

© Коллектив авторов, 2016
УДК 616.137.83-089.843-018:599.323.4

М.М. Щудло, Н.А. Щудло, Т.А. Ступина, Л.Я. Коростелёва

ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ И МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПРОПУСКНОЙ СПОСОБНОСТИ МИКРОХИРУРГИЧЕСКИ АНАСТОМОЗИРОВАННЫХ АРТЕРИЙ ДИАМЕТРОМ 0,5 мм

Клинико-экспериментальная лаборатория реконструктивно-восстановительной микрохирургии и хирургии кисти (зав. — д-р мед. наук Н.А. Щудло), ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова», г. Курган

Для оценки пропускной способности микрохирургически анастомозированных артерий с диаметром 0,5 мм у 9 крыс проведена перерезка и сшивание бедренной артерии. При световой микроскопии и морфометрическом анализе серий поперечных эпиксидных полутонких срезов зоны анастомоза через 4 нед после операции выявлены: интралюминальный стеноз ($n=2$), замена мышечной ткани меди и на соединительную ткань с незначительным сужением просвета артерии ($n=2$), заживление меди ($n=5$) со значимым увеличением интерадвентициального диаметра, толщины интимо-медиального комплекса и тенденцией к увеличению диаметра просвета, а также возможность увеличения индекса пропускной способности артерий с диаметром 0,5 мм при щадящей методике их анастомозирования.

Ключевые слова: артерии, анастомоз, миоинтимальное утолщение, заживление меди, супермикрохирургия

Диаметр сосуда — один из важных факторов, определяющих исходы микрохирургических операций по реплантации и пересадке тканевых комплексов. Если он близок к 1 мм, даже у опытных хирургов возрастает риск тромбоза [1], стенозирования и деформаций анастомоза [6]. Как показали многочисленные экспериментальные гистологические исследования, повреждения всех слоёв сосудистой стенки и, в частности, дезэндотелизация выражены на значительном протяжении от зоны швов [13]. Реендотелизация люминальной поверхности определяется уже через 1 нед после операции, но завершается лишь к 31–60-м суткам [12]. Через 1 мес после операции адвентиция формирует соединительнотканную манжету вокруг анастомоза; вблизи концов отрезков сосуда образуется зона миоинтимальной гиперплазии и уменьшается площадь просвета сосуда; медиа является слабо регенерирующей оболочкой [7]. В единичных публикациях отмечено иное: несмотря на развитие миоинтимальной гиперплазии, анастомозированные сосуды расширены по сравнению с контралатеральными, а их медиа регенерирует [10]. Неизвестно, возможны ли аналогичные преобразования анастомозов артерий диаметром 0,5 мм, просвет которых уменьшается с каждым стежком наложения шва

независимо от того, насколько хорошо выполнен анастомоз [14]. Актуальность исследования этого вопроса обусловлена внедрением в клиническую практику техники сшивания сосудов с наружным диаметром менее 0,8 мм, получившей название «супермикрохирургии» и необходимой в реплантационной хирургии [8], реконструкциях лицевой области [5], пересадках лоскутов на перфорантных сосудах [11].

Цель настоящего исследования — анализ гистологических изменений микрохирургически анастомозированных артерий диаметром 0,5 мм.

Материал и методы. Опыты проведены на 9 белых крысах-самках линии Вистар, которых содержали в виварии в соответствии с требованиями МЗ РФ к работе экспериментально-биологических клиник. Операции выполнены под общей анестезией гидрхлоридом ксилаина (внутримышечное введение 0,8 мг/100 г массы тела) и тилетамин-золазепамом (0,4 мг/100 г). Доступ к бедренному сосудисто-нервному пучку осуществляли с использованием операционного микроскопа ОРМ-6 (Opton, Германия). Артерию выделяли из окружающих тканей на протяжении 2 см, измеряли её наружный диаметр с помощью тарированной клипсы, пережимали на двух уровнях двоянной клипсой и пересекали прямыми микроножницами, концы орошали тёплым изотоническим раствором хлорида Soloharm (Гротекс, Россия) с добавлением гепарина.

