



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

**SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE
BIOMEDICHE**

Direttore della Scuola: Prof. Andrea Fausto Piana

**INDIRIZZO IN FISIOLOGIA, FARMACOLOGIA, MORFOLOGIA E
FISIOPATOLOGIA DEL SISTEMA NERVOSO**

XXVII CICLO

STUDIO ANATOMICO DEI RAPPORTI NEUROVASCOLARI DELLE

PERFORANTI DELL'ARTERIA TIBIALE POSTERIORE:

APPLICAZIONI ALLA CHIRURGIA RICOSTRUTTIVA DELL'ARTO

INFERIORE.

Direttore:

Prof. Andrea Fausto Piana

Tutor:

Prof. Andrea Montella

Tesi di dottorato di:

Dott. Antonio Bulla

Anno Accademico 2014 - 2015

1. INTRODUZIONE	3
1.1 Cenni storici	6
1.2 Classificazione dei lembi	9
1.2.1 Lembi liberi	13
1.3 La congruenza neurovascolare	15
1.4 I rapporti neurovascolari tra vena safena e nervo safeno	18
1.5 Le tecniche d'iniezione vascolare applicate allo studio delle perforanti	21
2. SCOPO DEL LAVORO	23
3. MATERIALI E METODI	25
3.1 Studio e validazione di un nuovo metodo di iniezione vascolare	25
3.1.1 Validazione della tecnica	26
3.2 Studio delle perforanti distali dell'arteria tibiale posteriore	27
4. RISULTATI	29
4.1 Analisi del nuovo protocollo di iniezione vascolare	29
4.2 Analisi della localizzazione delle perforanti distali dell'arteria tibiale posteriore.	32
5. DISCUSSIONE	38
6. CONCLUSIONI	43
BIBLIOGRAFIA	45

1. Introduzione

Le ampie perdite di sostanza agli arti dovute a traumi o conseguenti all'asportazione chirurgica di tumori dei tessuti molli, costituiscono ancora oggi un'ardua sfida per il chirurgo ricostruttivo, in particolare quando vi è esposizione ossea. Questo è particolarmente significativo a livello della gamba e in particolare quando vi siano fratture esposte di tibia, e ciò da ricondurre alla posizione anatomica di quest'osso, che nella sua faccia antero-mediale è coperta solo dalla cute, e in generale alla limitata disponibilità di tegumenti nel terzo inferiore della gamba.

A partire dagli anni novanta del secolo scorso, i lembi liberi allestiti a distanza e trasferiti nel sito ricevente tramite anastomosi microvascolare, sono diventati la procedura ricostruttiva standard in questo distretto. Ampie casistiche cliniche hanno dimostrato come un debridement radicale e l'attenta progettazione del sito di anastomosi sono il fondamento per il successo di queste procedure [12] [16]. Nonostante questo, l'approccio microchirurgico rimane applicabile solo in centri di alta specializzazione, richiede lunghi tempi chirurgici ed è comunque associato ad una non trascurabile percentuale di complicanze vascolari che possono condurre alla necrosi totale dell'autotrapianto.

Per questi motivi, recentemente, è stato riproposto l'impiego dei lembi locali nel trattamento delle perdite di sostanza di gamba. Infatti i lembi locali necessitano di tempi operatori più brevi e di una degenza ospedaliera più breve [13].

In caso di esposizione ossea limitata, possono essere allestiti lembi locali fasciocutanei di piccole dimensioni, mentre la perdita di sostanza secondaria all'allestimento del lembo può essere coperta con un innesto.

Inoltre, l'impiego dei lembi locali è pratico quando si chiude una ferita attorno o attraverso un fissatore esterno.

In passato, in caso di perdite di sostanza di maggiori dimensioni con esposizione ossea dopo traumi della gamba, erano di comune impiego i lembi muscolari locali, in particolare il gastrocnemio mediale e il soleo, che hanno dimostrato di essere molto utili nella gestione dei difetti dei tessuti molli per la loro ricca vascolarizzazione, capace di veicolare antibiotici e per il loro spessore con cui era possibile colmare i deficit profondi. Tuttavia, essi impongono una discreta morbilità del sito donatore e non sono sempre utilizzabili a causa della contusione dei tessuti causate dal trauma [13].

Sebbene dal punto di vista teorico fosse chiaro che anche i lembi fasciocutanei fossero sufficientemente vascolarizzati per coprire esposizioni ossee a rischio di contaminazione batterica, rappresentando quindi un'alternativa ai lembi muscolari [44], il loro limitato arco di rotazione ne riduceva l'applicabilità clinica.

Negli ultimi quindici anni, il campo della chirurgia plastica è stato rivoluzionato dall'introduzione dei lembi perforanti. Alla base di essi, vi è l'isolamento e la dissezione dei singoli vasi perforanti che irrorano porzioni di cute definite *angiosomi*. [42]

Analogamente a un dermatomero, che è un'area di cute innervata da un particolare nervo sensitivo, un angiosoma è una porzione di tessuti rifornito dalla stessa arteria nutritrice. Tutta la superficie corporea è perfusa attraverso una moltitudine di angiosomi. Angiosomi adiacenti sono interconnessi da anastomosi di calibro ridotto definite *choke vessels* [42]

L'introduzione dei lembi perforanti ha liberato il chirurgo di molte delle limitazioni imposte dalle tecniche classiche di allestimento di lembi pedunculati. Oggi, i lembi basati sulle perforanti offrono un'ottima soluzione alla copertura di deficit cutanei di medie dimensioni, poiché questi lembi possono essere allestiti in modi diversi per coprire un'ampia varietà di difetti degli arti inferiori preservando l'asse vascolare dell'arto [33].

Questi nuovi sviluppi hanno avuto profonde influenze sul campo dell'anatomia umana, poiché sempre più chirurghi e anatomisti negli ultimi anni sono stati stimolati a recuperare le antiche tecniche dissectorie, ormai dimenticate, per applicarle allo studio della vascolarizzazione cutanea. Contemporaneamente, lo sviluppo di tecniche di imaging radiologico sempre più sofisticate e dettagliate e la loro applicazione allo studio anatomico ha permesso di ottenere grandi quantità di informazioni in tempi molto più rapidi.

Ciò ha portato al moltiplicarsi delle pubblicazioni in questo campo e ad una vera e propria *Anatomical Renaissance* [41].

1.1 Cenni storici

La prima descrizione dell'impiego dei lembi chirurgici è rintracciabile negli scritti di Sushruta Samita, datati 600 a.C., che riportano la ricostruzione del naso mediante un lembo cutaneo prelevato della fronte (Fig.1), una tecnica utilizzata ancora oggi e conosciuta come "il metodo indiano" [38].

La rinopoesi mediante lembi cutanei dalla fronte, fu introdotta in Europa nel 1816 dal chirurgo inglese Joseph Costantine contrapponendosi al già diffuso "metodo italiano".

Quest'ultimo era stato ideato dai chirurghi Gustavo e Antonio Branca intorno al 1400 d.C. a Catania, anche se colui che descrisse meglio la metodica fu Gaspare Tagliacozzi nel celebre trattato "*De Curtorem Chirurgia per Insitionem*" (1597) [1].

In tale opera si illustra e descrive come a partire dalla cute del braccio sinistro fosse possibile ricostruire un naso mutilato: sulla pelle del sito donatore (braccio) si incidevano i lati maggiori di un parallelogramma e si sollevava un lembo di cute che veniva rovesciata e accostata al viso dopo aver reso cruenti i margini cicatriziali dell'area ricevente.

Il braccio veniva immobilizzato per il tempo necessario ad ottenere l'attecchimento della cute; in un secondo tempo, dopo il completo attecchimento dei tessuti, veniva rescisso il peduncolo cutaneo che manteneva la connessione con l'area donatrice dell'avambraccio.

L'estremità del lembo era suturata sopra il labbro e infine si procedeva col modellare la forma del naso grazie a forme precostituite.

Per diverso tempo la realizzazione del lembo fu affrontata senza che si avesse una conoscenza dettagliata dell'anatomia vascolare e basandoli principalmente sul plesso vascolare sub dermico (lembi "random").

Nel 1969 Milton, chirurgo americano della John Hopkins University, per primo cominciò ad osservare che la vitalità del lembo era legata direttamente alla rete vascolare che veniva inclusa entro il lembo e non alla larghezza o alle dimensioni del peduncolo [25].

Tale concetto fu ulteriormente sviluppato negli anni settanta dal chirurgo scozzese della Glasgow University, McGregor con l'identificazione di alcune aree cutanee che possedevano dei vasi che dopo aver perforato la fascia profonda seguivano un decorso noto e prevedibile nel sottocute, nasceva così il concetto di lembo assiale.

Orticochea e McCrow introdussero l'utilizzo di lembi basati sul mantenimento delle connessioni tra cute e muscolo[34], sfruttando così i vasi "perforanti" per l'irrorazione dello stesso, tecnica oggi nota come lembo muscolocutaneo[48].

A Bengt Pontén si deve lo studio dei lembi fascio-cutanei che includevano la cute, il sottocute e la fascia sottostante con i plessi pre-fasciale e sotto-fasciale[36].

Lo studio della fascia fu ulteriormente affrontato da Haertsch (1981) e, soprattutto da Cormack e Lamberty (1984) che per primi proposero una classificazione dei lembi fascio-cutanei[48].

Per avere una prima classificazione dei lembi in base alla loro vascolarizzazione completa e quasi universalmente accettata, bisogna però arrivare alle intuizioni di Nakajima del 1986[29]. Grazie a tale lavoro venne oggettivamente riconosciuta l'importanza della vascolarizzazione nella definizione del lembo chirurgico.

Cormack e Lamberty nel loro testo fondamentale del 1994 (The arterial anatomy of skin flaps) studiarono l'anatomia delle arterie di lembi cutanei e classificarono tutti i tipi di lembi allora noti in riferimento alle differenti tipologie di vascolarizzazione[6].

Alla fine degli anni '90 le nuove acquisizioni sull'anatomia vascolare e lo sviluppo delle tecniche microchirurgiche, hanno permesso infine di sviluppare i cosiddetti lembi perforanti. Essi sono costituiti da definite aree di cute e tessuto sottocutaneo,

perfuse da piccole arterie che vengono isolate fino alla loro origine, passando attraverso il muscolo e la fascia (fig.1) [18].

