

# Морфологические изменения стенок подвздошных артерий свиней после имплантации спирального устройства для закрытия артериального протока из $\beta$ -циркониевого сплава (предварительное сообщение)



Ю. В. Паничкин<sup>1</sup>, И. А. Скиба<sup>2</sup>, В. П. Захарова<sup>1</sup>,  
М. Л. Журавлёва<sup>1</sup>, В. М. Бешляга<sup>1</sup>,  
Е. В. Бешляга<sup>1</sup>, Ю. А. Ружин<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ГУ «Национальный институт сердечно-сосудистой хирургии  
имени Н. М. Амосова НАМН Украины», Киев

<sup>2</sup> Институт металлофизики имени Г. В. Курдюмова  
НАН Украины, Киев

**Цель работы** — изучить ответ стенок артерии на внедрение в нее инородного тела — окклюдера из низкомолекулярного  $\beta$ -циркониевого сплава.

**Материалы и методы.** Биосовместимость и гистотоксичность изделий из низкомолекулярного  $\beta$ -циркониевого сплава изучали на пяти клинически здоровых животных — свиньях массой 30–35 кг. Окклюдеры имплантировали в сосудистое русло свиней методом чрескожного вмешательства под эхокардиографическим контролем. Животных выводили из эксперимента через 2,5 месяца, осуществляли забор участков сосудов и окружающих тканей вместе из окклюдеров. Макро- и микроскопическое исследование включало определение степени эндотелизации, тромбообразования, воспаления, некроза, кальцификации, наличия инородных тел и замещения их соединительной тканью.

**Результаты и обсуждение.** Макроскопическое исследование участков ткани в зоне имплантации окклюдеров показало, что у опытных животных не было признаков инфекции. Позиция каждого из имплантированных устройств отвечала первичному месту установки. Тромбов, вегетации, аномальных структур или разрушений не обнаружено. Внутренние поверхности внедряемых спиралей покрыты белой, гладкой, блестящей тканью. Микроскопическое исследование показало, что через 2,5 месяца после имплантации в просвет артерии окклюдера на основе  $\beta$ -циркониевого сплава вокруг него образуется фиброзная капсула из неointимы. Выраженность проявлений зависит от механического воздействия окклюдера на подлежащие ткани и в значительной степени определяется конструктивными особенностями изделия. Пролиферация элементов неointимы распространялась в дистальном от окклюдеров направлении.

**Выводы.** Транскатетерная имплантация окклюдеров из  $\beta$ -циркониевого сплава — безопасная и эффективная методика на животной модели. Пролиферация неointимы является обычной физиологической реакцией на вмешательство инородного тела в организм животного. Результаты исследования доказывают необходимость дальнейшего изучения устройства на животных. Если они будут положительными и достоверными, можно переходить к клиническим исследованиям.

**Ключевые слова:** открытый артериальный проток, сердечный окклюдер, биологическая модель,  $\beta$ -циркониевый сплав.

---

Стаття надійшла до редакції 11 жовтня 2016 р.

Панічкин Юрій Володимирович, д. мед. н., проф., зав. відділу  
01030, м. Київ, вул. Б. Хмельницького, 42/11. Тел./факс (44) 275-43-11

© Ю. В. Панічкин, І. О. Скиба, В. П. Захарова, М. Л. Журавльова, В. М. Бешляга, С. В. Бешляга, Ю. О. Ружин, 2016

В конце 1990-х — в начале 2000-х годов широкое распространение в кардиологии получила эндоваскулярная хирургия, при которой некоторые кардиохирургические вмешательства выполняются без разреза грудной клетки и сердца. Почти ежегодно предлагают новые устройства и технологии для лечения пороков сердца и сосудов (баллончики, стенты, окклюдеры, эмболизирующие и другие устройства), которые доставляются к сердцу по сосудам с помощью специальных катетеров под рентгеновским контролем. В настоящее время в мире ежегодно около двух миллионов больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями подвергаются эндоваскулярному лечению, в том числе и пациенты с открытым артериальным протоком (ОАП). Еще 15 лет назад этот порок лечили только открытым хирургическим способом, а сейчас в большинстве клиник его устраняют исключительно эндоваскулярным методом.

