

Morphological Changes of Grafts During the Process of Implantation

L. Motskobili, A. Tsilosani, A. Makharashvili, T. Tamazashvili
Hair Transplantation Center "TALIZI"

Presently, it is imperative to obtain a maximum survival rate of follicular units during large-scale transplantations, as the results of hair transplantation depend not only on the quantity of implanted grafts but on the number of surviving follicles. One of the most important conditions needed to ensure a high survival rate of follicular units in-vitro is continuous moisture during an extended process of hair transplantation. To provide this, prepared grafts are usually kept in a cold saline solution. The only technological stage of hair transplantation during which grafts exist without a preserving solution is the immediate process of implantation. At this time, grafts placed on the surgeon's gloves are subjected to the harmful drying influences of the surgeon's skin and Morphological investigations were conducted for the purpose of studying the changes that develop in grafts as the result of this short-term exposure to drying influences. The subject of study were twenty follicular units taken from volunteers. They were divided into two groups: the first group consisted of ten follicular units preserved in the saline solution and the second group consisted of ten follicular units which remained in a thermostat at the temperature of 33°C for the period of five minutes.

Sections of the grafts were stained with hematoxylin-eosin. A quantifying evaluation of the obtained data was conducted along with morphometrical observations of the thickness of the internal and external root sheets, epidermis, and derma by means of the ocular micrometer MOB-1(LOMO).

Morphological investigations revealed changes in the cellular structure of grafts of the second group that suggest severe dehydration after five minutes at the temperature of 33°C. During this period, the grafts were placed on the surgeon's gloves. Thickness of the epidermis was decreased by 16 %, thickness of the derma by 28%, of the internal root sheet by 19%, and external root sheet by 14%. Therefore, the greatest amount of dehydration occurred in the derma (28% of its volume was lost), the internal root sheet (19%), then the epidermis (16%) and finally the external root sheet (14%).

An increase of the nuclear-cytoplasm index up to 1 pointed to the water loss from the cytoplasm and inter-cellular space. As a result this, structures shrank and decreased in size more than the nuclei. Eosinophilia of the dermal cytoplasm and internal and external root sheets testified to the increasing compactness of the structures stained by eosin. Hyperchromia and shrinkage of the cellular nuclei of the external root sheet pointed to the process of condensation of chromatin-karyorrhexis. However, the conducted investigations did not evaluate the conditions of the altered structure of the cytoplasm, primarily of all the mitochondria. These studies convince us of the necessity of rejecting the common practice of placing the grafts on the dorsal surface of the palm. As a last resort, the amount of grafts placed on the glove can be decreased, but this can prolong the duration of the surgery

Морфологические изменения графтов в процессе имплантации

Л.А.Моцкобили, А.З. Цилосани, А.А.Махарашвили, Т.Ш.Тамазашвили
Центр по пересадке волос «Тализи»

На сегодняшний день при проведении масштабных операций по пересадке волос наиболее важно достижение максимальной выживаемости фолликулярных объединений, так как результаты трансплантации зависят не от арифметического количества пересаженных графтов, а от числа выживших при этом фолликулов 2,4,6,7. Более того, в случае низкой выживаемости не только не достигается желаемый косметический результат, но и расходуется впустую донорский запас, которого в последствии может не хватить для очередных этапов трансплантации.

Выживаемость графтов зависит от многих факторов. Это и особенности до-бывания, препарирования и сохранения донорского материала, техника имплан-тирования, состояние реципиентной зоны. Однако, по мнению многих авторов, главное условие хорошей выживаемости - это обеспечение непрерывной влаж-ности фолликулярных объединений в многоэтапном и продолжительном процес-се трансплантации, в течении которого графты находятся вне организма 3,5,6. Как во время препарирования, так и в ожидании имплантации графты почти постоян-но хранятся в холодных растворах. Единственным технологическим звеном трансплантационного процесса, в течении которого графты находятся вне сохра-няющих растворов, является непосредственно процесс имплантации, во время которого графты расположены на перчатках хирургов и подвергаются согреваю-щему влиянию человеческих рук, с одной стороны, и осветительных приборов, с другой. И, хотя продолжительность этого периода невелика (всего несколько минут), учитывая малую массу ($\gg 6,0$ мг) и большую поверхность графтов, за этот короткий срок они теряют около половины всей содержащейся в них жидкости 8. Высушенные графты особенно чувствительны к механической травме, которая в той или иной степени возникает во время имплантации 5. Целью данного труда было изучение морфологических изменений, происходящих в графтах во время имплантации.

