

Slovenská zdravotnícka univerzita

Klinika cievnej chirurgie NÚSCH, a.s.

Vedúci: MUDr. Ján Tomka, PhD., MHA

Problematika implantácie cievnych protéz

písomná práca ku špecializačnej skúške

Apríl 2016, Bratislava

MUDr. Tibor Jókúty

Obsah

Použité skratky a definícia	1
1. Úvod	2
2. História implantácie cievnych protéz	3
3. Histologická stavba steny artérie	8
4. Hemodynamika	10
4.1. Laminárne prúdenie, turbulencia	10
4.2. Myointimálna hyperplázia	13
4.3. Wall shear stress (WSS) – šmykové napätie cievy	13
5. Patofyziológia toku krvi v anastomóze a možnosti jeho ovplyvnenia	16
5.1. Ovplyvnenie priechodnosti distálnej anastomózy a vzniku myointimálnej hyperplázie	17
5.1.1 Uhol anastomózy	17
5.1.2 Priemer cievnej protézy	18
5.1.3 Modifikácia tvaru anastomózy	18
6. Základné vlastnosti protézy	22
6.1. Proces vhojenia protézy	25
7. Typy cievnych protéz podľa použitia materiálu	26
7.1. Polyetylén tereftalát - PET / Dacron	27
7.1.1. Tkané protézy	27
7.1.2. Pletené protézy	28
7.2. ePTFE – expandovaný polytetrafluoretylén	31
7.3. Polyuretán (PU)	33
8. Elektrosinning	35
9. Biosyntetické / biohybridné cievne protézy	36
10. Biologické protézy – tissue-engineered vascular graft (TEVG)	37
10.1. Typy skeletu	37
10.1.1. Syntetické polyméry	38
10.1.2. Prírodné polyméry	38
10.1.3. Hybridné polyméry	39
10.2. Acelulárne grafty	39

11. 2D, 3D technológie výroby graftu (TESA-Tissue engineering by self-assembly)	41
12. Použitie cievnych náhrad pri zabezpečení cievnych prístupov pre hemodialýzu	44
13. Špecifická infekčného procesu u protetického graftu	46
14. Záver	48
Literatúra	49

Použité skratky

2D	dvojrozmerný
3D	trojrozmerný
AV	artério-venózný
ePTFE	expandovaný polytetrafluóretylén
ICAM-1	intercellular adhesion molecule
IgG	imunoglobulín G
NO	oxid dusnatý
OSI	oscilating shear index
PCL	polykaprolaktón
PDGF	platelet-derived growth factor
PGA	polyglykolid
PET	polyetylén
PLLA	polylaktid
PTFE	polytetrafluóretylén
PU	polyuretán
t-PA	tissue plasminogen activator
TEVG	tissue-engineered vascular graft
TGF-beta	transforming growth factor beta
VCAM-1	vascular cell adhesion protein
WSS	wall shear stress

Definícia

Graft:	cievna náhrada
Autológny graft:	cievna náhrada odobraná z vlastného tela pacienta
Allogénny graft:	cievna náhrada odobraná z tela darcu jedného druhu
Xenogénny graft:	cievna náhrada odobraná z tela iného druhu alebo umelá cievna náhrada
Protéza:	umelá cievna náhrada – zjednodušená forma slovného spojenia protetického graftu

1. Úvod

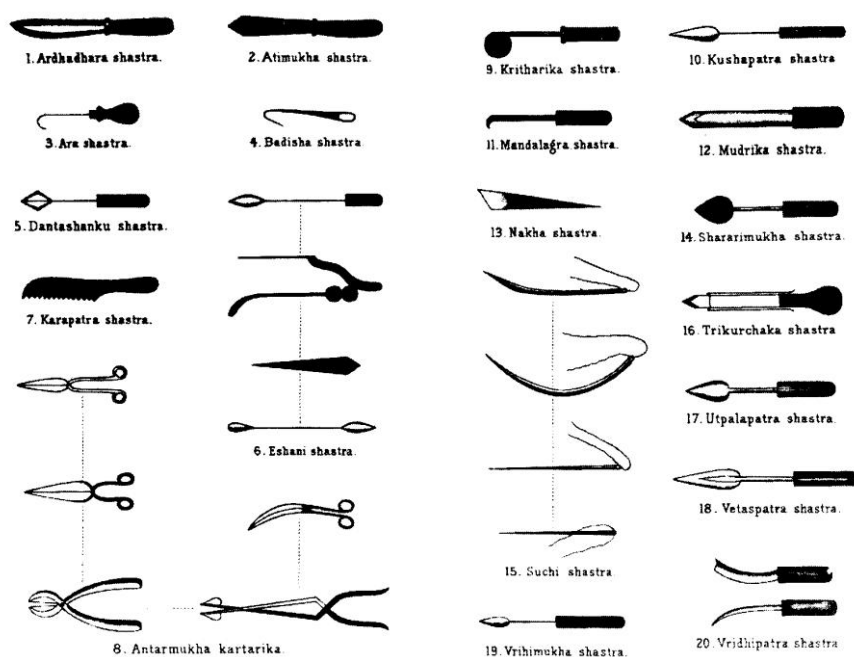
Cieľom tejto práce je priniesť zosumarizovanie súčasných informácií o umelých cievnych náhradách - protézach a ich použitie pri operáciách v cievnej chirurgii. V texte je použitý výraz cievna protéza a ako synonymum graft. V texte sú použité obchodné názvy rôznych výrobcov bez udania preferencie. Práca nerieši konkrétne indikácie a komplexné operačné postupy pri revaskularizácii. Základným predpokladom dlhodobej funkcie graftu je adekvátne technika anastomózy, preto sa práca zaoberá históriou anastomózy ako aj súčasnými možnosťami jej modelácie.

Človek sa vo svojom živote stretáva s výzvami, ktorým sa snaží čeliť. Potreba obnovy cirkulácie u pacientov po úraze, pri okluzívnych ale aj aneuryzmatických ochoreniach na jednej strane a na druhej strane nedostatok vhodných autológnych ale aj allogénnych graftov viedla k vzniku protetického bypasu.

2. História implantácie cievnych protéz

Ošetrovanie ciev v histórii medicíny nachádzame priamo s prvými záznamami súvisiacimi s chirurgickými výkonmi a úrazmi. Pre zrod implantácie protetického bypassu boli najdôležitejšími krokmi ligácia ciev, cievny steh, asepsa a antisepsa, objavenie heparínu a technologický pokrok vo výrobe syntetických materiálov.

Za najstaršie môžeme považovať indické dokumenty staršie viac ako 2500 rokov popisujúce liečiteľa *Sushurtu*. *Sushurta* žil približne medzi rokmi 800-600 p.n.l. v Indii a praktikoval kompletne liečiteľstvo, ale predovšetkým sa venoval chirurgickým výkonom a rozvinul nové metódy liečby. Jeho prínos zahŕňa použitie vlákna na ligatúru ciev, kauterizácia rany rozhorúčeným drôtom a použitie vriaceho oleja ku kontrole krvácania. Vypracoval postupy amputácie končatiny. Bol priekopníkom phlebotomie, haemorroidektomie, tonsilektomie, operácie hernií a mnoho ďalších procedúr (1). Vypracoval a zdokonalil vlastné inštrumentárium. (Obr. 1) Metodika ligatúry ciev sa nedostala za hranice a upadla do zabudnutia na niekoľko storočí.



Obr.1 Časť chirurgického inštrumentária stará cca 2500 rokov – rekonštrukcia podľa Hoernleho.