После первой успешной попытки транскатетерного устранения ОАП, выполненной W. Portsmann в 1967 г. [10], было предложено и усовершенствовано множество различных устройств [4, 6, 7]. Большинство из них было изготовлено из нитинола — сплава на основе никелида титана, который обладает значительной обратимой деформацией и после снятия внешней нагрузки восстанавливает исходно приданную ему форму. Это способствовало широкому применению нитинола для создания самораскрывающихся внутрисосудистых протезов. Однако в условиях больших деформирующих нагрузок на изгиб и кручение, а также при значительных постоянно действующих статических нагрузках никелид титана может не удерживать заданную форму и разрушаться. Кроме того, низкая рентгеноконтрастность сплава требует применения дополнительных маркеров из других металлов. Наконец, высокое содержание никеля в сплаве таит опасность высвобождения ионов этого металла в организм за счет электрохимического взаимодействия имплантата с биологическими средами [11]. Свободные ионы никеля могут иметь токсические эффекты, в частности замедлять процесс образования неоинтимы [5, 12, 13]. В связи с этим в последние годы усилия большинства исследователей направлены на поиск материалов с улучшенными физико-механическими и биологическими свойствами.

Эндоваскулярные конструкции, совместимые с биологическими средами организма, создают и совершенствуют за счет использования биосовместимых химических элементов — титана, платины, тантала, циркония, молибдена, ниобия и др. [5]. Однако в чистом виде эти металлы не обладают достаточной механической и физической совместимостью с биологическими тканями. Поэтому для получения необходимых показателей совместимости металлических имплантатов с тка-

нями организма (низкий модуль упругости, высокие показатели обратимой деформации и циклической прочности, повышенная рентгеноконтрастность, низкая магнитная восприимчивость и др.) необходимо применение специальных сплавов, в которых физико-механические свойства формировались бы за счет изменений фазового и структурного состояний.

В Институте металлофизики им. Г. В. Курдюмова НАН Украины разработан такой сплав (51 Zr-31Ti-18Nb), основанный на изменении параметров кристаллической решетки при взаимном легировании циркония и титана за счет значительной разницы в размерах атомов [3]. Новый низкомолекулярный  $\beta$ -циркониевый сплав обладает также повышенной рентгеноконтрастностью и низкой магнитной восприимчивостью.

Исследования на биосовместимость и гистотоксичность образцов из  $\beta$ -циркониевого сплава предварительно проведены в Институте химии высокомолекулярных соединений НАН Украины путем изучения роста и развития клеточных элементов в подкожной клетчатке белых крыс [1]. Показано, что имплантация образцов сплава вызывает клеточную реакцию, которая является нормальным физиологическим ответом организма на внедрение инородного тела. При этом ни в соединительнотканной капсуле, образующейся вокруг имплантированного образца, ни в окружающей его ткани не выявлено участков некроза или атипичных клеток.

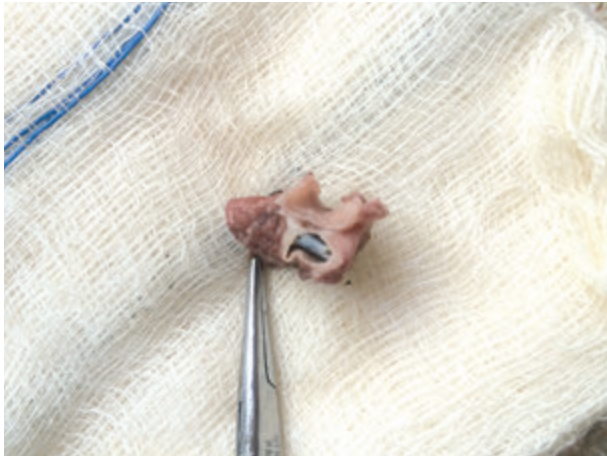
Из разработанного сплава создана спиральная конструкция окклюдера для закрытия ОАП, обеспечивающая легкость и надежность имплантации, хорошую визуализацию и стабильное положение в сосудах с разным давлением.

