

УДК 616.16-089.843:616.8-009.51:612.15

**ВЫРАЖЕННОСТЬ НЕОИНТИМАЛЬНОЙ
ГИПЕРПЛАЗИИ И ОСОБЕННОСТИ ЗАЖИВЛЕНИЯ
МЫШЕЧНОЙ ОБОЛОЧКИ В МИКРОХИРУРГИЧЕСКИ
АНАСТОМОЗИРОВАННЫХ АРТЕРИЯХ МАЛОГО ДИАМЕТРА
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ МЕТОДИКИ УЗЛОВОГО ШВА**

Щудло Н.А., Щудло М.М., Щурова Е.Н.

*ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия»
им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава РФ, Курган, e-mail: nshchudlo@mail.ru*

Проведён анализ выраженности неоинтимальной гиперплазии и особенностей заживления мышечной оболочки в микрохирургически анастомозированных кожных артериях бедра (диаметр 0,6–1,2 мм) 10 собак. В группе 1 (n = 5) использовали стандартную методику анастомоза – от шести до девяти швов через все слои сосудистой стенки, в группе 2 (n = 5) – сочетание сквозных установочных и экстралюминальных швов, проведённых через адвентицию и мышечную оболочку артерии. Через 10 недель после операции в группе 1 объёмная скорость кровотока в оперированной артерии была на 50 и более процентов меньше, чем в контрлатеральной. В группе 2 кровотока был сопоставим с контрлатеральным (разница либо отсутствовала, либо не превышала – 10%). Более выраженные неоинтимальная гиперплазия, рубцовое замещение и атрофия мышечной оболочки артерии отмечены в группе 1.

Ключевые слова: микрососудистый анастомоз, неоинтимальная гиперплазия, флоуметрия

**NEOINTIMAL HYPERPLASIA EXPRESSIVENESS EVIDENCE
AND PECULIARITIES OF MUSCULAR LAYER HEALING
IN MICROSURGICALLY ANASTOMOSED SMALL-DIAMETER ARTERIES
DEPENDING ON THE TECHNIQUE OF INTERRUPTED SUTURE**

Shchudlo N.A., Shchudlo M.M., Shchurova E.N.

*FSBI «Russian Ilizarov Scientific Center «Restorative Traumatology and Orthopaedics»» (RISC RTO)
of the RF Ministry of Health, Kurgan, e-mail: nshchudlo@mail.ru*

We analyzed the evidence expressiveness of neointimal hyperplasia and peculiarities of muscular layer healing in microsurgically anastomosed femoral skin arteries (external diameter 0,6–1,2 mm) of 10 dogs. In group 1 (n = 5) the standard technique of anastomosis, i.e., from six to nine interrupted sutures through all the layers of vascular wall was used, and in Group 2 (n = 5) we used the combined technique: stay sutures through all the layers of artery wall and extraluminal sutures through the adventitial and muscle layers. Ten weeks after surgery blood flow volume rates in the operated arteries were 50% and more less comparing with contralateral ones in Group 1. In Group 2 the blood flow was comparable with contralateral one (the difference was either absent or it didn't exceed 10%). More marked neointimal hyperplasia, as well as fibrous transformation and atrophy of arterial muscular layer were observed in Group 1.

Keywords: microvascular anastomosis, neointimal hyperplasia, flowmetry

Первое экспериментальное исследование по микрососудистой хирургии было выполнено в 60-е годы прошлого века на артериях с наружным диаметром от 1,6 до 3,2 мм [4]. Потребности клинической практики (реплантации пальцев, реконструктивная хирургия лицевой области, пересадка свободных лоскутов на перфорантных сосудах) заставляют оперировать на гораздо более тонких сосудах, хотя известно, что если внутренний диаметр артерии составляет 1 мм и менее, риск неудачи её анастомозирования очень велик [3]. По данным G.F. Pratt et al. [8], на протяжении нескольких десятилетий выполнялись исследования разнообразных бесшовных методов восстановления. Адгезивам, лазерной сварке, кольцам, степлерам и прочим механическим устройствам посвящено более 6000 публикаций,

однако стандартной техникой для восстановления около- и субмиллиметровых сосудов в клинической практике был и остаётся шовный анастомоз. В обзоре M.S. Alghoul et al. [1] насчитывается более 40 англоязычных публикаций последних десятилетий, посвящённых сравнительному анализу основных и модифицированных методик микрохирургического шва, но «золотым стандартом» считается отдельный узловой шов.