Материалы и методы исследований. Морфологические исследования графтов проводились с целью изучения развитых изменений в них вследствие кратковременного высушивания. Изучаемый материал представлял собой взятые у добровольца 20 микрографтов, которые были разделены на 2 группы: I группу составляли 10 микрографтов, находившихся в физиологическом растворе, а во II группу входили 10 микрографтов, которые в течении 5 минут находились в тер-мостате при температуре 330C (модель из клинической практики, когда графты находятся на перчатке оператора непосредственно перед имплантацией). Тран-сплантаты (графты) из обеих групп фиксировались в 10%-ном растворе нейт-рального буферного формалина, формировались в парафине (парапласт SHANDON). Парафиновые срезы окрашивались гематоксилен-эозиновой технологией. Для количественной оценки полученных данных производилось морфометричес-кое изучение толщины внутреннего и наружного корневого влагалища, эпидер-миса и прилегающей к фолликулам дермы с помощью окуляра-микрометра МОВ-1 (ЛОМО).

Результаты исследований и их обсуждение. Оценка морфологических изменений графтов I группы выявила, что в кератиноцитах ядерно-цитоплазма-тический индекс <1 , цитоплазма слегка эозинофильна, дерма рыхлая, слегка эозинофильна, в клетках наружного корневого влагалища ядерно-цитоплазматический индекс <1 , цитоплазма слегка эозинофильна (микрофотография - Фото 1) .

В графтах II группы ядерно-цитоплазматический индекс почти равен одному, цитоплазма резко эозинофильна, дерма компактная, резко эозинофильная, внутреннее корневое влагалище резко эозинофильное, в клетках наружного корневого влагалища ядерно-цитоплазматический индекс равен 1, цитоплазма резко эозинофильна, ядра

гиперхромны, часто встречается пикноз ядер (микрофотография - Фото 2, 3, 4). В описанных гистологических структурах других изменений (на уровне гематоксин-эозина) не выявлено.

Морфометрические исследования показали, что в I группе толщина эпидермиса составляла $352 \pm 5,2$ мкм, толщина дермы - $1254 \pm 7,4$ мкм, толщина внутреннего корневого влагалища - $131 \pm 3,2$ мкм, а толщина наружного корневого влагалища - $213 \pm 4,3$ мкм. Во II группе толщина эпидермиса составляла $293 \pm 3,8$ мкм, толщина дермы - $902 \pm 5,7$ мкм, толщина внутреннего корневого влагалища - $105 \pm 3,4$ мкм, а наружного корневого влагалища - $182 \pm 3,7$ мкм. (см. диаграмму 1).

Как продемонстрировали результаты морфометрических исследований, толщина эпидермиса сократилась на 16%, толщина дермы - на 28%, внутреннего корневого влагалища - на 19%, а наружного корневого влагалища - на 14%.

Итак, в процессе кратковременного (5 минут) высушивания больше всего воды теряла дерма (28% от ее объема), затем внутреннее корневое влагалище ($\approx 19\%$), далее эпидермис (16%) и, наконец, наружное корневое влагалище (14%).

Результаты морфометрических исследований срезов графтов аналогичны выводам, полученным А.З.Цилосани и соавт. методом точного взвешивания графтов с поправкой на то обстоятельство, что эти исследования показывают уменьшение не веса ткани, а объема (Диаграмма 1) 8. Как отмечалось выше, в процессе кратковременного высушивания различные структуры графта уменьшались в объеме от 14 до 28% из-за потери воды. Тот факт, что больше всего жидкости теряла дерма (почти вдвое больше, чем наружное и внутреннее корневые влагалища), объясняется, в частности, тем, что элементы фолликула в хорошо препарированных графтах со всех сторон "окутаны" слоем дермы и как раз этот слой дермы обращен к внешним факторам, он страдает в первую очередь от их воздействия и уменьшает их пагубное влияние на центры роста волос. Полученные данные еще раз подтверждают необходимость такого препарирования графтов, при котором фолликулы со всех сторон были бы окружены тканями определенной толщины. Как продемонстрировал D.Seager в своем исследовании "худощавых" и "полных" графтов, агрессивно препарированные тонкие фолликулярные объединения всегда давали слабый рост 7.