**Цель работы** — изучить ответ стенок артерии на внедрение в нее инородного тела — окклюдера из низкомолекулярного  $\beta$ -циркониевого сплава.

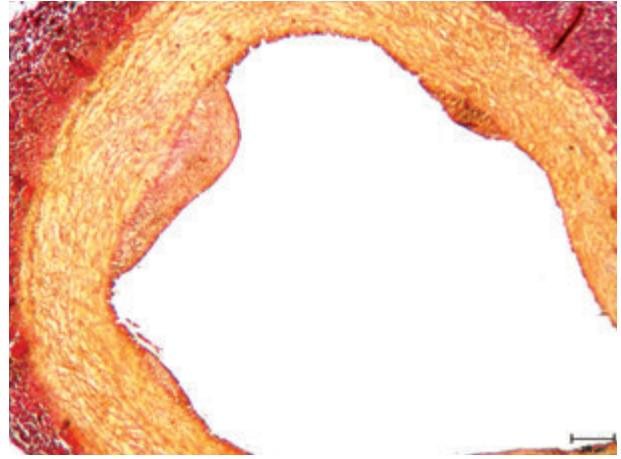
## Материалы и методы

Экспериментальные исследования на биомеханическую совместимость окклюдеров проведены на пяти клинически здоровых свиньях (трехпородный гибрид Йоркшир (1/3), Ландрас (1/3), Дюрок (1/3)) с массой тела 30–35 кг. Исследования выполняли с соблюдением требований Европейской комиссии по защите животных, а также закона Украины о гуманном обращении с животными.

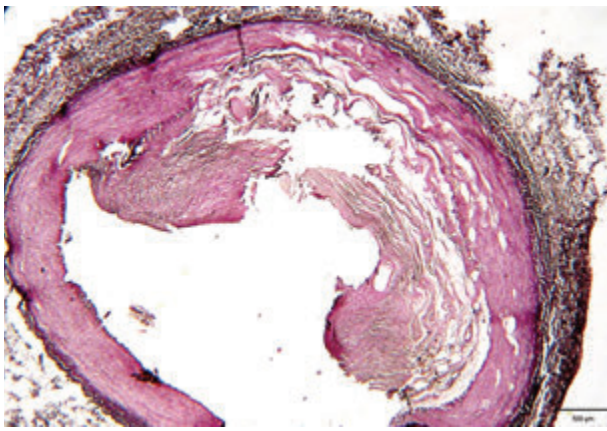
Под эхокардиографическим контролем посредством транскатетерной техники в подвздошные артерии свиней имплантированы цилиндрические спирали из  $\beta$ -циркониевого сплава. Пункцию бедренной артерии выполняли под внутривенным наркозом в положении животного лежа на боку с поднятой вверх контралатеральной нижней конечностью. По проводнику в просвет артерии был заведен интродьюсер 6F, а через него в под-



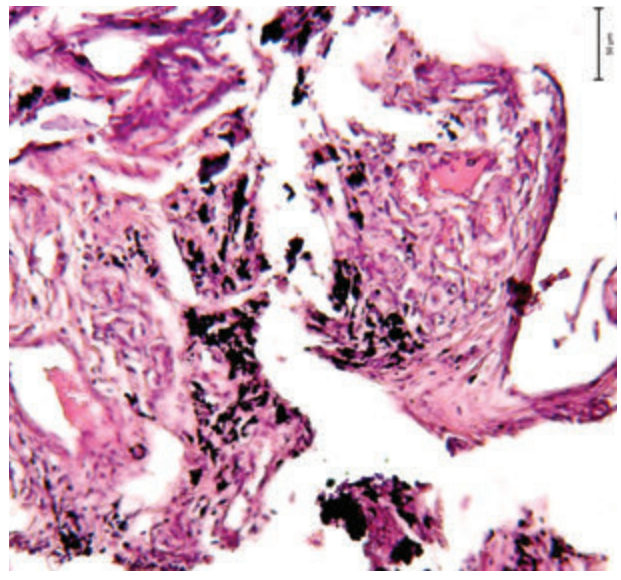
**Рис. 1.** Просвет артерии через 2,5 месяца после начала эксперимента: заполнен на 2/3 бледной, гладкой, блестящей тканью



