

COMPARAȚIE ÎNTRE TEHNICA DE SUTURĂ VASCULARĂ CU FIRE ÎNTRERUPTE ȘI TEHNICA DE SUTURĂ CONTINUĂ COMBINATĂ ÎN TRANSPLANTUL COMPOZIT DE MEMBRU POSTERIOR LA ȘOBOLANI

DINU IULIU DUMITRAȘCU, ALEXANDRU V. GEORGESCU

Clinica de Chirurgie Plastică și Microchirurgie Reconstructivă, UMF „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca

Rezumat

Studiul propune anastomoza vasculară cu tehnica suturii continue combinată pentru transplantul de membru posterior la șobolan ca o alternativă la sutura clasică cu fire separate. Au fost folosite două loturi de câte 10 animale de laborator, primul la care s-a folosit sutura cu fire întrerupte, al doilea la care s-au suturat vasele cu tehnica continuă combinată. Animalele de laborator au fost urmărite timp de 3 săptămâni. Timpii de anastomoză și de ischemie în cazul suturii continue au fost sensibil reduși, iar complicațiile au fost mai puține.

Cuvinte cheie: transplant compozit, sutura microvasculară, transplant de mână.

COMPARISON OF THE TECHNIQUE OF INTERRUPTED VASCULAR SUTURE VS. CONTINUOUS COMBINED SUTURE IN THE COMPOSITE TRANSPLANTATION OF THE HIND LIMB IN RATS

Abstract

The aim of the study is to compare the continuous combined microvascular suture with the classic interrupted technique in hind limb composite tissue transplantation in rats. Two groups have been used, each containing 10 rats. The anastomosis and the ischemia times in the group where the continuous combined suture was performed were significantly shorter. Also, the vascular patency rate and complications rate were improved. The animals were observed for 3 weeks.

Keywords: composite transplantation, hand transplantation, microvascular suture.

Realizarea cu succes a homotransplantului de mână la om (primul în lume datează din anul 1988 și a fost efectuat la Lyon de o echipă condusă de J.-M.Dubernard) [1], reprezintă o performanță de prim plan a transplantologiei. Ea se situează cronologic la peste patru decenii de la primele transplantate de organe interne, fiind condiționată de importante progrese, atât în tehnica operatorie, cât și în posibilitățile de imunosupresie, menite să asigure toleranța imună.

Perfectarea metodologiei a reclamat o bogată activitate experimentală. Aceasta s-a desfășurat în principal pe animale de laborator mici (șobolanii cel mai adesea), dar și pe animale mari (câini, porci și, în ultima perioadă,

maimuțe) [2,3]. Înainte de introducerea protecției anti-rejet cu imunosupresive, eșecul transplantării de membre era inevitabil. Utilizând agenți din prima generație (azatio-prină, hidroclortizon și ser antilinfocitar), Lance et al. (1971) au dezvoltat pe câine un model care a dus la supraviețuirea până la 300 zile a unui animal [5]. După punerea la punct a microchirurgiei vasculare, transplantul la șobolan a devenit (folosindu-se tot aceiași agenți imunodepresivi) prototipul experimental preferat [6,7]. Interesul crescând față de el justifică intensificarea cercetărilor din epocă privitoare la sistemul antigenic al șobolanului [8].

Pe măsură ce noi clase de agenți imunodepresivi au fost descoperite, rata supraviețuirii a devenit tot mai ridicată. În această direcție se concentrează și cele mai numeroase cercetări din prezent, care caută în continuare standarde terapeutice mai eficiente și totodată mai puțin

Articol intrat la redacție în data de: 05.06.2011

Acceptat în data de: 22.06.2011

Adresa pentru corespondență: d.dumitrascu@yahoo.com

grevate de efectele adverse.

Tehnica operatorie a rămas în schimb într-un con de umbră și fiecare echipă a rezolvat "din mers" problemele întâmpinate, adaptându-și experiența proprie de bază. Lucrările publicate oferă puține informații asupra detaliilor tehnice, limitându-se de regulă la principii. Un singur studiu recent, pe șobolan, ar putea fi menționat pentru minuțiozitatea și precizia descrierii acestui tip de intervenție, în dinamica ei (M. Molitor, T. Kanatani și M. Lanzetta, 2007) [9].