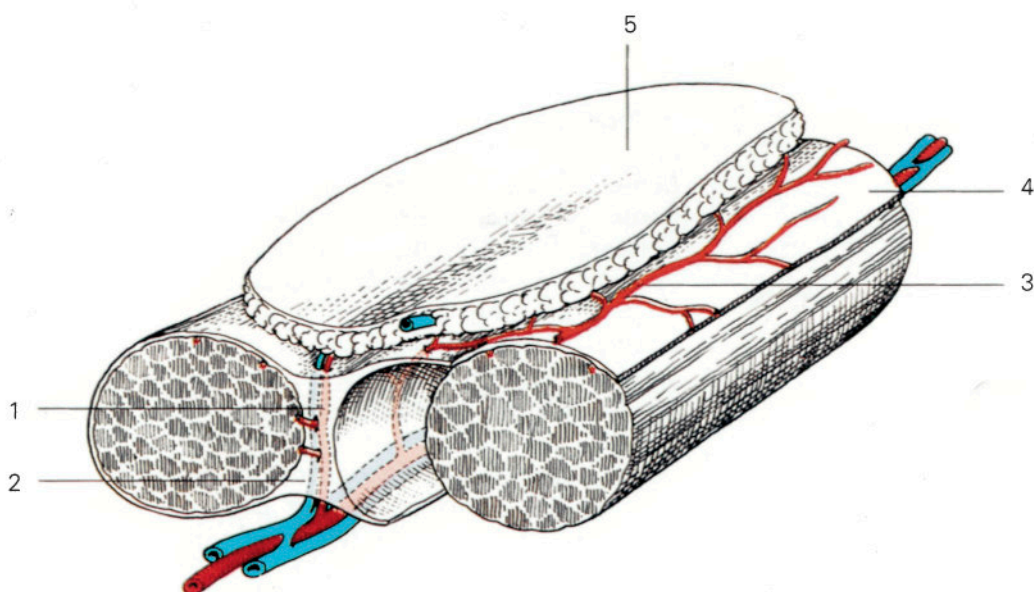


Figura 1: Rappresentazione di un lembo, schema generale 1. Perforante fasciocutanea; 2. Setto intermuscolare; 3. rete anastomotica soprafasiale; 4. Fascia. [11]

Un esempio di questi è il DIEP (deep inferior epigastric perforator), che è ormai diventato procedura standardizzata nella ricostruzione della mammella. Altro esempio di lembo basato sulle perforanti è il lembo adipofasciale anteromediale. Tale metodica ricostruttiva è sicuramente efficace nelle perdite di sostanza dei tessuti molli dell'arto inferiore.

1.2 Classificazione dei lembi

Attualmente i lembi vengono classificati secondo diversi criteri: ecco le principali caratteristiche che permettono di classificare i lembi[6]:

❖ Vascolarizzazione:

- 1) Lembi random: porzione di tessuto cutaneo e sottocutaneo vascolarizzato da vasi non individualizzati anatomicamente situati a livello del plesso sub-dermico. La tecnica di prelievo impone il rispetto di un definito rapporto tra base e lunghezza variabile a seconda delle zone del corpo.
- 2) Lembi a vascolarizzazione nota: i lembi a circolazione nota sono ricavati da regioni anatomiche con una vascolarizzazione costante, in cui è possibile identificare i vasi afferenti. La vascolarizzazione del lembo è costituita da uno specifico asse vascolare in grado di supportare l'intera area allestita. Essi sono così suddivisi:
 - a) Lembi assiali: sono basati su un sistema artero-venoso anatomicamente noto che si sviluppa nel sottocutaneo (asse vascolare). Hanno dimensioni che sono indipendenti da rapporti fissi ma correlate all'estensione dell'asse vascolare. Mostrano maggiori possibilità di movimento. La lunghezza totale del lembo in questo caso è correlata alla lunghezza del vaso cutaneo diretto più un segmento distale a struttura vascolare di tipo "random", nutrito dal plesso sub-dermico
 - b) Lembi fascio-cutanei: si compongono di tutti i tessuti compresi tra il piano cutaneo e quello della fascia profonda con la rete vascolare perifasciale, aspetto che migliora la loro vascolarizzazione rispetto ai lembi cutanei in alcune regioni anatomiche e, specialmente alle gambe. Il prelievo dei lembi fasciocutanei è semplice e rapido. Questi lembi sono affidabili, sottili e facilmente mobilizzabili. Essi sono particolarmente utili nei casi di copertura di perdite di sostanza situate in zone di mobilità cutanea e di copertura tendinea. Secondo la classificazione di Nakajima, basata sui differenti tipi di vasi perforanti della fascia profonda, sono ulteriormente suddivisi: tipo I

9

(lembi cutanei diretti); tipo II (lembi setto-cutanei diretti) ; tipo III (rami perforanti cutanei di un vaso muscolare); tipo IV (rami cutanei diretti di un ramo muscolare); tipo V (lembo perforante setto- cutaneo); tipo VI (perforante muscolo-cutaneo) (fig. 2).

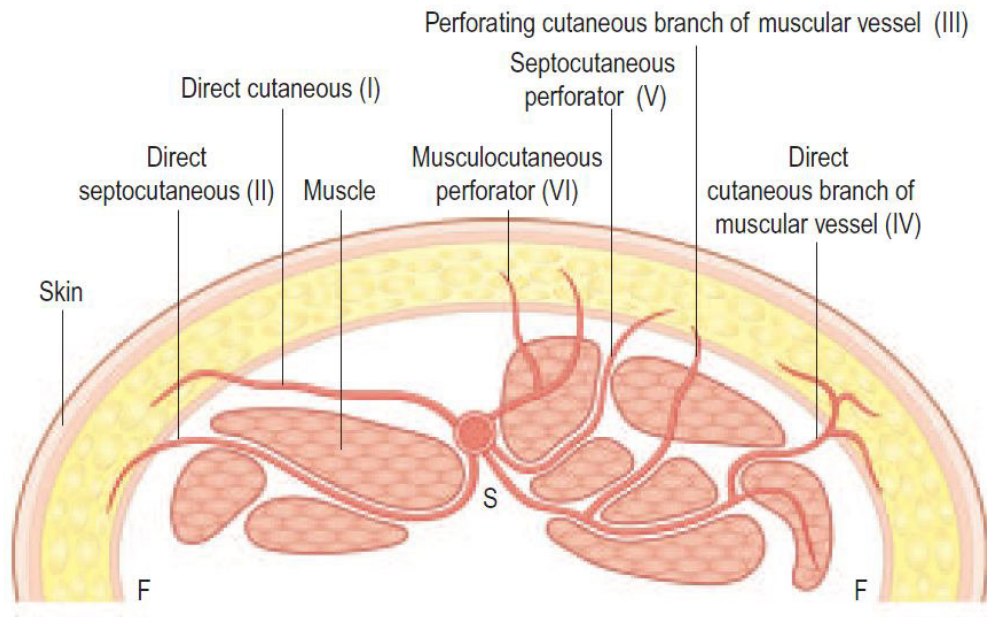


Figura 2: I sei tipi di lembo fascio-cutaneo descritti secondo la classificazione di Nakajima per le perforanti della fascia profonda[48].

c) Lembi muscolocutanei: sono composti da un gruppo muscolare e dal sovrastante piano cutaneo che riceve irrorazione grazie al sistema delle arterie perforanti del muscolo. In base alla distribuzione vascolare sono raggruppati in 5 tipi secondo la classificazione di Mathes e Nahai [24] fig. 3:

- Tipo I: singolo peduncolo vascolare che attraversa il ventre muscolare.
- Tipo II: più peduncoli che penetrano il ventre in più parti ma uno solo predominante che può rifornire da solo tutto il muscolo.
- Tipo III: 2 peduncoli predominanti all'estremità del muscolo.

- Tipo IV: presenta più peduncoli segmentali.
- Tipo V: dotato di un ramo vascolare predominante all'origine del muscolo e diversi rami secondari siti alla periferia ma che integri, sono capaci di sostenerne il trofismo.

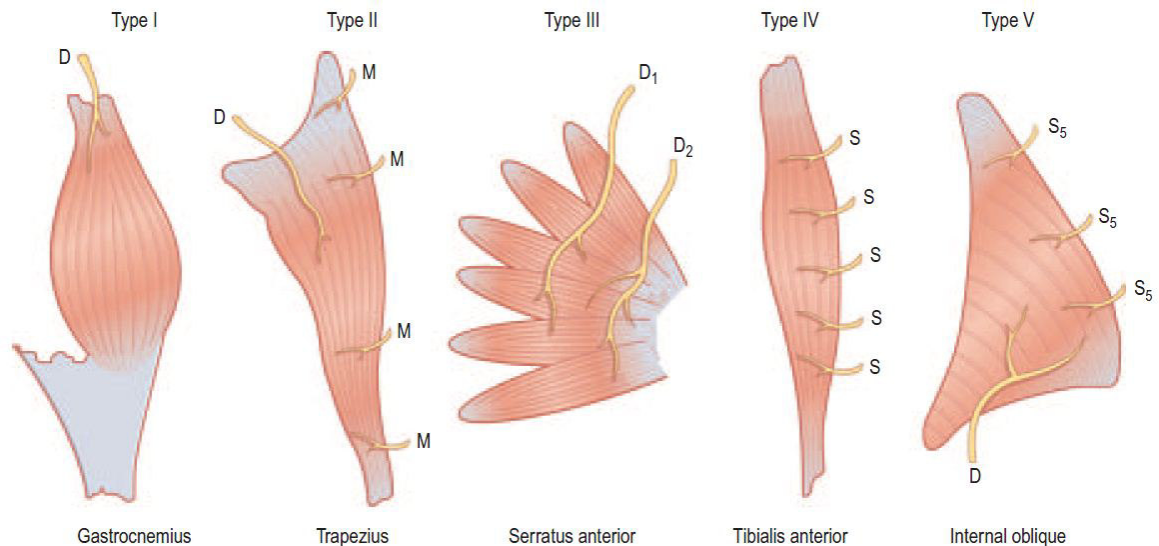


Figura 3: Lo schema di classificazione dei lembi muscolari in accordo con la vascolarizzazione predominante del muscolo secondo Mathes e Nahai. **D** peduncolo dominante; **M** minore; **SS** segmentale secondario; **S** segmentale[48].

d) Lembi perforanti: si caratterizzano per essere costituiti da cute e tessuto sottocutaneo senza fascia e muscolo; i loro vasi sono perforanti isolate che passano dalla loro arteria di origine, nel contesto del muscolo o nei setti intermuscolari. Pertanto a differenza dei precedenti che sono dipendenti dalle caratteristiche anatomiche del tessuto, questi invece si differenziano per la tecnica chirurgica dissettorie che vi sta alla base. Infatti il loro vantaggio principale è che la dissezione di questa tipologia di lembi risparmia il muscolo e la fascia profonda, a differenza dei lembi muscolocutanei e fasciocutanei che li usano come carrier dei vasi con una minor morbilità per il sito donatore ma praticamente un uguale risultato morfo-funzionale.

I vasi perforanti possono essere classificati secondo figura 4 in:

- **dirette**: perforanti soltanto la fascia profonda
- **indirette settali o settocutanee**: in cui i vasi passano solo attraverso un setto per poi perforare la fascia profonda e così rifornire la cute sovrastante.
- **indirette muscolari o mio-cutanee**: passanti attraverso il muscolo e perforanti lo strato esterno della fascia profonda per poi giungere alla cute sovrastante

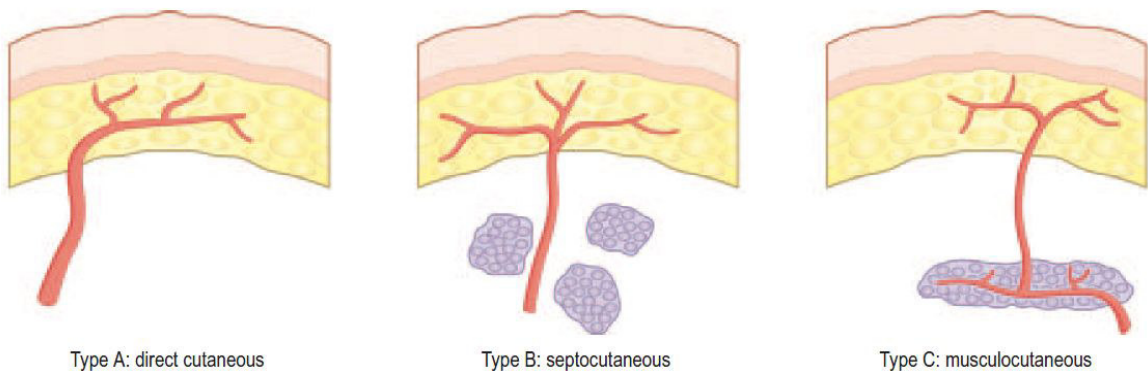


Figura 4: “Gent” Consensus on Perforator Flap Terminology che descrive i tre tipi di vasi perforanti: **perforanti dirette, indirette muscolari o mio-cutanee, indirette settali o setto-cutanee**[48].

