



ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УДК 616.13/14-093-089.12

ТЕХНИКА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО СТЕНТИРОВАНИЯ СОСУДОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ IN VIVO

Д. В. Бызов, Н. А. Чиж, И. П. Михайлова, С. Д. Салогуб, Б. П. Сандомирский

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков,
Харьковская городская поликлиника № 10

TECHNIQUE OF EXPERIMENTAL STENTING OF VESSELS FOR INVESTIGATIONS IN VIVO

D. V. Byzov, N. A. Chizh, I. P. Mikhaylova, S. D. Salogub, B. P. Sandomirskiy

Атеросклеротическое поражение артерий является основной причиной смертности населения в мире. Частота окклюзионного поражения периферических артерий составляет около 12% у взрослого населения, сопровождается высоким риском возникновения острых сердечно-сосудистых осложнений [1].

Металлические сосудистые эндопротезы (стенты) внедрены в клиническую практику для сохранения или восстановления просвета артерий [2]. Сосудистые стенты оказались эффективными при лечении ишемической болезни сердца, в качестве дополнения к баллонной ангиопластике более чем в 95% наблюдений [3, 4]. При имплантации стентов частота последующего рестеноза уменьшилась на 30% по сравнению с таковой после обычной ангиопластики [5].

Несмотря на то, что стентирование является перспективным направлением в интервенционной кардиологии, проблема рестеноза полностью не решена, "in-stent" стеноз является сложной клинической проблемой.

Внедрение в клиническую практику новых систем сосудистых стентов, в частности, биодеградирующих или новых поколений элютинг-стентов, требует проведения доклинических исследований in vivo [5, 6]. Однако необходимость

Реферат

Внедрение в клиническую практику новых систем для стентирования сосудов требует проведения доклинических исследований in vivo. Представлен метод имплантации сосудистых стентов в брюшную часть аорты (БЧА) кроля с помощью периферического сосудистого катетера. Последовательно представлены хирургические аспекты стентирования сосудов в эксперименте, оценка функционального состояния сердца и аорты, морфометрические показатели стента через 30 сут после операции. Внедрение описанной методики позволяет упростить хирургическую технику, минимизировать затраты на проведение вмешательств на сосудах в эксперименте. Методика не требует применения специального эндоваскулярного оборудования и может быть успешно реализована в условиях общехирургической операционной для проведения экспериментальных исследований на стендах.

Ключевые слова: сосудистые стенты; модель; эксперимент.

Abstract

Introduction of a new systems for the vessels stenting into clinical practice demands conduction of preclinical investigations in vivo. The method of vascular stents implantation into abdominal aorta of a rabbit, using peripheral vascular catheter, was presented. Successively were presented surgical aspects of the vessels stenting in experiment, estimation of functional state of the heart and aorta, morphometric indices of the stent in 30 days after operation. Introduction of the method depicted permits to simplify a surgical technique, to minimize the expanses for conduction of interventions on vessels in experiment. The method do not demand application of special endovascular equipment and may be successfully realized in environment of the general surgery operation room for conduction of experimental investigations on the stends.

Key words: vascular stents; simulation model; experiment.

использования специализированных хирургических инструментов, дорогостоящего медицинского оборудования для экспериментальных эндоваскулярных манипуляций, а также стоимость лабораторных животных и их содержания в значительной степени увеличивают конечную стоимость подобных исследований.

Из мелких лабораторных животных для системных исследований

сосудистых стентов наиболее часто используют кролей. Стент имплантируют в подвздошную артерию, сонную артерию и/или аорту. Несмотря на широкое использование этой модели, детальное описание процедуры и протокол экспериментального стентирования сосудов опубликованы недавно и только для подвздошной артерии кролей [7]. Подробного описания процедуры стентирования аорты кроля с де-

тальной инструкцией для исследователей в печати нет.

Цель исследования: разработка доступной методики имплантации стента в БЧА кроля.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 1986) и требованиями, утвержденными IV Украинским национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2010).