Lucrarea își propune elaborarea unui model experimental cât mai sigur și accesibil de homotransplantare a membrului. Acesta ar putea fi util cercetărilor care urmăresc în continuare perfecționarea strategiei terapeutice și de reabilitare. Studiile experimentale din acest domeniu implică costuri ridicate și consumă mult timp. Articolul propune o metodă sigură care reduce timpul operator și timpul de ischemie a grefei, precum și reducerea complicațiilor postoperatorii.

Material

Experiențele s-au efectuat pe două loturi a câte 10 șobolani adulți sănătoși, de rasă pură (Wistar), în vârstă de 3-6 luni, de ambele sexe (14 masculi și 6 femele), în greutate de 200-300 g.

În laborator au fost asigurate temperatura constantă de 17-20 grade Celsius și normele igienice uzuale de mediu. S-au respectat condițiile standard ale alimentației fiziologice.

Pentru fiecare transplant au fost selectați parteneri de aceeași talie și greutate, asigurându-se astfel o concordanță optimă a grefei cu membrul receptor.

Sediul transplantării a fost în toate cazurile membrul posterior: dreptul, mai ușor accesibil, de 15 ori și stângul, de 5 ori.

Metodă

Desfășurarea intervenției s-a făcut în conformitate cu următorul protocol:

Prima etapă, pregătitoare: **anestezia și administrarea profilactică de antibiotice**

Anestezia se efectuează prin administrare intravenoasă de barbiturice și injecție subcutanată de Algocalmin. La primele semne de trezire în cursul operației, se suplimentează dozele. Antibiotoprofilaxia se face cu preparate cu spectru larg (amoxicilină, cefalosporine, asocieri).

A doua etapă: **prelevarea**

S-a executat amputarea unui membru posterior, respectându-se următoarea secvență:

1. incizie circumferențială a tegumentului la mijlocul coapsei (s-a executat cu bisturiul, nu s-a recurs la diatermie); după nevoie, se face hemostaza prin tamponament;

2. croirea lambourilor (proximal și distal), cu disecția atentă, izolarea și ligatura pediculului neurovascular

alcătuit din artera epigastrică superficială, vena epigastrică superficială și ramura sensitivă a nervului safen. După preparare, se secționează nervul safen la urgența sa din nervul femural;

3. identificarea și scheletizarea arterei și venei femurale. După ligatura cu fir de nylon de sutură 9-0 a tuturor ramurilor ei, se face ligatura arterei femurale la nivelul ligamentului inghinal. Sub ligatură se aplică un clamp microvascular și se secționează artera. Se trece la secționarea venei femurale lângă ligatură. În continuare, se face spălarea membrului amputat prin perfuzie cu soluție heparinizată rece la 4 grade C: 1500 UI heparină în 500 ml dextran 40 sol. 10% în ser fiziologic 0,9%. Flaconul se fixează la înălțime de cca. 150-200 cm, pentru ca instilarea să se facă ușor sub efectul gravitației, fără pompă. Perfuzia continuă până când lichidul eliminat prin vena femurală devine clar, durata sa fiind de 10-15 minute. Artera și vena sunt clampate după aceea;

4. disecția atentă și secționarea mușchilor coapsei la 1 cm distal de ramurile musculare ale nervului femural. În cursul acestei operații, trebuie să se protejeze nervul sciatic, care este situat între aductori și quadrigemen, de o parte și biceps femural, de alta;

5. izolarea și secțiunea proximală a sciaticului;

6. scheletizarea femurului în treimea medie și secționarea lui cu osteotomul;

7. spălarea atentă a extremității membrului amputat cu ser fiziologic 0,9%;

8. învelirea piciorului într-o compresă umedă;

9. păstrarea lui la rece (4 grade C).

A treia etapă: **prepararea receptorului**

Se execută aceleași operații ca la donator, până la amputarea membrului.

O precauție esențială: secționarea vaselor și nervilor trebuie făcută mai distal, pentru a se asigura o lungime suficientă care să evite tensiunea anastomozei.

În mod asemănător și mușchii coapsei vor fi secționați mai distal, conservându-se astfel ramurile primite de la nervul femural și asigurându-se o capacitate funcțională maximă a mușchilor.