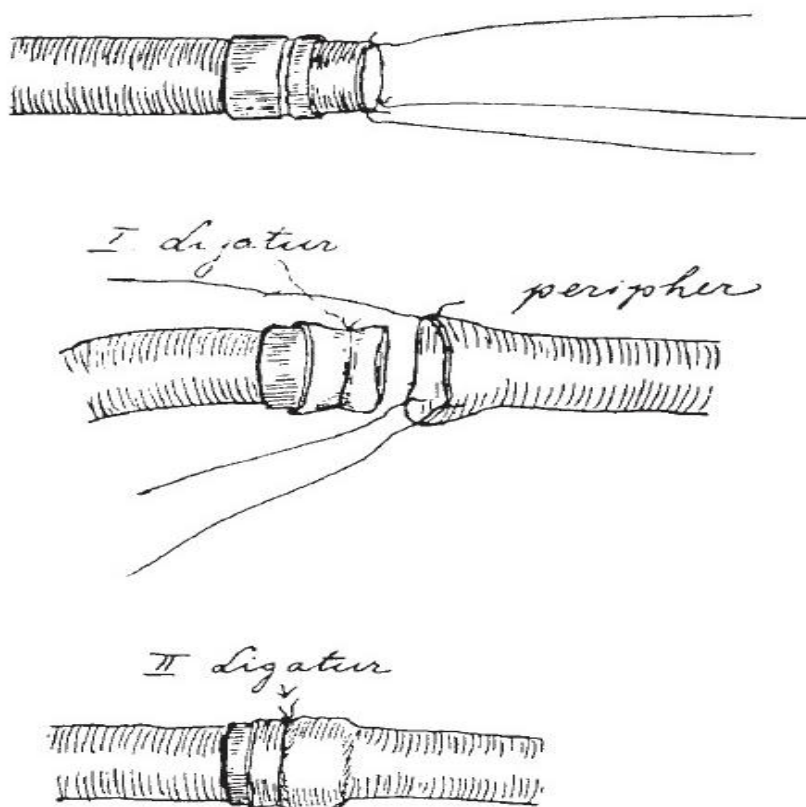
Chirurgovia starého Grécka a Egyptu ako *Hippokrates*, *Celsus* nepoužívali metódu ligatúry pri krvácaní a opätovne sa s ňou stretávame v 2.st. n.l. u Rufusa z Efezu. V 2.st.

n.l. pôsobil tiež *Antyllus*, ktorý ako prvý popísal aneuryzmu, taxonomicky rozdelil typy a liečbu. Ligoval proximálnu a distálnu časť aneuryzmy (2). Táto metóda liečby tiež upadla do zabudnutia a stretávame sa s ňou až v 17.st. u *Rudolfa Matasa*.

Ďalšími v poradí boli *Galén*, ktorý popísal rozdielne krvácanie z vény a artérie a podľa toho pristupoval ku zraneniu. *Aetius* v 6. storočí tiež používal ligatúru ciev a ako prvý liečil varikózne vény ligáciou (2).

V bližšej histórii v 16. storočí *Ambroise Pare* zaviedol ligatúru ako efektívnu liečbu krvácania pri poraneniach a amputáciách končatín. Ako prvý modifikoval kliešte na extrakciu projektilu a používal pri ligácii ciev (3). Až do 18. storočia sa preferoval hemostyptický prístup pred ligáciou a od chirurgie v dobe Sushurtu sa veľa nezmenilo.

V roku 1759 bola prvýkrát v histórii *Hallowellom* ošetrená nepravá aneuryzma arteria brachialis neobliterujúcou súturou. Tento prelom v terapii zostal nepoznaný a metóda bola pre ďalší výskyt pooperačných trombóz opustená. Obrovským prínosom pre chirurgiu bolo v roku 1867 vydanie *Listerovho spisu „Antisepsa v chirurgii“* a jej implantácia pri výkonoch. V roku 1877 *Nikolai Eck* skonštruoval prvé veno-venózne anastomózy pri pokusoch na psoch. *Alexander Jassinovský* v roku 1889 vydal štúdiu 26 experimentov úspešnej súтуры arteria carotis na psoch a koňoch použitím súтуры advetície a médié. Na prelome 19-20. storočia niekoľko chirurgov experimentovalo s použitím rigidnej protézy v prípadoch príliš vzdialených koncov poškodenej artérie. Ako prvému s dlhodobým dobrým výsledkom sa operácia podarila v roku 1894 *Robertovi Abbemu*, keď prezentoval náhradu časti aorty mačky sklenenou trubičkou (3). Táto metóda bola niekoľkokrát modifikovaná rôznymi chirurgmi s použitím iných materiálov (kov, slonovina a iné). Najznámejšou metódou anastomózy dvoch ciev sa stalo použitie magnéziových trubičiek a prstencov použitých prvýkrát pri rekonštrukcii lacerácie artérií od *Ervina Payra* v r. 1900. (Obr. 2)



Obr.2 Payrova plastika a anastomóza end-to-end s použitím magnéziových prstencov.

Koncom 19. storočia sa experimentovalo aj s rôznym šicím materiálom pri suture ciev. Najčastejším bolo použitie hodvábu ale používal sa aj catgut (4), alebo vlákna z klokaních šliach (5). Najčastejším typom suture bol invaginačný typ s vložením proximálneho konca do distálneho a použitie magnéziových prstencov. *Mathieu Jaboulay* v roku 1898 ako prvý prezentoval techniku end to end anastomózy suture jednotlivými matracovými U stehmi zahrňujúcu všetky vrstvy artérie (6).

Počiatkom 20. storočia prebiehali prvé pokusy s použitím vény do arteriálneho obehu. Z Rakúska to bol *Alfred Exner* a z Francúzska *Alexis Carrel* s *Charlesom C. Guthrieom*. Prvý spomenutý používal techniku anastomózy pomocou magnéziových prstencov vyvinutú *Payrom* (7). Druhá skupina na čele s *Carrelom* priniesla revolučnú metódu priamej anastomózy artérie a vény end to end. Zároveň *Carrel* definoval základné poučky cievnej rekonštrukcie, podľa ktorých je striktná asepsa absolútnym základom úspechu, chirurg sa musí vyvarovať poškodeniu cievnej steny použitím správneho klemu, správneho úchopu a dôslednej techniky anastomózy (8).

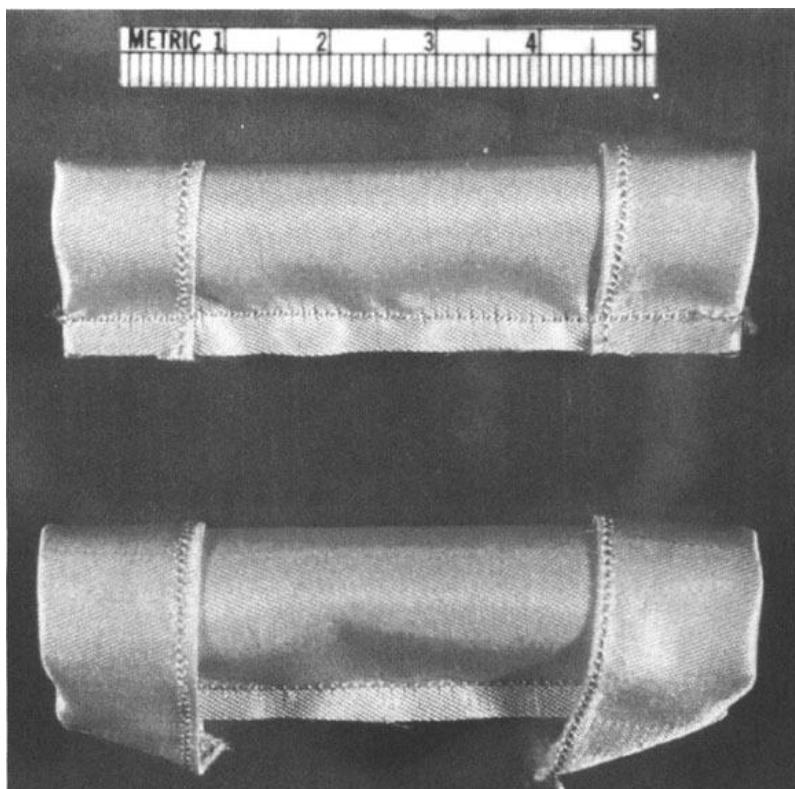
V roku 1906 bola *Jose Goyanesom* z Madridu metóda venózneho štepu po prvýkrát v histórii úspešne použitá u človeka pri operácii aneuryzmy arteria poplitea. Ako štep bola použitá príľahlá vena poplitea (3). V roku 1907 *Erich Lexer* z Königsbergu ako prvý použil graft vena saphena magna k rekonštrukcii poúrazovej aneuryzmy arteria axilaris.