Выявленные морфологическими исследованиями изменения в клетках структур графтов II группы (эпидермис, дерма, наружное и внутреннее корневые влагалища) также указывают на резкую дегидратацию, наступившую за пятиминутный период при температуре 330°C , т.е. в условиях, в которых графты находятся на перчатке ассистента, ожидая имплантации. Увеличение ядерно-цитоплазматического индекса до 1 указывает на преимущественную потерю воды из цитоплазмы и межклеточного пространства, вследствие чего эти структуры сморщиваются и уменьшаются в размерах сильнее, чем ядра. Нарастание эозинофильности цитоплазмы дермы, внутреннего и наружного корневых влагалищ свидетельствует о возросшей компактности окрашиваемых эозином структур из-за потери воды. Гиперхромность ядер клеток наружного корневого влагалища (микрофотография - Фото 3), их сморщивание указывает на начало процесса конденсации хроматина - кариопикноз. Вместе с тем, проведенные нами исследования на уровне гематоксилен-эозина не позволяют судить о состоянии ультраструктур цитоплазмы, в первую очередь о митохондриях. Также не дается окончательный ответ на вопрос о том, насколько необратимыми являются описанные изменения, наступившие в графтах в процессе кратковременного высушивания и как повлияют они на выживаемость графтов в исследованиях *in vivo*. Единственным подтверждением необратимости изменений является пикноз некоторых ядер наружного корневого влагалища, что ограждает начало активации гидролаз-рибонуклеазы и дезоксирибонуклеазы, ведущее к отщеплению от нуклеотидов фосфатных групп и высвобождению нуклеиновых кислот 1.

Морфологические изменения, быстро развивающиеся в графтах в процессе имплантации, свидетельствуют об угрожающих масштабах дегидратации. Проведенные исследования убеждают нас в необходимости отказаться от привычной практики размещения графтов на дорзальной поверхности левой руки или, в крайнем случае,

максимально уменьшить порции графтов, помещаемых на руке (перчатке)., хотя это и может увеличить трудоёмкость и продолжительность операции.

References

- 1 Струков А.И., Серов В.В. Патологическая анатомия. «Медицина», Москва 1985.
Bernstein R.M., Rassman W.R., Seager D., Unger W.P., Limmer B.L., Jimenez F,
Ruifernandez J.M., Greco F.J., Arnold J., Mangubat A.E., Nemeth A.J., Kim J-C.,
- 2 Martinick J., Raposio E., Patt L.M., Sawaya M.E., Christiano A.M., Marritt E. The
Future in Hair Transplantation. Journal of Aesthetic Dermatology and Cosmetic
Dermatologic Surgery. 1999; 1(1): 55-89.
- 3 Blugerman G., Schavelzon D. Submerged graft dissection. Hair Transplantation
Forum Int. 1999; 9(3): 78
- 4 Brandy D.A. New instrumentation for hair transplantation surgery. Dermatologic
Surgery. 1998; 24 (6): 629-31
- 5 Gandleman M. Light and electron microscopic analyses of controlled crushing injury
of micrografts. Presented at the International Society of Hair Restoration Surgery.
Barcelona; 1997
- 6 Seager D. J. The three important ways to achieve density. Presented at the
International Society of Hair Restoration Surgery, 11th Annual Scientific Meeting.
New-York 2003.
- 7 Seager D. J. Micrograft size and subsequent survival. Dermatol Surg. 1997; 23: 771-
84
- 8 Tsilosani A.Z., Motskobili L.A., Tamazashvili T.Sh. Grafts dehydration and warming
during implantation. Georgian Medical News, 2003, N10