Для исследований использовали 40 кролей—самцов породы шиншилла, массой тела 2500 — 4000 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария при постоянной температуре 22°C и влажности 65%.

Биодеградирующие сосудистые стенты для исследования в соответствии с партнерским проектом предоставлены УНТЦ № Р 554. Длина стента 15 мм, закрытый диаметр 1,2 мм, открытый — 3,5 мм.

Функциональную способность миокарда и аорты оценивали по данным электрокардиографии (ЭКГ) и ультразвукового исследования (УЗИ). ЭКГ анализировали с использованием аппаратно—программного комплекса "Полиспектр—8/В" ("Нейрософт", Россия). БЧА экспериментальных животных изучена на 30—е сутки после операции с использованием ультразвукового сканера "Ultima PRO—30" ("Радмир", Украина) в В—D режиме с частотой 2—5 МГц, 4—7,5 МГц и импульсного доплера.

Сегменты БЧА оценивали по данным гистологических исследований, срезы окрашивали гематоксилином и эозином.

Статистическая обработка результатов проведена с использованием параметрического метода Стьюдента—Фишера, t—критерия и теста ANOVA. Количественные данные представлены в виде средних величин и стандартных отклонений. Данные рассчитаны с использованием программного обеспечения SPSS 17.0 для Windows.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для общей анестезии использовали различные сочетания препаратов [8]: ксила (ксилазина гидрохлорид) по 5 мг/кг внутримышечно, кетамин 10 мг/кг; налбуфин 5 мг/кг с дополнительной инъекцией кетамин 5 мг/кг — при необходимости продления анестезии; золетил 50 15 мг/кг с дополнительной инъекцией 5 мг/кг при необходимости.

При применении этих методов анестезии интубация трахеи не требуется. Однако адекватность дыхания следует постоянно мониторировать, при необходимости — использовать кислородную маску. У большинства животных хирургическая стадия наркоза возникала в течение 6 — 10 мин после инъекции препаратов. В целях уменьшения выраженности болевого синдрома

после операции животным вводили кеторолак по 0,5 мг/кг внутримышечно 4 раза в сутки в течение 3 сут.

Для профилактики бактериальных осложнений до операции внутримышечно вводили цефотаксим в дозе 50 мг/кг.

Хирургическая техника. В асептических условиях после предварительной подготовки передней брюшной стенки животного выполняли лапаротомию по средней линии (рис. 1).

Кишечник извлекали, сдвигали вправо и накрывали влажной теплой (37°C) стерильной салфеткой для предотвращения гипотермии и пересыхания серозной оболочки. Рядом с поясничным отделом позвоночника пальпаторно определяли пульсацию аорты. На этом этапе левый мочеточник должен быть четко визуализирован для предотвра-

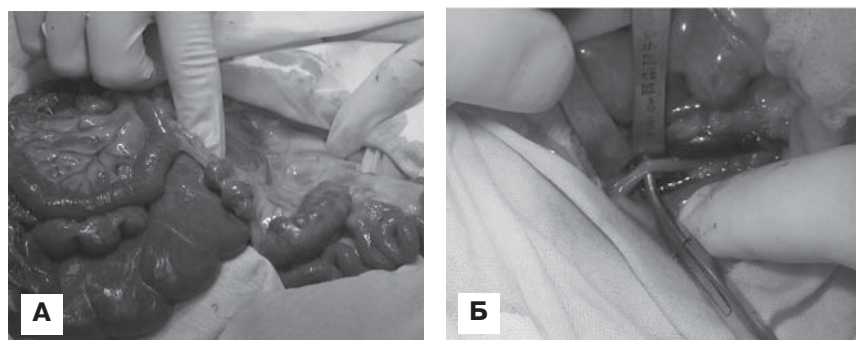


Рис. 1.

Этапы имплантации сосудистого стента в БЧА кроля.
А - срединная лапаротомия, кишечник отодвинут вправо;
Б - БЧА идентифицирована и выделена.