❖ Sede di origine:

1. Lembi di vicinanza: le strutture del lembo mostrano continuità anatomica con l’area ricevente che presenta il difetto tissutale.
2. Lembi a distanza: segmenti di tessuto che originano da zone che non sono in continuità con le aree riceventi che possono trovarsi anche a notevole distanza.

❖ In base al movimento di mobilizzazione operato:

1. Lembi da avanzamento: il tessuto è mobilizzato compiendo uno spostamento di traslazione concorde con il peduncolo.
2. Lembi di trasposizione: il trasferimento del lembo è ottenuto scavalcando un’area indenne interposta ai siti donatore e accettore.

3. Lembi di rotazione: il trasferimento del lembo è ottenuto attraverso movimento di rotazione attorno ad un punto di rotazione (pivot point)

- ❖ Peduncolo: possono essere monopedunculati o bipedunculati.
- ❖ Tessuto: tenendo in considerazione il tessuto che li compone possono essere classificati in: monotissutali (cutanei, fasciali, muscolari, ossei) o compositi, quando si rende necessario il prelievo simultaneo di più tipologie di tessuto dallo stesso sito donatore, al fine di ottenere il restauro simultaneo di molteplici componenti del tessuto mancante.

1.2.1 Lembi liberi

Le nuove tecniche microchirurgiche hanno ampliato notevolmente le possibilità della chirurgia sia per quanto riguarda la parte ablativa, consentendo delle dissezioni particolarmente intricate con la possibilità di preservare strutture critiche, sia per quanto riguarda la parte ricostruttiva in senso stretto, grazie alla metodica basata sul trapianto di tessuti con anastomosi vascolari e nervose che è alla base del cosiddetto lembo libero.

Questo fu introdotto nel 1971 da Antia e Buch prima e da O'Brien e Harii poi. I primi eseguirono il trasferimento di un lembo libero dermo-adiposo rivascolarizzato senza l'ausilio di un microscopio, i secondi introdussero l'uso del microscopio per le microanastomosi vascolari [7].

La tecnica del lembo libero consiste in un trapianto di tessuto autologo dotato di un peduncolo vascolare che ne garantisce l'apporto ematico, e che viene separato dalla zona donatrice e anastomizzato con tecnica microchirurgica ai vasi disponibili nella sede ricevente. I lembi liberi possono essere classificati in base ai tessuti che li compongono (cutanei fascio cutanei, muscolari ossei etc..).

I lembi liberi cutanei e fascio cutanei sono sottili e possono essere re-innervati. Sono particolarmente indicati nella copertura di tendini ed articolazioni e nel distretto cervico-facciale.

Il lembo inguinale e il lembo radiale sono i capostipiti di questa categoria, ma sono attualmente superati dai lembi perforanti come l'antero-laterale di coscia, che offre grandi quantità di cute con ridotto danno estetico nella zona donatrice. Questi sono un'evoluzione dei lembi mio-cutanei tradizionali: la dissezione della perforante intramuscolare destinata alla cute permette di sollevarli risparmiando il muscolo e la fascia sottostante.

I lembi liberi muscolari sono indicati quando è necessario colmare perdite di sostanza di un certo spessore e quando si voglia bonificare, oltre che coprire, fratture esposte ed infette ed osteomieliti. I muscoli più frequentemente prelevati sono il gran dorsale, il gracile, il retto addominale ed il dentato. Questi muscoli possono essere re-innervati ottenendo un'unità motoria che ripristina una funzione. I lembi liberi ossei sono indicati nelle ampie perdite di sostanza ossee. Per le loro proprietà biologiche consolidano intempi fisiologici e rispondono alle sollecitazioni meccaniche.

Il perone vascolarizzato, la cresta iliaca, ed il 2° metatarso sono gli autotrapianti più utilizzati. Il perone, in particolare, ha una grande versatilità ricostruttiva. Nei soggetti in accrescimento può esser prelevato con l'epifisi prossimale ed esser trasferito a ricostruire un segmento articolare, ripristinandone la capacità di crescita [48].

1.3 La congruenza neurovascolare

La relazione funzionale tra nervi periferici e vasi sanguigni, definita “congruenza neurovascolare” è conosciuta da secoli. Gli studi anatomici di Taylor e Nakajima [30] hanno confermato la stretta relazione esistente tra nervi superficiali e vasi sanguigni a livello dei tegumenti e del sottocutaneo in tutte le regioni del corpo. I nervi cutanei sono accompagnati da un sistema longitudinale di arterie e vene che in alcuni casi costituiscono il sistema di vascolarizzazione dominante della regione. Le vene sono frequentemente di grossa dimensione com'è il caso della vena cefalica, basilica e piccola e grande safena. Le arterie possono esistere come vasi diretti oppure come una catena di vasi anastomotici tra perforanti adiacenti. In generale, il profilo vascolare cutaneo coincide con i nervi cutanei che includono fibre nervose afferenti che veicolano le sensazioni tattili discriminative, nocicettive e termocettive e fibre efferenti effettrici per i muscoli erettori dei peli dei follicoli piliferi e la media dei vasi. I nervi derivati dai gangli delle radici dorsali e i nervi spinali motori viaggiano per lunghe distanze assieme ai vasi sanguigni per raggiungere la cute. In questo senso la congruenza vascolare rispetta il principio di massima economicità poiché i nervi si sviluppano il più vicino possibile ai loro target (fig. 5) [21].

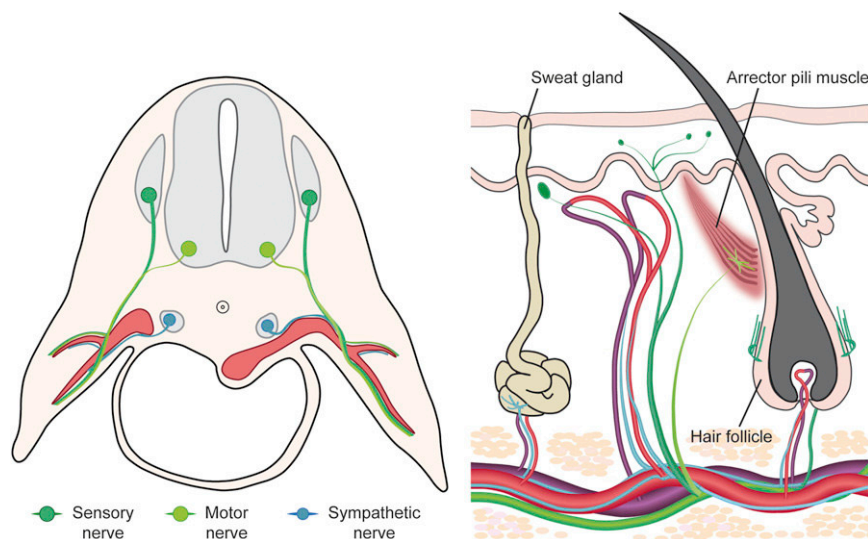


Figura 5: organizzazione dei vasi e dei nervi cutanei durante lo sviluppo e alla maturità.

Nakajima ha classificato i lembi basati sulle arterie che accompagnano i nervi e le vene cutanee nel tessuto sottocutaneo profondo in lembi venoadipofasciali, neuroadipofasciali e venoneuroadipofasciali a seconda delle strutture con le quali i vasi nutritizi prendevano maggiori rapporti [30].

Negli anni recenti sono stati chiariti i meccanismi molecolari alla base dell'angiogenesi, tuttavia rimane poco chiaro se strutture estrinseche al sistema vascolare possano influenzarne lo sviluppo [46].

Durante lo sviluppo dei vasi sanguigni di piccolo calibro, le cellule vascolari endoteliali si riuniscono in tubi a formare un plesso vascolare primitivo. Durante tale processo le cellule endoteliali di origine venosa sarebbero quelle a maggiore capacità proliferativa. Il plesso primitivo in seguito subisce un processo di rimodellamento che comporta la riduzione in numero dei vasi neoformati. Recenti studi hanno mostrato come questo processo dipenda non tanto da fenomeni di apoptosi, ma attraverso un meccanismo di selezione che comporta la migrazione delle cellule endoteliali da neovasi a flusso minore a neovasi a maggiore portata [50].

Studi sperimentali hanno confermato che il sistema nervoso potrebbe giocare un ruolo centrale nel determinare l'organizzazione di tutti i tessuti dell'embrione in via di sviluppo, questo potrebbe implicare che la vascolarizzazione della cute potrebbe essere in origine indotta dalle sue specifiche radici nervose.

I primi studi effettuati sulla cute degli arti degli embrioni di pollo indicarono che le fibre nervose maggiori e i vasi sanguigni sono allineati. Inoltre, poichè nel momento iniziale in cui le fibre nervose penetrano nell'arto la loro arborizzazione non è correlata al pattern di ramificazione dei vasi sanguigni già presenti, questo allineamento non è determinato da una guida dei vasi sanguigni nei confronti della crescita assonica[23].

L'interrogativo se invece siano i nervi a determinare il pattern di ramificazione dei vasi sanguigni trovò risposta in una serie di esperimenti in cui attraverso l'utilizzo di raggi UV si distrusse localmente il Sistema Nervoso Periferico in embrioni di pollo.

Sorprendentemente la traiettoria dei grossi vasi in questi arti aneurogenici rimase imperturbata dalla manipolazione.

Questo suggeriva che l'organizzazione spaziale delle fibre nervose e dei vasi sanguigni sia indipendentemente controllata da segnali comuni nella cute sovrastante. Non era comunque chiaro se il pattern di ramificazione dei vasi di diametro minore fosse influenzato dall'assenza dei nervi, poiché questo pattern è meno definito ed è più difficile valutarne le perturbazioni [23].

In studi successivi Mukoyama et al. studiarono l'influenza del sistema nervoso sullo sviluppo dei vasi sanguigni nella cute dell'embrione di topo, utilizzando metodi genetici per eliminare o disorganizzare i nervi periferici [27]. Mutazioni knock-out per il gene della neurogenina che determinavano l'assenza dei nervi sensitivi periferici impedivano una corretta arteriogenesi mentre quelle che disorganizzavano i nervi mantenevano un allineamento tra le arterie e i nervi malorientati.