Для выполнения анастомоза использовали 16–20-кратное увеличение микроскопа, применяли комбинацию узловых

Сведения об авторах:

Щудло Михаил Моисеевич (e-mail: m.m.sch@mail.ru), Щудло Наталья Анатольевна (e-mail: nshchudlo@mail.ru), Ступина Татьяна Анатольевна (e-mail: StupinaSTA@mail.ru), Коростелёва Лариса Яковлевна, клинико-экспериментальная лаборатория реконструктивно-восстановительной микрохирургии и хирургии кисти, Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова, 640014, Россия, г. Курган, М. Ульяновой, 6

и непрерывных швов, используя утончённые инструменты [2] и шовный материал — иглы диаметром 75 и 100 мкм, нити 10-0 и 11-0 (Ethicon, Великобритания). Концы сосуда сближали двумя узловыми установочными швами, которые проводили через всю толщу сосудистой стенки на расстоянии 120° друг от друга по обращенной в рану поверхности. В 1-й группе животных (n=4) непрерывные швы проводили через все слои сосудистой стенки, во 2-й (n=5) — экстралюминально, избегая прокола внутренней эластической мембраны (ВЭМ). Швы затягивали до плотного соприкосновения торцов отрезков сосуда, но не завязывали. После снятия клипс в случаях кровотечения из межшовных промежутков проксимальную клипсу накладывали повторно и в зависимости от локализации кровотечения завязывали непрерывные швы либо накладывали дополнительный адвентициальный узловый шов. Оценивали результаты двухпинцетной пробы (немедленное энергичное или частичное заполнение артерии на уровне анастомоза и дистальной клипсы). Через 1 мес после операции проводили эвтаназию путем внутримышечного введения гидрохлорида ксилазина (0,8 мг/100 г массы тела) и тилетамина—золазепам (0,4 мг/100 г) с последующим введением раствора тиопентала (4 мг/100 г) внутрисердечно.

Для гистологического исследования иссекали участки оперированных и контралатеральных артерий на одинаковом расстоянии от зоны трифуркации, закрепляли на твёрдой основе и фиксировали в течение нескольких суток в смеси альдегидов, затем вырезали образцы артерий длиной 1 мм — так, чтобы зона швов располагалась в середине образца. Материал заливали в аралдит, на ультратомах LKB (Bromma, Швеция) изготавливали поперечные полутонкие срезы, которые окрашивали толудиновым синим, метиленовым синим и основным фуксином (по Уикли), экспресс-методом по Вейгерту. Микропрепараты исследовали с помощью микроскопа Opton-3 (Opton, Германия). Цифровые изображения микропрепаратов получали, применяя аппаратно-программный комплекс «ДиаМорф» (Россия). Морфометрические исследования проводили с использованием программы «ВТ-Мастер-Морфология» (ВидеоТест, Россия), статистическую обработку — программы AtteStat 1.0 (разработчик — И.П.Гайдышев). Для оценки ремоделирования в сериях поперечных срезов измеряли интраадвентициальный диаметр артерий, суммарную толщину

интимы и меди, диаметр просвета, площадь среза артерии и площадь просвета анастомозированных и контралатеральных артерий. Индекс пропускной способности рассчитывали как отношение площади просвета к площади стенки.

Результаты исследования. По данным двухпинцетной пробы все анастомозы были проходимы в течение 20 мин после операции и через 1 мес после неё. Микроскопическое исследование показало, что в 1-й группе животных деформации и уменьшение просвета артерии имелись у 2 животных из 4, что было связано с прорезыванием чрезмерно затянутых швов. Замещение мышечной ткани меди соединительной тканью, которое сопровождалось уменьшением просвета артерии не более чем на 20%, выявлено в одном опыте у животных 1-й и в одном опыте 2-й группы. В опытах с уменьшением площади просвета сосуда и замещением мышечной ткани меди соединительной тканью отмечалась инкорпорация швов в интиму или медию.

В остальных 5 опытах (один — из 1-й и 4 — из 2-й группы) определялась хорошая сохранность просвета и всех слоёв сосудистой стенки. Оперированные артерии от контралатеральных отличались гипертрофированной адвентицией (рис. 1). Признаки гиперваскуляризации и умеренной воспалительной реакции на шовный материал обнаруживались в основном в её наружной части.