Významným posunom v cievnej chirurgii bolo objavenie heparínu *W. H. Howelom a McLeanom* v r. 1916-17 a začiatok jeho komerčnej produkcie v 50-tych rokoch 20. storočia (9).

V polovici 20. storočia začal *Arthur Voorhens* experimentovať s použitím látky pre arteriálnu protézu. Ako prvý použil hodváb so súturou hodvábnym vláknom. Po 1 h pes zomrel na exsanguináciu z pórov látky a súture. V roku 1948 začal v Texase pracovať s *N-vinyon* materiálom, syntetickým polyvinylchloridom s vysokou chemickou inertnosťou, nízkou schopnosťou nasávania a vysokou odolnosťou pred zalomením pri ohyboch. Jeho práca mala dobré výsledky a v spolupráci s patológmi v Columbii dospeli k záveru, že pre vrastanie fibroblastov do protézy a vytvorenie neointimy z vnútornej strany protézy hrá hlavnú rolu veľkosť pórov látky, ďalej, že vytvorenie periprotetického hematómu bráni správneho vhojeniu protézy. V roku 1954 prezentoval použitie *N-vinyon* protézy na 17 prípadoch náhrady abdominálnej aorty a jednej popliteálnej aneurizmy (Obr. 3) (10).

To naštartovalo novú éru pátrania po ďalších použiteľných materiáloch. Začal sa skúmať *Orlon* – polyakrylonitril, *Dacron* (Terylene, Lavsan) - polyetylén tereftalát, *Teflon* – polytetrafluorethylén. Všeobecným problémom prvých protéz bola trombogenita a odolnosť v čase. Celý výskum bol vedený k cieľu nájsť ideálny materiál pre protézu.

Problematika textilných protéz sa vďaka rastúcemu počtu prezentácií a štúdií dostávala do povedomia širokého okruhu chirurgov a na to naväzujúca masová produkcia prefabrikovaných protéz naštartovala modernú éru cievnej chirurgie.

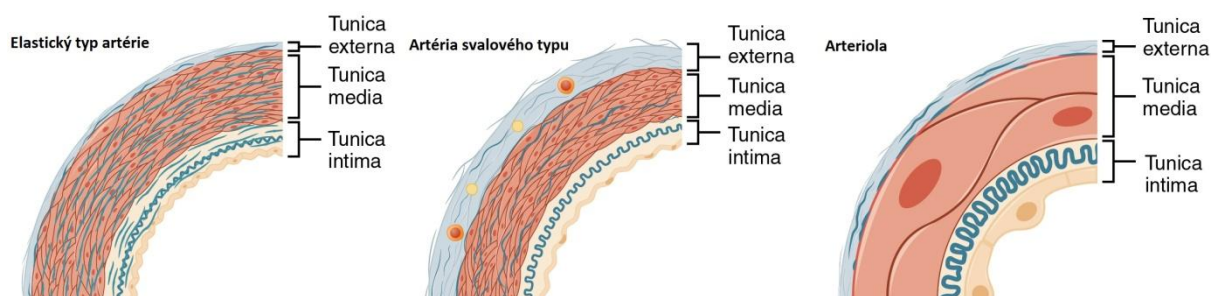


Obr. 3 Prvá úspešne použitá textilná protéza z materiálu N-vinion použitá A.B.Voorhesom v roku 1954.

Ideálna cievna protéza by mala nahrádzať zdravú artériu a plniť všetky jej funkcie. Preto je potrebné pri vývoji graftu pochopiť mikroskopickú stavbu artérie a jej vlastnosti.

3. Histologická stavba steny artérie

Hlavnou úlohou artérie je zabezpečiť prívod kyslíka a živín do periférnych tkanív a regulácia tohto toku podľa aktuálnej potreby. Tepna má aj ďalšie úlohy: adaptácia na zmenu hemodynamiky, reakcia na infekciu, krvácanie, zahrnutie endotelu do hormonálneho metabolizmu, čo vyžaduje viacvrstevnatú stavbu steny, kde každá vrstva plní vlastné funkcie. (Obr. 4)



Obr. 4 Histologická stavba steny rozdielnych typov artérií.

Tunica intima je zložená z jednej vrstvy plochých polygonálnych buniek endotelu z vonkajšej strany ohraničených lamina elastica interna. Medzi endotelom a laminou sa nachádza tenká vrstva subendotelového väziva s ojedinelým výskytom leukocytov, buniek hladkej svaloviny a spojivových vlákien. Povrch endotelu je povlečený vrstvou *glykokalyxu*, ktorý vytvára negatívny náboj, umožňuje selektívnu permeabilitu steny artérie a inhibuje proces trombogenézy. Okrem toho plní endotel ďalšie biochemické úlohy. Transformuje angiotenzín I na angiotenzín II, rozkladá hormóny a podobné látky (bradykinín, serotonin, prostaglandíny, noradrenalin, trombín). Ďalej enzýmy na povrchu endoteliálnych buniek rozkladajú lipoproteíny a produkujú látky, ktoré regulujú cievny tonus (11).

Tunica media je z vnútornej strany ohraničená lamina elastica interna a z vonkajšej strany lamina elastica externa. U niektorých ciev lamina elastica externa nemusí byť prítomná a tunica media prechádza plynule do tunica adventitia. Je tvorená bunkami

hladkej svaloviny a medzibunečnou hmotou obsahujúcou v rôznom pomere proteoglykány, elastické vlákna a kolagén. Rôzny pomer tejto matrix mení vlastnosti steny artérie. Artérie periférneho – svalového typu obsahujú relatívne menej kolagénu a elastických vlákien v pomere k bunkám hladkej svaloviny, čo umožňuje cieve flexibilne meniť diameter podľa metabolickej potreby. Artérie veľkého priemeru (elastického typu) zahrňujúce aortu a hlavné vetvy tvoria samostatnú skupinu, pričom plnia úlohu premeny systolicko-diaistolického gradientu do plynulého toku krvi. Tunica media je zložená z väčšieho množstva elastických vlákien, čo umožňuje počas systoly adekvátnu dilatáciu a počas diastoly uvoľnením nazhromaždenej energie vo forme kontrakcie pokračovanie kontinuálneho toku do periférie (12).

Tunica adventitia je zložená z fibroblastov, spojivového tkaniva elastických a kolagénových vlákien, vasa vasorum, nervových vlákien - predovšetkým sympatiku. Šírka tejto vrstvy sa líši podľa lokalizácie artérie a u niektorých artérií napríklad arteria renalis a arteria mesenterica je širšia ako tunica media. U artérií zmenených aterosklerotickým procesom dochádza pri progresii plátu k atrofii tunica media a zhrubnutá tunica adventitia preberá zodpovednosť za odolnosť tepny. Typickým príkladom je endarterektómia v oblasti iliakofemorálnej alebo karotickej, kde po odstránení patologicky zmenenej intimy a väčšiny tunica media ostávajúca tunica adventitia preberá funkciu tunica media pričom výskyt aneuryzmatickej degenerácie po endarterektómii je veľmi zriedkavý (13).

