

УДК [612.15:616.5 + 616.75] – 089.843 – 092.9

ВЗАИМОСВЯЗЬ СТЕПЕНИ КОНТРАКЦИИ ВАСКУЛЯРИЗОВАННОГО КОЖНО-ФАСЦИАЛЬНО-ЖИРОВОГО ЛОСКУТА С КАЧЕСТВОМ ЕГО ПРИЖИВЛЕНИЯ ПОСЛЕ ПОЛУТОРАЧАСОВОЙ ИШЕМИИ И РЕПЕРФУЗИИ

Щудло Н.А., Щудло М.М., Сбродова Л.И., Варсегова Т.Н.

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

С целью выявления возможных взаимосвязей степени контракции васкуляризованного лоскута с качеством его приживления после полуторачасовой ишемии и реперфузии проведены опыты на 18 крысах, у которых формировали и реплантировали лоскут на основе поверхностной нижней эпигастральной артерии. По результатам компьютерной планиметрии наружной поверхности лоскутов выделены группы 1 – с экстензией лоскута, 2 – с незначительной контракцией и 3 – с выраженной контракцией. По средней доле сосудистых структур в площади внутренней поверхности лоскута и изменениям околососудистого фона группы не различались. Наибольшая выраженность частичного поверхностного некроза кожи и гистологических изменений эпидермиса, дермы и подкожной жировой клетчатки наблюдалась в группе 3, исследование периферической крови свидетельствовало о пролонгировании посттравматического воспаления.

Ключевые слова: васкуляризованные кожно-фасциальные лоскуты, контракция, ишемия-реперфузия

CORRELATION OF THE DEGREE OF CONTRACTION OF A FASCIOCUTANEOUS FAT FLAP WITH ITS ENGRAFTMENT QUALITY AFTER 1,5-HOUR ISCHEMIA AND REPERFUSION

Schudlo N.A., Schudlo M.M., Sbrodova L.I., Varsegova T.N.

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

We performed experiments on 18 rats in order to reveal potential correlations of the degree of vascularized flap contraction with its engraftment quality after 1.5-hour ischemia and reperfusion. Flap was performed on the basis of a. epigastrica inferior superficialis. According to the results of the flap computer-assisted planimetry of external flap surface, animals were divided into groups: 1 – with the flap extension, 2 – with slight contraction and 3 – with marked contraction. The groups did not differed by the mean proportion of vascular structures and changes of perivascular background in the area of the flap internal surface. The highest manifestation of partial surface skin necrosis and histological changes in the epidermis, dermis and subcutaneous fat tissue was observed in Group 3, the peripheral blood count indicates the prolongation of posttraumatic inflammation.

Keywords: vascularized fasciocutaneous flaps, contraction, ischemia-reperfusion

Пластика васкуляризованными кожно-фасциальными лоскутами с целью закрытия дефектов покровных тканей используется в реконструктивной хирургии более чем 100 лет [6], и на сегодняшний день широко применяется в разных областях медицины. Контракция (сокращение площади) кожных трансплантатов и лоскутов – общеизвестное явление, которое остаётся малоизученным вплоть до настоящего времени. Первичная контракция происходит одновременно и зависит от расположения лоскута относительно линий натяжения кожи. Лоскуты, длина которых перпендикулярна этим линиям, не сокращаются и даже могут удлиниться; при параллельном расположении сокращение достигает 30% [9]. Применение новых малоинвазивных технологий изучения показало, что расположение линий натяжения кожи индивидуально варьируется, а также меняется в зависимости от положения тела [8]. Вторичная контракция является

неотъемлемой частью раневого заживления наряду с посттравматическим воспалением и регенерацией [1]. В клинике она нередко сопровождается развитием болевого синдрома, приводит к косметическому дефекту и ухудшению функционального результата. Методы профилактики и лечения этого состояния мало разработаны [5], поскольку знания о закономерностях и механизмах его развития недостаточны. Применение метода этапных масштабированных фотографий для оценки контракции полнослойных кожных трансплантатов у людей [10] показало, что её выраженность не зависела от исходной площади, анатомической области, метода фиксации трансплантата, пола пациентов и применения противовоспалительной терапии, однако при инфекционных осложнениях она была достоверно больше по сравнению с неосложнёнными случаями (48% против 33%). Исследования взаимосвязей контракции кожных лоскутов с их дизайном

и осложнениями процесса приживания, единичны. Выявлена бóльшая контракция полнослойных трансплантатов, чем расщеплённых [3]. При формировании абдоминального лоскута у крыс при пересечении его обеих сосудистых ножек развивалась достоверно бóльшая контракция, чем при сохранении ножек; унилатеральное пересечение приводило к асимметричной контракции, более выраженной на стороне пересечения [2]. При пересадках и транспозициях васкуляризованных лоскутов в клинике неизбежен период выключения кровотока, который обычно не превышает 90 минут, но создаёт риск развития синдрома ишемии-реперфузии [7]. В доступной литературе мы не встретили данных о закономерностях развития контракции полнослойных васкуляризованных лоскутов в аналогичных экспериментальных условиях.