Люминальная выстилка анастомозированного сосуда была представлена, главным образом, эндотелиоцитами и единичными модифицированными гладкими миоцитами (ГМ), имеющими малые размеры, темную окраску, веретеновидную форму. Миоинтимальное утолщение обнаруживалось в отдельных участках вблизи уровня анастомоза (рис. 2, а, б) и было сформировано не

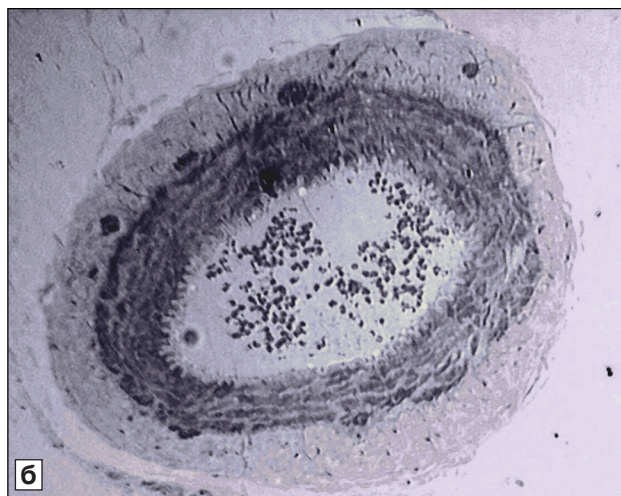
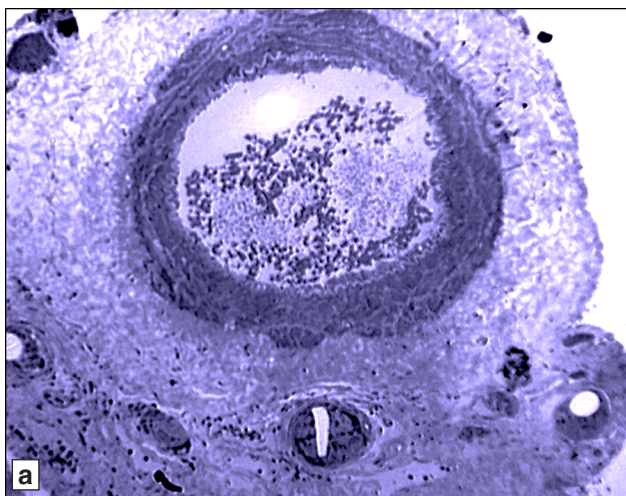


Рис. 1. Бедренные артерии крыс.

а — оперированная артерия; б — контралатеральная артерия. Полутонкие срезы. Окраска: а — по Уикли; б — толудиновым синим. Об. 3, ок. 12,5