4. Hemodynamika

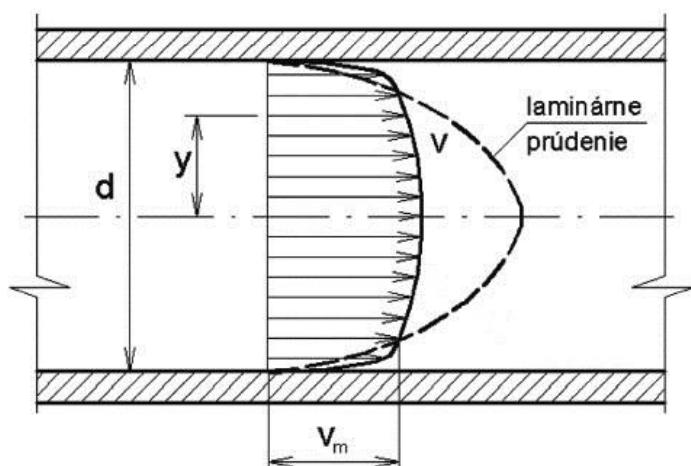
„Problém definovania pulzného toku krvi v kardiovaskulárnom systéme v presných matematických vzorcoch je neprekonateľný“ (Berne, Levy).

Hlavnými problémami zabraňujúcimi dopracovať sa presných výpočtov je niekoľko. Krv nie je newtonovská kvapalina. Jej viskozita nie je konštantná, obsahuje veľké množstvo buniek, ktoré pri meniacich sa rýchlostiach výrazne menia vlastnosti toku. Krvný tok nie je kontinuálny ale pulzatívny. Cievny majú elastickú stenu s mnohými odstupmi a majú schopnosť meniť tvar a polomer. Kvalita steny sa mení s vekom a prípadným patologickým procesom. Toto všetko je príčinou nemožnosti exaktného popisu hemodynamiky in vitro. Pri vývoji protéz a výskume hemodynamiky sa používajú virtuálne matematické modely a zvieracie modely (krysa, zajac, pes, kôň).

Pre popis toku krvi cievou je potrebné zadefinovať niekoľko pojmov, s ktorými budeme pracovať. Sú to laminárne prúdenie, turbulentné prúdenie, myointimálna hyperplázia, wall shear stress – šmykové napätie cievnej steny.

4.1. Laminárne prúdenie, turbulencia

V ideálnom prípade majú viskózne kvapaliny laminárny tok s parabolickým profilom. Dráhy jednotlivých častíc kvapaliny sú navzájom rovnobežné, pričom jednotlivé vrstvy sa pohybujú rôznymi rýchlosťami. Najrýchlejšie osová vrstva tekutiny a smerom k stene sa pohyb jednotlivých vrstiev spomaľuje. V prípade pulzovej vlny dochádza k deformite toku so sploštením profilu. (Obr. 5)



Obr. 5 Dôsledkom rozdielu rýchlosti krvi pri systole a diastole je tok deformovaný. V ideálnom prípade kontinuálneho prúdu krvi by dosahovala vlna vyznačenú líniou.

Laminárne prúdenie ostáva zachované až do tzv. kritickej rýchlosti, kedy sa mení na prúdenie turbulentné. Pravdepodobnosť prechodu do turbulencie je ovplyvnená rýchlosťou toku, priemerom cievy, viskozity a hustoty kvapaliny. Táto pravdepodobnosť sa vyjadruje pomocou *Reynoldsovho čísla* (14).

Re – Reynoldsovo číslo,

ρ – hustota kvapaliny,

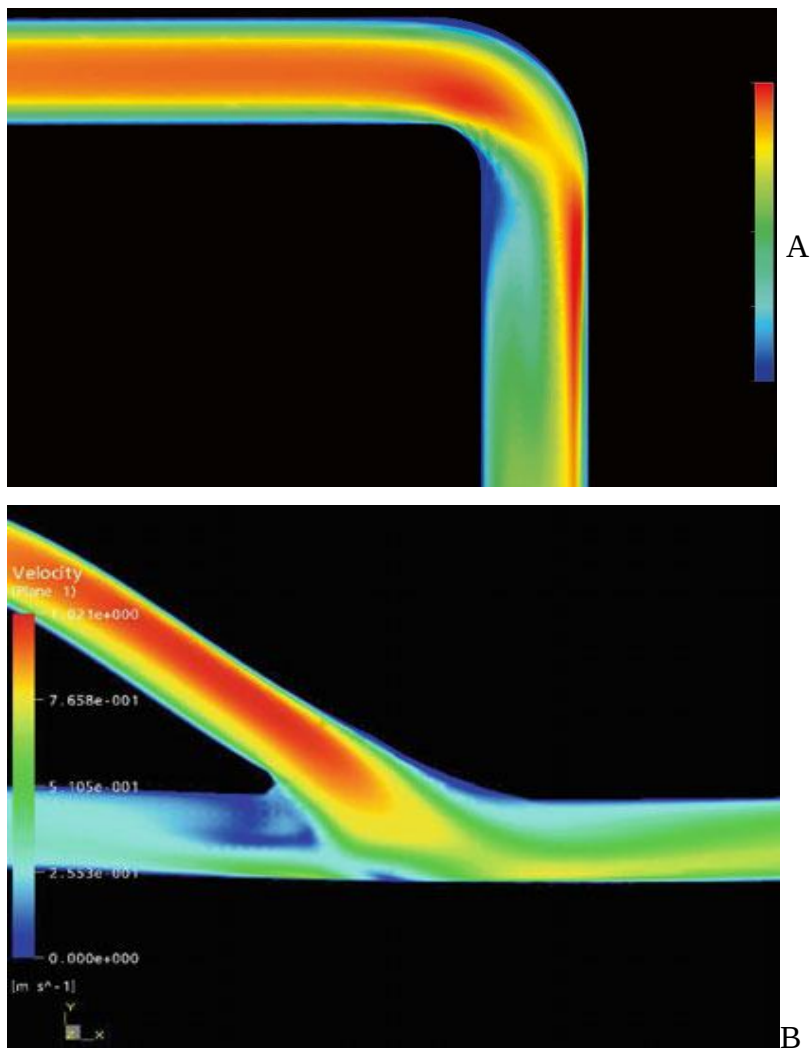
R – priemer trubice,

V – rýchlosť prúdenia kvapaliny,

η – viskozita

$$Re = \frac{\rho \cdot R \cdot v}{\eta}$$

Čím vyššie je *Reynoldsovo číslo*, tým vyššia je pravdepodobnosť vzniku turbulentného prúdenia. Pri turbulentnom prúdení sa dostávajú častice kvapaliny jednej vrstvy do inej vrstvy, čím dochádza k zmiešaniu vrstiev, rovnobežný dopredný pohyb sa mení na zložitý, vzniká vírenie.



Obr. 6 A: premena laminárneho prúdenia na ohybe cievy.
B: anastomóza end-to-side, rozdielna rýchlosť krvi znázornená farebne.

S veľkou aproximáciou môžeme pre výpočet ustáleného laminárneho toku ideálnej viskózne kvapaliny použiť Hagen-Poiseuilleov zákon.

$$Q_v = \frac{\pi r^4}{8\eta} \frac{\Delta p}{\Delta l}$$

Tento zákon znie nasledovne: Objemový tok viskózne tekutiny (Q_v) pri laminárnom prúdení trubicou kruhového prierezu je priamo úmerný tlakovému spádu a štvrtej mocnine polomeru trubice a je nepriamo úmerný dynamickej viskozite (15).