Цель исследования – выявить возможные взаимосвязи степени контракции васкуляризованного лоскута с качеством его приживания после полуторачасовой ишемии и реперфузии.

Материалы и методы исследования

Исследование выполнено на 18 зрелых крысах-самцах линии Вистар (вес от 380 до 560 г, возраст 1 год). Животные содержались в виварии, оперативные вмешательства и эвтаназию 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». В условиях операционной под общей анестезией внутримышечным введением гидрохлорида ксилазина (0,8 мг/100 г) и тилетамина/золазепам (0,4 мг/100 г) проведено формирование и репозиция васкуляризованного кожно-фасциально-жирового лоскута на основе поверхностной нижней эпигастральной артерии (SIEA). Для его выкраивания использовали анатомические ориентиры: верхняя граница – вдоль нижнего края рёберной дуги, нижняя – равная ей параллельная линия на уровне гребня подвздошной кости, медиальная – параллельно средней линии живота, отступив от неё 0,5 см, латеральная – параллельно медиальной. Площадь шаблона составляла 18 см². Разрез кожи проводили до апоневроза, лоскут включал кожу, подкожную жировую клетчатку и поверхностную фасцию с кожной мышцей (*panniculus carnosus*), а в паховой области – предбрюшинную жировую клетчатку и поверхностный нижний эпигастральный сосудистый пучок. Его выделяли широко, избегая скелетирования. При 8–12-кратном увеличении операционного микроскопа Zeiss OPMI-6 фирмы Orton (Германия) выявляли все перфораторы и латеральные ветви SIEA, их подвергали микрокоагуляции и пересекали, что давало возможность поднять лоскут. После препаровки места отхождения SIEA от бедренной артерии на артерию накладывали клипсу, выключая кровоток в ло-

скуте. Затем лоскут реплантировали *in situ*, подшивая его нитями 5/0. Через 12 дней после операции животные эвтаназированы.

В дооперационном периоде и в конце опыта оценивали состояние периферической крови. Применяли общепринятые унифицированные методики анализа жидкой периферической крови и микроскопии сухих фиксированных и окрашенных по Романовскому-Гимза мазков с дифференцированием различных форм лейкоцитов и подсчётом лейкоцитарной формулы. В качестве референтных значений показателей периферической крови использовали собственные данные, полученные на 30 интактных крысах соответствующего возраста. Статистическую обработку количественных данных проводили с использованием критерия Манна-Уитни, значения которого получали в программе Attestat.

Для анализа состояния лоскута получали его полноцветные цифровые изображения с помощью камеры Sony Cyber-shot DSC-HX100V в режиме макросъемки, которые переносили в память компьютера и сохраняли с расширением *-.jpg* без сжатия. Наружную поверхность лоскута фотографировали дважды – в день операции и после эвтаназии, а внутреннюю – только после эвтаназии. Рядом с объектом съемки помещали эталон длины для линейной калибровки изображения. В полученных цифровых изображениях измеряли площади лоскутов непосредственно после их реплантации и через 12 дней после операции, используя принцип компьютерной планиметрии, а также площади дефектов эпидермиса, используя цветовую сегментацию изображений. Для оценки состояния внутренней поверхности лоскута его вновь отсепаровывали от апоневроза и собственных фасций мышц живота вместе с аналогичным контрлатеральным лоскутом. Из электронных изображений внутренней поверхности лоскута вырезали зоны интереса по анатомическим ориентирам: белая линия живота, зона бифуркации элементов сосудистого пучка, латеральная и проксимальная границы лоскута. Определяли долю сосудистых структур и экстрavasаций в процентах от площади зоны интереса методом точко-счётной планиметрии с помощью электронной версии тестовой решетки в графическом редакторе PhotoFiltre. Статистическую обработку количественных данных проводили с использованием критериев Манна-Уитни и Барнарда, значения которых получали в программе Attestat (разработчик – И.П. Гайдышев).

Для гистологического исследования иссекали стандартные участки кожи из середины краниальной части лоскута. Изготавливали парафиновые срезы, окрашенные гематоксилином-эозином. Препараты изучали и оцифровывали, используя фотомикроскоп фирмы «Orton» (ФРГ) с АПК «ДиаМорф» (Россия).

