

# ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ СТЕНТИРОВАНИЯ ГРУДНОГО ПРОТОКА NiTi СТЕНТОМ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА РАННИХ СРОКАХ

Екатерина Александровна ГЕРАСЁНОВА<sup>1</sup>, Наталья Петровна БГАТОВА<sup>1</sup>, Пётр Михайлович ЛАРИОНОВ<sup>2</sup>, Вадим Валерьевич НИМАЕВ<sup>1</sup>, Юрий Иванович БОРОДИН<sup>1</sup>, Георгий Циренович ДАМБАЕВ<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ГУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН  
630117, г. Новосибирск, ул. Академика Тимакова, 4

<sup>2</sup>ФГУ Новосибирский НИИ патологии кровообращения имени академика Е.М. Мешалкина  
630055, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, 15

<sup>3</sup>Сибирский государственный медицинский университет  
г. Томск, ул. Савиных, 16

В рамках настоящего эксперимента проведена постановка NiTi стента в грудной проток крысы и исследована реакция сосудистой стенки и эффективность стентирования на ранних сроках. Забор материала осуществлялся на 7 сутки после постановки стента. Полученный материал был изучен при помощи световой, электронной и сканирующей микроскопии с последующим проведением рентгеноспектрального анализа. В результате исследования было показано, что наличие стента в просвете грудного протока в течение недели не оказывает повреждающего действия на состояние эндотелиальной выстилки и структуру всех оболочек лимфатического сосуда, а также не происходит обрастания просвета стента гладкомышечной тканью.

**Ключевые слова:** стентирование, грудной проток, NiTi стент.

Несмотря на определенные успехи, достигнутые в сосудистой хирургии за последние два десятилетия, проблема лечения больных лимфостазом конечностей продолжает оставаться одной из сложных и актуальных. Существующие способы консервативного лечения недостаточно эффективны.

Увеличение продолжительности жизни после хирургического и, особенно, комбинированного лечения рака молочной железы с применением лучевой терапии делает актуальной разработку мероприятий по профилактике и лечению такого осложнения, как постмастэктомическая лимфедема верхних конечностей. Именно это осложнение обуславливает потерю трудоспособности большинства больных, поэтому разработка вопросов эффективного лечения имеет еще и большое социальное значение. Резекционные операции являются травматичными и часто приводят к развитию осложнений.

Положительные результаты были получены после внедрения в клиническую практику операций по созданию лимфовенозных анастомозов. Однако в дальнейшем выяснилось, что эти вмешательства приносят облегчение не всем пациентам. Поэтому раз-

работка более щадящих и косметически совершенных методов хирургического лечения вторичной лимфедемы верхних и нижних конечностей — задача, актуальная и в настоящее время.

Разработка метода стентирования лимфатических сосудов позволит в дальнейшем, по нашему мнению, широко применять этот метод в лечении лимфостазов верхних и нижних конечностей.

Еще с глубокой древности применялась имплантация в ткани организма человека искусственных металлов — имплантантов. В прошлом столетии в клиническую практику вошло использование высококачественных нержавеющей сталей [1]. Научной основой для понимания эффекта памяти и сверхпластичности металлических тел явилось представление о фазовых переходах в твердом теле и термоупругом равновесии при фазовых переходах мартенситного тела, развитое Г.В. Курдюмовым и Л.Г. Хандросом в конце 40-х годов [2–5].

Известно, что биосовместимость пористых материалов на основе TiNi позволяет им длительно функционировать в организме, не отторгаясь. Поведение этих материалов

*Бородин Ю.И.* — советник при дирекции ГУ НИИКиЭЛ СО РАМН, академик РАМН, д.м.н., профессор

*Герасёнова Е.А.* — аспирант лаборатории оперативной лимфологии, e-mail: shally2@yandex.ru

*Бгатова Н.П.* — зав. лабораторией ультраструктурных исследований, д.б.н., профессор

*Ларионов П.М.* — зав. лабораторией экспериментальной хирургии и морфологии, д.м.н.

*Нимаев В.В.* — зав. лабораторией оперативной лимфологии, д.м.н.

*Дамбаев Г.Ц.* — зав. кафедрой госпитальной хирургии, член корр. РАМН, д.м.н., профессор

при циклических деформациях носит нелинейный гистерезисный характер, что открывает для них перспективу применения в медицине в качестве имплантируемых в организм [6].