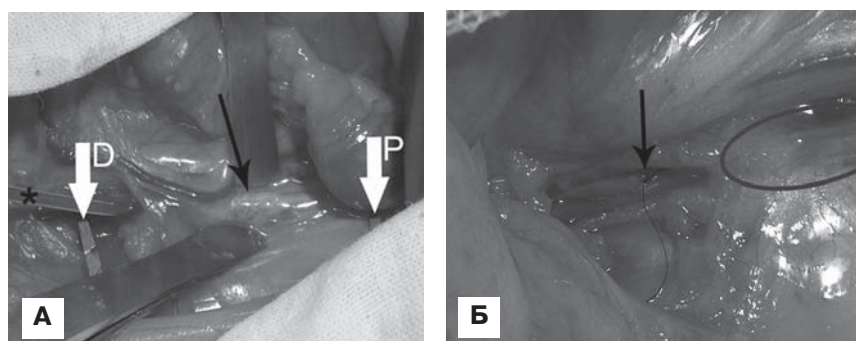


Рис. 2.

Аорта после стентирования.
А - раскрытый стент (черная стрелка); дистальная (D) и проксимальная (P) клипса (белая стрелка); периферический катетер (черная звездочка);
Б - аорта после зашивания дефекта; место пункции (черная стрелка); раскрытый стент (овал).

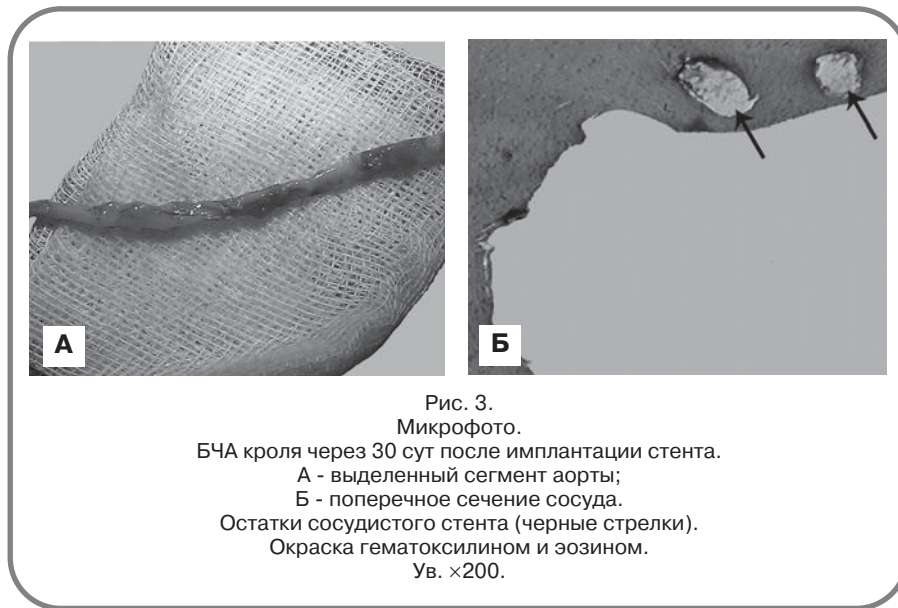


Рис. 3.
Микрофото.
БЧА кроля через 30 сут после имплантации стента.
А - выделенный сегмент аорты;
Б - поперечное сечение сосуда.
Остатки сосудистого стента (черные стрелки).
Окраска гематоксилином и эозином.
Ув. $\times 200$.

щения его повреждения. Паритетальную брюшину над аортой рассекали, идентифицировали БЧА и нижнюю полую вену. С использованием тупого диссектора аорту отделяли от нижней полой вены в двух местах: непосредственно ниже почечных артерий и над бифуркацией аорты. Этот этап один из наиболее важных, поскольку тесное прилегание магистральных сосудов с массивными сращениями повышает риск повреждения стенки вены. Для предотвращения возможного кровотечения из катетера и четкой визуализации операционного поля в указанных точках аорту пережимали атравматичными сосудистыми клипсами.