Результаты исследования и их обсуждение

Послеоперационный период у всех животных протекал однотипно. Изменение веса по сравнению с дооперационным варьировалось от – 13,4 до + 9,3%, в среднем составило – 2,0%. В первые двое-трое суток после операции отмечали умеренный отёк и цианоз краниальной части лоскута, наиболее удалённой от сосудистой ножки, который к пяти суткам сменялся гиперемией. В пе-

риод от семи до 10 суток происходила эпителизация линии швов, лоскут приобретал нормальный цвет, усиливалось шелушение эпидермиса. В период от восьми до 10 дней у восьми животных из 18 появились дефекты эпидермиса, причём у семи они располагались в краниальной части лоскута по границе с линией швов либо в нескольких миллиметрах от неё, а у одного животного дефект эпидермиса занимал середину лоскута. Эти явления интерпретированы как поверхностный ишемический некроз (эпидермолизис). Кроме того, у большинства крыс выявлялись немногочисленные мелкие повреждения кожи (экскориации), связанные с расчёсыванием лоскута или самостоятельным удалением швов. Поскольку и эпидермолизис, и экскориации отражают степень нейрососудистых нарушений, оценивали суммарную площадь дефектов эпидермиса.

По данным компьютерной планиметрии, у трёх животных из 18 площадь лоскута сразу после реплантации и в послеоперационном периоде была увеличена по сравнению с шаблоном. У остальных она уменьшалась

в основном за счёт длины, но иногда и ширины краниальной части. У пяти крыс потеря площади лоскута не превышала 13%. У остальных 10 наряду с выраженной первичной контракцией в послеоперационном периоде постепенно развивалась вторичная контракция; потеря площади в среднем 32,7%. Диапазоны соотношений площади лоскута с шаблоном не перекрывались, что дало основание для подразделения на группы (табл. 1): 1 – с экстензией лоскута ($n = 3$), 2 – с незначительной контракцией ($n = 5$) и 3 – с выраженной контракцией ($n = 10$). В группе 3 средняя суммарная площадь дефектов эпидермиса была наибольшей. По остальным параметрам достоверных отличий нет. Выявлена сильная корреляция между степенью контракции лоскута и суммарной площадью дефектов эпидермиса (коэффициент корреляции Пирсона 0,736).

В периферической крови содержание эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов, а также показатели лейкоцитарной формулы не выходили за пределы референтных значений (табл. 2).

Таблица 1

Результаты компьютерного анализа изображений лоскутов

Группа/параметр	Группа 1	Группа 2	Группа 3
Соотношение площади лоскута с шаблоном (Min-Max)	От +7,4 до +19,5%	От –8,3 до –12,7%	От –19,9 до –59,2%
Средняя ($\bar{x} \pm s \bar{x}$) суммарная площадь дефектов эпидермиса (мм ²)	1,75 ± 0,7	7,23 ± 1,83	17,3* ± 6,6
Средняя ($\bar{x} \pm s \bar{x}$) доля экстравазатов в площади внутренней поверхности лоскута (%)	18,7 ± 0,7	27,8 ± 11,9	28,8 ± 5,4
Средняя ($\bar{x} \pm s \bar{x}$) доля сосудистых структур в площади внутренней поверхности лоскута (%)	17,0 ± 4,0	16,6 ± 3,3	13,7 ± 1,1

Примечание. Статистически значимое различие с группой 1: * – $p = 0,015156$.

Таблица 2

Лейкоцитарная формула (в абсолютном выражении)

Группа/параметр (единицы измерения)	Референтные значения ($n = 30$) Min-max	Группа 1		Группа 2		Группа 3	
		До операции	12 суток	До операции	12 суток	До операции	12 суток
		($\bar{x} \pm s \bar{x}$)					
Нейтрофилы ($\times 10^9/l$)	1,1–6	3,2 ± 2,1	3,0 ± 0,6	1,8 ± 0,2	1,8 ± 0,1	3,3 ± 0,6	4,7* ± 1,3
Моноциты ($\times 10^9/l$)	0,6–1,8	1,35 ± 0,4	1,4 ± 0,03	1,0 ± 0,2	1,3* ± 0,1	1,44 ± 0,4	1,5 ± 0,3
Лимфоциты ($\times 10^9/l$)	4,5–7,5	5,6 ± 0,5	5,2 ± 0,9	5,2 ± 0,6	5,1 ± 0,8	6,0 ± 0,7	5,0 ± 0,6
Эозинофилы ($\times 10^9/l$)	0–0,8	0,32 ± 0,1	0,45 ± 0,04	0,2 ± 0,02	0,2 ± 0,08	0,11 ± 0,11	0,18 ± 0,13
Базофилы ($\times 10^9/l$)	0–0,23	0,114 ± 0,144	0–0	0	0	0,02 ± 0,02	0,017 ± 0,017

Примечание. Статистически значимые отличия от дооперационных значений: * – $p < 0,05$.