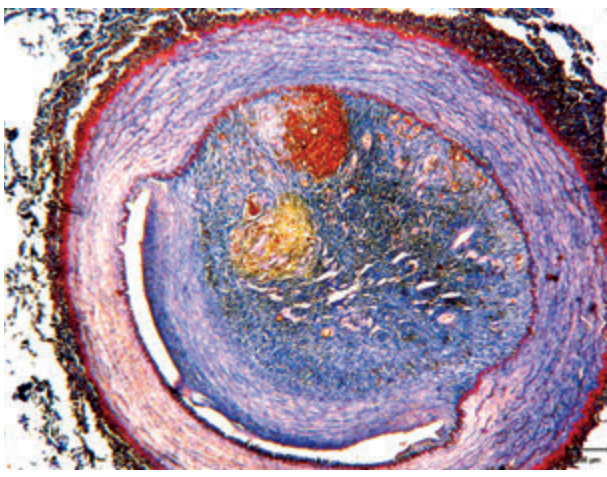
**Рис. 2.** Участок подвздошной артерии проксимальнее окклюдера. Видны очаги пролиферации интимы. Окраска по Ван Гизону,  $\times 40$



**Рис. 3.** Подвздошная артерия в области постановки окклюдера. Истончение и повреждение стенки сосуда под окклюдером, пролиферация элементов интимы на его поверхности, обращенной в просвет артерии. Окраска на эластичность по Вейгерту.  $\times 20$



**Рис. 4.** Депозиты инородного материала в грануляционной ткани у основания окклюдера. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 200$



**Рис. 5.** Участок подвздошной артерии дистальнее окклюдера. Просвет артерии почти полностью закрыт разрастаниями грануляционной ткани и неоинтимы. Окраска MSB.  $\times 40$

вздошные артерии внедрены металлические спирали диаметром 5 мм и длиной 6–9 мм. Свиньи легко перенесли процедуру и через 1–2 часа были выведены из наркоза. По окончании эндоваскулярного этапа и в дальнейшем течении всего периода исследования животные росли и развивались нормально, согласно физиологическим нормам. Подробно методика эксперимента описана ранее [2]. После выведения свиней из эксперимента (через 2 и 2,5 мес) биологический материал (участки сосудов вместе с окклюдерами и окружающими тканями) подвергли макроскопическому и гистологическому исследованию. Фиксированные в 10% нейтральном формалине участки сосудов измеряли и фотографировали. Для гистологического исследова-

дования из них вырезали фрагменты артерии проксимальнее, дистальнее и на уровне окклюдера. При дальнейшей обработке препаратов из-за жесткости материала окклюдера их приходилось извлекать из образца с максимальной осторожностью. Вырезанные участки сосудов по стандартной технологии обезжизняли и заливали в парафин. Из парафиновых блоков изготавливали гистологические срезы толщиной 5–8 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином для обзорной микроскопии, пикрофуксином по Ван Гизону для дифференцирования коллагеновых волокон и гладкомышечных клеток, а также фуксилином по Вейгерту для оценки состояния эластического каркаса сосудистой стенки. Микроскопию выполняли на микроскопе Olympus BX 41 с цифровой фотопроставкой SP-500 UZ, соединенной с компьютером по программе Quick PHOTO micro 2.3.

### Результаты и обсуждение

При макроскопическом обследовании подвздошных артерий у подопытных животных не выявлено признаков инфекции. Позиция каждого из имплантируемых устройств соответствовала первоначальному месту установки. Внутренние поверхности внедряемых спиралей через 2,5 месяца после начала эксперимента покрыты бледной, гладкой, блестящей тканью (рис. 1). Тромбов, вегетаций, аномальных структур или поломок не обнаружено.