#### **Цель исследования**

Изучить структуру стенки грудного протока крысы в условиях стентирования и провести рентгенспектральный анализ NiTi стента на ранних сроках проведения эксперимента.

#### **Материалы и методы исследования**

Экспериментальные исследования проведены на 30 здоровых самках крыс, разделенных на 2 группы. Первая группа (опытная), состояла из 15 особей, которым был установлен NiTi стент в грудной проток, вторая (контрольная) включала в себя 15 крыс, которым не проводилось никаких манипуляций на грудном протоке. Стент устанавливался в грудной проток при помощи микроскопического разреза цистерны Хили с последующим восстановлением целостности сосуда. Применяемый нами имплантант представлял собой пористый сплав с эффектом памяти формы на основе никелида титана, проявляющий в изотермических условиях, в том числе и при температуре тела, эластичные свойства. По истечении семидневного срока под эфирным наркозом после извлечения сосуда со стентом производили декапитацию животного. С полученными образцами проводили детальные морфологические и рентгенспектральные анализы.

Метод наркотизации животных и способ забора материала проведены в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» и одобрены этическим комитетом.

Для изучения структурной организации стенки грудного протока в условиях нормы и при стентировании в световом микроскопе и просвечивающем режиме электронного микроскопа образцы тканей фиксировали в 2,5%-растворе глутарового альдегида, затем в 1%-растворе  $\text{OsO}_4$  на фосфатном буфере, дегидратировали в этиловом спирте возрастающей концентрации и заключали в эпон. Для изучения структурной организации стенки грудного протока в условиях нормы и при стентировании в световом микроскопе и просвечивающем режиме электронного микроскопа, образцы тканей фиксировали в 2,5%-растворе глутарового альдегида, затем, 1%-растворе  $\text{OsO}_4$  на фосфатном буфере, дегидратировали в этиловом спирте возрастающей концентрации

и заключали в эпон. Из полученных блоков готовили полутонкие срезы толщиной 1 мкм, окрашивали толуидиновым синим, изучали под световым микроскопом при увеличении 10x40 и выбирали необходимые участки для исследования в электронном микроскопе. Из отобранного материала получали ультратонкие срезы толщиной 35–45 нм на ультратоме LKB — Nova, контрастировали насыщенным водным раствором уранилацетата, цитратом свинца и изучали в электронном микроскопе JEM 1010.

При увеличении 4000 в электронном микроскопе фотографировали различные участки стенки грудного протока.

Фотографии с негативов печатали при увеличении 8000.

NiTi стенты фиксировали в 2%-растворе глутарового альдегида с 2%-параформом на фосфатном буфере 0,02 М, pH 7,4. Далее образцы отмывали в дистиллированной воде с последующей проводкой по обезвоживающим растворам для подготовки материала к сканирующей электронной микроскопии. Обезвоживающий раствор представляет собой восходящую спиртовую батарею (спирт 30–50–70–100%, затем спирт/ацетон 1:1 по 15 минут в каждом растворе) для замещения воды в материале с последующей сушкой и напылением углеродом.

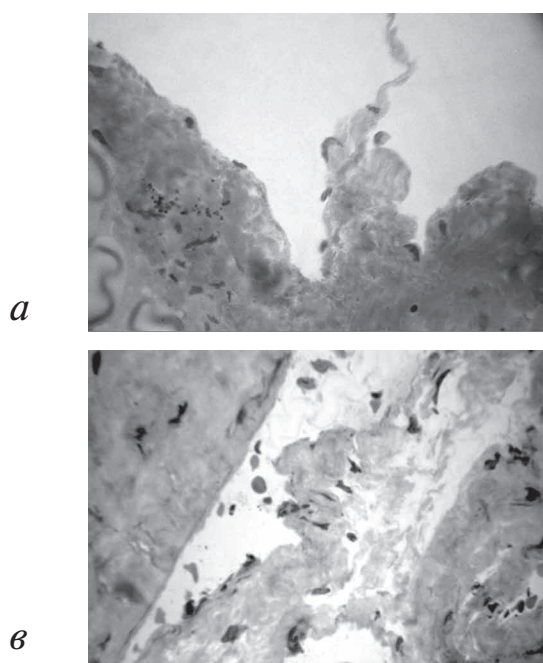
Изучение микроструктуры стента проводилось методом локального анализа, с помощью сканирующей электронной микроскопии при увеличении 1300. Сканирующий (LEO1430VP) электронный микроскоп снабжен энерго-дисперсионным спектрометром для рентгеноспектрального микроанализа «OXFORD».