Недостаточно изучен и противоречиво освещается вопрос об оптимальной глубине стежка при выполнении сосудистого шва. По мнению одних авторов, проведение иглы через всю толщу сосудистой стенки обеспечивает лучшее восстановление непрерывности интимы, исключает кровотечение из анастомоза и тромбоцитарные агрегаты [9]. Другие авторы не выявили разницы в зажив-

лении интимы и проходимости анастомозов при сравнении сквозных и адвентициальных швов [5]. По мнению третьих, швы, которые не захватывают интиму, обеспечивают более быструю её реэндотелизацию, поскольку воспалительный процесс в этих условиях локализуется преимущественно в наружном слое сосудистой стенки [2]. Неизвестно, влияют ли особенности проведения швов на выраженность изменений внутренней эластической мембраны, развитие неоинтимальной гиперплазии, а также состояние мышечной оболочки анастомозированных артерий.

Цель исследования – анализ выраженности неоинтимальной гиперплазии и особенностей заживления мышечной оболочки в микрохирургически анастомозированных артериях малого диаметра в зависимости от методики узлового шва.

Материалы и методы исследования

Исследование проведено на 10 взрослых беспородных собаках, у которых под комбинированным внутривенным наркозом в асептических условиях операционной осуществляли пересечение и анастомозирование кожной артерии бедра. Выбор экспериментальной модели определялся соответствием основных гистоморфометрических характеристик этих сосудов (размерный диапазон – 0,6–1,2 мм, соотношение диаметра просвета и толщины стенки, толщина внутренней эластической мембраны, соотношение толщины мышечной оболочки и внутреннего слоя адвентиции) пальцевым артериям человека. Животные содержались в виварии, оперативные вмешательства осуществляли в соответствии с требованиями Министерства здравоохранения Российской Федерации к работе экспериментально-биологических клиник, а также «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей».

Для анастомозирования использовали инструментарий фирмы Aescular, нити 10/0 на круглых атравматических иглах диаметром 75 и 100 мкм фирмы Ethicon, операционный микроскоп фирмы Opton (увеличение от 8х до 32х). После осуществления проекционного доступа к сосудисто-нервному пучку выделяли а. saphenae из окружающих тканей на протяжении 2 см с использованием 8-кратного увеличения операционного микроскопа. Измеряли её наружный диаметр с помощью тарированной клипсы, пережимали на двух уровнях и пересекали прямыми микроножницами. Концы артерии орошали тёплым физиологическим раствором с добавлением гепарина (10000 ЕД на 100 мл), механически дилатировали, а затем анастомозировали отдельными узловыми швами. В группе 1 (контроль) использовали от шести до девяти отдельных узловых швов, которые проводили через все слои сосудистой стенки. В группе 2 (опыт) применяли сквозное проведение двух-трёх установочных швов, а остальные швы (от трёх до шести) проводили экстралюминально через адвентицию и мышечную оболочку артерии. При выполнении экстралюминальных швов пользовались 12–15-кратным увеличением микроскопа.

Включение кровотока осуществляли путём очередного снятия клипс (вначале дистальной, затем проксимальной).

Оценка герметичности анастомоза. Методом экспертных оценок в баллах оценивали выраженность кровотечения из межшовных промежутков: 0 баллов – кровотечения из межшовных промежутков нет; 1 балл – кровотечение останавливается спонтанно в течение минуты; 2 балла – кровотечение останавливается после прижатия тупфером в течение 100 секунд; 3 балла – для остановки кровотечения требуется повторное наложение проксимальной клипсы и дополнительных (одного-двух) герметизирующих узловых адвентициальных швов.