Аорту катетеризировали между клипсами в проксимальном направлении с помощью периферического внутривенного катетера Venflon 16G ($1,7 \times 45$ мм). В зависимости от размера сосудистого стента диаметр катетера может быть различ-

ным, при этом обязательно свободное прохождение стента через катетер. При катетеризации сосуда срез иглы должен быть направлен вниз для предупреждения повреждения задней стенки аорты [7]. Сосудистый стент вводили через катетер до проксимальной клипсы. После извлечения катетера стент раскрывали с помощью водяного насоса Boston Scientific Encore (США) при давлении 11 — 14 атм, в зависимости от диаметра сосуда и размеров стента. Окончательное положение стента визуализировали и оценивали через стенку сосуда (рис. 2). На дефект стенки аорты, образовавшийся вследствие прокола катетером, накладывали один простой узловый шов проленом 6—0. Клипсы удаляли, начиная с дистальной. Осуществляли окончательный гемостаз и контролировали пульсацию дистальнее места пункции. Операционное поле и петли кишечника промывали 1% раствором диоксидина.

Кишечник погружали в брюшную полость, брюшную стенку послойно зашивали. После операции в качестве антитромботической профилактики подкожно вводили разовую дозу клексана (эноксапарина натрия) 1,5 мг/кг.

В раннем и позднем послеоперационном периоде значимых осложнений не было. Кровоток в БЧА не нарушен, острый тромбоз не наблюдали. В 1—е сутки после операции физиологическая активность у всех животных полностью восстанавливалась. После отработки соответствующих практических навыков продолжительность операции составляла 25 — 35 мин.

По данным ЭКГ через 30 сут после стентирования отмечали правильный синусовый ритм. Частота сокращений сердца (ЧСС) достоверно не отличалась от таковой в норме и составляла в среднем (220 ± 25) в 1 мин, в норме (207 ± 35) в 1 мин. По данным контурного анализа патологические изменения в комплексе QRS—T не наблюдали.

УЗИ через переднюю брюшную стенку позволило четко визуализировать имплантат и оценить основные показатели кровотока в стентированной аорте. Кровоток был ламинарным во всех сегментах аорты, включая стентированные области. Диаметр сосуда и скорость кровотока представлены в таблице.

Достоверные изменения диаметра и скорости кровотока в различных частях БЧА не наблюдали. Стенты расположены правильно, без аневризматических и/или стенотических нарушений.

Через 30 сут оценивали морфологические изменения БЧА. Извлечение аорты не представляло сложностей, получен сегмент стентированного сосуда достаточной длины для последующей полноценной макроскопической оценки (рис. 3).

По данным гистологического исследования, через 30 сут после имплантации стента визуализировали остатки введенных биодеградируемых имплантатов, расположенные в толще стенки сосуда и покрытые эндотелием. Признаки гиперплазии неоинтимы и пристеночного тромбообразования отсутствовали.

Диаметр и скорость кровотока в БЧА кроля на 30-е сутки после стентирования

Часть аорты	Показатель ($\bar{x} \pm m$)			
	диаметр аорты, мм		скорость кровотока, см/с	
	в норме	в опыте	в норме	в опыте
Инфраренальная	$2,3 \pm 0,25$	$2,3 \pm 0,25$	$35 \pm 5,7$	$35 \pm 3,6$
Проксимальнее стента		$2,3 \pm 0,15$		$35 \pm 4,7$
Стентированная область		$2,4 \pm 0,23$		$34 \pm 7,2$
Дистальнее стента		$2,4 \pm 0,17$		$36 \pm 5,4$

Расстояние между остатками стентов составляло в среднем (147 ± 29) мкм, их площадь — (1541 ± 360) мкм². Все имплантированные стенты полностью раскрыты и распределены пропорционально площади стенки сосуда.

