

Г.В. Кок<sup>1</sup>, Б.Б. Кок<sup>2</sup>, А.В. Федоров<sup>2</sup>, В.Н. Вавилов<sup>2</sup>,  
Н.Ю. Гребенкина<sup>3</sup>, П.С. Курьянов<sup>2</sup>



## Морфологические изменения в дистальных сегментах аорто-бедренных реконструкций как предикторы поздних тромбозов

<sup>1</sup>Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург

<sup>3</sup>Городская многопрофильная больница № 2, Санкт-Петербург

**Резюме.** Представлены результаты влияния гистологического типа атеросклеротических бляшек в зоне сосудистых анастомозов после реконструктивно-восстановительных операций на магистральных артериях нижних конечностей на риск развития поздних тромботических осложнений. Установлено, что в атеросклеротических бляшках пациентов с отсутствием признаков наличия гемодинамически значимого рестеноза в области дистального анастомоза выявлены утолщение и разрастание фиброзной соединительной ткани, количество липидов минимально или вовсе отсутствует, сохранены эластические волокна и слои гладкомышечных клеток. Внеклеточные липиды занимают обширную, но четко определенную область в интиме. Макрофаги единичны и располагаются преимущественно по периферии липидного ядра, образуют скопления из 2–3 клеток, липидных включений в цитоплазме нет. В атеросклеротических бляшках пациентов с поздними тромбозами в области дистального анастомоза выявлено значимое неравномерное утолщение и разрастание фиброзной соединительной ткани, включения липидов представлены крупным ядром или группой ядер. Эластические волокна замещены коллагеновыми волокнами и включением липидов, отмечается наличие нескольких участков кальциноза. Макрофаги образуют ассоциации из 4–5 клеток по периферии липидного ядра и в области покрышки, где их количество значимо выше; в их цитоплазме отмечаются включения липидов. В целом гистологические изменения, характерные для атеросклеротических бляшек VI и VII типов (классификация АНА [6]), коррелируют с высоким риском поздних тромботических осложнений у больных, оперируемых по поводу облитерирующего атеросклероза сосудов нижних конечностей.

**Ключевые слова:** облитерирующий атеросклероз, артерии нижних конечностей, реконструктивные операции, рестеноз, тромбоз, гистологическое исследование атеросклеротических бляшек, риск поздних тромботических осложнений.

**Введение.** Заболевания системы кровообращения и их осложнения в настоящий момент являются главной причиной смертности населения в Российской Федерации. Облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей страдает около 3% населения, среди которых критическая ишемия развивается в 35–65% случаев [1, 3].

Современные методы хирургического лечения, реанимационного обеспечения и послеоперационной реабилитации значительно снизили количество ранних и средних по срокам послеоперационных осложнений. Анализ отдаленных результатов показывает, что в сроки до 3 лет у 18–25% пациентов развиваются тромботические осложнения обусловленные развитием рестеноза в зоне оперативного вмешательства и прогрессированием атеросклероза в дистальном артериальном русле [8]. Пройодимость аортобедренных реконструкций через 5 лет, по данным разных авторов, составляет 69–86% [4, 5, 7]. Поздние тромботические осложнения составляют до 90% в структуре всех осложнений в сроки более 3 лет от момента выполненной операции [4].

Основной причиной развития тромботических осложнений в отдаленном послеоперационном периоде является рестеноз зоны реконструктивной операции.

В течение 3 лет рестеноз зоны реконструкции развивается у 20% прооперированных пациентов, а частота поздних тромботических осложнений через 5 лет достигает 42% от числа выполненных реконструктивных операций [2, 4]. Рестеноз приводит к рецидиву ишемии и может ставить под угрозу не только сохранность прооперированной конечности, но и жизнь самого больного [4, 7].