Оценка проходимости анастомоза. В ближайшие 10–20 минут после выполнения анастомоза оценивали выраженность горизонтальной пульсации артерии и результаты двухпинцетной пробы (немедленное энергичное заполнение анастомозированной артерии либо частичное заполнение на уровне анастомоза или дистальной клипсы).

Через 10 недель после операции проводили ревизию анастомозов после повторной наркотизации животных и хирургического доступа к оперированной артерии. Методом биомикроскопии оценивали выраженность горизонтальной пульсации самой анастомозированной артерии и её ветвей, её внешний вид и наружный диаметр. Дополнительное подтверждение проходимости анастомоза получали после перерезки артерии дистальнее анастомоза, оценивая характер и интенсивность кровотечения.

Флоуметрический контроль. В шести опытах (по три в каждой группе) биомикроскопический контроль дополнили флоуметрией. Для регистрации кровотока и измерения его объёмной скорости на оперированной и контрлатеральной артериях использовали ультразвуковой флоуметр T101 (Transonic Systems Inc., США). Тщательно выделив артерию остро-тупым путём под операционным микроскопом, помещали её в датчик прибора, убеждаясь, что стенка сосуда прилежит ко дну рефлектора. Нанесением на сосуд тёплого физиологического раствора из пространства рефлектора удаляли пузырьки воздуха и в течение 10–20 минут проводили флоуметрию.

Для гистологического исследования анастомозированных артерий иссекали их участки, включающие зону швов, вместе с параартериальной рубцовой тканью (рис. 1, а). На соответствующем уровне иссекали участки контрлатеральных артерий. Образцы помещали в охлажденную смесь 2% растворов глутарового и параформальдегидов на фосфатном буфере (рН 7,4) с добавлением 0,1% пикриновой кислоты. На следующие сутки зону анастомоза артерии препарировали под бинокулярной лупой: удаляли параартериальные спайки и разделяли образец продольно на две симметричные половины (рис. 1, б).

Материал дофиксировали не менее месяцева 10% нейтральным формалином, заливали в парафин и готовили продольные срезы, которые окрашивали гематоксилин-эозином, пикрофуксином по ван-Гизону, орсеином по Харту. Препараты исследовали с помощью микроскопа Opton-3 (Германия). Их цифровые изображения получали на аппаратно-программном комплексе «Диаморф» (Россия). После геометрической калибровки изображений с помощью цифрового изображения шкалы объект-микрометра проводили измерения толщины неоинтимы в графическом редакторе PhotoFiltre.

Проверку статистических гипотез проводили с использованием двухвыборочного t-теста, предоставляемого программой Microsoft Excel 2003.