#### **Результаты и обсуждение**

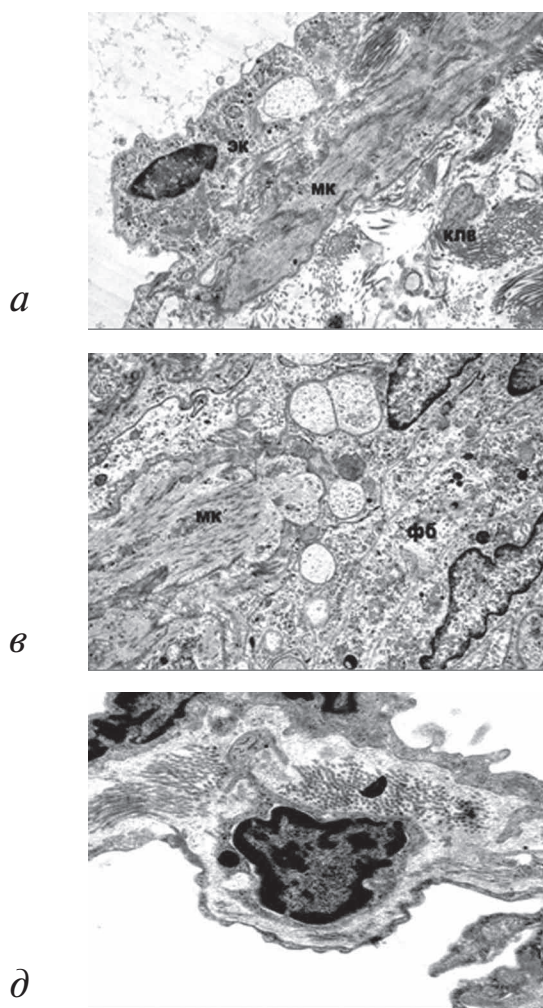
При исследовании стенки грудного протока крысы при помощи световой микроскопии в опытной и контрольной группах нами не было обнаружено изменений ее структурной целостности (рис. 1а, б).

Как известно, стенка грудного протока — многокомпонентное образование, подразделяемое на три слоя: внутреннюю, среднюю и наружную оболочки. В наружной оболочке, представленной рыхлой неоформленной соединительной тканью, выявляются сосуды сосудов.

При рассмотрении строения эндотелия лимфатического клапана на стороне, обращенной к току лимфы, видно, что клетки сходны с выстилающими просвет сосуда, т. е.



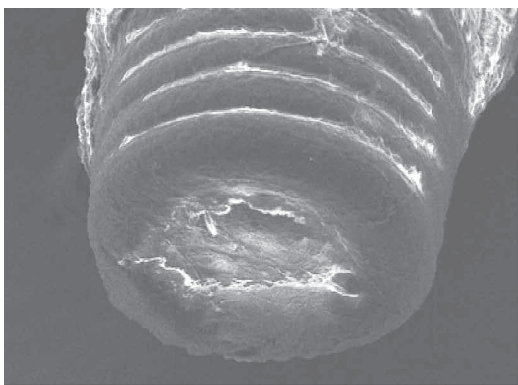
**Рис. 1.** Исследование клапана и стенки грудного протока крысы при помощи световой микроскопии (окраска толуидиновым синим, увеличение 10х40):  
*а* — структура клапана грудного протока у крыс контрольной группы;  
*б* — структура стенки грудного протока у крыс контрольной группы;  
*в* — структура стенки грудного протока у крыс опытной группы.



*а* — сохранение целостности эндотелия грудного протока в области установки стента;  
*б* — структура подэндотелиального слоя внутренней оболочки грудного протока в области установки стента (МК — мышечная клетка, Фб — фибробласт);  
*в* — структура средней оболочки грудного протока в области установки стента;  
*г* — структура лимфатического капилляра в средней оболочке грудного протока в области установки стента (ЭК — эндотелиальная клетка, КЛВ — коллагеновые волокна);  
*д* — структура клапана грудного протока.