Questi studi identificarono il VEGF-A come la molecola cruciale secreta dai nervi periferici che stimola il differenziamento delle arterie associate ai nervi. Tuttavia tale molecola non apparve la responsabile del reclutamento iniziale dei vasi lungo il decorso del nervo. [26]

In uno studio recente Li et al. Identificarono Cxcl12 come un fattore critico secreto dal nervo responsabile di iniziare il processo di rimodellamento vascolare a livello della cute[19]. Esso è espresso dalle cellule di Schwann dei neuroni dei gangli delle radici dorsali precedentemente al rimaneggiamento del plesso vascolare endoteliale cutaneo. Embrioni mutanti per Cxcl12 o il suo recettore Cxcr4 non presentano allineamento tra nervi e vasi a causa della mancanza di prossimità non avveniva differenziamento indotto da VEGF-A. Tuttavia, poiché tale mutazione non determina alterazioni della distribuzione delle arterie e vene principali è probabile che questo meccanismo sia limitato solo allo sviluppo dei vasi più periferici.

1.4 I rapporti neurovascolari tra vena safena e nervo safeno

Recenti studi di dissezione cadaverica hanno delucidato i rapporti esistenti tra nervo safeno e vena safena magna. Tali rapporti sono di particolare interesse nella chirurgia dei by-pass coronarici, poiché a seguito del prelievo della vena safena magna possono riscontrarsi ipo- e parestesie dell'area di distribuzione del nervo safeno.

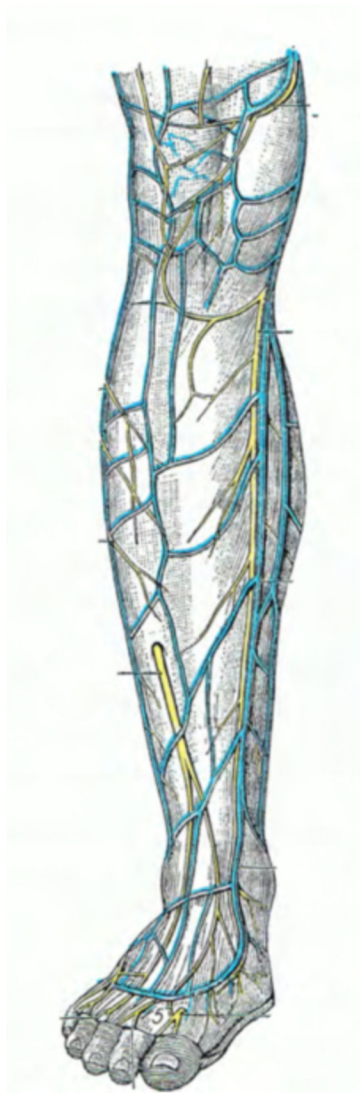


Figura 7: rapporti del nervo safeno alla gamba

basso in avanti e in fuori, descrivendo al davanti della rotula una specie di ansa a concavità diretta in alto. Alla fine si espande con numerose ramificazioni per la cute

Secondo la descrizione classica del TESTUT [43] (fig. 7), il nervo safeno è il ramo terminale inizialmente profondo del nervo femorale, esso si dirige in basso e medialmente, sul lato esterno della guaina dei vasi femorali; penetra poi nella guaina medesima, all'unione del terzo superiore col terzo medio della coscia e decorre applicato sulla parte anteriore dell'arteria femorale fino all'anello del grande adduttore. Durante il suo decorso fornisce un ramo articolare per il ginocchio e due rami cutanei che perforano l'aponevrosi della coscia, fra il sartorio e il gracile vanno ad innervare la cute della parte interna e posteriore della coscia medesima. Arrivato all'anello del grande adduttore, il nervo safeno interno esce dalla guaina vascolare, sia da un orificio in comune col ramo terminale dell'arteria grande anastomotica, sia mediante un orificio proprio. Si colloca allora sotto il sartorio e si divide a livello del condilo interno del femore in due rami terminali: il ramo rotuleo e il ramo tibiale. Il ramo rotuleo è dapprima situato sotto il sartorio; poi attraversa questo muscolo dal di dietro in avanti costituendo il terzo ramo perforante della coscia o perforante inferiore. Arrivato alla cute si dirige in

della regione rotulea. Il ramo tibiale continua la direzione del tronco e procede dapprima fra il sartorio che sta lateralmente e il gracile che sta medialmente. Incrocia poi obliquamente il tendine di quest'ultimo muscolo, attraversa l'aponevrosi della gamba e da qui in poi, si unisce alla vena safena interna con la quale discende fino alla parte mediale del collo del piede. Durante il decorso il nervo lascia numerosi rami collaterali che si distribuiscono alla cute della metà interna della gamba. Termina a livello del collo del piede fornendo alcuni filuzzi articolari per l'articolazione tibio-tarsica e alcuni filuzzi articolari che si ramificano lungo il margine interno del piede fino alla radice dell'alluce. [43]

Studi recenti hanno approfondito i rapporti delle ramificazioni del ramo tibiale del nervo safeno a livello della gamba (figura 8).



Figura 8: dissezione dei nervi superficiali della gamba. Il laccio blu indica la vena safena affiancata dal ramo tibiale del nervo safeno. (Dissezione eseguita in collaborazione del Dott. Driss El Amrani).

Nella maggior parte dei casi se ne riscontrano almeno due, con una forte tendenza ad

incrociare la vena safena magna. Sebbene la variabilità di ramificazione sia notevole, Wilmot ed Evans hanno identificato recentemente tre pattern principali decorrente di distribuzione del nervo safeno a livello della gamba [49].

Nel tipo A il nervo safeno emerge come ramo unico a livello della piega di flessione del poplite e si biforca inferiormente in due branche, prossimalmente al malleolo mediale, una e una posteriormente alla vena safena.

Nel tipo B il nervo safeno viaggia inferiormente nella gamba anteriormente alla vena safena dando un piccolo ramo posteriore poco lontano dalla piega di flessione del poplite.

Nel tipo C si riscontrano due rami principali che originano già separati a livello della piega di flessione del poplite che decorrono anteriormente e posteriormente alla vena safena magna.

Sebbene i rapporti tra vena e nervo sono molto stretti per tutta la lunghezza della gamba, essi si accentuano a livello del terzo inferiore, dove spesso aderiscono l'uno all'altro, come messo in evidenza da diversi recenti studi. Tale aderenza si perde a livello del dorso del piede, dove nervo e vena hanno una diversa distribuzione [28] [8] [45].

1.5 Le tecniche d'iniezione vascolare applicate allo studio delle perforanti

Nel corso degli ultimi decenni, lo sviluppo e l'evoluzione delle tecniche per la visualizzazione dei vasi su cadavere ha suscitato un rinnovato interesse per gli studi anatomici effettuati con le tecniche antiche, integrate e sviluppate con le nuove tecnologie, consentendo una maggiore efficacia e chiarezza osservativa.

Varie procedure, impiegando diversi materiali, sono state usate nella ricerca anatomica. Diverse tinture colorate sono state impiegate dai primi anatomisti moderni (in particolare Jean Riolan nel XVII secolo) per evidenziare la rete arteriosa e facilitare lo studio dell'anatomia vascolare[2; 3].

Quindi si è giunti all'impiego delle cosiddette "Masse d'iniezione", che sono delle sostanze liquide che hanno la proprietà di solidificare a temperatura ambiente [2]. Jan Swammerdam (1637-1680) è generalmente considerato come l'inventore di questa tecnica, che viene utilizzata ancora oggi per riempire i vasi sanguigni e facilitare la dissezione[2; 35].

Il lattice è il materiale attualmente più impiegato per tale scopo. Grazie all'uso di entrambe queste tecniche, basandosi sull'uso di lattice con abbinate sostanze coloranti, prima della scoperta dei raggi X, Carl Manchot nel 1889 pubblicò un importante lavoro sulla vascolarizzazione della cute: *Die Hautarterien des Menschlichen Körpers* [2; 22]. Tuttavia, la complessità dell'architettura dell'apparato vascolare ha rappresentato una vera e propria sfida per gli anatomisti. Così, nel tempo, diversi studi di corrosione, sono stati ampiamente utilizzati per svelarne le diramazioni.

Per primo l'anatomista olandese Federico Ruysch (1638-1731) ha lavorato con resina e composti di cera [35]. Un secolo più tardi Joseph Hyrtl (1811-1894), ha pubblicato un atlante con dettagliate illustrazioni, basato sulla corrosione[2]. A quel tempo, i maggiori problemi con le tecniche di corrosione erano la fragilità dei campioni e la difficoltà a ottenere il completo riempimento dei vasi più piccoli[47].

Nel 1930 cominciarono a essere disponibili nuovi materiali polimerici sintetici e la loro applicazione ai *corrosion cast* ha largamente risolto questi problemi[40].

Oggi gli studi di corrosione possono produrre un livello di dettaglio molto elevato (anche ultramicroscopico) consentendo pure approcci quantitativi morfologici complessi [10]. Tali studi devono spesso essere combinati con altri tipi di indagini, poiché il rapporto della vascolarizzazione con i suoi tessuti circostanti vengono persi a causa della dissoluzione dei tessuti molli [3].

L'applicazione dell'imaging radiografico all'anatomia vascolare è stato un importante passo avanti nel campo dell'anatomia vascolare. Imaging a raggi X bidimensionali sono stati lo standard per studiare l'anatomia vascolare dei lembi chirurgici per quasi un secolo[51].

Oggi sono a disposizione nuove tecniche di imaging come la tomografia computerizzata (TC) che può valutare l'anatomia vascolare con elevato dettaglio. Le moderne TC elicoidali con dispositivi multislice forniscono dati sufficienti per generare modelli 3D con risoluzione sub millimetrica[2; 32].

2. Scopo del lavoro

Un'approfondita conoscenza della distribuzione delle perforanti dell'arteria tibiale posteriore è una condizione indispensabile per il corretto allestimento dei lembi cutanei della gamba e per aumentare il numero di indicazioni e l'affidabilità dei lembi perforanti allestiti sulla faccia mediale della gamba, specialmente al terzo medio e distale della gamba.

Per questo, di recente, le perforanti dell'arteria tibiale posteriore sono state oggetto di diversi studi anatomici che ne hanno valutato la posizione e diametro.

Tuttavia, ancora oggi non è stata ancora definita l'anatomia delle perforanti al terzo distale dell'arteria tibiale posteriore. In particolare non è ancora chiara la posizione dei vasi più distali clinicamente affidabili per l'allestimento di lembi perforanti. Di questi vasi non è stato ancora studiato in maniera dettagliata dal punto di vista anatomico il rapporto con l'asse neurovascolare costituito dalla vena safena magna e dal nervo safeno.

Una miglior conoscenza e comprensione della posizione media delle perforanti del peduncolo tibiale posteriore sarebbe importante per la corretta pianificazione dei lembi a livello del terzo distale di gamba. Altrettanto importante sarebbe chiarire i rapporti tra le branche di tali perforanti e la vena e il nervo safeno, sebbene la maggior parte degli esperti consiglia l'inclusione della vena safena in questi lembi per includere i plessi arteriosi circostanti, non è chiaro se questi dipendano maggiormente dalla vena safena magna o dal ramo tibiale del nervo safeno. Lo scopo del presente studio anatomico quindi sarà quello di valutare la localizzazione delle perforanti più distali dei vasi tibiali posteriori e di chiarire i rapporti anatomici tra le branche di divisione di queste perforanti e il nervo e la vena safena magna.