Ведущая роль в развитии рестеноза в зоне операции принадлежит пролиферации и фенотипической трансформации гладкомышечных клеток (ГМК), воспалительным реакциям сосудистой стенки, прогрессированию атеросклероза. Многогранность реакции сосудистой стенки на операционное повреждение не вызывает сомнения. Морфологическая перестройка стенки артерии как в зоне сосудистого шва, так и в зоне травмы вследствие эндартериозэктомии и баллонной ангиопластики неразрывно связана с биохимическими изменениями в стенке артерии, с изменениями функции клеток меди и адвентиции, воспалительной реакцией на операционную травму и инородный материал [2, 9, 11]. Данные изменения направлены на восстановление исходного морфологического и функционального состояния артерии; частью этого процесса является активация тромбоци-

тов, миграция и диапедез лейкоцитов в окружающие сосуды ткани, пролиферация фибробластов и ГМК в зоне анастомоза, активация эндотелиальных клеток предшественников.

Одним из методов оценки течения атеросклероза является оценка морфологической структуры атеросклеротической бляшки, взятой в момент реконструктивной операции. В ходе гистологического исследования определенное значение имеют параметры макрофагальной присутствия, состояние интимы, характер включений в атеросклеротической бляшке, преобладающий фенотип ГМК, объем васкуляризации атеросклеротической бляшки [2, 9–11].

**Цель исследования.** Выявить, существует ли корреляция между характером морфологических изменений в области бедренных артерий (дистальные сегменты аортобедренных реконструкций) и частотой поздних тромбозов у больных, прооперированных по поводу облитерирующего атеросклероза сосудов нижних конечностей (ОАСНК).

**Материалы и методы.** В проспективное исследование, проводившееся в течение 2011–2014 гг., включено 100 пациентов, из них 50 пациентов с выполненной первичной петлевой эндартериозктомией из аортобедренного сегмента и 50 пациентов с первичным аортобедренным шунтированием. Средний возраст пациентов составил  $62 \pm 9$  лет. Всем пациентам перед оперативным лечением для клинической и функциональной оценки их состояния проводились общеклиническое исследование, ультразвуковая доплерография, дуплексное сканирование артерий нижних конечностей и исследование липидов. При ультразвуковом исследовании оценивались проходимость зоны реконструктивной операции и состояние дистального артериального русла. Средний срок наблюдения за пациентами составил 24 месяца. Послеоперационный период был разбит на 3 контрольные точки (3, 6 и 12 месяцев) в 1-й год наблюдения, и 2 контрольные точки (18 месяцев и 2 года) на 2-й год наблюдения.

Морфометрическому исследованию подвергался интраоперационный материал из области дистальных анастомозов. Серийные срезы толщиной 8 мкм из атеросклеротических бляшек готовились в криостате и фиксировались в абсолютном ацетоне при комнатной температуре в течение 5 мин. Фиксированные срезы окрашивались по стандартной методике гематоксилин-эозином, трехцветной окраской по Массон. Трехцветная окраска по Массон позволяет выявлять в препарате одновременно ядра клеток, мышцы, нервы, эластические волокна, соединительную ткань, хрящ и кость. При данном типе коллагеновые волокна окрашиваются в синий цвет, ретикулярные в голубой и эластические в красный. С помощью селективной окраски на соединительную ткань оценивалось состояние поверхности атеросклеротической бляшки. Все поверхностные дефекты были разделены на разрывы, единичные и множественные трещины, язвенные

дефекты. Осложнения целостности поверхности подразделены на три основных группы: тромбоз, тромб, гематома.

При описании гистологических препаратов оценивались следующие параметры: преобладающий тип волокон внеклеточного матрикса; характеристика и объем липидных включений; характеристика включений кальция; наличие макрофагов и уровень макрофагальной инфильтрации; тип и форма ГМК; целостность интимы или покрышки атеросклеротической бляшки; наличие тромба или гематомы в области атеросклеротической бляшки.

При оценке макрофагальной инфильтрации атеросклеротической бляшки разделение пациентов производилось на три группы: при минимальном уровне макрофагальной инфильтрации – макрофаги в образце не были обнаружены или встречались единично; у пациентов с промежуточным уровнем инфильтрации макрофаги образовывали ассоциации из 2–3 клеток на 1 сектор оценки; максимальный уровень инфильтрации отмечался при наличии скопления макрофагов из 5–6 и более клеток. Во внимание принималась локализация скопления макрофагов и их взаимодействие с компонентами атеросклеротической бляшки.