При гистологическом исследовании — интактная подвздошная артерия округлой формы, диаметром 3502 мкм с шириной просвета 2604 мкм и толщиной стенки 410 мкм. Артерии в области локализации окклюдеров деформированы, диаметр их в некоторых участках достигал 5200 мкм. Во всех наблюдениях эндovasкулярные устройства располагались эксцентрично, занимая 2/3 просвета артерии. Просвет артерий проксимальнее окклюдера несколько сплюснут (5500–4470 мкм на 2000–2700 мкм). Толщина стенок артерий колебалась в пределах 458–783 мкм. В непосредственной близости к окклюдеру отмечали признаки пролиферации неоинтимы (до 80 мкм) в сегменте, прилежащем к изделию (рис. 2). Стенка сосуда, прилежащая к устройству, резко истончена (20–30 мкм) и фиброзирована. На внутренней ее поверхности видны вмятины от элементов эндovasкулярного устройства (рис. 3). И, наоборот, там, где контур окклюдера неплотно прилегал к стенке сосуда, свободные пространства заполнены грануляционной тканью с гигантскими клетками инородных тел. На фоне грануляций отмечали «глыбчатые» скопле-

ния инородного материала черного цвета, а также небольшие очаги некротизированной ткани (рис. 4). Поверхность устройства, обращенная в просвет сосуда, также покрыта тонким слоем неоинтимы. На свободном участке стенки артерии видны признаки спазма в виде резкой гофрированности внутренней эластической мембраны. На уровне окклюдера в просвет артерии на 1211–1320 мкм выступало своеобразным горбом образование, состоящее из элементов неоинтимы — гладкомышечных клеток, фибробластов и коллагеновых волокон. У основания таких неоинтимальных выростов локализовались округлые полости, заполненные гемосидерином, вкраплениями чужеродного материала, описанного выше, лимфоцитами и макрофагами, в том числе и частицами инородных тел. Во многих клетках отмечали признаки апоптоза в виде маргинации хроматина. В области дистального конца окклюдера сосуды суживались до 2945–3635 мкм в диаметре. Просвет их почти полностью закрыт разрастаниями грануляционной ткани и неоинтимы (рис. 5). На остальном протяжении стенки артерий без особенностей.

Проведенное исследование основывалось на ограниченном числе животных и длилось 2,5 месяца. Имплантация инородных тел (окклюдеров из β-циркониевого сплава) в сосудистое русло свиней вызывала выраженную пролиферативную реакцию со стороны стенки сосуда. Поверхность устройства, обращенная вовнутрь артерии, также была покрыта толстым слоем неоинтимы, которая перекрывала более чем на 2/3 просвет сосуда, что вместе с конструктивными особенностями окклюдера свидетельствует о хорошем окклюзирующем эффекте устройства.

### Выводы

Через 2,5 месяца после имплантации в просвет артерии окклюдера на основе β-циркониевого сплава вокруг него образуется фиброзная капсула из неоинтимы.

Выраженность проявлений зависит от механического влияния окклюдера на подлежащие ткани и во многом определяется конструктивными особенностями изделия. Пролиферация элементов неоинтимы распространяется в дистальном от окклюдера направлении.

Формирование неоинтимы потенцирует окклюзирующий эффект устройства.

Имплантация окклюдеров в сосудистое русло свиней, а также ответная реакция организма животного на внедрение инородного тела требуют дальнейшего изучения.

*Конфликта интересов нет.*

*Участие авторов: концепция и дизайн исследования — Ю. П., И. С., В. З.; сбор материала — М. Ж., В. Б., Е. Б., Ю. Р.; обработка материала — В. З., Ю. П.; написание текста и редактирование — Ю. П., В. З.*

