

ТРОМБООБРАЗОВАНИЕ В ПРОТЕЗЕ СОСУДА КАК РЕАКЦИЯ ОРГАНИЗМА НА ЕГО МАТЕРИАЛ

Т. А. Алексеева, Ю. М. Гупало, А. М. Коломоец, О. Н. Лазаренко, Г. О. Лазаренко,
П. М. Литвин, И. В. Лось, В. И. Сморжевский, В. И. Степкин

Институт химии поверхности имени А. А. Чуйко НАН Украины,
Научно-практический центр профилактической и клинической медицины ГУД,
Институт физики полупроводников имени Е. В. Лашкарева НАН Украины,
Институт физики НАН Украины,

Национальная медицинская академия последиplomного образования имени П. Л. Шупика МЗ Украины, г. Киев

THE THROMBUS FORMATION IN THE PROSTHESIS AS A REACTION OF ORGANISM ON ITS MATERIAL

T. A. Alekseyeva, Yu. M. Gupalo, A. M. Kolomoets, O. N. Lazarenko, G. O. Lazarenko,
P. M. Litvin, I. V. Lohs, V. J. Smorzhevskiy, V. I. Stepkin

Institute of the Surface Chemistry named after A. A. Chuyko NAS of Ukraine,
Scientific and Practical Centre of Preventive and Clinical Medicine of the State Administration,
Institute of Physics of Semiconductors named after E. V. Lashkarev NAS of Ukraine,
Institute of Physics NAS of Ukraine,

Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education MH of Ukraine, Kyiv

Реконструкция артерий с восстановлением кровотока в бедренно-подколенном сегменте является стандартным методом лечения окклюзионных заболеваний. При выполнении таких операций используют имплантаты в виде протеза, изготовленного из тефлона (ПТФЕ), полимера, химически устойчивого к различным воздействиям. К сожалению, через некоторое время у 20% оперированных пациентов возникает несостоятельность протеза [1 – 3].

Причинами утраты функциональности искусственных сосудистых протезов являются:

- технические погрешности при их имплантации [2];
- несостоятельность сосудов притока и оттока вследствие высокого периферического давления, нарушений свертывающей системы крови [3];
- системное воспаление неустановленной этиологии;
- ранние осложнения, обусловленные отторжением организмом протеза сосуда.

Первые два пункта связаны с техникой выполнения оперативного вмешательства и анатомическими особенностями пациента, следующие два относятся к иммунному от-

Реферат

Изучены сосудистые протезы, удаленные в связи с утратой функциональных свойств. С помощью различных методов установлено, что это обусловлено формированием тромбов как реакцией организма на материал протеза. Предложена методика тестирования на совместимость с использованием атомно-силового микроскопа (АСМ). Составляющие гуморального иммунитета пациента распознают материал протеза и запускают механизмы отторжения при негативной реакции.

Ключевые слова: протезы сосудов; утрата функциональности протеза; отторжение; атомно-силовой микроскоп; аффинное взаимодействие.

Abstract

Vascular prostheses, excised because of their functional properties loss, were studied. Using different methods there was established, that this complication is caused by the thrombus formation as a reaction of organism on the prosthesis material. The testing procedure on compatibility was proposed, using atomic-power microscope. Components of a patient immunity may identify the prosthesis material and start the rejection mechanisms in case of negative reaction.

Key words: prostheses of the vessels; the prosthesis functionality loss; rejection; atomic-power microscope; the affinity interaction.

вету организма больного на имплантацию инородного тела. При включении протеза в кровеносную систему форменные элементы крови, активные биомолекулы, в частности, иммуноглобулины, фибриноген, интерфероны, интерлейкины и др. контактируют с его поверхностью. Реакцию организма на эндогенный материал следует рассматривать как начальную стадию заживления раны, при которой формируется временный матрикс, состоящий из фибриногена, биохимических агентов, активированных

тромбоцитов, воспалительных и эндотелиальных клеток [4, 5]. Существенный вклад в этот процесс вносит имплантат, который активизирует иммунные реакции и обуславливает локальное персистирующее воспаление. Вследствие этого вокруг имплантата формируется фиброзная ткань. Иммуноглобулины класса G (IgG) составляют до 70% всего семейства иммуноглобулинов, они первыми вступают в контакт с антигенами, при этом активируется вся система иммунного ответа. Наряду с ними запускаются и другие меха-