**Рис. 2.** Исследование стенки и клапана грудного протока с помощью электронной микроскопии (увеличение x8000)

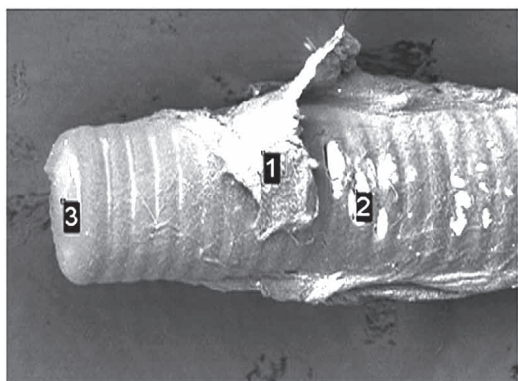




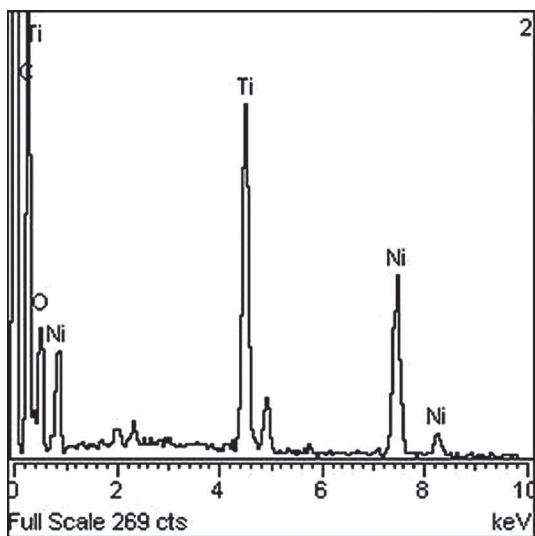
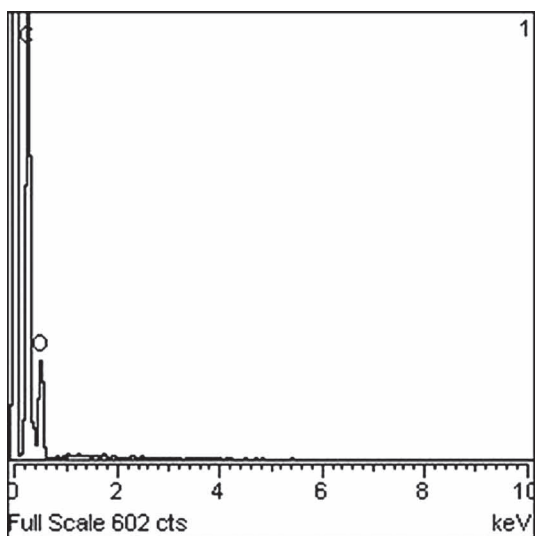
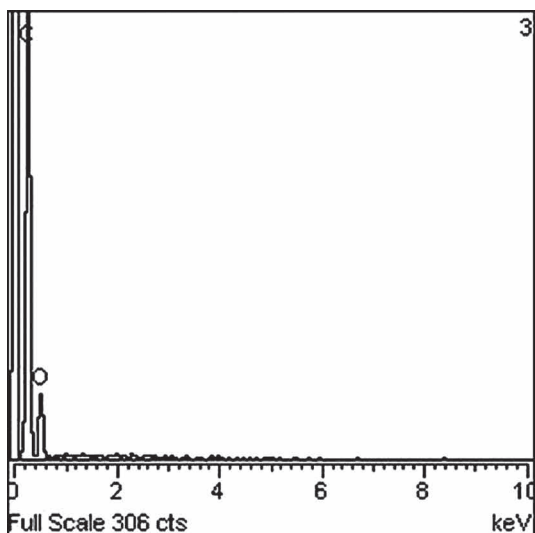
**Рис. 3.** Электронно-микроскопическое изображение в режиме обратно-рассеянных электронов внутренней поверхности NiTi стента (увеличение 1300)

удлиненны в направлении к его продольной оси (рис. 1а, 2д). На наружной поверхности они имеют более многоугольную форму, менее вытянуты в длину, границы между отдельными клетками более гладкие. Створка клапана утолщается от свободного края по направлению к основанию. Вблизи клапанов количество эластических волокон нарастает, в местах перехода клапана в стенку лимфатического сосуда преобладают коллагеновые волокна, в свободных же частях клапана — эластические. Мышечная же оболочка сосуда в месте клапана истончается, в результате чего сосуд как бы делится на сегменты.