При исследовании ГМК оценивались их форма, наличие сократительных волокон или их отсутствие, включения в цитоплазме, определялось расположение ГМК в артериальной стенке, делались выводы о фенотипическом состоянии. В зависимости от наличия липидных включений выделялись группы макропрепаратов с включениями липидных пузырьков, липидного ядра и липидных ядер. Атеросклеротические бляшки с кальцинозом также разделялись на группы.

Морфологическое описание и распределение атеросклеротических изменений из области дистальных сегментов выполнялось по методике Stary et al. [10] в модификации АНА [6] описание морфометрия проводилась по методике, предложенной Г.Г. Автандиловым [2]. По совокупности всех оцененных параметров атеросклеротическая бляшка относилась к одному из восьми основных типов гистологической классификации атеросклеротических поражений АНА [6].

Все пациенты получали необходимую терапию статинами, доза которых подбиралась индивидуально по результатам липидограммы.

**Результаты и их обсуждение.** Установлено, что ишемия сосудов III стадии выявлена у 71% пациентов с первичной реконструктивной операцией, у 17% – IIb стадии и – у 12% – IV стадии. У пациентов с повторными операциями преимущественно выявлена III стадия ишемии. У пациентов с петлевой эндартериозктомией выявлено поражение аорто-подвздошного сегмента типа В в 28% случаев, типа С – в 72%. У пациентов, прооперированных с использованием синтетического сосудистого протеза, выявлено поражение аорто-подвздошного сегмента типа В в 18%, типа С – в 43% и типа D – в 39% случаев.

Поздние тромботические осложнения, произошедшие в сроки более 12 месяцев и потребовавшие оперативного лечения, развились у 14 пациентов, в 8 случаях выполнена реконструкция дистального артериального русла. Ампутация конечности выполнена 6 повторно прооперированным пациентам, 4 пациента умерли.

У 32 первично прооперированных пациентов признаки рестеноза в области дистального анастомоза по результатам ультразвукового исследования отсутствовали. Изолированный рестеноз в зоне реконструктивной операции определен у 16 пациентов. Поражение только дистального артериального русла выявлено у 14 пациентов. Наличие рестеноза и прогрессирования атеросклероза определено у 24 пациентов.

В группе пациентов с одномоментной терапией статинами (20 мг аторвастатина) и ингибиторами ангиотензин-превращающего фермента (антагонистами рецепторов ангиотензина II) прогрессирование атеросклероза в дистальном артериальном русле было менее выражено по сравнению с другими больными.

У 34 пациентов с поздними осложнениями уровень общего холестерина составил  $5,4 \pm 0,3$  ммоль/л, уровень относительного содержания моноцитов –  $11,3 \pm 0,3\%$ , что достоверно выше, чем у 32 пациентов без осложнений ( $4,8 \pm 0,3$  ммоль/л и  $10,6 \pm 0,3\%$  соответственно). В атеросклеротических бляшках выявлены V–VIII типы атеросклеротических поражений (табл.).

В атеросклеротических бляшках пациентов с отсутствием признаков наличия гемодинамически значимого рестеноза в области дистального анастомоза выявлены утолщение и разрастание фиброзной соединительной ткани, количество липидов минимально или вовсе отсутствует.

В большинстве образцов сохранены эластические волокна и слои гладкомышечных клеток. Плотное накопление внеклеточных липидов занимает обширную, но четко определенную область в интимае. Липидные включения отмечались в виде единичного липидного ядра или липидных полосок, разделенных слоями фиброзной ткани. Липидное ядро расположено ближе к средним слоям и лежит глубже уровня интимы. Макрофаги единичны и располагаются преимущественно по периферии липидного ядра, образуют скопления из

2–3 клеток, липидных включений в цитоплазме нет. Пенистые макрофаги в образцах не обнаруживались. ГМК преимущественно веретенообразной формы, цитоплазма окрашивалась в красный цвет, что характерно для эластических сократительных волокон, липидных включений в клетках не отмечалось. ГМК в области покрышки атеросклеротической бляшки не обнаруживались или были в единичных количествах. Участки кальциноза занимали минимальную площадь атеросклеротической бляшки, и локализовались преимущественно в области сохранных эластических волокон. Известно, что участки раннего кальциноза формируются в эластических волокнах, это обусловлено наличием в структуре белка аминокислот с отрицательно заряженными группами. Покрышка атеросклеротической бляшки не истончена, дефектов поверхности по типу трещин или язв не отмечалось. Клеточные включения (макрофаги, ГМК) единичны. В части образцов отмечалось большое количество фиброзной соединительной ткани, но многослойные фиброатеромы у данных пациентов выявлены не были.