Per fornire una mappatura precisa delle perforanti più distali dell'arteria tibiale posteriore e valutarne accuratamente i rapporti con vena e il nervo safeno è stato

inoltre necessario mettere a punto un nuovo sistema di iniezione vascolare che rendesse possibile uno studio comparato anatomico e radiologico dei pezzi anatomici.

Pertanto, il presente lavoro si articola in due fasi: un primo tempo di sviluppo e validazione di una nuova tecnica d'iniezione vascolare con un mezzo di contrasto che al tempo stesso permetta lo studio radiologico e dissectorio dei preparati anatomici; un secondo tempo di applicazione di tale metodica allo studio delle perforanti distali di gamba.

3. Materiali e metodi

3.1 Studio e validazione di un nuovo metodo di iniezione vascolare

Il mezzo di contrasto proposto è costituito principalmente dalla resina epossidica E 227, un copolimero costituito dalla miscela di 2 componenti in proporzioni di 2:1 (un componente A, una resina nota per essere irritante per la cute, e un componente B “indurente”, segnalato come avente proprietà corrosive, ma il cui copolimero risultante dalla completa miscelazione, risulta essere tossicologicamente sicuro).

La resina E 227 si presenta come una soluzione limpida, incolore, immiscibile con acqua, e con una bassa viscosità, tanto da poter essere facilmente perfusa anche a pressioni fisiologiche. La sua polimerizzazione catalitica a 20°C, inizia in 30 minuti dopo la miscelazione, senza modifiche di volume, con produzione di calore, e con un tempo completo di maturazione a 25°C di 72 h.

La resina è stata miscelata con solfato di bario (in forma di polvere bianca ottenuta trattando solfuro di bario con acido solforico, e che grazie alla sua insolubilità in acqua risulta essere il sale di bario meno tossico).

Il solfato di bario viene comunemente usato come riempitivo nelle resine epossidiche, per migliorare la resistenza fisica e ridurre il restringimento.

In pratica, sono stati miscelati 340 g di solfato di bario (Prontobarrio HD TM BRACCO) con 400 ml di composto A e 200 ml di composto B, per ottenere una concentrazione di 50g di solfato di bario in 100ml di soluzione finale, e in ultimo sono stati aggiunti 2 g di croceina (un colorante rosso azoico) [3].

3.1.1 Validazione della tecnica

Sono stati utilizzati 8 arti (4 braccia e 4 gambe) concessi tramite il programma di donazione del corpo presso l'Università di Bordeaux. A questi sono state recise le estremità della dita, e mantenuti in sospensione verticale per evitare il collasso dei vasi causato dal peso; quindi le arterie, rispettivamente omerale e femorale, dopo essere state incannulate, venivano iniettate con acqua tiepida, fino a fare raggiungere ad ogni arto la temperatura di 30°C.

Il sistema di infusione consisteva in una siringa raccordata a un manometro e collegata alla cannula di infusione. Quindi il materiale suddetto è stato iniettato nei campioni. La perfusione è continuata fino a che, dopo la completa fuoriuscita del sangue, dai vasi iniziava a colare puramente il nostro materiale iniettivo. Alcuni campioni del materiale iniettivo fuoriuscito sono stati raccolti e confrontati con i resti del materiale da iniettare, in modo da monitorare la polimerizzazione.

A distanza di 12 ore dall'iniezione i pezzi anatomici iniettati sono stati posti in frigorifero a 4°C

A distanza di 24 ore dall'iniezione tutti i pezzi anatomici iniettati hanno subito una scansione TC con l'apparecchiatura Philips OPTIMA CT 660, tarato sui seguenti parametri: alimentazione ad 80 KV, spessore dello strato di 0,625 mm, e spaziatura tra le sezioni di 0,3mm.

Le ricostruzioni 3D sono state effettuate con software Osirix TM. Infine 72 h dopo l'iniezione, i campioni sono stati dissecati secondo piani anatomici.

3.2 Studio delle perforanti distali dell'arteria tibiale posteriore

Nella seconda fase del nostro studio abbiamo utilizzato 36 arti inferiori, ottenuti da 18 cadaveri attraverso il programma di donazione di corpi dell'Università di Bordeaux. L'età dei donatori variava da 60 a 90 anni (media 72 anni). Il rapporto maschi/femmine era di 2:1. In tutti gli arti l'arteria femorale era stata incannulata con un sondino naso-gastrico.

26 pezzi anatomici sono stati iniettati con lattice per riempire l'intera rete vascolare e facilitare la dissezione.

5 pezzi anatomici sono stati iniettati con la nuova formula a base di resina epossidica.

5 pezzi anatomici sono stati iniettati con una miscela di solfato di bario e gelatina ed hanno subito una TAC.

In tutti i pezzi anatomici sono stati eseguiti i seguenti interventi:

E' stata misurata la distanza tra la tuberosità tibiale anteriore e il malleolo mediale.

Con l'ausilio di occhialini binoculari Heine x 3,40 mm, per facilitare la dissezione, è stato sollevato un lembo fascio cutaneo lungo l'intera faccia mediale della gamba, dalla tuberosità tibiale al malleolo mediale.

E' stato identificato il vaso perforante distale dell'arteria tibiale posteriore con diametro superiore a 0,5 mm.

E' stata misurata la distanza dal ramo perforante distale al malleolo mediale e al margine mediale della tibia; così anche il diametro con un calibro digitale.

Il ramo perforante è stato disseccato fino alla sua origine dall'arteria tibiale posteriore, registrando meticolosamente il suo percorso.

E' stato calcolato il rapporto tra la distanza del vaso perforante dal malleolo mediale e la lunghezza totale della gamba.

Sono stati valutati i rapporti tra le branche di divisione delle perforanti della arteria tibiale posteriore e il nervo e la arteria safena. Per agevolare tale dissezione in 5 dei preparati iniettati è stato iniettato a *reverso* dalle vene superficiali del piede il circolo venoso con una miscela di resina epossidica addizionata con colorante blu.

Sulla base di tutti i dati raccolti sono stati calcolati la media, la mediana e il 5° e 95° percentile.

Le analisi statistiche sono state effettuate con il software STATA 11TM. Le ricostruzioni 3D sono state eseguite su software TM 3D Slicer.

4. Risultati

4.1 Analisi del nuovo protocollo di iniezione vascolare

Per quanto riguarda la prima fase del nostro studio, il processo d'iniezione è stato agevole: solamente nella fase finale il materiale è diventato un poco più viscoso. Dopo l'iniezione di 100 ml di soluzione, un po' di materiale rosso ha iniziato fuoriuscire dalle estremità della dita delle mani e dei piedi. Il tempo medio impiegato per la preparazione del materiale fino al completamento della fase iniettiva, è stato di circa 60 m per ogni arto.

Durante le prime ore del processo di polimerizzazione, non abbiamo notato cambiamenti di temperatura dei pezzi anatomici iniettati, che era di circa 30°C così come la temperatura ambiente. Si è invece registrato un aumento della temperatura nei campioni di materiale colato che è stato sovrapponibile a quello del materiale non iniettato (fino a 70°C). A 12 ore dopo l'iniezione il materiale non iniettato appariva indurito e i pezzi anatomici sono stati posti in frigorifero a 4°C. A distanza di 24 h dall'iniezione, gli arti all'ispezione presentavano un colore normale, senza evidenti segni di "arrossamento"; alla palpazione si è rilevata chiaramente la consistenza dura dei vasi iniettati. L'esame TC degli arti dimostrava e confermava la completa iniezione dell'asse vascolare (fig.9), dalla radice dell'arto fino ai rami più piccoli. L'insieme dei dati TC, composto da più di 1000 sezioni TC, sono stati elaborati con software Osirix TM, generando sezioni virtuali e ricostruzioni 3D della superficie del campione (fig.10).

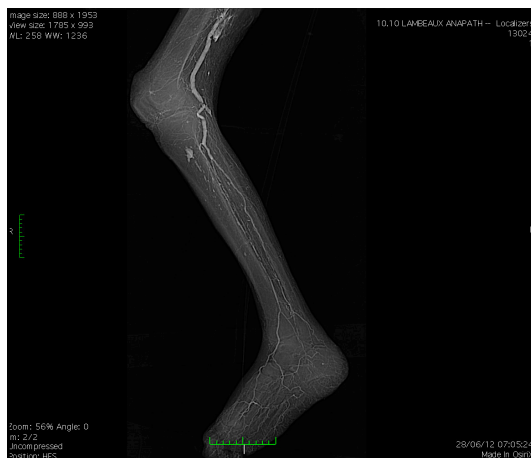


Fig. 10 Vista TC scout di un preparato anatomico di gamba dopo iniezione del mezzo di contrasto.



Figura 10: foto della dissezione di un piede dopo iniezione del mezzo di contrasto a base di resina epossidica e solfato di bario nelle quali viene dimostrata la vascolarizzazione (in alto) comparate con una ricostruzione TC (in basso).

L'anatomia vascolare nel suo complesso, è stata evidenziata senza perdite significative. Sono state rilevate le piccole arterie fino a 3mm di diametro. Dopo dissezione secondo i piani anatomici, (fig. 10) le arterie perforanti apparivano in bella evidenza, con un brillante colore rosso e un marcato contrasto rispetto ai tessuti circostanti.

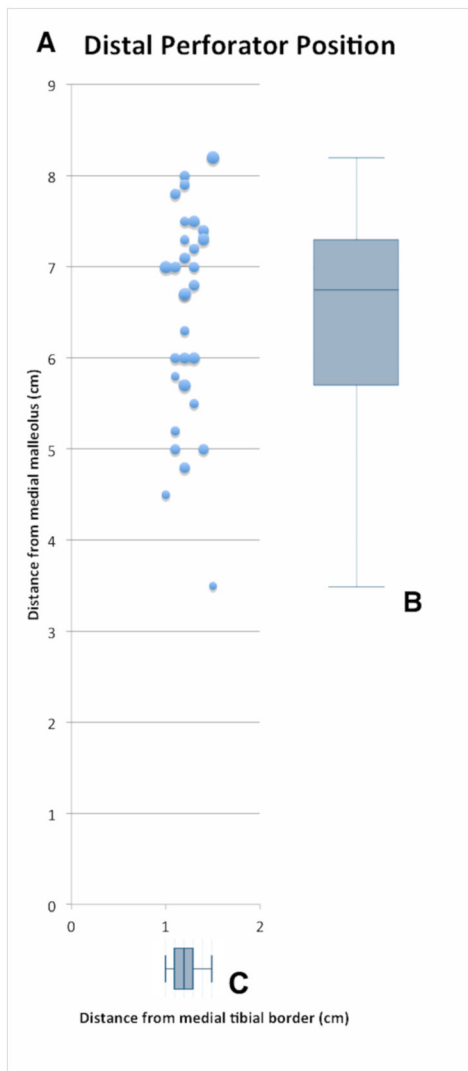
Si è rilevata una perfetta corrispondenza dello studio anatomico con gli studi di imaging, così che anche le più piccole arterie rilevate alla TC sono state individuate sul campione e viceversa. Anche le arterie più piccole, invisibili all'esame TC, fino al limite del potere di risoluzione dell'occhio, (0,1 mm misurate con un calibro digitale) sono apparse iniettate alla dissezione (figura 11). I vasi



iniettati mostravano una durezza tipica che ha facilitato l'identificazione e la dissezione anche delle arterie più piccole.