A patra etapă: **reanastomoza**

Operația se desfășoară într-o ordine bine standardizată, astfel:

1. osteosinteza (fixarea femurului) este primul pas, cel care consolidează transplantul. Se execută prin introducerea intramedulară a unui ac de oțel inoxidabil, urmată în continuare de câteva osteosuturi cu sârmă din același material;

2. urmează sutura mușchilor cu fir rezorbabil 4-0, cu fire întrerupte, urmărind riguros refacerea unității anatomofuncționale a diferitelor grupe musculare;

3. sutura nervului sciatic se execută prin suturi epineurale, cu fir nerezorbabil 10-0, sub microscopul operator;

4. se continuă cu sutura vaselor femurale, începând

cu vena. Mai întâi se îndepărtează adventicea și se lavează cu ser fiziologic. Se lucrează sub microscop, folosind fir nerezorabil 10-0;

5. restabilirea circulației se începe cu ridicarea clampului de pe artera femurală a receptorului. La câteva secunde, când vena femurală devine turgescență, se ridică și clampul distal aplicat pe segmentul donator înainte de secționare și în timpul doi clampul proximal de pe segmentul receptor. În acest fel se evită distensia anastomozei. De regulă se produce o sângerare ușoară la nivelul anastomozelor vasculare, care încetează repede sub compresie delicată cu un tampon;

6. ultimul element anatomic profund suturat este nervul safen. Se utilizează aceeași tehnică ca la sciatic;

7. spălarea cu ser fiziologic reprezintă ultima operațiune, înainte de a se trece, în sfârșit, la sutura tegumentului (fir 4-0 nerezorabil). Se recomandă ca înainte de a începe să se facă o nouă injecție de analgezic, având în vedere sensibilitatea mare a pielii;

8. plaga se curăță cu o soluție antiseptică și se acoperă cu un manșon protector din termoplast, pentru a evita autofagia;

9. un ultim gest constă în instilarea intraperitoneală de ser fiziologic (cca. 10-15 ml), pentru corectarea pierderilor de lichid din cursul operației.

Durata întregii operații variază de la 4 ore, pentru începători, la 2 ore pentru cei care au câștigat experiență. Durata ischemiei este de 1-2 ore. Îngrijirea postoperatorie reclamă o cușcă igienică, uscată, caldă, plasată într-o cameră liniștită, cu lumină slabă.

Antibioterapia va continua și analgezia de asemenea. Membrul transplantat suferă constant o tumefiere din primele zile, care poate fi tranzitorie. Rejetul se instalează însă inevitabil în condițiile neintroducerii imunosupresiei, la intervale variabile cu alura sa.

Anastomozele microchirurgicale ale pediculului femural au fost realizate după procedura termino-terminală. Pentru comparație, animalele de laborator au fost împărțite în două loturi. În lotul A au fost incluși șobolanii care au beneficiat de suturi microchirurgicale cu fire separate. Pentru lotul B a fost utilizată o tehnică continuă combinată, descrisă de Lin și Chang [9]. Diametrul vaselor a variat între 0,7 și 1,3 mm. În cazul suturii cu fire separate, au fost folosite 8-10 fire. Pentru tehnica de sutură combinată, două fire diametral opuse (lateral) au fost folosite pentru afrontarea segmentelor distale cu cele proximale. Pereții posteriori și anteriori ai vasului au fost suturați cu fir continuu, cu câte 3-4 bucle. Pe întreaga durată a suturii, lumenul vasului a fost vizibil. Ca ultim gest operator în

anastomoză, buclele suturii continue au fost secționate și înnodate una câte una.

Rezultatele postoperatorii (supraviețuirea animalelor și viabilitatea grefei) din cele două loturi au fost urmărite timp de 3 săptămâni postoperator. Pentru interpretarea rezultatelor, incluzând timpii de anastomoză și rata de repermeabilizare, a fost folosit Testul *t* (Student).

Rezultate

Sub aspect chirurgical, transplantele efectuate au reușit. Revascularizarea s-a verificat prin eco-doppler.

Antibioterapia de protecție a continuat pe toată durata supraviețuirii.