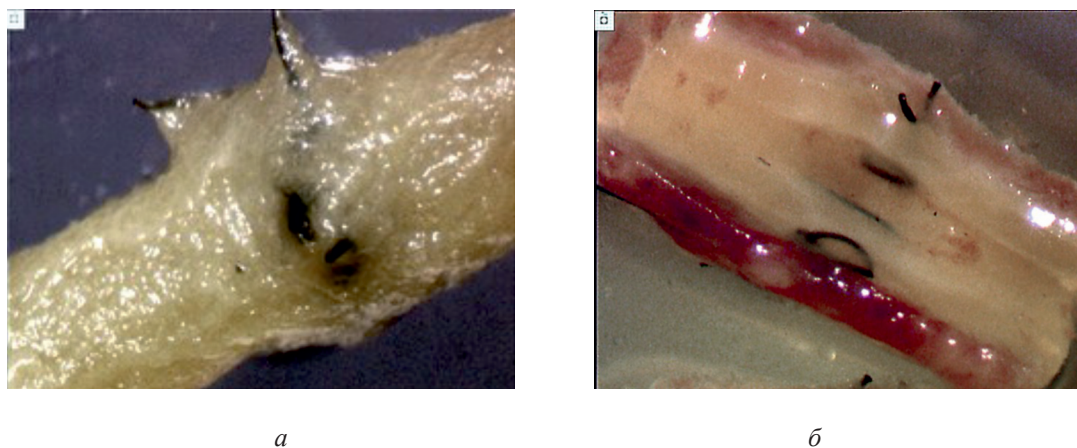


Рис. 1. Образец для гистологического исследования кожной артерии бедра собаки: а – вид снаружи, б – вид со стороны просвета. Инструментальное увеличение 20х

Результаты исследования и их обсуждение

Проведение микрохирургической иглы через наружные слои стенки артерии не создавало затруднений. Приближение острия к просвету встречало сопротивление, которое, по-видимому, создавалось плотной структурой внутренней эластической мембраны. Поэтому для выполнения сквозных швов, как правило, требовалось встречное противодействие пинцетом. По времени выполнения анастомоза (от 12 до 35 минут) достоверных отличий между группами не выявлено. Средние диаметры анастомозированных артерий и среднее количество швов были сопоставимы. Средние оценки герметичности анастомоза не имели достоверных отличий ($1,8 \pm 0,4$ для группы 1 и $1,2 \pm 0,2$ для группы 2), однако единственный опыт с оценкой «3» принадлежал группе 1. Дефекты заполнения анастомоза в группе 1 наблюдались в двух случаях из пяти, а в группе 2 – в одном.

Через 10 недель после операции анастомозы были проходимы. В семи опытах из 10 оперированные артерии были сопоставимы с контрлатеральными по наружному диаметру и внешнему виду, отличаясь лишь небольшой спаянностью с окружающими тканями и наличием шовных лигатур. В одном опыте оперированная артерия имела больший наружный диаметр, чем контрлатеральная, а ещё в двух была истончена и имела тусклый белёсый вид. Все эти три опыта принадлежали группе 1. По данным флоуметрии, кровотока в интактной кожной артерии бедра собаки регистрировался нестабильно и находился в диапазоне от 1,5 до 9 мл/мин. В группе 1 относительная разница объёмной скорости кровотока в опери-

рованной и контрлатеральной артериях во всех случаях превышала –50%. В группе 2 значение параметра было сопоставимо с контрлатеральным (разница либо отсутствовала, либо не превышала – 10%).

При гистологическом исследовании установлено, что состояние сосудистой стенки в зонах сквозных швов в группах 1 и 2 аналогично (рис. 2 и 3). Адвентициальная оболочка содержит большое количество фуксинофильного коллагена. Целостность эластических мембран на границе меди и адвентиции в зоне перерезки и шва артерии не восстановлена (рис. 2 и 3, а). Мышечная оболочка также замещена рубцом, причём в отдельных участках не только в зоне перерезки и шва, но и на некотором протяжении, что свидетельствует о её предшествующем некрозе. У некоторых животных наряду с участками фиброзного замещения меди определяется её истончение (атрофия). На больших увеличениях микроскопа в составе рубца меди выявляются и гладкомышечные клетки, и эластические волокна, но они не формируют характерную для интактной артерии архитектонику (рис. 3, б).

Пространство интимы занято неоинтимой, которая во многих участках выбухает в просвет за счёт более или менее выраженной гиперплазии гладкомышечных клеток. В разных участках срезов сосуда её толщина варьирует от 59 до 474 микрометров. Люминальная выстилка неоинтимы сформирована преимущественно эндотелиоцитами, среди которых встречаются веретёновидные гладкомышечные клетки (рис. 3, в). Выражен субэндотелиальный слой и тонкая (примерно втрое тоньше исходной) непрерывная новая внутренняя эластическая мембрана, которая в некоторых участках раздваивается.