## Литература

- Кулеш Д. В., Скиба І. О., Карасевська О. П. та ін. Микроструктура, механічні властивості та біосумісність нового Zr-Ti-Nb сплаву // Пластична та реконструктивна хірургія. — 2011. — № 2 (XVII). — С. 44–50.
- Панічкін Ю. В., Скиба І. А., Захарова В. П. и др. Особенности методики проведения доклинического эксперимента по имплантации окклюдера из  $\beta$ -циркониевого сплава на свиньях как биологической модели // Серце і судини. — 2015. — № 4 (52). — С. 25–30.
- Скиба І. А., Карасевская О. П., Мордюк Б. Н. и др. Влияние инициируемого деформацией  $\beta \rightarrow \alpha$  превращения на механическое поведение  $\beta$ -сплавов титана и циркония // Металлофизика и новейшие технологии. — 2009. — Т. 31, № 11. — С. 1573–1586.
- Bass J. L., Wikson N. Transcatheter occlusion of the patent ductus arteriosus in infants. Experimental testing of a new amplatzer device // Catheter Cardiovasc. Intervent. — 2014. — Vol. 83. — P. 250–255.
- Burian M., Neumann T., Weber M. et al. Nickel release, a possible indicator for the duration of antiplatelet treatment, from a nickel cardiac device in vivo: a study in patients with atrial septal defects implanted with an Amplatzer occluder // Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. — 2006. — Vol. 44. — P. 107–112.
- Celiker A., Aypar E., Karagoz T. et al. Transcatheter closure of patent ductus arteriosus with Nit-Occlud coils // Catheter Cardiovasc. Intervent. — 2005. — Vol. 65. — P. 569–576.
- Gruenstein D. H., Bass J. L. Experimental evaluation of a new articulated Amplatzer ductal occluder device without fabric // Catheter Cardiovasc. Intervent. — 2009. — Vol. 74. — P. 482–487.
- Krichenko A., Benson L. N., Burrows P. et al. Angiograph classification of the isolated persistently patent ductus arteriosus and implications for percutaneous catheter occlusion // Am. J. Cardiol. — 1989. — Vol. 623. — P. 877–880.
- Niinomi M. Mechanical biocompatibilities of titanium alloys for biomedical applications // J. Mech. Behav. Biomed. Mater. — 2008. — Vol. 1. — P. 30–42.
- Portsmann W., Wierny L., Warnke H. Catheter closure of patent ductus arteriosus: 62 cases treated without thoracotomy // Radiol. Clin. North Am. — 1971. — Vol. 9. — P. 203–218.
- Ryhanen J., Niemi E., Serlo W. et al. Biocompatibility of nickel-titanium shape memory metal and its corrosion behavior in human cell cultures // J. Biomed Mater. Res. — 1997. — Vol. 35 (45). — P. 1–7.
- Sigler M., Jux C. Biocompatibility of septal defect closure devices // Heart. — 2007. — Vol. 93. — P. 444–449.
- Trepanier C., Venugopalan R., Messer R. Z. J., Pelton A. R. Effect of Passivation treatments on nickel release from nitinol // Society for Biomaterial. — 6th World Biomaterials Congress. — 2000. — P. 1043.

## Морфологічні зміни стінок здухвинних артерій свиней після імплантації спірального пристрою для закриття артеріальної протоки із $\beta$ -цирконієвого сплаву (Попереднє повідомлення)

Ю. В. Панічкін<sup>1</sup>, І. О. Скиба<sup>2</sup>, В. П. Захарова<sup>1</sup>, М. Л. Журавльова<sup>1</sup>,  
В. М. Бешляга<sup>1</sup>, Є. В. Бешляга<sup>1</sup>, Ю. О. Ружин<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ДУ «Національний інститут серцево-судинної хірургії імені М. М. Амосова НАМН України», Київ

<sup>2</sup> Інститут металофізики імені Г. В. Курдюмова НАН України, Київ

**Мета роботи** — вивчити відповідь стінок артерії на імплантацію в неї чужорідного тіла — окклюдера з низькомодульного  $\beta$ -цирконієвого сплаву.

**Матеріали і методи.** Біосумісність і гістотоксичність виробів із низькомодульного  $\beta$ -цирконієвого сплаву вивчали на п'яти клінічно здорових тваринах — свинях масою 30–35 кг. Окклюдери імплантували в судинне русло свиней методом черезшкірного втручання під ехокардіографічним контролем. Тварин виводили з експерименту через 2,5 місяця, здійснювали забір ділянок судин і навколишніх тканин разом з окклюдерами. Макро- і мікроскопічне дослідження передбачало визначення ступеня ендотелізації, тромбоутворення, запалення, некрозу, кальцифікації, наявності чужорідних тіл і заміщення їх сполучною тканиною.