Figura 11: Particolare della vascolarizzazione del campione iniettato.

4.2 Analisi della localizzazione delle perforanti distali dell'arteria tibiale posteriore.



In figura 12 sono rappresentate la distribuzione della posizione relativa delle arterie perforanti e le loro dimensioni. La lunghezza media della gamba era di 30,7 cm (mediana 30 cm, range 28-34 cm). Il vaso perforante distale è stato identificato in tutti i campioni. Alla sua origine il calibro medio era di 0,77 mm (range 0,6-0,95 mm) con un intervallo di confidenza del 95%(95CI): 0,74-0,80. In tutti i casi l'arteria perforante passava nel setto tra il m. flessore lungo delle dita e il m. flessore lungo dell'alluce ed era accompagnata da 2 vene (Fig. 13 e 14).

Figura 12: Grafico rappresentante la distribuzione della posizione relativa delle arterie perforanti e delle loro dimensioni.

Nelle nostre rilevazioni, la distanza tra il vaso perforante più piccolo e il malleolo mediale variava tra 3,5-8,2 cm. La media era di 6,4 cm (95%CI:6,02-6,89). La mediana era di 6,75 cm (95%CI : 6-7,19), al 5° percentile 4cm (95%CI :3,5-5), e del 95° percentile 8,1 cm (95%CI :7,56-8,2)(Fig. 11b).

La distanza media del vaso perforante distale dal margine tibiale mediale, era di 1,23 cm (95%CI:1,18-1,27). La mediana è stata di 1,2 cm (95%CI:1,2-1,3) (Fig. 11c). Il rapporto medio tra la distanza del vaso perforante distale e la lunghezza

totale della gamba, era 21% (95%CI:19,71-22,32). La mediana è stata di 21,9 % (95%CI:20-23,42), al 5° percentile 13,4% (95%CI:10,94-17,51), e il 95° 25.6% (95%CI:24,26-25,71). La figura 15 mostra una ricostruzione 3D dal *dataset* TC della vascolarizzazione della gamba che mette in evidenza le perforanti della tibiale posteriore.



Figura 13: Preparato anatomico di gamba destra (a) che mostra la sede della perforante distale (*), la vena Safena Magna (→) e il nervo safeno (>) con dettaglio (b).

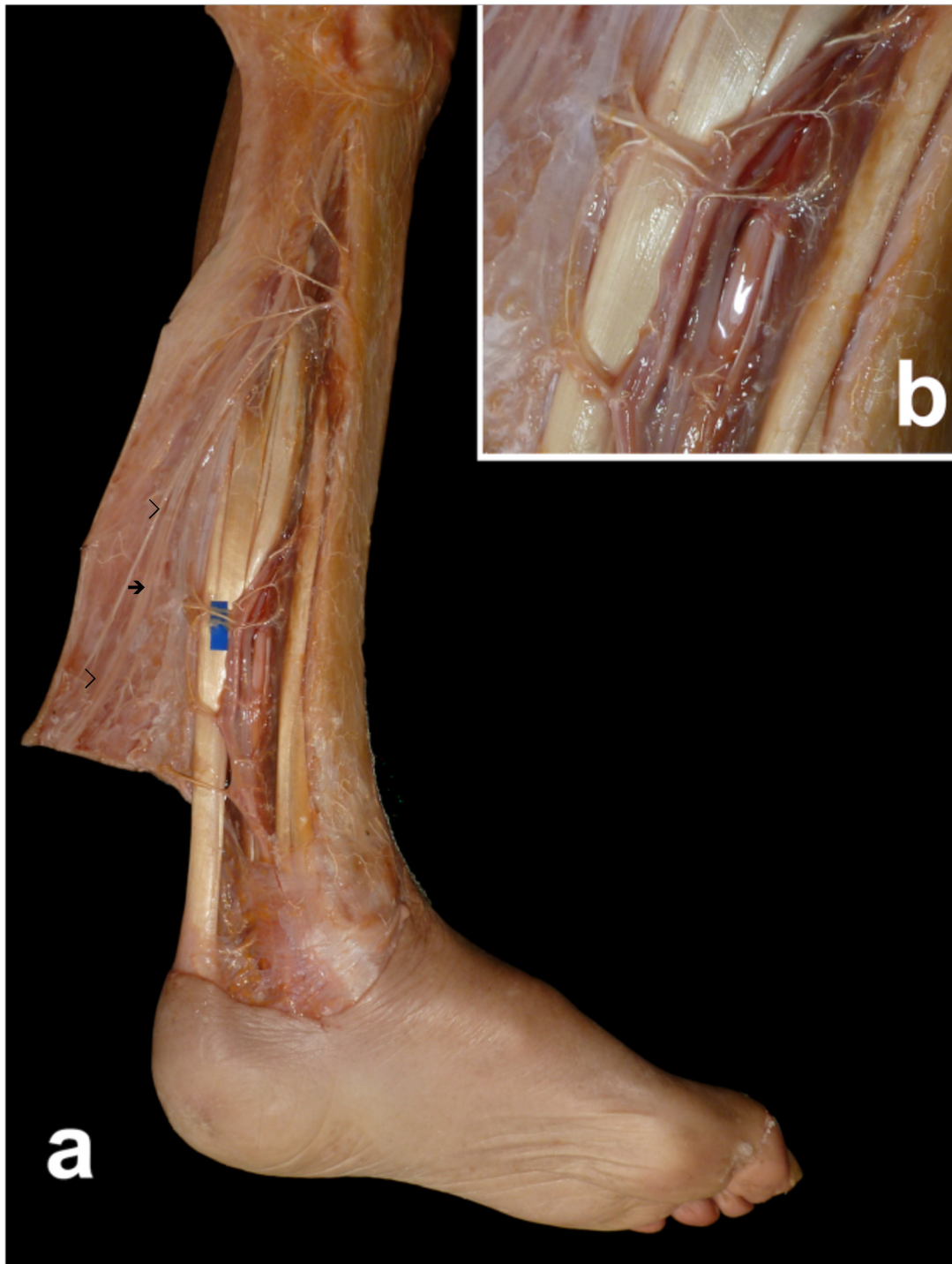


Figura 14: Dissezione gamba sinistra che mostra il decorso della perforante distale dell'arteria tibiale posteriore insieme alle 2 vene satelliti, la vena Safena Magna (→) e due rami del nervo safeno (>) con dettaglio (b).

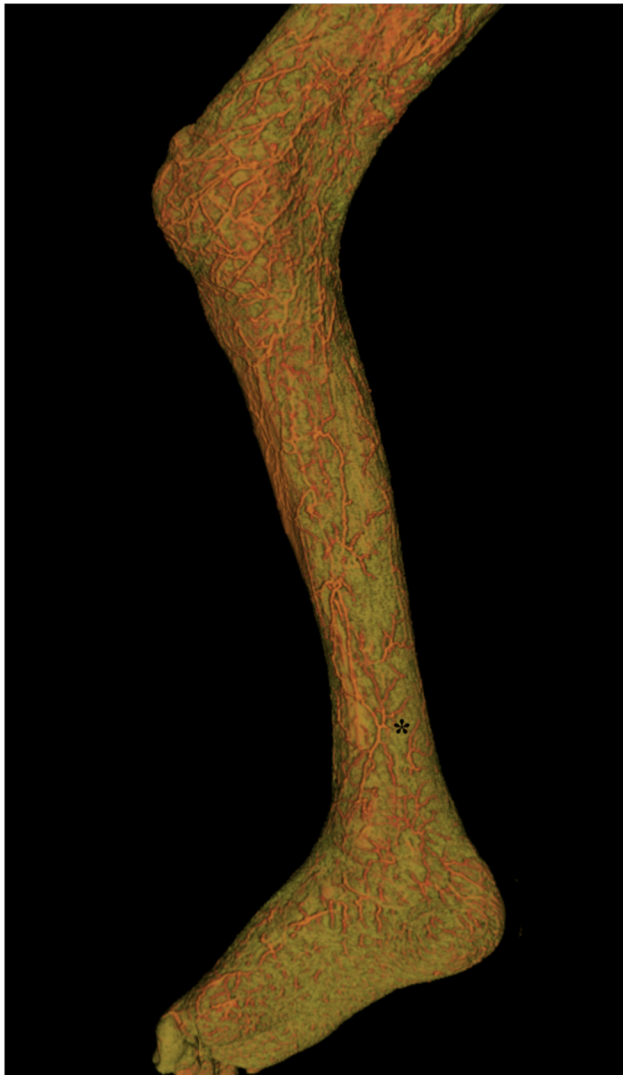


Figura 15: Ricostruzione in 3D da esame TC del preparato di figura 13. (*) vaso perforante.

Per quanto concerne i rapporti neurovascolari, è stato constatato che la vena safena magna si localizza anteriormente alla perforante dominante ad una distanza di circa 1,3 cm (95%CI 0,8-1,6).

Inoltre, le perforanti arteriose di calibro maggiore accompagnate costantemente da due vene perforanti che mettono in comunicazione il circolo venoso superficiale e quello profondo.

Nel 86% (31 su 36, con una concordanza di lato in due cadaveri) dei casi al terzo inferiore della gamba si è riscontrata una stretta associazione tra almeno una branca tibiale del nervo safeno e la vena safena magna, con una distanza reciproca inferiore ai 5mm. Tuttavia, nei restanti 5 casi tale distanza era maggiore (max 10mm). In questi casi il nervo safeno è apparso associato ad una differente vena superficiale (fig. 16)



Figura 16: preparato per iniezione della arteria tibiale posteriore (rosso) e delle vene superficiali. In questo caso la branca tibiale del nervo safeno accompagna nel terzo distale di gamba una vena superficiale secondaria.

Le branche tibiali del nervo safeno sono costantemente accompagnate da una piccola arteria la quale si anastomizza con le branche delle perforanti della tibiale posteriore.

In tutti i casi è stato riscontrato che da questa piccola arteria emergono branche cutanee rilevanti.

E' stato invece costantemente messo in evidenza un plesso arterioso attorno alla vena safena da cui partono rami cutanei (fig.17).

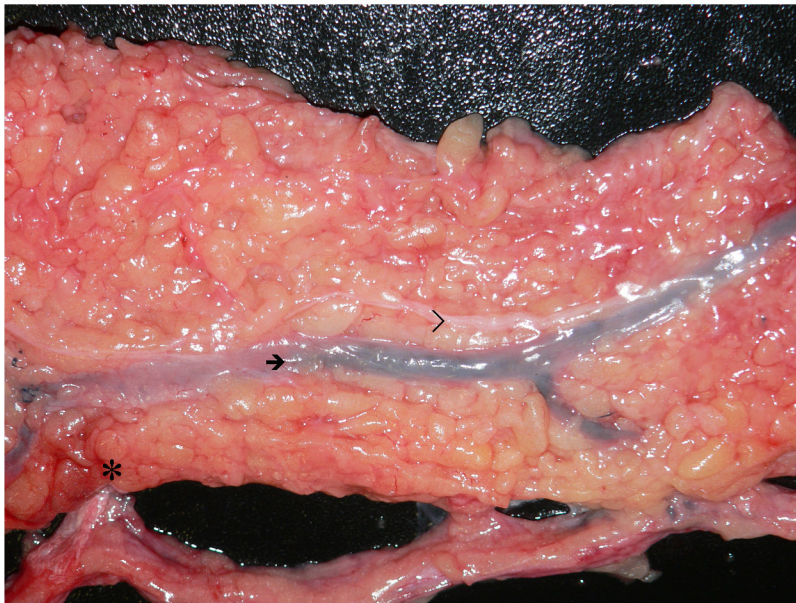


Figura 17: preparato di tessuto sottocutaneo del terzo medio di gamba contenente l'arteria tibiale posteriore con la sua perforante distale (*), la vena Safena Magna (→) e il nervo safeno(>).