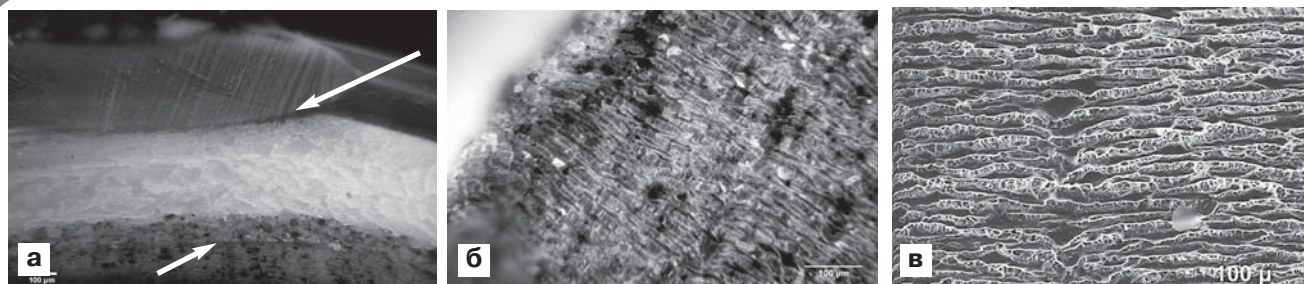


Рис. 1.

Исходный сосудистый протез.

а - поперечный срез, стрелками указаны слои, вверх - внешний, вниз - внутренний;
б - изображение в рассеянном свете ОМ; в - изображение СЭМ.

низмы, в которых участвуют различные вещества. При установлении протеза предполагают, что основную роль играет IgG как составляющая гуморального иммунитета пациента [5]. Возникающие при этом осложнения рассматривают как локальный персистирующий ответ иммунной системы организма пациента на инородное тело, чаще всего как следствие инфицирования сосудистого протеза. Однако по данным бактериологического исследования экссудата, в месте установки имплантата в большинстве наблюдений условно патогенные или патогенные микроорганизмы не выявляют.

Целью исследования было установление возможности до операции распознавания IgG пациента на поверхности имплантата эпитопов, которые могли бы образовывать с ними аффинные пары, и является ли реакция организма на установку протеза возможной причиной несо-

стоятельности шунта. Силу аффинного взаимодействия между IgG пациента и поверхностью искусственного сосудистого протеза определяли с использованием АСМ в контактном режиме.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В 2014 г. обследованы 4 больных, у которых возник тромб протеза (от 70% просвета до полной окклюзии) после операции бедренно-подколенного шунтирования. Выполнены повторные вмешательства для устранения окклюзии. У 2 пациентов протезы, утратившие функциональность, иссечены и заменены. Извлеченный материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, проводили дегидратацию в спиртах восходящей концентрации. Затем часть образцов с использованием стандартной методики готовили для гистологического исследования, на другую часть образцов на-

носили слой золота для проведения исследований с помощью сканирующего электронного микроскопа (СЭМ) и сравнивали их поверхность с исходными протезами.

У больных перед повторной восстановительной операцией набирали кровь для проведения стандартного анализа, определения уровня С-реактивного протеина (СРП), IgG в целях определения совместимости материала протеза сосуда (имплантата) с организмом больного с помощью АСМ [6, 7]. Исходный сосудистый протез исследовали с помощью оптического микроскопа (ОМ).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исходные протезы сосудов исследовали с помощью ОМ и СЭМ. Сосудистый протез является сложной инженерной конструкцией с неоднородной структурированной поверхностью (рис. 1).

Внешняя поверхность протеза сосуда (имплантата) гладкая, внутренняя структура представляет упорядоченное переплетение нитей с неравномерным распределением частиц углерода.