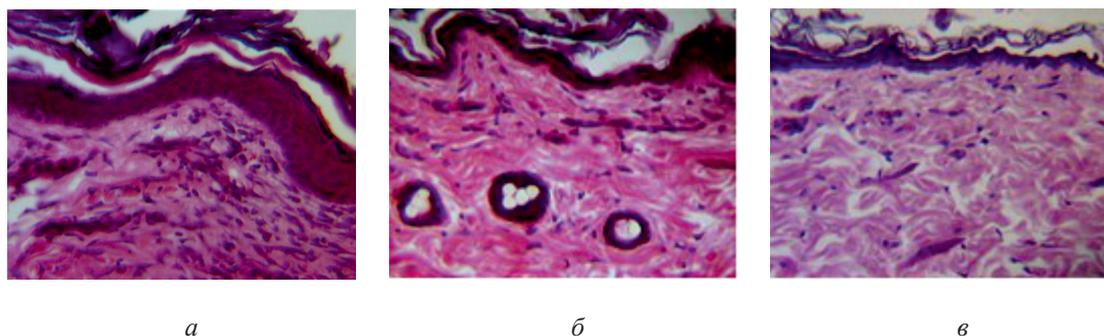


Рис. 1. Фрагменты поперечных срезов кожи краниальной части лоскута животных из группы 1 (а и б) и группы 3 (в). Окраска гематоксилин-эозин. Об. – 16, ок. – 12,5

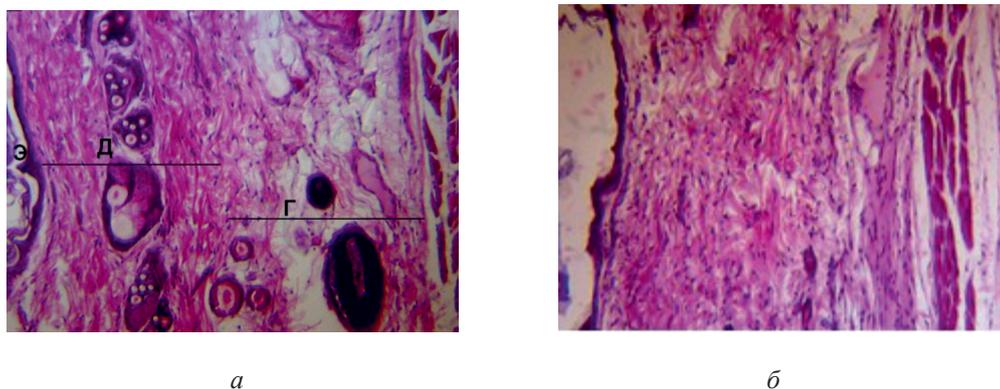


Рис. 2. Фрагменты поперечных срезов краниальной части SIEA-лоскута животных из группы 2 (а) и группы 3 (б). Окраска гематоксилин-эозин. Об. – 6,3, ок. – 12,5.
Э – эпидермис, Д – дерма, Г – гиподерма

Однако по сравнению с дооперационными значениями в группе 2 определялось увеличенное содержание моноцитов периферической крови – на 30%, а в группе 3 – нейтрофилов – на 42,4%.

При гистологическом исследовании установлено, что в группе 1 у одного животного из трёх в гиподерме обнаруживаются участки замещения жировой ткани созревающей грануляционной. Дерма содержит большое количество кровеносных сосудов и клеточных элементов, сосочки хорошо выражены. Большинство сечений капилляров содержат перициты. Среди клеточных элементов дермы преобладают фибробласты. Эпидермис на большем протяжении утолщен (рис. 1, а) за счёт гипертрофии слоя шиповатых клеток, а в некоторых участках и зернистого слоя; в базальном слое регулярно встречаются фигуры митозов. У двух других животных преобладает нормальное состояние гиподермы. Гиперваскуляризация дермы и гиперпролиферация эпидермиса слабо выражены (рис. 1, б).