Выраженные воспалительные и иммунные реакции тканей на стенты в виде лейкоцитарной или макрофагальной инфильтрации не наблюдали.

Стандартный сосудистый доступ для осуществления баллонной ангиопластики и стентирования сосудов применяют в соответствии с техникой Seldinger, с использованием интродьюсера и металлического проводника. Проведение ангиографии необходимо как при введении стента, так и после выполнения процедуры, для контроля окончательного положения имплантата.

Поскольку реальная область исследовательских интересов в большинстве наблюдений сфокусирована на изучении локальных изменений стентированного сосуда, возможны отступления от "классического" способа имплантации стен-

тов. Предлагаемый способ экспериментального стентирования не требует специального эндоваскулярного оборудования и может быть успешно реализован в условиях общехирургической операционной. Использована открытая методика имплантации сосудистого стента с хирургическим доступом через брюшную полость. Другой особенностью методики являлось то, что стент вводили в сосуд не на проводнике, а через внутривенный катетер.

Описанный метод соответствует всем требованиям для осуществления стентирования и обеспечивает выживание всех экспериментальных животных. Выраженных изменений функциональной способности миокарда и параметров кровотока в аорте после операции не наблюдали.

Дополнительная хирургическая травма (лапаротомия) несколько осложняет течение восстановительного периода и требует проведения антибиотикопрофилактики, однако не влияет на окончательные результаты экспериментального стентирования.

ВЫВОДЫ

1. Предложенный метод экспериментального стентирования БЧА кроля позволяет упростить хирургическую технику и минимизировать расходы на проведение доклинических исследований *in vivo* благодаря использованию общехирургических инструментов и оборудования.

2. Методы функциональной диагностики показали, что через 30 сут после имплантации сосудистого стента в БЧА патологические изменения параметров сердечно-сосудистой системы отсутствовали.

3. По данным морфологических исследований стенки аорты стент полностью раскрыт и равномерно распределялся по люминальной поверхности сосуда, предотвращая его сужение.

ЛИТЕРАТУРА

1. Antiplatelet therapy in peripheral artery disease / F. Violi, S. Basili, J. Berger [et al.] // *Handb. Exp. Pharmacol.* — 2012. — Vol. 210. — P. 547 — 563.
2. Evaluation of coronary stents in the animal model: a review / H. Wieneke, M. Haude, M. Knocks [et al.] // *Mat. Wiss. Werkstofftech.* — 1999. — Bd. 30. — S. 809 — 813.
3. Improved clinical outcome after widespread use of coronary-artery stenting in Canada / J. Rankin, J. Spinelli, R. Carere [et al.] // *New Engl. J. Med.* — 1999. — Vol. 341. — P. 1957 — 1965.
4. Randomized comparison of implantation of heparin-coated stents with balloon angioplasty in selected patients with coronary artery disease (benestent II) // P. Serruys, B. Van Hout, H. Bonnier [et al.] // *Lancet.* — 1998. — Vol. 352. — P. 673 — 681.
5. Combined stent implantation and embolization with liquid 2-hydroxyethyl methacrylate for treatment of experimental canine wide-necked aneurysms / J. Klisch, F. Schellhammer, J. Zitt [et al.] // *Neuroradiology.* — 2002. — Vol. 44, N 6. — P. 503 — 512.
6. A novel flexible, retrievable endovascular stent system for small-vessel anatomy: preliminary *in vivo* data / A. Doerfler, W. Becker, I. Wanke [et al.] // *Am. J. Neuroradiol.* — 2005. — Vol. 26, N 4. — P. 862 — 868.
7. Development of a rabbit model for a preclinical comparison of coronary stent types *in vivo* / J. Lee, J. Lee, H. Jeong [et al.] // *Korean Circ. J.* — 2013. — Vol. 43, N 11. — P. 713 — 722.
8. *McKelvey D. Veterinary Anesthesia and Analgesia* / D. McKelvey, K. Hollingshead. — St. Louis: Mosby, 2003.