Pri implantácii protézy je pre nás dôležitý prietok anastomózou. (Obr. 6) Pri prechode toku z protézy do artérie dochádza k výrazným zmenám v hemodynamike. Rozdielnosť tokov v anastomózach sa výrazne líši podľa priemeru a tvaru anastomózy, použitého materiálu a jeho compliance, uhlu anastomózy. Postupné chápanie vzťahov hemodynamiky a myointimálnej hyperplázie vedie k optimalizácii graftu a vývoju protézy s ideálnymi vlastnosťami.

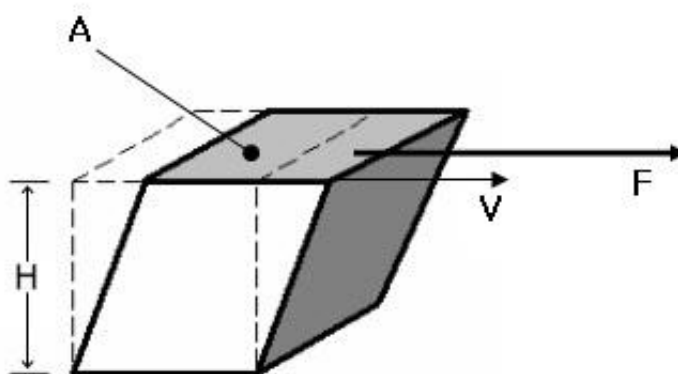
4.2. Myointimálna hyperplázia

V oblasti anastomózy dochádza k výskytu neointimálnej, pseudointimálnej, alebo tiež používanému termínu myointimálnej hyperplázie. Jedná sa nielen o zhrubnutie steny cievy so zmenou priesvitu ale aj zmenu vlastností daného úseku cievy. Neointimálna hyperplázia obsahuje všetky zložky tkaniva: buniek a extracelulárnej matrix vo vyváženom pomere, vlastnosti cievnej steny sa výrazne nemenia a je fyziologickou reakciou cievy na zmeny v toku krvi. Pri pseudointimálnej hyperplázii dominuje acelulárna zložka (kolagén, fibrín a iné) a je najčastejšia v okolí protéz. Cievnej stene sa znižuje compliance, dochádza k aterosklerotickej prestavbe a zvýšeniu trombogenity. Pojem myointimálna hyperplázia zahrňuje oba typy hyperplázie. V tejto práci vzhľadom k všeobecnosti výrazu budeme používať termín *myointimálna hyperplázia*.

Myointimálna hyperplázia je hlavnou príčinou zlyhania dlhodobej priechodnosti end to side anastomózy cievnej rekonštrukcie. Proces genézy tejto patológie je stále v štádiu výskumu, niektoré známe mechanizmy budú popísané v ďalšom texte.

4.3. Wall shear stress (WSS) – šmykové napätie cievy

Je proces ku ktorému dochádza pri kontakte pohybujúcich sa povrchov. V našom prípade krvi a endotelu. Prúd krvi deformuje intraluminálnu časť endotelu a tým spôsobuje trvalé napätie. Vektor WSS je tangenciálny k cievnej stene a preto pôsobí len na endotelové bunky, neprenáša sa do tunica media. (Obr. 7) Ovplyvňuje ho viskozita, rýchlosť prúdenia krvi a priemer cievy (16).



Obr. 7 Pôsobením toku krvi silou F na povrch endotelu A v smere vektora V dochádza k deformácii endotelu, vzniká WSS.

Vo všeobecnosti sa preukázalo, že zmena hemodynamiky a z toho plynúce zmeny WSS na rozhraní anastomózy vedú k zmenám stavby artérie, čo zohráva významnú úlohu pri formovaní myointimálnej hyperplázie. Zmena WSS vedie k naštartovaniu regulačných mechanizmov v cievnej stene slúžiacich k návratu WSS na pôvodnú hodnotu. Pri fyziologickom toku krvi v priamej časti artérie zvýšením WSS (zvýšenie tlaku krvi, rýchlosti prúdenia krvi, zvýšenie viskozity) dochádza k prirodzenému zhrubnutiu steny artérie s rozšírením priemeru cievy. Vytvorí sa nový rovnovážny vzťah v hemodynamike. WSS stimuluje vazoregulačné mechanizmy, ktoré spoločne modulujú artériu s cieľom vyváženia WSS okolo 15 dyn/cm^2 (17).

Viacere hypotézy popisujú ako WSS spúšťa biologickú odpoveď na bunkovej úrovni a vedie k myointimálnej hyperplázii. Zjednodušene popísaný proces: Endotelové bunky obsahujú mechanoreceptory na povrchu bunkovej membrány tzv. kaveoly, s ktorými sú asociované regulačné proteíny, z najznámejších predovšetkým NO-syntetáza. Pomocou týchto mechanoreceptorov ale aj intracelulárne prostredníctvom G-proteínov asociovaných s cytoskeletom dochádza k ovplyvneniu štruktúry cytoskeletu endotelovej bunky, s následnou zmenou morfológie a génovej expresie. Krátkodobé zvýšenie WSS vyvolá v endotelovej bunke vzostup produkcie NO a uvoľnenie prostacyklínu. Tým dochádza k vazodilatácii s následným poklesom WSS (18).

Na nízke a oscilujúce WSS reagujú endotelové bunky stratou longitudinálneho usporiadania, menia tvar na polygonálny. Zvyšuje sa expresia génu pre endotelín-1(ET-1) pôsobiaceho vazokonstrikčne profibroticky a preproliferácie (19). Pri trvaní

patologického podnetu nakoniec dochádza k aktivácii transkripcie a translácie génov zahrňujúcich bunkovú proliferáciu, diferenciáciu, rast a apoptózu čím dochádza k poruche fyziologických funkcií bunky. Dysfunkčné bunky môžu začať produkovať mediátory priliehajúce tvorbe buniek hladkej svaloviny, ďalej signálne molekuly, ktoré menia fenotyp buniek hladkej svaloviny, následkom čoho dochádza k proliferácii a migrácii myocytov do intimy, kde následne začnú masívne produkovať extracelulárny matrix. Z najznámejších a v súčasnosti najviac skúmaných dochádza k nárastu produkcie ICAM-1 (zodpovedného za naviazanie a migráciu leukocytov), VCAM-1 (okrem ligácie leukocytov zohráva úlohu v genéze aterosklerózy), E-selectin (akcelerujúci aterosklerotický a zápalový proces v stene cievy), PDGF (ovplyvňujúci migráciu a diferenciáciu buniek v cievnej stene) a ich receptorov.

Týmto procesom dochádza k lokálnemu zhrubnutiu steny artérie s redukciou lúmenu a formovaniu stenózy. Dôsledkom stenózy dochádza k zvýrazneniu poruchy laminárneho prúdenia, tok krvi graftom sa spomaľuje a rastie riziko vzniku trombózy (20). Aký vplyv na endotel má rozdielne WSS je podrobnejšie rozpísané v tabulke (Tab. 1).