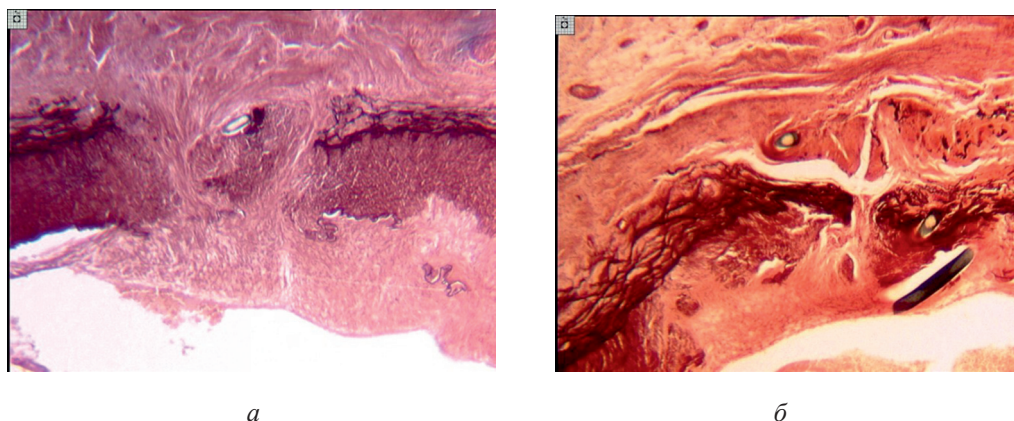


Рис. 2. Фрагменты продольных парафиновых срезов стенки кожной артерии бедра собак из группы 1, срок опыта 10 недель. Окраска орсеином по Харту. Инструментальное увеличение 32х



Рис. 3. Фрагменты продольных парафиновых срезов стенки кожной артерии бедра собаки из группы 2, а – окраска орсеином по Харту (увеличение 80х), б, в – окраска по ван Гизону (увеличение 200 и 500х соответственно)

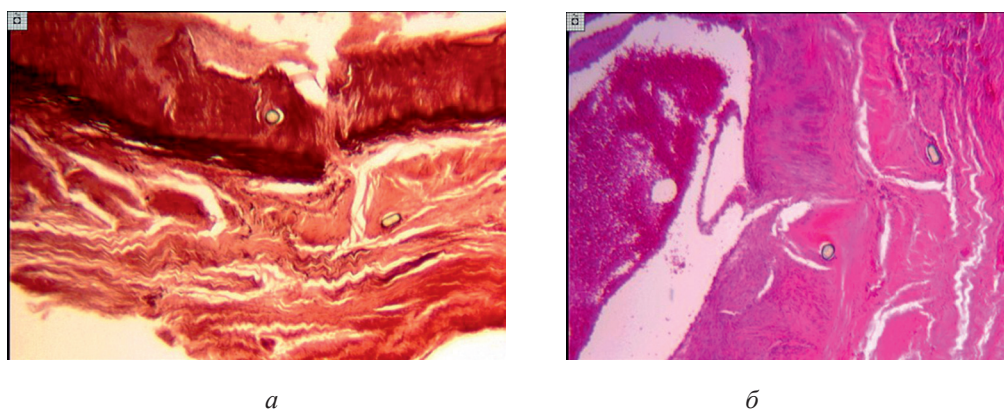


Рис. 4. Фрагменты продольных парафиновых срезов стенки кожной артерии бедра собак из группы 2, а – окраска орсеином по Харту, б – окраска гематоксилином-эозином. Увеличение 32х

У животных группы 2 в зоне экстралюминальных швов рубцовые дефекты медики имеют меньший объём, чем в зоне сквозных швов (сравнить рис. 2 и 4), поскольку ограничиваются в основном уровнем пересечения и стыка концов артерии. Наряду с участками атрофии мышечной оболочки

встречаются её утолщения в результате гиперплазии гладких миоцитов. Толщина неинтимы в зонах экстралюминальных швов варьирует от 30 до 67 мкм.