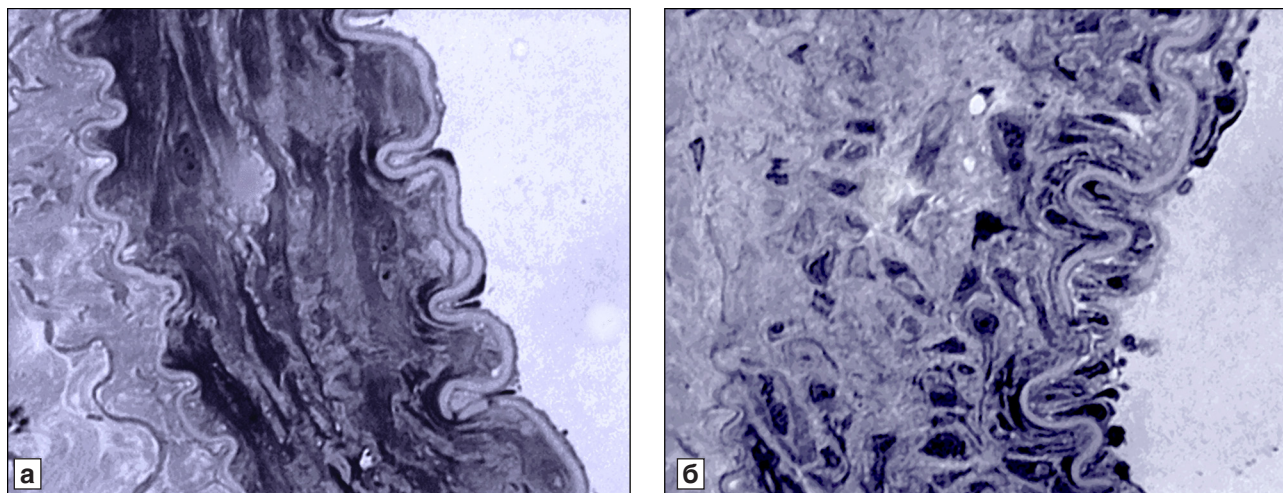


Рис. 2. Оперированные бедренные артерии крыс с сохраненной внутренней эластической мембраной.

а — участок с реэндотелизированной люминальной поверхностью; б — участок с миоинтимальным утолщением. Полутонкие срезы. Окраска по Уикли. Об. 40, ок. 12,5

более чем 2–3 слоями ГМ, поверх которых также располагались эндотелиоциты.

Толщина и строение медиі анастомозированной артерии существенно различались в зависимости от уровня среза и даже в пределах одного среза. Участки сосуда с сохранившейся ВЭМ и отсутствием миоинтимального утолщения отличались плотным попарным расположением ГМ. При наличии миоинтимального утолщения (см. рис. 2, б) ГМ в медиі располагались разреженно и не формировали пучков. То же самое отмечалось там, где ВЭМ была истончена и спрямлена (рис. 3, а). В участках, где ВЭМ отсутствовала (на уровне перерезки сосуда), во всей толще регенерирующей медиі наблюдалась густая сеть эластических волокон (см. рис. 3, б). Содержание фибробластов, клеток с вакуолизированной цитоплазмой, а также межклеточного вещества

в составе медиі вблизи концов анастомозированного сосуда было повышенным, однако и здесь, и на некотором расстоянии от зоны перерезки многие ГМ располагались попарно.

По данным морфометрического анализа (таблица), во всех опытах с сохранными просветом и медиі интерадвентициальный диаметр анастомозированной артерии значимо превышал соответствующий параметр контралатеральной артерии (в среднем на 23%). Диаметр просвета анастомозированной артерии у одного животного из 5 был незначительно меньше контралатерального, но в остальных 4 опытах значительно его превышал (в среднем разница составила 31,8%). Суммарная толщина интимы и медиі анастомозированной артерии у всех животных была значимо больше, чем контралатеральной (в среднем на 19,7%, $P < 0,05$). Индекс пропускной способно-

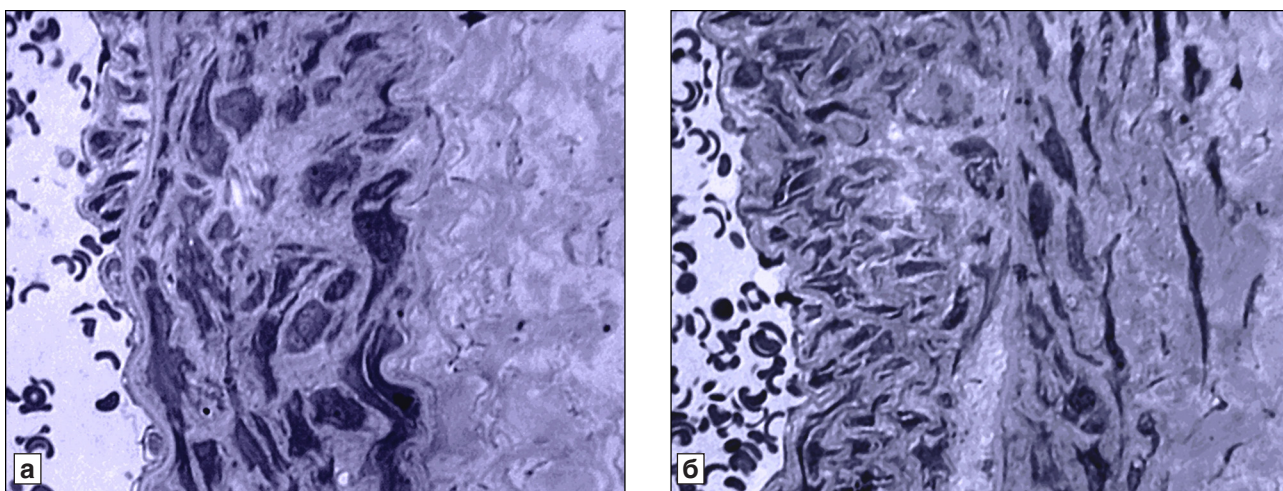


Рис. 3. Оперированные бедренные артерии.