По совокупности всех морфологических характеристик атеросклеротических бляшек из области дистального анастомоза следует, что у пациентов без осложнений преобладают бляшки V, VII и VIII типов (классификация АНА [6]) с преобладанием эластических волокон.

В атеросклеротических бляшках пациентов с поздними тромбозами в области дистального анастомоза выявлено значимое неравномерное утолщение и разрастание фиброзной соединительной ткани, включения липидов представлены крупным ядром или группой ядер. Эластические волокна замещены коллагеновыми волокнами и включением липидов, отмечается наличие нескольких участков кальциноза.

Выделялись атеросклеротические бляшки, представляющие собой многослойные поражения: несколько ядер липидов, разделенные толстыми слоями фиброзной соединительной ткани, расположенные неравномерно один над другим. ГМК остроконечной формы, сократительные волокна не имеют специфического окрашивания. Базальная мембрана ГМК значимо утолщена. Макрофаги образуют ассоциации из 4–5 клеток по периферии липидного ядра и в области покрышки, где их количество значимо выше; в их цитоплазме отмечаются включения липидов. В гисто-

Таблица

Типы атеросклеротических бляшек, выявленных в области дистальных анастомозов

Тип атеросклеротической бляшки		Пациенты с тромбозом зоны реконструкции артерий	Пациенты без тромбоза зоны реконструкции артерий
по Stary et al. [10]	по АНА [6]		
Va (фиброатерома)	V	0	4
VI (бляшка с дефектом поверхности или/и гематомой; и/или кровоизлиянием)	VI	6	2
Vc (бляшка с выраженным кальцинозом и фиброзом)	VII	1	2
	VIII	2	3

логических образцах покрывающая атеросклеротической бляшки истончена, определялся дефект по типу разрыва, а также трещины. В области дефекта поверхности атеросклеротической бляшки определялись тромботические включения, размеры которых были от минимальных до грубо видимых отложений, а некоторые состояли из различных по времени образования слоев, также определялись признаки организации и реканализации. У пациентов с поздними тромбозами в области дистального анастомоза выявлены бляшки V, VI и VII типов (классификация АНА [6]) с замещением эластических волокон на фиброзно-коллагеновые, с признаками тотальной дистрофии мышечных волокон.

**Заключение.** У больных, прооперированных по поводу ОАСНК, наблюдается деградация мышечных волокон с замещением их фиброзно-коллагеновыми. Макрофагальная инфильтрация атеросклеротической бляшки бедренной артерии (зона дистальной реконструкции) повышена и характерна для атеросклеротических бляшек VI и VII типов (классификация АНА [6]), которые коррелируют с высоким риском поздних тромботических осложнений. Кроме того, отмечается повышенный уровень относительного содержания моноцитов в крови и гиперхолестеринемия. С целью определения маркеров развития рестеноза зоны реконструктивной операции необходимо дальнейшее изучение причин, приводящих к равномерному разрастанию фиброзной ткани, и процессов, влияющих на кальциноз в атеросклеротической бляшке из области дистального анастомоза.