Odpoveď	Laminárne prúdenie WSS >10 dyn/cm ²	Turbulentné prúdenie WSS <4 dyn/cm ²
Tvar endotelovej bunky	Plochý, predĺžený	Okrúhly, polygonálny
Produkcia aktínu v bunke	Dlhé paralelné vlákna v centre	Náhodné krátke filamenty
Mitotická aktivita buniek	Nízka	Vysoká
Migrácia	Rýchla	Pomalá
Permeabilita steny cievy	Nízka	Vysoká
Produkcia signálnych molekúl	Nízka	Vysoká
Adhézia leukocytov	Nízka	Vysoká
Migrácia leukocytov transendoteliálne	Nízka	Vysoká
Expresia antioxidantných génov	Vysoká	Nízka
Vazoaktivita	Vazodilatácia	Vazokonstrikcia
Retencia v stene fibronektinu/fibrinogénu	Nízka	Vysoká
Ateroskleróza/trombóza	Prevencia	Nabudenie procesu

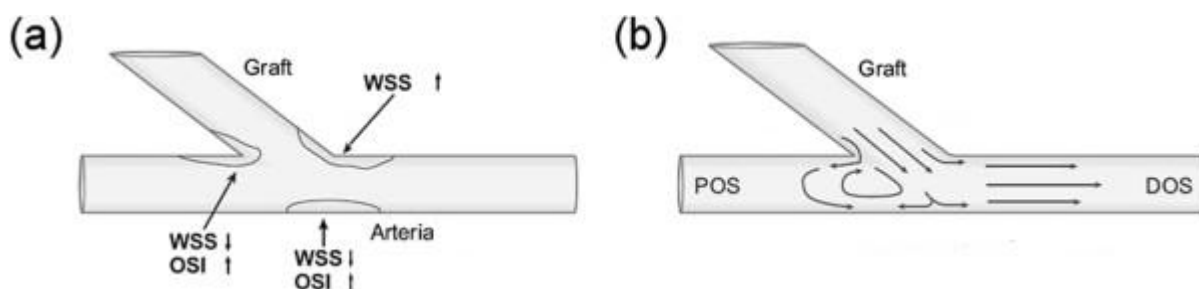
Tab. 1 Zmeny v cievnej stene pri zmene WSS.

5. Patofyziológia toku krvi v anastomóze a možnosti jeho ovplyvnenia

Pre pochopenie genézy myointimálneho procesu je potrebné ešte definovať tzv. *OSI* - *Oscillating shear index* vyjadrujúci vzťah dĺžky trvania antegrádneho a retrográdneho smeru WSS.

Viacerými štúdiami sa meraním WSS, jeho dynamickými zmenami – OSI a ďalšou observáciou potvrdila teória, na základe ktorej WSS a OSI hrajú hlavnú úlohu pri procese myointimálnej hyperplázie (21).

Distálna anastomóza protézy a artérie je miesto, kde sa významne mení prúdenie krvi. Konfigurácia distálnej anastomózy end-to-side nie je fyziologicky prítomná v arteriálnom systéme. Z laminárneho prúdenia sa tok mení na turbulentný. Nastáva významná zmena WSS. Následne na typických miestach anastomózy dochádza k myointimálnej hyperplázii (Obr. 8). Typicky v oblasti pätky dochádza k poklesu WSS. Na protiľahlej strane artérie v anastomóze v tzv. lôžku dochádza k významným zmenám OSI počas systoly a diastoly, fáze spomalenia až stagnácie toku krvi s následným zrýchlením, čo výrazne mení WSS a vedie k zvýrazneniu myointimálneho procesu. Posledným typickým miestom je špička anastomózy s vysokými hodnotami WSS a separáciou toku krvi (22).



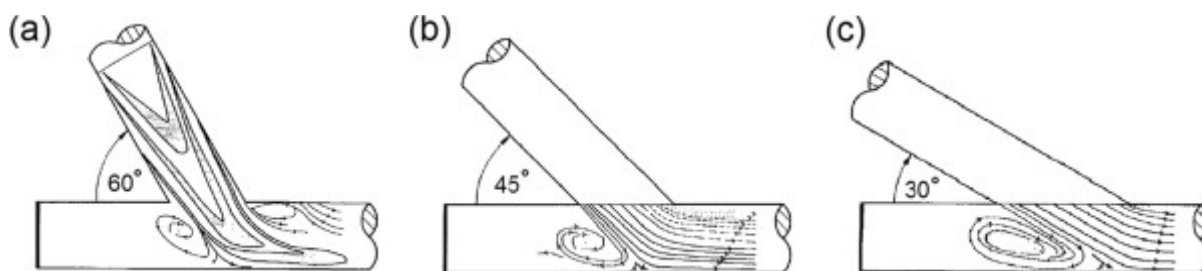
Obr. 8 a) Typické miesta vzniku myointimálnej hyperplázie so znázornením zmien WSS a OSI
b) Schematické znázornenie vektorov toku krvi

5.1 Ovplyvnenie priechodnosti distálnej anastomózy a vzniku myointimálnej hyperplázie

Modeláciou in vitro bolo dokázané, že zmenou geometrie výtokového traktu možno ovplyvniť WSS a OSI a tým znížiť riziko myointimálnej hyperplázie (23). Geometriu anastomózy je možné ovplyvniť zmenou uhlu, priemeru graftu a samotným tvarom anastomózy. Štúdie popisujúce ovplyvnenie hemodynamiky cestou zmeny samotnej dĺžky anastomózy neprebehli a za štandard sa berie minimálna dĺžka 1,5 násobok diametru graftu. Avšak pri niektorých plastikách 40-50 mm. Významnú úlohu pri stenotizácii anastomózy zohráva taktiež materiál graftu a jeho vlastnosti, čo je predmetom ďalšej kapitoly.

5.1.1 Uhol anastomózy

Prvé kroky vedúce k optimalizácii anastomózy boli vedené v zmysle zmeny uhlu anastomózy. Preukázalo sa, že zmena uhlu end-to-side anastomózy má významný vplyv na hemodynamiku toku a následnú remodeláciu anastomózy. Zmenšenie uhlu vedie k redukcii gradientov WSS, zmenšeniu turbulencie a plynulejšiemu toku krvi do periférie (Obr. 9) (24).



Obr. 9 Redukcia turbulencie pri zmenšení uhlu anastomózy end-to-side.

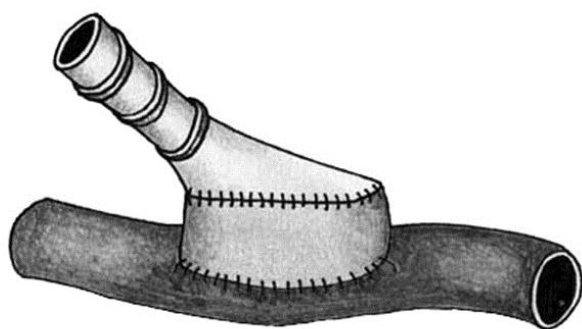
Pri zmenšovaní uhlu sa tok stáva laminárnym a väčší vplyv na myointimálny proces začína mať nepomer compliance graftu a cievy. Z daného vyplýva, že ideálna distálna anastomóza protézy a cievy z hľadiska zachovania laminárneho prúdenia je end-to-end anastomóza.

5.1.2 Priemer cievnej protézy

Ďalšou vlastnosťou, u ktorej bol skúmaný vplyv na hemodynamiku bol priemer graftu. Bolo zaznamenané, že grafty s väčším priemerom v pomere k priemeru artérie 5:3 preukazovali lepšie hemodynamické vlastnosti, než grafty s pomerom k artérii 1:1 (25). Uvedené štúdie prebiehali na koronárnych artériách a v ďalšom prípade na arteria carotis u psov (26), čo sú tepny menšieho priemeru, kde ePTFE 1:1 znamená priemer graftu 5 mm a menej. Pri týchto hodnotách sa výrazne zhoršujú hemodynamické vlastnosti protézy. Štúdie na tepnách väčšieho priemeru so zameraním na rozdiely priemeru graftu pri zachovaní uhlu anastomózy nie sú publikované.