а — участок с истончением внутренней эластической мембраны; б — участок с новообразованными эластическими структурами. Полутонкие срезы. Окраска по Уикли. Об. 40, ок. 12,5

**Морфометрическая характеристика анастомозированных
и контралатеральных артерий
с полумиллиметровым диаметром у крыс ($\bar{x} \pm \bar{s}_{\bar{x}}$)**

Исследованный параметр	Артерии	
	оперированная	контралатеральная
Интерадвентициальный диаметр, мкм	428±28*	348±22
Диаметр просвета, мкм	279±36	212±14
Суммарная толщина интимы и меди, мкм	79±3*	66±4
Индекс пропускной способности	0,58±0,09	0,49±0,09

* Различия по сравнению с показателями контралатеральной артерии значимы при $P < 0,05$.

сти анастомозированной артерии имел тенденцию к повышению по сравнению с таковым контралатеральной артерии (в среднем на 18,4%).

Обсуждение полученных данных. Возможность выполнения анастомозов артерий с диаметром 0,5 мм и высокая доля их проходимости по результатам двухпинцетной пробы в течение 2 нед после операции установлены давно [9], однако сведения о патогистологических изменениях и ремоделировании таких артерий в доступной литературе отсутствуют.

С учётом имеющихся в литературе сведений о высокой частоте прорезывания швов при анастомозировании артерий с миллиметровым диаметром [3] представлялось необходимым модифицировать его методику. Контроль оптимального затягивания хирургических швов субъективен, а стенка артерии легко травмируется, поэтому исключить её повреждение сдавлением и прорезыванием лигатурами едва ли возможно. Мы предположили, что при более поверхностном наложении некоторых швов с исключением проколов интимы и ВЭМ повреждение сосудистой стенки будет минимизировано. Отсутствие признаков стенозирования у всех животных 2-й группы и только у одного в 1-й группе подтвердило это предположение. По данным литературы, протяжённый некроз медики микрохирургически анастомозированных артерий отмечается примерно в половине случаев [4]. Замена соединительной тканью мышечной ткани медики при незначительных сужениях просвета наблюдалась также не у всех животных. По-видимому, она является результатом не только некротической гибели ГМ, но и их миграции в повреждённую интиму. Морфометрический анализ анастомозированных артерий с сохранённым просветом и признаками заживления медики выявил признаки ремоделирования, характеризующегося утолщением интимо-медиального комплекса и увеличением интерадвентициального диаметра [15]. Поскольку диаметр просвета анастомозированной артерии был либо сопоста-

вим с таковым контралатеральной артерии, либо значительно его превышал, а индекс пропускной способности оказался также повышенным, можно сделать вывод о том, что структурные преобразования артерии направлены на сохранение или улучшение кровоснабжения конечности.

Итак, при перерезке и микрохирургическом анастомозировании бедренных артерий диаметром 0,5 мм у крыс выявлено

