimenti è stata protratta oltre i 30 giorni. A scadenze fisse si è preferito sacrificare gli animali per poter allestire preparati istologici di un certo valore dimostrativo.

Al termine di questa breve disamina ci sembra opportuno tornare a considerare i presupposti che ci hanno indotti ad intraprendere il presente lavoro sperimentale. Si voleva trovare una soluzione alla penuria di epidermide spesso esistente nelle gravi perdite di sostanza cutanea. Riteniamo che la dimostrata possibilità di un'efficiente copertura mediante cellule dermo-epidermiche autologhe tripsinizzate possa rappresentare una certa economica soluzione. Logicamente il fattore economia sarà rispettato solo se l'inseminamento del materiale a disposizione sarà fatto in strato assai sottile, idealmente in strato unicellulare.

CONCLUSIONI

1) mediante idonea tripsinizzazione di lembi dermo-epidermici è possibile ottenere sospensioni cellulari capaci, se inseminate su superfici cruente in qualità di elementi autologhi, di sviluppare attivamente portando a rapida copertura le perdite di sostanza cutanea;

2) nell'allestimento delle sospensioni cellulari il trattamento più idoneo è quello della tripsinizzazione a freddo per sei ore. Con tale metodica si sono avuti risultati costantemente positivi;

3) la tripsinizzazione a caldo e quella a freddo prolungata per dodici ore sono eccessivamente lesive per le cellule dermo-epidermiche che non riescono più ad estrinsecare adeguatamente il loro potenziale di crescita;

4) le aree di controllo allestite su tutti gli animali in esperimento sono venute a guarigione con notevole ritardo rispetto alle aree insemminate esitando altresì in cicatrici biancastre e retratte;

5) delle due tecniche attuate allo scopo di impedire la riepitelizzazione dai bordi delle aree cruentate solamente quella della introflessione dei margini ha dato risultati positivi rivelandosi per altro di assai facile realizzazione;

6) non si è avuto attecchimento definitivo di cellule dermo-epidermiche omologhe tripsinizzate;

7) le modalità tecniche seguite nella presente sperimentazione ci sembra possano costituire una soluzione economica alla penuria di epidermide spesso esistente. Facendo uso delle sospensioni cellulari si può infatti sfruttare il potenziale di crescita delle cellule con il vantaggio di coprire ampie perdite di sostanza cutanea con materiale relativamente scarso.

Roma — Istituto Superiore di Sanità - Laboratori di Veterinaria.

Roma — Istituto di Clinica Chirurgica Gen. e Terapia Chirurgica dell'Università.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) MEDAWAR P. B. - *Nature*, London, 148: 783 (1941).
 - (²) BALO, BANGA - *Nature*, London, 164: 491 (1949).
 - (³) BILLINGHAM R. E. e REYNOLDS Y. - *Brit. J. Plast. Surg.*, 5: 25 (1952).
 - (⁴) RAVAIOLI L. - *Atti Soc. It. Sci. Veter.*, 13: 525 (1959).
 - (⁵) PENSO G. e RAVAIOLI L. - *Atti Accad. Naz. dei Lincei*, 28: 409 (1960).
-