**Результати та обговорення.** Макроскопічне дослідження ділянок тканини в зоні імплантації окклюдера показало, що в дослідних тварин не було ознак інфекції. Позиція кожного з імплантованих пристроїв відповідала первинному місцю встановлення. Тромбів, вегетації, аномальних структур або руйнувань не виявлено. Внутрішні поверхні впроваджуваних спіралей покриті блідою, гладкою, блискучою тканиною. Мікроскопічне дослідження показало, що через 2,5 місяця після імплантації в просвіт артерії окклюдера на основі  $\beta$ -цирконієвого сплаву навколо нього утворюється фіброзна капсула з неointими. Виразність виявів залежить від механічної дії окклюдера на навколишні тканини і значною мірою визначається конструктивними особливостями виробу. Проліферація елементів неointими поширювалася в дистальному від окклюдера напрямку.

**Висновки.** Транскатетерна імплантація окклюдерів із  $\beta$ -цирконієвого сплаву — безпечна та ефективна методика на тваринній моделі. Проліферація неointими — це звичайна фізіологічна реакція на втручання чужорідного тіла в організм тварини. Результати дослідження доводять необхідність подальшого вивчення цього пристрою на тваринах. Якщо вони будуть позитивними й вірогідними, можна переходити до клінічних досліджень.

**Ключові слова:** відкрита артеріальна протока, серцевий окклюдер, біологічна модель,  $\beta$ -цирконієвий сплав.

## Morphological changes in pig iliac artery walls after implantation of $\beta$ -zirconium alloy spiral device for closing arterial duct (preliminary report)

Yu. V. Panichkin<sup>1</sup>, I. O. Skiba<sup>2</sup>, V. P. Zakharova<sup>1</sup>, M. L. Zhuravleva<sup>1</sup>,  
V. M. Besleaga<sup>1</sup>, E. V. Besleaga<sup>1</sup>, Yu. O. Ruzhin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>SI «M. M. Amosov National Institute of Cardiovascular Surgery of NAMS of Ukraine», Kyiv

<sup>2</sup>G. V. Kurdyumov Institute of Metal Physics of NAS of Ukraine, Kyiv

**The aim** – to study the response of the artery walls to implant of an alien body into it – an occluder made of low modulus  $\beta$ -zirconium alloy.

**Materials and methods.** Biocompatibility and histotoxicity of products from low modulus  $\beta$ -zirconium alloy were studied in five clinically healthy animals – pigs weighing 30–35 kg. The occluders were implanted in vascular bed of pigs by X-linked Immune Defect method under echocardiography control. The animals were taken out of the experiment in 2.5 months. Samples of blood vessel sections, surrounding tissue and the occluder were taken. Macro- and microscopic examination provided for determination of the degree of endothelisation, thrombosis, inflammation, necrosis, calcification, the presence of foreign bodies and their replacement by connective tissue.

**Results and discussion.** Macroscopic research of tissue areas in the zone of implantation of the occluder showed that the animals used in experiment had no signs of infection. The position of each of the implanted devices corresponds to the original place of installation. Thrombuses, vegetation, abnormal structures or destruction were not found. The interior surfaces of the introduced spirals are covered with pale, smooth, shiny fabric. Microscopic examination showed that a capsule of fibrosis neointima is formed around  $\beta$ -zirconium alloy based occluder in 2.5 months after its implantation in the lumen of the artery. Severity of manifestations depends on mechanical action of the the occluder on the surrounding tissue and is largely determined by the design of the product. Proliferation of elements of neointima spread in the distal direction from the occluder.

**Conclusions.** Transcatheter implantation of  $\beta$ -zirconium alloy occluder is safe and effective technique in animal models. Proliferation of neointima is a normal physiological response to intervention of a foreign body in the body of the animal. The study results suggest the need for further testing of the device on animals. If they are positive and reliable, we can proceed to clinical trials.

**Key words:** patent ductus arteriosus, heart occluder, biological model,  $\beta$ -zirconium alloy.