#### Литература

1. Бокерия, Л.А. Отчет о состоянии сердечно-сосудистой хирургии в РФ за 2012 г. / Л.А. Бокерия, Б.Г. Алекян // М. – 2013. – 73 с.
2. Лазаренко, В.А. Морфологические причины стенотических реокклюзий при артериальных реконструкциях аорты и магистральных артерий нижних конечностей / В.А. Лазаренко [и др.] // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2008. – № 4. – С. 61–66.
3. Покровский, А.В. Состояние сосудистой хирургии в 2014 г. / А.В. Покровский, В.Н. Гонтаренко. – М.: Институт хирургии им. А.В. Вишневского. – 2015. – 99 с.
4. Шатравка, А.В. Анализ ранних и поздних послеоперационных осложнений после реконструктивных операций на артериях орто-бедренного сегмента: дис. ... канд. мед. наук / А.В. Шатравка. – СПб., 2008. – 186 с.
5. Швальб, П.Г. Сравнение отдаленных результатов реконструктивных операций у больных облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей / П.Г. Швальб, Р.Е. Калинин, Ю.В. Алфёров // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2008. – т. 15, № 2. – С. 362–363.
6. ACC/AHA 2005 Practice Guidelines for the management of patients arterial disease (lower extremity, renal, mesenteric, and abdominal aortic): a collaborative report from the American Association for Vascular Surgery/Society for Vascular Surgery, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society for Vascular Medicine and Biology, Society of Interventional Radiology, and the ACC/AHA Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Develop Guidelines for the Management of Patients With Peripheral Arterial Disease): endorsed by the American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation; National Heart, Lung, and Blood Institute; Society for Vascular Nursing; TransAtlantic Inter-Society Consensus; and Vascular Disease Foundation / A.T. Hirsch [et al.] // Circulation. – 2006. – Vol. 113, № 11. – P. 463–654.
7. Egorova, N.N. An analysis of the outcomes of a decade of experience with lower extremity revascularization including limb salvage, lengths of stay, and safety / N.N. Egorova [et al.] // J. Vasc. Surg. – 2010. – Vol. 51, № 4. – P. 878–885.
8. Gwan-Chul, L. Ten year outcomes after bypass surgery in aortoiliac occlusive disease / L. Gwan-Chul [et al.] // J. Korean. Surg. Soc. – 2012. – № 82 (6). – P. 365–369.
9. Libby, P. Inflammation in atherosclerosis, from pathophysiology to practice / P. Libby [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2009. – № 54. – P. 2129–2138.
10. Stary, H.C. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis: a report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis / H.C. Stary [et al.] // American Heart Association. Circulation. – 1995. – 92. – P. 1355–1374.
11. Wang-Soo, L. Progression and Observational Frequency of Atheromatous Plaques in Autopsied Coronary Arteries / L. Wang-Soo // Korean Circulation Journal. – 2009. – 39 (10). – P. 399–407.

G.V. Kok, B.B. Kok, A.V. Fedorov, V.N. Vavilov, N.Yu. Grebenkina, P.S. Kuryanov

#### Morphological changes in the distal segments of aorto-femoral reconstructions as predictors of late thrombosis

**Abstract.** Results of studying the effect of histological type of atherosclerotic plaques in the area of vascular anastomoses after reconstructive operations on the main arteries of the lower extremities on the risk of developing late thrombotic complications are presented. It was found that atherosclerotic plaques in patients with no evidence of a hemodynamically significant restenosis in the distal anastomosis identified thickening and overgrowth of fibrous connective tissue, the amount of lipids is minimal or absent, stored elastic fibers and the layers of smooth muscle cells. The extracellular lipids in extensive, but well-defined area in the intima. Macrophages are single and located mainly along the periphery of the lipid core, form clusters of 2–3 cells, there are no lipid inclusions in the cytoplasm. In atherosclerotic plaques of patients with late thrombosis in the distal anastomosis area, a significant uneven thickening and proliferation of fibrous connective tissue was revealed, lipid inclusions are represented by a large nucleus or a group of nuclei. Elastic fibers are replaced by collagen fibers and inclusion of lipids, several sites of calcification are noted. Macrophages form association of 4–5 cells at the periphery of the lipid core and in the coating, where their number is significantly higher; in their cytoplasm the inclusion of lipids are noted. Generally, it was revealed that the histological characteristic of atherosclerotic plaques of VI, VII type (AHA 5 classification [6]) correlated with the high risk of late thrombotic complications in patients operated with peripheral artery disease.

**Key words:** peripheral artery disease, reconstructive surgery, restenosis, thrombosis, histology, histological study of atherosclerotic plaques, risk of late thrombotic complications.

Контактный телефон: 8-921-998-11-77; e-mail: boris\_koh@mail.ru