5.1.3 Modifikácia tvaru anastomózy

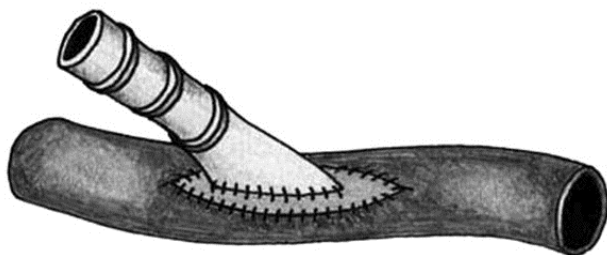
V roku 1984 predstavil *Miller* techniku venóznej manžety ako metódu zlepšujúcu priechodnosť femoro-distálnych bypasov (Obr. 10) (27). Použitie tejto techniky v niektorých štúdiách preukázalo zlepšenie priechodnosti, ale v iných nebol rozdiel zaznamenaný. Benefit priniesol pri bypasoch s distálnou anastomózou na predkolení. (28, 29). Pri tejto plastike dochádza k zvýrazneniu turbulencie v oblasti anastomózy a technicky je obtiažné dosiahnuť vhodný uhol medzi protézou a vlastnou artériou. Podľa niektorých autorov je zvýšená priechodnosť dosiahnutá celkovým zväčšením objemu anastomózy a nie zmenšením procesu myointimálnej hyperplázie (30, 31).



Obr. 10 Millerova plastika s použitím venóznej manžety.

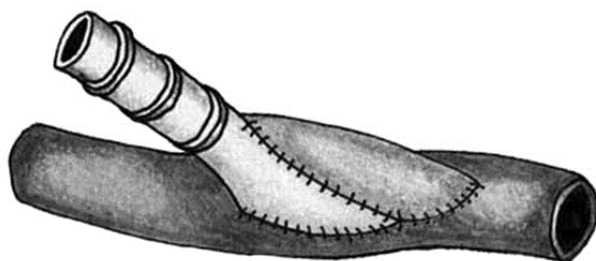
Technika *Lintonovej* plastiky pozostáva typicky zo 40-50 mm venóznej záplaty, do ktorej je implantovaná vlastná anastomóza protézy. (Obr. 11) Má za cieľ zvýšenia compliance a tým zlepšenia hemodynamických vlastností v anastomóze. Táto plastika sa

javí ako vhodné riešenie v prípade nemožnosti použitia venózneho graftu s nutnosťou realizácie bypasu pomocou ePTFE na niektorú artériu predkolenia (32).



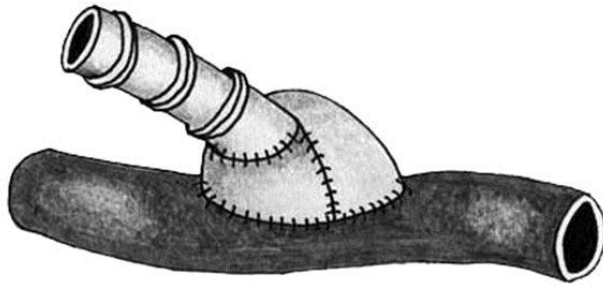
Obr. 11. Lintonova plastika s anastomózou graftu do venóznej záplaty.

Taylorova plastika (Obr. 12) mala za cieľ zníženie tvorby myointimálnej hyperplázie cestou zlepšenia hemodynamiky v oblasti špičky anastomózy. Lokálne je zaznamenané mierne zlepšenie WSS, avšak hemodynamický dopad je malý. Výhodou je proti Millerovej plastike anastomóza s lineárnym tokom krvi v oblasti špičky anastomózy. Priechodnosť anastomóz s Taylorovou plastikou a anastomóz graftu bez plastiky majú v štúdiách podobné hodnoty (33).



Obr. 12 Taylorova plastika s použitím venóznej záplaty v oblasti špičky anastomózy.

Tyrrellova manžeta (*St.Mary's Hospital boot plastic*) vznikla modifikáciou Millerovej a Taylorovej plastiky a umožňuje priamejší tok krvi v oblasti špičky v porovnaní s Millerovou plastikou a inzerciu graftu cez venu v oblasti pätky anastomózy do artérie, čo zlepšuje prechod medzi nízkou compliance graftu a vysokou compliance artérie (Obr. 13) (34).

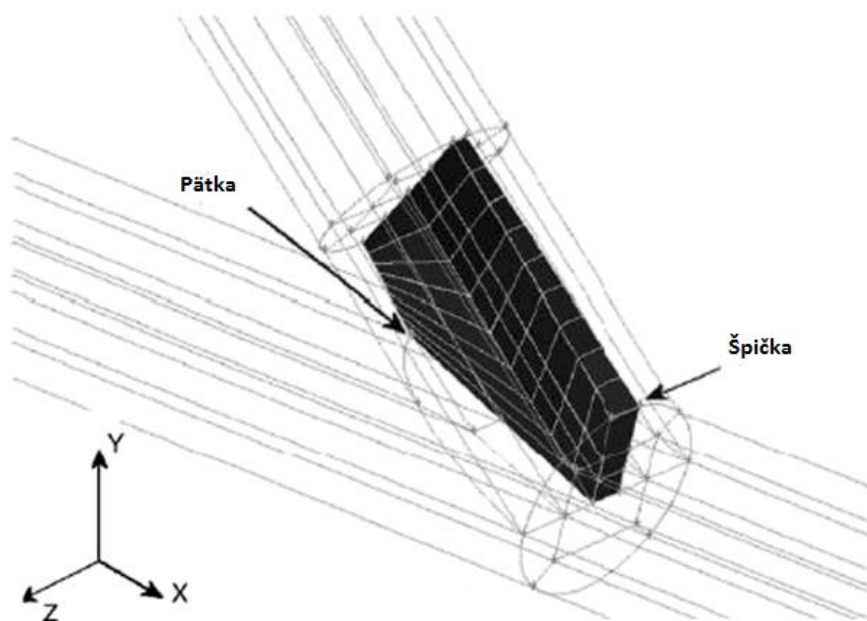


Obr. 13 Tyrellova plastika prinášajúca výhody vyššie uvedených plastík.

Výskum v oblasti optimálnej distálnej anastomózy pokračuje a môžeme nájsť práce s bifurkačnými anastomózami (35), anastomózy s inkorporovaným rukávom (36), alebo sekvenčný bypass s proximálnou side-to-side a distálnou end to side anastomózou (37).

V snahe o čo najlepšie hemodynamické pomery v oblasti distálnej anastomózy sa na základe matematických modelov protéza tvaruje v oblasti distálnej anastomózy priamo vo výrobe. Čo skracuje celkový čas operácie bez nutnosti konštrukcie venóznej plastiky. Napríklad Cobrahood®-Vaskutek, Dynaflo®-Bard, Spiral Flow®-Vascular flow.

Dosiahnutie ideálneho toku v anastomóze je možné aj modeláciou samotného toku pomocou intraluminálnych výstupkov, špirál. (Obr. 14) Vložením arteficiálnej časti vystupujúcej z protézy priamo do toku krvi dochádza k separácii prúdu, obmedzeniu turbulencie a napriamaniu toku, čím sa hlavne v oblasti lôžka artérie zlepšujú pomery WSS a OSI (38). Na danom princípe je založená stavba distálnej časti Spiral Flow® protézy.



Obr. 14 Distálna časť graftu s intraluminálnym výstupkom modelujúcim tok krvi. Podobný princíp využíva napríklad Spiral Flow protéza.