В группе 2 гиподерма также на большем протяжении сохранена (рис. 2, а), среди клеток дермы преобладают фиброциты, хотя встречаются фибробласты и макрофаги. Сосочки дермы в некоторых участках атрофированы, в других – хорошо выражены, слои эпидермиса на большем протяжении лоскута соответствуют нормальной коже. В группе 3 наиболее значительны потеря численности и уменьшение размеров придатков кожи – вплоть до полного отсутствия (рис. 2, б).

Характерна не связанная с изменениями веса животных атрофия гиподермы, а также её замещение грануляционной и фиброзной тканью. Среди клеток дермы преобладают фибробласты, регулярно встречаются макрофаги и полиморфноядерные лейкоциты. Сосочки дермы на большем протяжении атрофированы (рис. 1, в), а эпидермис истончён. В его базальном слое многие клетки содержат пикнотичные ядра.

Исследование показало, что даже на стандартной модели васкуляризованного кожно-фасциального лоскута площадь

его в момент реплантации и в последующем послеоперационном периоде может существенно измениться по сравнению с заданным шаблоном. Ограничение выполненного исследования – небольшое количество животных. Однако это не повлияло на наиболее важный результат – выявлена линейная связь между степенью контракции лоскута и выраженностью частичного поверхностного некроза кожи (эпидермолизиса). Гистологическое исследование показало, что при контракции лоскута, превышающей 20%, ухудшается состояние не только эпидермиса и дермы, но прежде всего гиподермы. Замещение этого слоя грануляционной и фиброзной тканью свидетельствует о предшествующих некротических изменениях, не выявленных клинически. Вероятна причинная связь между созреванием грануляционной ткани и вторичной контракцией лоскута. Повышенное содержание нейтрофилов в периферической крови по сравнению с дооперационными значениями в группе 3 и моноцитов в группе 2 свидетельствовало о пролонгированном течении посттравматического воспаления по сравнению с группой 1. Поскольку данные анализа крови не выходили за пределы референтных значений, можно прийти к выводу, что в данном опыте некроз подкожной жировой клетчатки являлся саморазрешающимся осложнением, хотя в клинической практике он может приводить не только к дефектам контурной пластики, но и частичной потере лоскута, а в некоторых случаях – к септическим осложнениям [4]. В связи с отмеченной неравномерностью контракции лоскутов требует уточнения вопрос о её взаимосвя-

зи с перфузионным и ишемическим градиентом в дальнейших исследованиях.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о важности мониторинга контракции лоскутов для прогнозирования качества их приживления и выбора рациональных способов его оптимизации.

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. Малиновская И.С., Буркова В.Н., Баранова Е.Н., Селянинов К.В., Логвинов К.В., Малиновский С.В. // *Вопр. реконструктивной и пластической хирургии.* – 2011. – № 3. – С. 49–55.
2. Bayramiçli M., Yılmaz B., Numanoglu A. Contraction of experimental skin flaps. // *Ann. Plast. Surg.* – 1998. – V. 41, № 2. – P. 185–190.
3. Berezovsky A. B., Pagkalos V., Silberstein E., Shoham Y., Rosenberg L., Krieger Y. // *Plast. Aesthet. Res.* – 2015. – V. 2, № 1. – P. 22–26.
4. Coban Y.K., Kurutas E.B., Ciralik H. Ischemia-Reperfusion Injury of Adipofascial Tissue: An Experimental Study Evaluating Early Histologic and Biochemical Alterations in Rats // *Mediators of Inflammation.* – 2005. – I. 5. – P. 304–308.
5. Harrison C.A., MacNeil S. The mechanism of skin graft contraction: an update on current research and potential future therapies // *Burns.* – 2008. – V. 34, № 2. – P. 153–163.
6. Mitchell G.M., Loomis Z., Sinha S., Morrison W.A. // *The Textbook of Angiogenesis and lymphangiogenesis: Methods and Applications 2012.* Eds. E. Zudaire and F. Cuttitta, Springer. – P. 375–416.
7. Pereira C.M., Figueiredo M.E., Carvalho R., Catre D., Assuncao J.P. // *Rev. Bras. Anesthesiol.* – 2012. – V. 62, № 4. – P. 563–579.
8. Seo H., Keem S., Cordier F., Choi J., Hong K. // *Computer-Aided Design,* 2013. – V. 45, I. 2. – P. 551–555.
9. Stell P.M. Retraction of skin flaps // *Clin Otolaryngol Allied Sci.* – 1982. – V. 7,1. – P. 45–49.
10. Stephenson A.J., Griffiths R.W., La Hausse-Brown T.P. Patterns of contraction in human full thickness skin grafts // *Br. J. Plast. Surg.* – 2000. – V. 53, № 5. P. 397–402.