При исследовании внутренней оболочки грудного протока с помощью электронной микроскопии в цитоплазме эндотелиоцитов наблюдали сохранность всех органелл и наличие крупных везикул, поверхность эндотелиоцитов неровная, имеет многочисленные тонкие цитоплазматические выросты и участки западения (рис. 2а). В подэндотелиальном



**а**



**б**

**Рис. 4.** Рентгеноспектральный анализ фрагментов с поверхностями NiTi стентов: а — выбор объектов (1 — фрагмент №1; 2 — фрагмент №2; 3 — фрагмент №3); электронно-микроскопическое изображение в режиме обратно-рассеянных электронов NiTi стента (увеличение 1300); б — присутствие углерода и кислорода на фоне основных составляющих NiTi стента; энергетические спектры с площади фрагментов стента.

слое располагались коллагеновые волокна и отдельные гладкомышечные клетки и фибробласты. Мышечные элементы, появляясь вначале в виде отдельных очагов между клапанами, объединяются затем в непрерывный слой. Из средней оболочки сосуда, где ход волокон спиральный и отчасти поперечный, они проникают частично в наружную (продольно-спиральное направление волокон) и внутреннюю (продольное направление волокон).

Не отмечали признаков склерозирования внутренней оболочки сосуда (рис. 2б). В структуре средней и наружной оболочек грудного протока выявляли фибробласты, гладкомышечные клетки, коллагеновые волокна, сосуды сосудов, что соответствовало структуре стенки грудного протока у крыс контрольной группы (рис. 2 в, г).

При исследовании NiTi стентов при помощи сканирующей микроскопии нами было установлено, что обрастания просвета стента гладкомышечной тканью через 7 дней после его постановки в грудной проток не происходит (рис. 3).

В дальнейшем был выполнен рентгеноспектральный анализ фрагментов, взятых с наружной и внутренней поверхностей NiTi стентов, которые включали в себя следующие элементы. В режиме рассеянных электронов отбирались участки со стандартно ориентированной поверхностью относительно детектора, затем устанавливался размер исследуемой площади три участка — по 1000 мкм<sup>2</sup> (рис. 4а), устанавливалось время счета — 50 секунд для каждого исследования, получались энергетические спектры микроэлементного состава фрагментов (рис. 4б). Полученные цифровые значения микроэлементного состава статистически обрабатывались.

Из диаграмм, отображенных на рис. 4б, видно, что характеристическое излучение регистрируется от четырех элементов: титана, никеля, углерода и кислорода. На диаграмме 1 (рис. 4б) видно, что фрагмент, анализируемый со стента, под номером 1 (рис. 4а), представлен только органическими веществами, а именно углеродом и кислородом, причем излучение от углерода составляет 0,2 кэВ, а от кислорода — 0,3 кэВ, что позволяет предполагать, что этот фрагмент является частью стенки грудного протока. Из диаграммы 2 (рис. 4б) видно, что составляющими веществами фрагмента 2 (рис. 4а) являются как органические, так и

неорганические компоненты, а именно: углерод (с излучением 0,2кэВ), титан (0,2кэВ и 4,3 кэВ), кислород (0,3 кэВ) и никель (0,4 кэВ, 6,7 кэВ, 8,2 кэВ). При изучении фрагмента 3 (рис. 4а) нами получены данные, идентичные полученным при анализе фрагмента 1 (рис. 4а).

#### Вывод

Из полученных с помощью световой, электронной трансмиссионной и сканирующей микроскопии, а также данных рентгено-спектрального анализа следует, что наличие стента в просвете грудного протока в течение недели не оказывает повреждающего действия на состояние эндотелиальной выстилки и структуру всех оболочек лимфатического сосуда и не приводит к обструкции просвета стента; деформации стента окружающими тканями не обнаружено.