Timpul mediu de realizare a anastomozei în lotul A (sătură întreruptă) a fost de 9,3 min ($542,34 \pm 9,33$) pentru arteră și 11,2 min ($678,32 \pm 10,2$) pentru venă. În cazul lotului B (tehnică combinată), timpul mediu pentru sutura arterei a fost de 8,9 min ($508,15 \pm 5,21$) și de 9,2 min ($583,52 \pm 6,56$) pentru venă (tabel I). Pentru analiza statistică s-a folosit Testul *t* (Student) cu $p < 0.005$.

Ca și complicație postoperatorie imediată a existat un caz de tromboză a venei femurale din lotul A (sătură cu fire separate). Rata de reperfuzare a fost de 90% în grupul A și 100% în grupul B (Fig. 1).

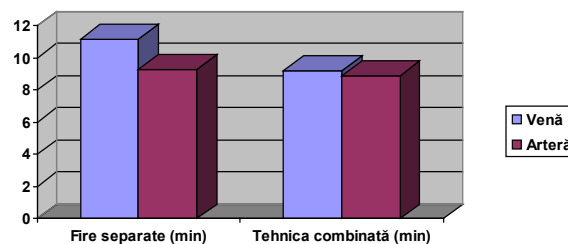


Fig. 1. Comparația timpilor operatori în minute, între tehnica cu fire separate și tehnica combinată.

În ambele loturi, la finalul celor 3 săptămâni de urmărire, membrele transplantate au fost viabile și bine vascularizate. Nu s-a înregistrat nici un deces.

Autofagie s-a observat în patru cazuri și a fost combătută prin protecție mecanică din termoplast.

Discuții

Transplantul experimental de membre constituie o preocupare de dată veche, stadiu obligatoriu pentru realizarea transplantului de mână la om. Șobolanii au fost animalele cele mai folosite pentru acest scop, prin disponibilitatea lor nelimitată și costul redus, dar și prin particularitățile anatomice care facilitează intervenția.

Tabel I. Numărul anastomozelor, timpul operator mediu și rata de reperfuzare.

	Grup A - arteră	Grup A - venă	Grup B - arteră	Grup B - venă
Nr. Anastomoze	10	10	10	10
Timp operator	9,3 min	11,2 min	8,9 min	9,2 min
Rată de reperfuzare	100%	90%	100%	100%

În anatomia membrului de șobolan se diferențiază trei segmente: coapsă, picior și labă. La coapsă există patru grupuri de mușchi: mușchiul femural anterior (extensor), înervat de ramura posterioară a nervului femural; mușchii interni (adductori), înervați de nervul obturator; mușchii posteriori (flexori), înervați de nervul sciatic; mușchii gluteali, înervați de nervii cu același nume. Piciorul are trei grupe musculare, toate înervate de sciatic: mușchiul anterior (flexorul dorsal al labei), cu nervul peronier; mușchii posteriori (flexorii plantari ai labei), cu nervul tibial; mușchii laterali, cu nervul peronier. Mușchii labei - dorsali (extensori) și plantari (flexori) - sunt înervați de sciatic [8]. Nervul femural este format din 2-4 nervi lombari și se găsește între mușchiul psoas mic și mușchiul iliac, trecând pe sub ligamentul iliac, alături de vasele iliace externe. Înainte de a ajunge la coapsă, se divide în două ramuri: anterioară și posterioară. Mai jos se detașează a treia ramură, senzorială: nervul safen [8].

Problema chirurgicală cea mai importantă pentru transplantarea organelor vascularizate era restabilirea circulației și, implicit, tehnica suturii, grevată de riscul trombozelor și stenozei. În 1894 Robert Abbe a descris utilizarea unui tub ("stent") intraluminal pentru anastomoză vasculară. Prima sutură vasculară a fost realizată în 1897 de J.B. Murphy. În 1900, Payr a introdus proteza cilindrică extravasculară de magneziu, care se rezorbea cu timpul, generând o reacție inflamatorie locală. Alexis Carrel a propus în 1902 o tehnică de sutură originală, rezultat al unui mare număr de experiențe, care includeau și transplantări de organe [10]. El a recomandat evitarea strâmtării lumenului la nivelul anastomozelor prin evitarea plicaturării peretelui și a neregularităților de relief endovasculare, pe lângă perfectă juxtapunere a marginilor intime. Triangularea liniei de secțiune reducea mult riscul de stenoză cicatricială. Se făceau într-un prim timp trei suturi de tracțiune, urmate de sutura circumferențială continuă. Ca material de sutură a folosit mătasea fină, aplicată cu acul curb. În cursul timpului s-au folosit atât fire nerezorabile (bumbac, nylon, oțel inoxidabil), cât și rezorabile (catgut, poliglactin ș.a.). Acele atraumatice au constituit un important progres.