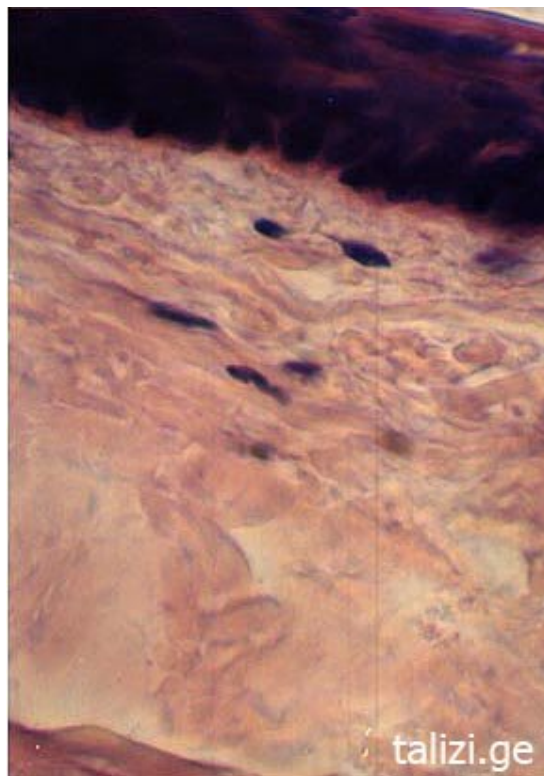


Фото 1

I группа. Прелегающая к эпидермису слабо эозинофильная дерма. Н&Е, х 400

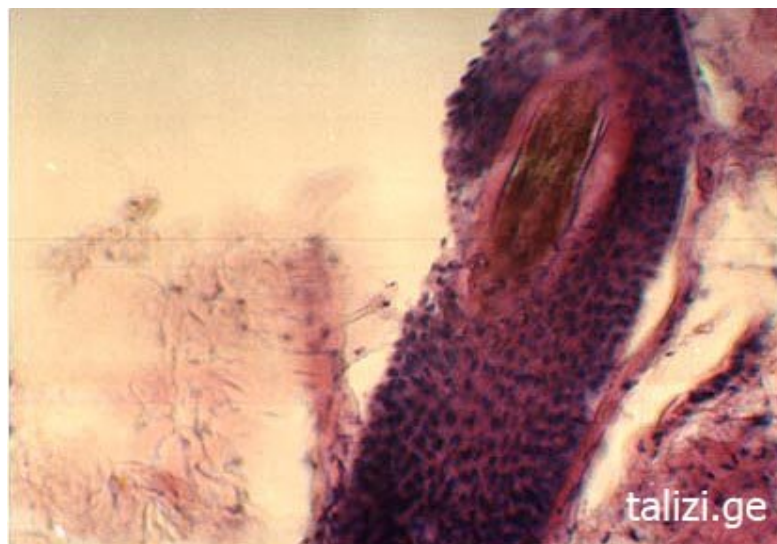


Фото 2

II группа. Резко эозинофильные внутреннее и наружное корневые влагалища уменьшенной толщины. Н&Е, х 200

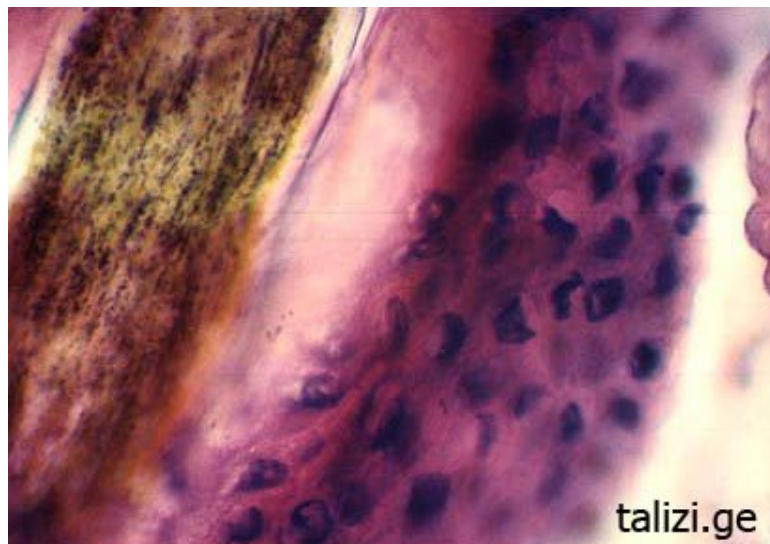


Фото 3

II группа (деталь). В кератиноцидах наружного корневого влагалища отмечаются гиперхромные ядра, часть ядер пикнозные. Н&Е, х 400

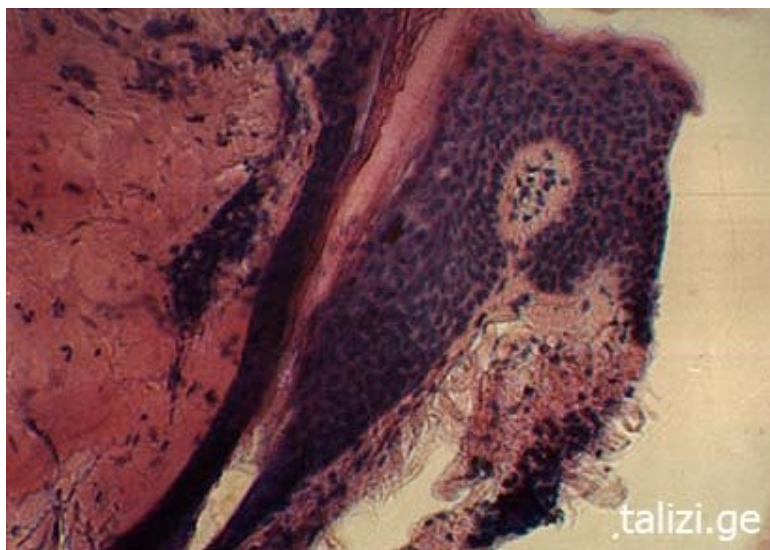


Фото 4

II группа. В кератиноцидах ядерно-цитоплазматический индекс =1, внутреннее и наружное корневые влагалища резко эозинофильны, резко эозинофильная дерма. Н&Е, х 200