#### Литература:

1. Гюнтер В.Э., Дамбаев Г.Ц., Сысолятин П.Г. Медицинские материалы и имплантаты с памятью формы. Издательство Томского Университета: 1998. 7.
2. Gjunther V.E., Dambaev G.C., Sysoljatin P.G. Medical materials and implants with memory form. Publishing house of Tomsk University: 1998. 7.
3. Гюнтер В.Э., Сысолятин П.Г., Темерханов Ф.Т. Сверхэластичные имплантаты с памятью формы в челюстно-лицевой хирургии, травматологии, ортопедии, нейрохирургии. Томск: Изд-во ТГУ, 1995. 224.
4. Gjunther V.E., Sysoljatin P.G., Temerhanov F.T. Superelastic implants with memory of the form in maxillofacial surgery, traumatology, orthopedy, neurosurgery. Tomsk: Publishing house TGU, 1995. 224.
5. Курдюмов Г.В., Хандрос Л.Г. Микроструктурные исследования кинетики мартенситных превращений в сплавах медь-олово // ЖТФ. 1949. 19 (7): 761-768.
6. Kurdjumov G.V., Handros L.G. Microstructural of research kinetics martensitic transformations into Alloys // GTF. 1949.19 (7): 761-768.
7. Курдюмов Г.В. Бездиффузионные превращения в сплавах // ЖТФ. 1948.18 (8):999-1025.
8. Kurdjumov G.V. Bezdiffuzionnye transformations into alloys // GTF. 1948.18 (8):999 -1025.
9. Курдюмов Г.В., Хандрос Л.Г. Открытие явления термоупругого равновесия при фазовых превращениях мартенситного типа // Металлофизика. 1981.3(2):124.
10. Kurdjumov G.V., Handros L.G. Opening of the phenomenon thermoelastic balance at phase transformations martensitic type // Physics of metals. 1981. 3(2):124.
11. Quantitative Characterization and Performance of Porous Implants for Hard Tissue Applications, ASTM STP 953, J.E. Lemons, Ed., American Society for Testing and Materials. Philadelphia, 1987.

## **EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF STENTING METHOD NITI STENT OF THORACIC DUCT IN EXPERIMENT IN EARLY PERIOD**

**Ekaterina Aleksandrovna GERASENOVA<sup>1</sup>, Nataliya Petrovna BGATOVA<sup>1</sup>, Petr Mikhailovich LARIONOV<sup>2</sup>, Vadim Valerievich NIMAEV<sup>1</sup>, Yuri Ivanovich BORODIN<sup>1</sup>, Georgi Tsirenovich DAMBAEV<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>*SI Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology SB RAMS,  
4, Ac. Timakov str., Novosibirsk, 630117*

<sup>2</sup>*Federal State Institution Academician E.N. Meshalkin Novosibirsk Research Institute of circulation pathology  
15, Rechnunovskaya str., Novosibirsk, 630055*

<sup>3</sup>*Siberian State Medical University  
16, Savinykh str., Tomsk*

---

Within the framework of this experiment a stent was fixed in the thoracic duct of a rat and the reaction of vascular wall as well as the efficiency of stenting method in early period were examined. The substance was taken on the 7th day after the stent had been fixed. Then this substance was examined by means of light and scanning electron microscopy followed by X-ray spectroscopic analysis. The result of the experiment is that the stent which was in the lumen of the thoracic duct of the rat during a week did not affect the condition of the endothelial layer and the structure of all lymphatic vessel coats and the stent lumen was not accreted by muscular tissue.

---

**Key words:** stenting method, NiTi stent, thoracic duct.

**Borodin Yu. I.** – counselor of management of SI Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology SB RAMS, academician of RAMS

**Gerasenova E.A.** – post-graduate student of laboratory of surgical lymphology

**Bgatova N.P.** – Head of laboratory of ultrastructural investigations, doctor of biological l sciences, professor

**Larionov P.M.** – Head of laboratory of experimental surgery and morphology, doctor of medical sciences

**Nimaev V.V.** – Head of laboratory of surgical lymphology, doctor of medical sciences

**Dambaev G.C.** – Head of department of hospital surgery, corresponding member of RAMS, doctor of medical sciences, professor