Târziu, în 1960, Jules Jacobson a anastomozat vasele cu diametrul sub 1 mm, utilizând microscopul operator. Cu aceasta s-a fundamentat microchirurgia vasculară. Ultimele decenii au diversificat tehnicile aplicării de stenturi și clipuri. **Sutura prin electrocoagulare și prin laser** au fost imaginat și ele. Au mai fost încercate și adezivele (derivați de fibrină și de acilați) [11].

Privitor la circulație, reducerea timpului de ischemie al piesei grefate a fost al doilea obiectiv important pentru tehnicile chirurgicale. Factorii care concură spre acest deziderat sunt multipli și performanțele sunt în continuă creștere. Postoperator, se asigură monitorizarea circulației prin debitmetrie eco-doppler, o metodă neinvazivă și larg accesibilă.

În literatură, până în momentul actual, tehnica de sutură întreruptă este cel mai frecvent folosită. Totuși, ea necesită mult timp și este asociată cu o rată crescută a complicațiilor. Pentru comparație, sutura continuă combinată, **datorită timpului mai scurt de anastomozare, reduce** perioada de ischemie. De asemenea, operatorul poate vedea în permanență lumenul. Astfel este redus considerabil riscul de a prinde peretele posterior în sutură [12,13]. Pentru că nodurile sunt separate, îngustarea lumenului datorită efectului de pungă de tabac nu mai are loc.

Regenerarea nervilor are, la rândul său, o importanță esențială pentru troficitatea țesuturilor și funcționalitatea membrului transplantat. Într-o primă etapă sub secțiune, adică în segmentul periferic al membrului reconstituit, are loc o degenerescență waleriană rapidă. Supraviețuiesc celulele Schwann, tubii endoneurali și țesutul conjunctiv. Aceste structuri asigură "cofrajul" pentru progresiunea axonilor care vor regenera, avansând cu viteză de 1-1,5 mm pe zi [14]. Pentru evaluarea funcției senzoriale și a celei motorii s-au perfectat mai multe metode, din care unele specifice umane.

Osteogeneza are loc în câteva săptămâni, ca și în fracturi. **Poate fi monitorizată prin radiografii periodice.**

Profilaxia "perioperatorie" (J. Solomkin) [15] a infecției a devenit obligatorie în transplantările experimentale și clinice, pe baza experienței cumulate cu decenii în urmă. Este justificată de faptul că imunosupresia crește riscul infecțios într-o importantă măsură, ca efect al prăbușirii capacității de apărare [16]. Nu poate fi neglijat nici aspectul nutrițional, demonstrat de creșterea frecvenței infecțiilor în condiții de alimentație dezechilibrată sau insuficientă [17].

Tehnica operatorie actuală s-a dezvoltat pe baza intervențiilor experimentale de replantare a membrului [18, 19].

Principiile sunt aplicate și în transplantul mâinii la om, operație mult mai complexă, cu răspundere sporită și care concentrează o echipă mare, formată din chirurg transplantolog, ortoped, anestezist, recuperator, imunolog, psiholog [20].

Transplantologia este o specialitate interdisciplinară bine constituită în prezent. Datorează această evoluție spiritului științific riguros, care se resimte și în concepția fundamentală a medicinei moderne ("medicina bazată pe dovezi"), introdusă în anii '80 în Canada și definită ca: "utilizarea conștientă, explicită și judicioasă a celor mai bune probe disponibile pentru luarea deciziilor privitoare la îngrijirea unui bolnav anumit". Aceasta s-a dovedit o paradigmă cu mare reputație, difuzată în toată lumea [21]. Din ea a derivat ulterior conceptul de "chirurgie bazată pe dovezi" [22].