У двух пациентов через 6 мес после аорто-бедренного шунтирования возникли осложнения, что потребовало проведения ревизии протеза. При повторной реконструкции сосудистого русла протезы заменены. По данным гистологического исследования препаратов извлеченных имплантатов (рис. 2) внутренняя поверхность протеза представляла кольцо из фиброзной соединительной ткани с множест-

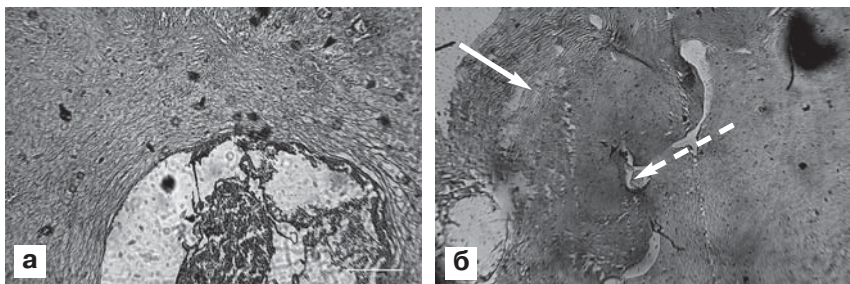


Рис. 2.

Удаленный сосудистый протез.

а - образование неоинтимы после нахождения в организме;
б - шовный материал со следами воспаления (пунктирная стрелка), стенка протеза (сплошная стрелка).

Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$.

вом остатков гигантских клеток и истонченным слоем внутренней оболочки. В просвете виден свежий тромб, что стало причиной утраты функциональности протеза.

Просвет сосуда составлял менее 10% исходного диаметра, закрыт свежим тромбом, который образовался вследствие ухудшения гемодинамики. Сформированная неоинтима и фиброзная соединительная ткань равномерной толщины по периметру.

Отмечены признаки воспаления вокруг шовного материала, а также расслоение имплантата. В поле зрения большое количество соединительной ткани без характерных для клеток неоинтимы структур.

Сегменты протеза (имплантата) после его извлечения исследованы с помощью ОМ в прямом и рассеянном свете (рис. 3).

Протез значительно изменился. Его внешняя поверхность утратила плотную структуру, внутренняя поверхность пронизана остатками гигантских клеток, просвет на 90% заполнен неоинтимой с переходом в фиброзную соединительную ткань. Остаток просвета окклюзирован свежим красным тромбом. Старый тромб припаян к неоинтимае, с признаками васкуляризации. Равномерное формирование неоинтимы свидетельствует, что стеноз с остатками многочисленных гигантских клеток обусловлен реакцией организма на инородное тело.

Исследование совместимости материала имплантата с организмом больного. Выделенные из крови больного IgG наносили на зонд АСМ и измеряли силу аффинного взаимодействия (F) функционали-

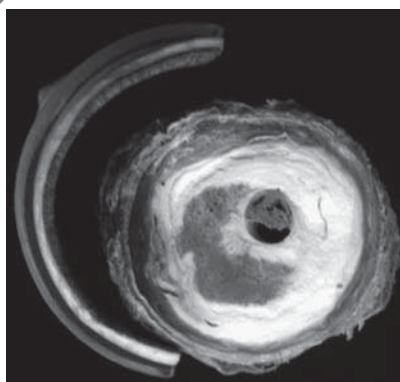


Рис. 3.
Сопоставление поперечного среза
исходного сосудистого протеза
и извлеченного из организма
больного.

зированного зонда и поверхности имплантата (пат. Украины 87387, 2009). Полученные данные сопоставляли с отдаленными послеоперационными клиническими результатами.

Анализ данных АСМ и результатов ОМ показал, что имплантат всегда обуславливает реакцию организма, которую можно измерить как аффинное взаимодействие между его поверхностью и зондом АСМ с нанесенными IgG больного. Данные АСМ соответствуют клиническим признакам в отдаленном послеоперационном периоде (см. таблицу).

Сила взаимодействия между чистым зондом АСМ и поверхностью имплантата (сила Ван-дер-Ваальса) составляла $(6,2 \pm 1,4)$ нН.

Аффинное взаимодействие между поверхностью протеза и суммарным количеством IgG, выделенных из крови больных 1 и 2, во всех измерениях превышало силу молеку-

лярного взаимодействия. У больного 1 при вмешательстве по извлечению и замене утратившего функциональность протеза кровь набирали до операции, после нее и через 1 мес. Содержание СРП существенно различалось. Уровень СРП 17,7 мг/л свидетельствовал о наличии воспалительного процесса, в последующем он достоверно снижался. Аффинное взаимодействие между IgG пациента и поверхностью имплантата было таким же высоким, как и исходное. Аналогичную зависимость наблюдали у больного 2. Для сравнения проведено тестирование совместимости материала протеза с помощью АСМ еще у 2 больных. Уровень СРП у них был в пределах нормы. Аффинное взаимодействие IgG, выделенных из крови, было в 2 раза меньше, чем у больных 1 и 2. Следовательно, в отдаленном периоде у больных 3 и 4 не должны возникнуть осложнения, связанные с утратой функциональности протеза.