5. Discussione

Ancora oggi, nonostante la scoperta dei mezzi di contrasto più sicuri e la crescente sensibilità dei rilevatori di raggi X, gli studi basati su iniezioni di cadavere non sono ancora stati soppiantati dagli studi radiologici in vivo; inoltre, la consapevolezza degli effetti biologici dei raggi X, impedisce al ricercatore di utilizzare queste tecniche per scopi non clinici. In questo contesto, è evidente l'importanza delle caratteristiche e della qualità del materiale iniettivo impiegato per ottenere una descrizione dettagliata dell'architettura vascolare di un distretto anatomico.

I vari materiali utilizzati nel corso del tempo negli studi radiologici applicati all'anatomia vascolare, accanto a delle indubbie qualità positive, presentavano anche tossicità, difficoltà di reperimento o costi eccessivi, scarsa adattabilità o insufficiente stabilità.

Il primo angiogramma risale al 1896 e fu eseguito con un'iniezione di miscela di Teichmann, che consisteva di petrolio, mercurio e gesso, nelle arterie di una mano umana di cadavere. [20]

In seguito, nel 1920, è stato descritto il solfato di bario come mezzo di contrasto che generalmente veniva miscelato con la gelatina per garantire una maggiore coesione e facilitare la dissezione. Già dal 1907 veniva descritta da Jamin Merkel una tecnica di iniezione di ossido di piombo [15] che è stata in seguito affinata da Salmon e applicata allo studio della rete vascolare dei muscoli[37]. Anche se entrambe le sostanze sono ancora oggi in uso, l'ossido di piombo ha in gran parte soppiantato il solfato di bario come mezzo di contrasto standard per lo studio radiologico dell'apparato vascolare per la sua radiopacità[2].

Più recentemente Taylor ha applicato una variazione della tecnica di Salmon, per lo studio della vascolarizzazione della cute[42]: si tratta di una miscela gelatinosa di ossido di piombo che presenta una notevole radio-opacità e un colore arancione brillante che facilita la dissezione delle strutture vascolari. Tale tecnica, poco costosa, semplice ed affidabile offre eccellenti risultati angiografici. Tuttavia la tossicità del

piombo limita l'utilizzo in laboratorio di questa miscela e pone complessi problemi di smaltimento dei pezzi anatomici iniettati[2].

Il nostro studio ha dimostrato con efficacia l'utilità della sostanza da noi proposta come mezzo iniettivo a bassa viscosità che garantisce una buona perfusione anche dei vasi più piccoli, una colorazione vivace e buone proprietà meccaniche per supportare successive manipolazioni e studi. A differenza di mezzi di contrasto a base di gelatina, la resina solidifica e non fuoriesce dai vasi in caso essi siano sezionati. Inoltre, la rigidità della resina fa sì che durante la dissezione i vasi conservino la loro forma durante la dissezione anche quando viene a mancare il supporto dei tessuti circostanti. Tutto ciò permette un esame della struttura tridimensionale prima possibile solo con i studi di corrosion cast. Le sostanze finora applicate agli studi di corrosione però non avevano una sufficiente radiopacità tale da poter essere impiegate in studi radiologici. Il preparato da noi presentato è stato concepito per avere sia caratteristiche di rigidità che di radiopacità e ha dimostrato di consentire studi comparativianatomici e radiologici. Il mezzo di contrasto ha mostrato elevata radiopacità alla TC, poiché la viscosità del prodotto è direttamente proporzionale alla quantità di bario disciolto, sarà interessante in futuro apportare variazioni alla formula, in particolare rispetto alla quantità di prodotto radiopaco, per migliorarne la fluidità, senza ridurre la radiopacità.

La validazione del protocollo iniettivo ci ha permesso di applicarlo allo studio delle perforanti distali dell'arteria tibiale posteriore.

La letteratura degli ultimi anni ha dimostrato un crescente interesse da parte dei chirurghi e degli anatomisti per la posizione delle perforanti delle arterie della gamba. In particolare tre di questi studi hanno focalizzato il loro interesse sui rami perforanti distali dell'arteria tibiale posteriore. Nel 1992 Koshima ha segnalato la presenza di un gruppo di arterie perforanti poste in siti compresi tra i 70 e i 140 mm dal malleolo mediale [17].

Anche Heymans in uno studio anatomico basato su cadavere, ha evidenziato che le perforanti che alimentano il lembo si trovano lungo una linea che congiunge la

tuberosità tibiale e il malleolo mediale. Ha inoltre segnalato la presenza di 5 – 7 rami perforanti dell'arteria tibiale posteriore che decorrono nel setto intermuscolare tra il flessore lungo delle dita e il muscolo soleo nella parte distale della gamba, tra i 6 e 30 cm al disotto della tuberosità tibiale. Inoltre ha osservato anche che i rami più distali, situati fino a 20 cm sotto la tuberosità tibiale, emergono tra il muscolo flessore lungo dell'alluce e i tendini del flessore lungo delle dita[14].

Nonostante l'elevata qualità delle indagini anatomiche, lo studio di Heymans non forniva ancora una chiara localizzazione delle perforanti distali che invece è il fine del nostro lavoro, soprattutto appare difficilmente applicabile alla pratica clinica la scelta di esprimere la posizione delle perforanti come distanza dalla tuberosità tibiale.

Recentemente, Schaveriern ha impiegato il lattice e l'angiografia tomografica computerizzata su una ventina di arti inferiori per identificare con maggiore affidabilità la localizzazione dei perforanti che originano dalle arterie della parte più distale della gamba[39].

Nel terzo inferiore, ha osservato che il sito si trova tra 4 – 9 cm dalla linea intermalleolare e che contiene almeno un perforante nell'80% dei casi[39]. Tale studio appare metodologicamente più corretto, per la scelta della linea intermalleolare come repere anatomico e i risultati appaiono in accordo con quelli da noi ottenuti. Tuttavia era necessario chiarire più approfonditamente il decorso e i rapporti di questi vasi.

In sintesi, il nostro studio ha permesso di mettere in evidenza con maggiore precisione anatomica la costante presenza di una perforante distale dell'arteria tibiale posteriore di interesse chirurgico (diametro > 0,5 mm) posta a una distanza media di 6,46 cm (95CL: 6,02 – 6,89) dal malleolo mediale. In tutti i casi, l'arteria perforante passava nel setto tra il m. flessore lungo delle dita e il m. flessore lungo dell'alluce ed era accompagnata da due vene

L'osservazione anatomica e il confronto dei dati rilevati delle distanze delle perforanti distali dell'arteria tibiale posteriore dai nostri punti di repere anatomici (tuberosità tibiale, malleolo mediale, linea intermalleolare e bordo tibiale mediale), ci porta ad

affermare che nella gamba è sempre presente un vaso perforante distale di sicura affidabilità nella pratica chirurgica, nella zona compresa entro 8 cm superiormente alla linea intermalleolare. Inoltre, in caso di allestimento di lembi sembrerebbe più sicuro mantenere le incisioni longitudinali anteriori a una distanza inferiore a 1 cm dal margine tibiale mediale per evitare di lesionare la perforante.

Lo studio comparativo, dissectorio e radiologico, ha evidenziato che le branche di divisione di tali perforanti entrano costantemente in rapporto con la vena safena magna. Tali arterie vanno a costituire un plesso attorno alla vena da cui derivano rami cutanei. Non è stato invece possibile dimostrare una vera e propria vascolarizzazione neurocutanea, sebbene esista uno stretto rapporto tra nervo safeno e vena safena sembrerebbe che dalle branche arteriose dirette al nervo safeno non derivino branche cutanee clinicamente importanti. Ciò si contrappone a precedenti studi che hanno proposto la realizzazione di lembi neurocutanei basati sulla safena magna [5] ispirandosi a lembi allestibili nel territorio del nervo surale – vena piccola safena, di cui è stata dimostrata la tipologia neurovascolare [31].

Alla luce dei nostri dati, appare quindi riduttivo affermare che i nervi superficiali guidino la formazione delle diramazioni vascolari più distali.

Tali studi, in effetti, si concentrano sul settore arterioso[21]. Tuttavia, ogni chirurgo sperimenta clinicamente come nei tessuti superficiali la componente venosa sia quella preponderante. Abbiamo rilevato anche nelle nostre dissezioni come al centro del plesso arterioso derivato dalle perforanti superficiali vi sia la vena safena e non il nervo. A conferma di ciò è anche la variazione anatomica da noi repertata in cui il nervo safeno non decorre associato alla vena distalmente: anche in questi casi il plesso arterioso appare circondare la vena safena.

Offrire una spiegazione a questo fenomeno appare prematuro, tuttavia il lavoro sopracitato di Xu et al. sembra suggerire l'importanza del ruolo del distretto venoso nel corso della embriogenesi del sistema vascolare[50].

Come altri autori che ci hanno preceduto, anche noi suggeriamo l'inclusione della vena safena nei lembi allestiti in questa regione per migliorarne la vascolarizzazione. [9]

Sebbene non vi sia una base anatomica di un apporto vascolare alla cute da parte delle arterie deputate alla sua vascolarizzazione, nella maggior parte dei casi, prelievo della vena safena al terzo distale di gamba non sembra possibile senza il sacrificio di almeno una delle branche di divisione del nervo safeno.

Sebbene questo possa essere, causa di ipo- e paraestesia nel territorio di distribuzione del nervo, tuttavia probabilmente non ha lo stesso impatto clinico della neuralgia del nervo safeno dopo prelievo della stessa in corso di interventi vascolari o cardiocirurgici[49]. Malgrado questo, sarebbe sempre opportuno da parte del chirurgo cercare di salvaguardare le ulteriori branche nervose cutanee che si riscontrano spesso più superficialmente e posteriormente alla vena safena.

6. Conclusioni

I nostri risultati possono [4], in conclusione, suggerire alcuni parametri di sicurezza per rendere l'allestimento di un lembo adipofasciale mediale della gamba più sicuro nella pratica chirurgica con la possibilità di ottenere pertanto maggiori percentuali di successo, riducendo sensibilmente i rischi di complicanze legate alla necrosi del lembo.

Nonostante le diverse metodologie impiegate, i risultati del nostro studio appaiono compatibili con quelli ottenuti dai lavori precedenti, pur tuttavia estendendo più distalmente il campo di applicazione dei lembi perforanti all'arto inferiore.