Concluzii

Studiul susține ipoteza noastră că tehnica de sutură continuă combinată este foarte utilă în transplantul

experimental de membru posterior la șobolan. Ei i se datorează un timp de ischemie scăzut și o rată mai mică de complicații postoperatorii. În timpul anastomozei, lumenul vasului este în permanență vizibil, reducând riscul de a prinde cu acul peretele posterior. În plus, față de sutura continuă simplă, lumenul nu este strâmtat, așa cum se întâmplă la anastomozarea vaselor de diametru foarte mic, atunci când se folosește metoda sus menționată. Datorită costurilor foarte ridicate în transplantologia grefelor compozite la animale de laborator (datorate parțial prețului imunosupresiei și parțial duratei lungi a experimentelor), operatorii trebuie să se orienteze spre tehnici cât mai sigure, cu rate mici de complicații. O astfel de tehnică poate să fie sutura continuă combinată microvasculară.

Bibliografie

1. Dubernard J M, Owen E, Herzberg G et al. Human hand allograft report on first 6 months. *Lancet* 1999, 17: 1315-1320
2. Sollinger H W, D'Alessandro A M, Deierhoi M H et al. Transplantation. În: *Principles of surgery* (ed. S.I.Schwartz et al.), ed. 5-a, 431-433
3. Hovius S E, Allogeneic transplantation of the radial side of hand in the rhesus monkey. Thesis (Phd), Erasmus Medical Centre, Rotterdam, 1991
4. Lance E M, Inglis A E, Figarola F et al. Transplantation of the canine hind limb. *J Bone Joint Surg Am* 1971, 53 (6): 1137-1149
5. Shapiro R I, Cerra F B. A model for reimplantation and transplantation of a complex organ: the rat hind limb. *J Surg Res* 1978, 24 (6): 501-506
7. Doi K. Homotransplantation of limbs in rats. *Plast Reconstr Surg* 1979, 64 (5): 613-621
8. Gill T J. Report of first international workshop on alloantigenic systems in the rat. *Transplant Proc* 1978, X: 271
9. Lin TS, Chiang ZC. Combined microvascular anastomosis – experimental and clinical experience. *Ann Plast Surg* 2000, 45, 280-283
10. Molitor M, Kanatani T, Lanzetta M. Hind-limb transplantation in the rat. În: *Hand Transplantation* (eds. M.Lanzetta, J.-M. Dubernard), Springer, Milano, 2007, 27-32
11. Carrel A. La technique opératoire des anastomoses vasculaires et la transplantation des viscères. *Lyon Med* 1902, 9: 859-864
12. Betul G U, Ali E U, Hung L. Usefulness of combined continuous suture and interrupted tie technique in hindlimb composite tissue allotransplantation in rats. *Microsurgery* 2005, 25: 80-82
13. Morris DJ, Pribaz JJ. The interrupted-continuous microsurgical suture technique. *Microsurgery. A Practical Manual*. St. Louis, C.V. Mosby, 1980
14. Zeebregts C J, Heijmen R H, van den Dungen J J, van Schilfgaarde R. Non-suture methods of vascular anastomosis. *Brit J Surg* 2003, 90: 261-271
15. Salomkin J. Perioperative antimicrobial prophylaxis. În: *Mastery of Surgery vol I*, 101-109
16. Morelon E, Touraine J-L. Complications infectieuses liées à l'immunosuppression dans la transplantation d'organe. *Rev Prat* 2007, 57: 1677-1685
17. Soeters P B, Dejong C H, Damink S W M, van Gemert W M. Operative risk, nutrition assesment and intravenous support. În: *Mastery of Surgery vol. I*, 24-44
18. Guide for the care and use of laboratory animals. Nat Res Council, Washington, Nat Acad Press, 1996
19. Siemionow M, Kulahci Y. Experimental approaches to composite tissue allograft transplants. În: *Hand Transplantation*, (eds. M.Lanzetta, J.-M. Dubernard), Springer, Milano, 2007, 61-77
20. Ninkovic M. Technical and surgical details of hand transplantation. În: *Hand Transplantation*, (eds.), Springer, Milano, 2007, 197-203
21. Evidence based Medicine Working Group. Evidence based medicine: a new approach to teaching the practice of medicine. *JAMA* 1992, 268: 2420
22. Ubbink D T, Legemate D A. Evidence-based surgery, *Brit J Surg* 2004, 91: 1091-1092