3 возможных варианта их структурных преобразований: интралюминальный стеноз, связанный с техническими погрешностями анастомозирования; соединительнотканное замещение мышечной ткани медики с незначительным уменьшением площади просвета сосуда; заживление медики с сохранением или повышением пропускной способности анастомоза.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Кирпатовский И. Д., Михайлов И. А., Валуе Седжати. Клинико-экспериментальная оценка микрососудистых анастомозов // Вестн. Рос. ун-та дружбы народов. Серия медицина. 2006. Т. 32, № 2. С. 206–213.
2. Щудло Н. А., Щудло М. М., Щурова Е. Н. Рационализация инструмента для микрососудистой хирургии // Междунар. журн. прикладных и фундаментальных исследований. 2015. № 11, ч. 3. С. 375–378.
3. Acland R. D., Trachtenberg L. The histopathology of small arteries following experimental microvascular anastomosis // Plast. Reconstr. Surg. 1977. Vol. 60, № 6. P. 868–875.
4. Bschorer R., Frerich B., Wolburg H. et al. Fibrin sealing and histometrical changes in conventionally sutured microvascular anastomoses // J. Craniomaxillofac. Surg. 1993. Vol. 21, № 5. P. 192–198.
5. Chang L., Jeng S. Application of microsurgery in facial trauma reconstruction // Mod. Plast. Surg. 2012. Vol. 2, № 3. P. 64–76.
6. Chaware S. M., Bhatnagar S. K., Singh A. K. A scanning electron microscopic evaluation of microsurgical anastomosis by conventional end to end and end to end anastomosis using «temporary stent» technique: An experimental study // Indian J. Plast. Surg. 2006. Vol. 39, № 1. P. 42–50.
7. Friedrich R. E., Bartel-Friedrich S., Plambeck K. The presence of collagen III and IV in experimental microsurgical anastomoses of arteries // J. Oral Maxillofac. Surg. 2000. Vol. 58, № 10. P. 1125–1128.
8. Fufa D., Calfee R., Wall L. et al. Digit replantation: experience of two U.S. academic level-I trauma centers // J. Bone Joint Surg. Am. 2013. Vol. 95, № 23. P. 2127–2134.
9. Fujimaki A., O'Brien B. M., Kurata T., Threlfall Cr. N. Experimental microanastomosis of 0.4–0.5 mm vessels /.

10. Joos K.M., Blair W.F., Maynard J.A. A histologic comparison of continuous and interrupted microarteriorrhaphy // *Microsurgery*. 1985. Vol. 6, № 3. P. 141–146.
11. Koshima I., Yamamoto T., Narushima M. et al. Perforator flaps and supermicrosurger // *Clin. Plast. Surg.* 2010. Vol. 37, № 4. P. 683–689.
12. Macchiarelli G., Familiari G., Caggiati A. et al. Arterial repair after microvascular anastomosis. Scanning and transmission electron microscopy study // *Acta Anat. (Basel)*. 1991. Vol. 140, № 1. P. 8–16.
13. Maes L., Delvaux G., Wu J.X. Regeneration of the femoral artery following experimental end-to-end anastomosis in the rat. An ultrastructural follow-up // *Eur. Surg. Res.* 1987. Vol. 19, № 3. P. 185–192.
14. Moskovitz M.J., Bass L., Zhang L., Siebert J.W. Microvascular anastomoses utilising new intravascular stents // *Ann. Plast. Surg.* 1994. Vol. 32, № 6. P. 612–618.
15. Ward M.R., Pasterkamp G., Yeung A.C., Borst C. Arterial remodelling. Mechanisms and clinical implications // *Circulation* 2000. Vol. 102, № 10. P. 1186–1191.

Поступила в редакцию 19.05.2016

HISTOLOGICAL AND MORPHOMETRIC CHARACTERISTICS OF FLOW CAPACITY OF MICROSURGICALLY ANASTOMOSED 0.5 MM ARTERIES

M.M.Shchudlo, N.A.Shchudlo, T.A.Stupina, L.Ya.Korostelyova

Femoral arteries were cut and sutured in 9 rats in order to assess the flow capacity of microsurgically sutured 0.5 mm arteries. In 4 weeks rats were sacrificed. Light microscopy and morphometric analysis of a series of transverse epoxy semi-thin sections of the anastomotic zone revealed: intraluminal stenosis (n=2); replacement of muscular media tissue by connective tissue with a limited luminal narrowing (n=2); media healing (n=5) with a significant increase of inter-adventitial diameter and the width of intimo-medial complex with a tendency to lumen enlargement, and the possibility for 0.5 mm arteries to increase the flow capacity index when safe anastomotic techniques were applied.

Key words: *arteries, anastomosis, myointimal thickening, medial healing, supermicrosurgery*

Clinical and Experimental Laboratory of Reconstructive and Restorative Microsurgery and Hand Surgery, G.A.Ilizarov Russian Scientific Center for Restorative Traumatology and Orthopedics, Kurgan