Sulla base dei nostri risultati, infatti, è sempre sicuro allestire lembi perforanti sulla faccia anteromediale di gamba fino a 8 cm prossimalmente alla linea intermalleolare (95° percentile della distribuzione: 8,1 cm, 95CL: 7,56 – 8,2). Distalmente a questo limite è opportuno eseguire preventivamente uno studio vascolare.

Inoltre, è più sicuro mantenere le incisioni longitudinali anteriori a una distanza inferiore a 1 cm dal margine tibiale mediale, per evitare di lesionare la perforante.

Nell'esaminare i rapporti neurovascolari delle ramificazioni delle perforanti dell'arteria tibiale posteriore abbiamo constatato uno stretto rapporto con la vena safena. In questa regione anatomica la vascolarizzazione cutanea è apparsa dipendere maggiormente da branche derivate da plesso perivenoso. Sebbene il nervo safeno decorresse a stretto contatto con la vena in quasi tutti i soggetti esaminati, non siamo riusciti a rilevare indizi di una rilevante vascolarizzazione di tipo neurocutaneo.

C'è evidenza anatomica, quindi, nell'includere, in clinica, durante l'allestimento di lembi, la vena safena magna, sebbene questo comporti quasi inevitabilmente il sacrificio di almeno una branca del ramo tibiale del nervo safeno. Sarà cura del chirurgo di preservare le ulteriori branche nervose superficiali.

Da un punto di vista maggiormente speculativo, i nostri risultati, infine, ci inducono a rivalutare il peso che fino ad ora è stato dato al distretto arterioso nella genesi del

fenomeno della congruenza neurovascolare. Sebbene infatti le vene superficiali decorrano approssimativamente allineate ai nervi superficiali, i plessi vascolari arteriosi appaiono svilupparsi attorno alle vene, anche nei rari casi in cui il nervo è meno vicino alla vena.

Sarà interessante riesaminare, in studi ulteriori, la genesi del fenomeno della congruenza neurovascolare, focalizzando l'attenzione sul distretto venoso, che nel tessuto sottocutaneo è rappresentato da vasi di maggior rilevanza e che anche nella clinica dei lembi sembra avere profonde influenze sulla riuscita dell'intervento chirurgico.

Bibliografia

- [1] (1926). Profili bibliografici di medici e naturalisti italiani celebri dal XV al XVIII secolo. Serono.
- [2] Bergeron, L., M. Tang, et al. (2006). "A review of vascular injection techniques for the study of perforator flaps." *Plast Reconstr Surg* **117**(6): 2050-2057.
- [3] Bulla, A., C. Casoli, et al. (2014). "A new contrast agent for radiological and dissection studies of the arterial network of anatomic specimens." *Surg Radiol Anat* **36**(1): 79-83.
- [4] Bulla, A., L. De Luca, et al. (2015). "The localization of the distal perforators of posterior tibial artery: a cadaveric study for the correct planning of medial adipofascial flaps." *Surg Radiol Anat* **37**(1): 19-25.
- [5] Cavadas, P. C. (2003). "Reversed saphenous neurocutaneous island flap: clinical experience and evolution to the posterior tibial perforator-saphenous subcutaneous flap." *Plast Reconstr Surg* **111**(2): 837-839.
- [6] Cormack, G. C. and B. G. H. Lamberty (1986). *The arterial anatomy of skin flaps*. Edinburgh ; New York, Churchill Livingstone.
- [7] Daniel, R. K. and H. B. Williams (1973). "The free transfer of skin flaps by microvascular anastomoses. An experimental study and a reappraisal." *Plast Reconstr Surg* **52**(1): 16-31.
- [8] Dayan, V., L. Cura, et al. (2008). "Surgical anatomy of the saphenous nerve." *Ann Thorac Surg* **85**(3): 896-900.
- [9] del Pinal, F. and G. I. Taylor (1993). "The deep venous system and reverse flow flaps." *Br J Plast Surg* **46**(8): 652-664.
- [10] Gaudio, E., S. Chaberek, et al. (2005). "Fractal and Fourier analysis of the hepatic sinusoidal network in normal and cirrhotic rat liver." *J Anat* **207**(2): 107-115.
- [11] Gilbert, M. (2001). *Atlas of Flaps of the Musculoskeletal System*. Boca Raton, FL.

- [12] Godina, M. (1986). "Early microsurgical reconstruction of complex trauma of the extremities." *Plast Reconstr Surg* **78**(3): 285-292.
- [13] Hallock, G. G. (2000). "Utility of both muscle and fascia flaps in severe lower extremity trauma." *J Trauma* **48**(5): 913-917.
- [14] Heymans, O., N. Verhelle, et al. (2005). "The medial adiposofascial flap of the leg: anatomical basis and clinical applications." *Plast Reconstr Surg* **115**(3): 793-801.
- [15] Jamin, F. and H. Merkel (1907). *Die koronararterien des menschlichen herzens unter normalen und pathologischen verhältnissen*, G. Fischer.
- [16] Khouri, R. K. and W. W. Shaw (1989). "Reconstruction of the lower extremity with microvascular free flaps: a 10-year experience with 304 consecutive cases." *J Trauma* **29**(8): 1086-1094.
- [17] Koshima, I., T. Moriguchi, et al. (1992). "The vasculature and clinical application of the posterior tibial perforator-based flap." *Plast Reconstr Surg* **90**(4): 643-649.
- [18] Koshima, I., T. Yamamoto, et al. (2010). "Perforator flaps and supermicrosurgery." *Clin Plast Surg* **37**(4): 683-689, vii-iii.
- [19] Li, W., H. Kohara, et al. (2013). "Peripheral nerve-derived CXCL12 and VEGF-A regulate the patterning of arterial vessel branching in developing limb skin." *Dev Cell* **24**(4): 359-371.
- [20] Lindenthal, O. and E. Haschek (1896). "A Contribution to the Practical use of Photography According to Roentgen." *Wien Chir Wochenschr* **9**.
- [21] Makita, T. (2013). "Nerve control of blood vessel patterning." *Dev Cell* **24**(4): 340-341.
- [22] Manhot, C. (1889). *Die Hautarterien des menschlichen Körpers*.
- [23] Martin, P. and J. Lewis (1989). "Origins of the neurovascular bundle: interactions between developing nerves and blood vessels in embryonic chick skin." *Int J Dev Biol* **33**(3): 379-387.

- [24] Mathes, S. J., F. Nahai, et al. (1979). Clinical atlas of muscle and musculocutaneous flaps. St. Louis ; London, Mosby.
- [25] Milton, S. (1969). "The tubed pedicle flap." *Br Plastic Surgery*: 22-53.
- [26] Mukoyama, Y. S., H. P. Gerber, et al. (2005). "Peripheral nerve-derived VEGF promotes arterial differentiation via neuropilin 1-mediated positive feedback." *Development* **132**(5): 941-952.
- [27] Mukoyama, Y. S., D. Shin, et al. (2002). "Sensory nerves determine the pattern of arterial differentiation and blood vessel branching in the skin." *Cell* **109**(6): 693-705.
- [28] Murakami, G., N. Negishi, et al. (1994). "Anatomical relationship between saphenous vein and cutaneous nerves." *Okajimas Folia Anat Jpn* **71**(1): 21-33.
- [29] Nakajima, H., T. Fujino, et al. (1986). "A new concept of vascular supply to the skin and classification of skin flaps according to their vascularization." *Ann Plast Surg* **16**(1): 1-19.
- [30] Nakajima, H., N. Imanishi, et al. (1998). "Accompanying arteries of the cutaneous veins and cutaneous nerves in the extremities: anatomical study and a concept of the venoadipofascial and/or neuroadipofascial pedicled fasciocutaneous flap." *Plast Reconstr Surg* **102**(3): 779-791.
- [31] Nakajima, H., N. Imanishi, et al. (1999). "Accompanying arteries of the lesser saphenous vein and sural nerve: anatomic study and its clinical applications." *Plast Reconstr Surg* **103**(1): 104-120.
- [32] Nakajima, H., N. Imanishi, et al. (1997). "Three-dimensional reconstruction of cutaneous arteries of the back by computer graphic imaging." *Plast Reconstr Surg* **100**(2): 381-389.
- [33] Niranjani, N. S., R. D. Price, et al. (2000). "Fascial feeder and perforator-based V-Y advancement flaps in the reconstruction of lower limb defects." *Br J Plast Surg* **53**(8): 679-689.
- [34] Orticochea, M. (1981). "The musculocutaneous flap: personal history." *Plast Reconstr Surg* **67**(2): 258-260.
- [35] Paweletz, N. (2001). "Birth of the life sciences in The Netherlands and Belgium." *Nat Rev Mol Cell Biol* **2**(11): 857-863.

- [36] Ponten, B. (1981). "The fasciocutaneous flap: its use in soft tissue defects of the lower leg." *Br J Plast Surg* **34**(2): 215-220.
- [37] Salmon, M. (1936). *Artères de la peau*. Paris,, Masson et cie.
- [38] Sashruta, S. (1916). *Sashruta Samhita*. Calcutta, Bose.
- [39] Schaverien, M. and M. Saint-Cyr (2008). "Perforators of the lower leg: analysis of perforator locations and clinical application for pedicled perforator flaps." *Plast Reconstr Surg* **122**(1): 161-170.
- [40] Sobin, S. S. (1965). "The vascular injection method and the functional geometry of the microcirculation." *Invest Ophthalmol* **4**(6): 1105-1110.
- [41] Taylor, G. I. (2008). "The inaugural Harry J. Buncke lecture: "The anatomical renaissance"." *Microsurgery* **28**(8): 586-596.
- [42] Taylor, G. I., R. J. Corlett, et al. (2011). "The anatomical (angiosome) and clinical territories of cutaneous perforating arteries: development of the concept and designing safe flaps." *Plast Reconstr Surg* **127**(4): 1447-1459.
- [43] Testut, L. and A. Latarjet (2006). *Trattato di anatomia umana*, UTET.
- [44] Touam, C., P. Rostoucher, et al. (2001). "Comparative study of two series of distally based fasciocutaneous flaps for coverage of the lower one-fourth of the leg, the ankle, and the foot." *Plast Reconstr Surg* **107**(2): 383-392.
- [45] Veverkova, L., V. Jedlicka, et al. (2011). "The anatomical relationship between the saphenous nerve and the great saphenous vein." *Phlebology* **26**(3): 114-118.
- [46] Visconti, R. P., C. D. Richardson, et al. (2002). "Orchestration of angiogenesis and arteriovenous contribution by angiopoietins and vascular endothelial growth factor (VEGF)." *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**(12): 8219-8224.
- [47] Vollmerhaus, B. (2002). "[August Schummer (1902-1977): breaking ground for new corrosion casting anatomy]." *Anat Histol Embryol* **31**(6): 326-330.
- [48] Wei, F. M., S (2009). *Flaps and Recostrutive surgery*, Elsevier Inc.

[49] Wilmot, V. V. and D. J. Evans (2013). "Categorizing the distribution of the saphenous nerve in relation to the great saphenous vein." *Clin Anat* **26**(4): 531-536.

[50] Xu, C., S. S. Hasan, et al. (2014). "Arteries are formed by vein-derived endothelial tip cells." *Nat Commun* **5**: 5758.

[51] Yin, Z. X., T. H. Peng, et al. (2012). "Three-dimensional visualization of the cutaneous angiosome using angiography." *Clin Anat*.