Нормальный процесс заживления микрохирургически анастомозированного сосуда включает реэндотелизацию люми-

нальной поверхности и восстановление непрерывности адвентиции; некротизированная мышечная оболочка не регенерирует [7], а подвергается атрофии, в то время как заживление интимы сопровождается гиперплазией [6]. Поскольку в основе формирования неоинтимального утолщения лежит миграция гладкомышечных клеток из медию в пространство интимы с последующей пролиферацией [10], логично предположить, что между выраженностью атрофии мышечной оболочки и неоинтимальной гиперплазией существует прямая зависимость. В проведённом нами исследовании установлено, что анастомозирование артерии малого диаметра отдельными узловыми швами, проведёнными через все слои сосудистой стенки, приводит к более выраженному рубцовому замещению и атрофии средней оболочки, а также более выраженной неоинтимальной гиперплазии, чем при комбинированной методике анастомозирования – с применением экстралюминальных швов через адвентицию и медию. Разница в степени гистологических изменений свидетельствует о том, что комбинированная методика микрохирургического анастомоза является менее травматичной. Уменьшение количества сквозных швов не только снижает степень повреждения интимы иглой, но и исключает необходимость многократных прикосновений пинцетом к люминальной поверхности артерии. Более щадящий характер комбинированной методики существенно повлиял на функционирование анастомоза в отдалённом периоде после операции, о чём свидетельствуют выраженные различия результатов флоуметрии контрольной и опытной групп.

Заключение

Ограничение сквозного прошивания сосудистой стенки только до двух-трёх установочных швов и экстралюминальные швы через адвентицию и медию позволяют существенно уменьшить травматизацию артерии малого диаметра при её микрохирургическом анастомозировании и обеспечить лучшие показатели морфо-функционального восстановления в отдалённом периоде после операции.

Работа поддержана программой Минздрава РФ в рамках государственного задания ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова» для выполнения НИР на 2015–2017 гг.

Список литературы

1. Alghoul M.S., Gordon C.R., Yetman R., Buncke G.M., Siemionow M., Afifi A.M., Moon W.K. // *Microsurgery*. – 2011. – V. 31, № 1. – P. 72–80.
2. Aviles A.J., Theodoru S., Sekosen M., Schraufnagel D., Ramasastry S. // *Neurol. Res.*, 2004. – V. 26, № 8. – P. 809–815.
3. Chang T., Chu S., Wang C. *Principles, techniques and applications in microsurgery*. Singapore: World Scientific, 1986. – P. 84.
4. Jacobson J.H., Suarez E.L. *Microsurgery in anastomosis of small vessels* // *Surg. Forum* 1960. – V. 11. – P. 243–245.
5. Harashina T., Fujino T., Watanabe S: The intimal healing of microvascular anastomoses // *Plast. Reconstr. Surg.*, 1976. – V. 58, № 5. – P. 608–613.
6. Keklik B., Basaran K., Ozluk Y., Hocaoglu E., Ermis I., Kuvat S.V. // *Arch. Clin. Exp. Surg.* 2014. – V. 3, № 2. – P. 87–93.
7. Lidman D., Daniel R.K. The Normal Healing Process of Microvascular Anastomoses // *Scand. J. of Plast. and Reconstr. Surg. and Hand Surg.* 1981. – V. 15, № 2. – P. 103–110.
8. Pratt G. F., Rozen W. M., Westwood A., Hancock A., Chubb D., Ashton M. W., Whitaker, I. S. // *Microsurgery*. – 2012. – V. 32, № 1. – P. 68–76.
9. Weinstein P.R., Mehdorn H.M., Szabo Z: Microsurgical anastomosis: Vessel injury, regeneration, and repair. // In: Serafin D., Buncke H.J., Jr (eds.) *Microsurgical Composite Tissue Transplantation*. CV Mosby, St. Louis. – 1979. – P. 111–144.
10. Zhao J., Zhang M., Li W., Su X., Zhu L., Hang C. *PLoS One*. 2013. V.8, №3:e58730. doi: 10.1371/journal.pone.0058730. Epub 2013 Mar 14.