Гистологические исследования подтвердили результаты визуальных методов. Отмечено значительное влияние организма на инородное тело – сосудистый протез, его расслоение, выраженная воспалительная реакция вокруг шовного материала, хотя все заканчивалось отеком тканей, формированием грубого соединительнотканного слоя вокруг протеза. Тело протеза организм изолирует в капсулу, которая формировалась в течение длительного времени, пока просвет сосуда не уменьшился до 10% исходного. Можно предположить, что критический, гемодинамически значимый стеноз возник вследствие формиро-

Уровень СРП, показатели крови и величина F

Больные	Сроки наблюдения	СРП, мг/л	Сегментоядерные нейтрофильные гранулоциты, %	Лимфоциты, %	F, нН
1	До операции	17,7			34,1
	После операции	4,4	8	14	39,5
	Через 1 мес	6,4	7	18	40,1
2	До операции	20,3	9	32	51,4
	После операции	5	7,25	11,5	41,3
	Через 1 мес	4,6			52,1
3	Первичная операция	5,1	5,6	25	28,1
4	Первичная операция	4,8			21,0

вания тромба. Более ранний тромб, следы которого видны в соединительнотканном слое, не оказывал такого решающего влияния на функциональность протеза. Показательно сопоставление поперечного среза исходного протеза и извлеченного из организма больного.

Результаты АСМ тестирования показали, что даже после снижения уровня СРП (показателя острого воспаления) в организме больного сохраняются элементы гуморального иммунитета, распознающие протез как инородное тело. Следовательно, при повторном применении протеза из того же материала возможно возникновение подобных осложнений, скорость прогрессирования которых будет значительно больше, чем предыдущего.

ЛИТЕРАТУРА

1. A meta-analysis to compare Dacron versus polytetrafluoroethylene grafts for above-knee femoropopliteal artery bypass / I. J. Rychlik, P. Davey, J. Murphy, M. E. O'Donnell // *J. Vasc. Surg.* – 2014. – Vol. 60, N 2. – P. 506 – 515.
2. The effect of graft configuration on 30-day failure of infrapopliteal bypasses / B. N. Nguyen, R. F. Neville, M. Abugideiri, R. Amdur // *Ibid.* – Vol. 59, N 4. – P. 1003 – 1008.
3. Wiersema A. Prophylactic intraoperative antithrombotics in open infrainguinal arterial bypass surgery: a systematic review / A. Wiersema, V. Jongkind, C. Bruijninckx // *J. Card.Vasc. Surg.* – 2015. – Vol. 56, N 1. – P. 127 – 143.
4. Anderson J. M. Foreign body reaction to biomaterials / J. M. Anderson, A. Rodriguez, D. T. Chang // *Seminars Immunol.* – 2008. – Vol. 20, N 2. – P. 86 – 100.

ВЫВОДЫ

1. При проведении повторного протезирования (шунтирования) необходимо использовать имплантаты другой природы, чтобы избежать осложнений (феномен Артюса).
2. В организме существует иммунная память, которую следует предусмотреть, используя АСМ метод тестирования имплантатов.
3. При установлении сосудистых протезов показано их тестирование для оценки совместимости с организмом больного.

5. The foreign body response: At the interface of surgery and bio-engineering / M. R. Major, V. W. Wong, E. R. Nelson [et al.] // *Plast. Reconstr. Surg.* – 2015. – Vol. 135, N 5. – P. 1489 – 1498.
6. Nanoprobe spectroscopy of capillary forces and its application for a real surface diagnostics / A. A. Efremov, P. M. Lytvyn, A. O. Anishchenko [et al.] // *Semiconductor Physics, Quantum Electronics & Optoelectronics.* – 2010. – Vol. 13, N 2. – P. 111 – 124.
7. Исследование биоадгезивных взаимодействий на золоте, кремнии и стекле методом атомно-силовой спектроскопии / Т. А. Алексеева, И. С. Ермоленко, Н. И. Лебовка [и др.] // *Металлофизика и новейшие технологии.* – 2009. – Т. 31, № 2. – С. 241 – 248.