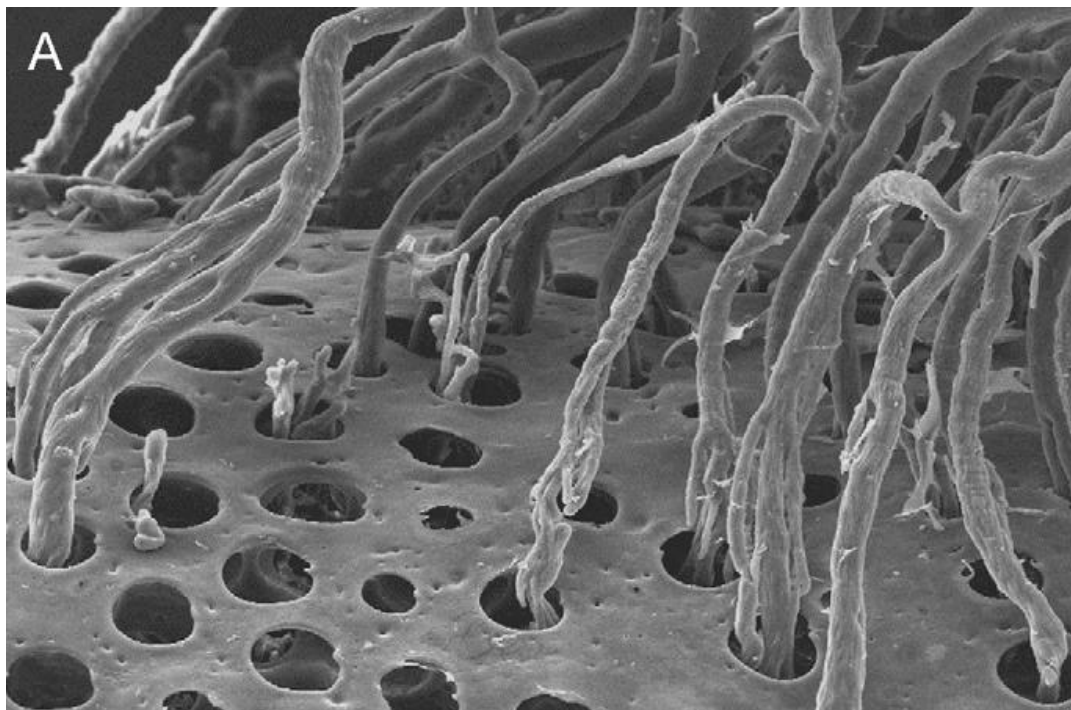
6. Základné vlastnosti protézy

Protéza by sa mala svojimi vlastnosťami priblížiť čo najviac vlastnostiam zdravej artérie. Vzhľadom ku komplexnej viacvrstvej stavbe steny artérie sa tento cieľ zatiaľ nedarí realizovať. Každá z vrstiev zdravej artérie plní inú funkciu a celkovo zabezpečujú fyziologický kontinuálny laminárny prietok krvi počas systoly a diastoly.

Základnou vlastnosťou každej protézy musí byť biokompatibilita s telom pacienta . Materiál nesmie byť toxický, karcinogénny alebo spúšťať imunologické reakcie ako chronický zápal, kaskádu komplementu, alebo tvorbu protilátok. Musí byť stabilný, odolávať v čase bez dilatácie, ruptúr a extenzívnej elongácie.

Ďalšími vlastnosťami sú: porozita steny, compliance, schopnosť protézy imitovať vlastnosti endotelu voči toku krvi.

Ako bolo preukázané na zvieracích modeloch, porozita steny ovplyvňuje vrastenie endotelu a buniek hladkého svalstva do steny graftu (Obr. 15). To má priaznivý vplyv na hemodynamické vlastnosti a vytvára prirodzenú bariéru zabráňujúcu tvorbe trombov. U dakronových protéz sa udáva porozita permeabilitou vody, u ePTFE v mikrometroch - štandardná veľkosť pórov je 30 μm , pričom u ePTFE sa nepreukázala výhoda zväčšenia pórov na 60-90 μm . Najväčšou prekážkou kompletného prerastenia stenou a potenciálnou tvorbou neokapilár je vytvorenie vnútornej fibrinóznej kapsuly ako reakcie donora na cudzí materiál. Nádejou môžu byť nové grafty z plne biorezorbovateľných materiálov, ktorých výskum práve prebieha (39).



Obr. 15 Ideálny stav prerastania kapilár pórmí steny cievnej protézy. V tomto prípade sa jedná o polyuretánovú protézu.

Compliance, tiež poddajnosť a elasticita steny protézy. Táto vlastnosť vyjadruje schopnosť dilatácie trubice pri čo najmenšom úsilí a spätnú kontrakciu na pôvodný diameter. Compliance je zodpovedná za fyziologický prietok krvi pri systole a diastole. Udáva sa ako percento priechnej zmeny na mm Hg $\times 10^{-2}$.

Compliance ovplyvňuje dvoma spôsobmi tok krvi.

1. Hemodynamicky so znižovaním compliance trubice dochádza k narastaniu rozdielu prietoku krvi medzi systolou a diastolou a tým poruche laminárneho prúdenia a predĺženiu kontaktu krvi so stenou protézy. To napomáha fibrotickému procesu a trombogenite na vnútornej stene graftu.
2. Z hľadiska technického pri rekonštrukcii anastomózy protézy a artérie dochádza k spojeniu materiálov s rôznou compliance a pri systole a diastole dochádza k stresovej aktivite zmene WSS s akceleráciou myointimálnej hyperplázie. Niektoré

štúdie dokazujú zvýšenú dlhodobú priechodnosť bypassu vložení venózneho interpozita. (40). V realite sa stretávame skôr s patologicky zmenenou stenou artérie procesom aterosklerózy s inými hodnotami compliance a celkové vlastnosti prechodu z artérie na protézu sa menia aj pri vrastaní endotelu a buniek hladkého svalstva do protézy. Faktorom, ktorý nemožno verifikovať pri pokusoch in vitro je tiež inkorporácia protézy do okolitého tkaniva s periprotetickým procesom vhojenia. Preto nemožno brať compliance ako jediný prediktor tvorby myointimálnej hyperplázie.

Graft	Compliance	Priechodnosť 30/180 dní v %	Priechodnosť 1 / 2 roky v %
Arteria femoralis	5,9	-	-
Vena saphena magna	4,4	94/93	88/84
Vena umbilicalis	3,7	97/93	83/80
ePTFE	1,6	85/81	60/42
Dacron	1,9	88/72	65/42

Tab. 2 Compliance a priechodnosť graftu. Ako vidno z tabulky compliance zohráva úlohu pri dlhodobej priechodnosti graftu od 1 až 2 rokov (Walden, R et al.: Matched elastic properties and successful arterial grafting 1980).

Nepoškodený endotel udržiava netrombogénne rozhranie medzi krvou a tkanivom, reguluje trombózu a adhérenciu trombocytov. Reguluje imunitné a zápalové reakcie interakciou s leukocytami, metabolizuje hormóny, moduluje cievny tonus a prietok krvi. V prípade cievnej protézy je z tohto pohľadu dôležitá dôsledná inertnosť povrchu voči krvným elementom a negatívny elektrický náboj. Negatívny elektrický náboj povrchu inhibuje naviazanie trombocytov a pozitívny náboj akceleruje. Rozhoduje tiež homogenita rozloženia náboja.

Z hľadiska samotnej implantácie protézy materiál musí splňovať možnosť adekvátnej sterilizácie, ľahkej manipulácie a penetrácie ihly pri šití bez narezávania a presakovania stehovým kanálom. Stavba protézy musí umožňovať implantáciu cez skĺbenia alebo nepravidelný priebeh bez zalamovania alebo inej deformácie.

6.1. Proces vhojenia protézy

Po obnove cirkulácie do novo našitého graftu začína komplexná reakcia donora voči materiálu. Aj protézy z dostupného maximálne inertného materiálu sú rozpoznávané ako telu cudzie. Dochádza k priľnutiu plazmatických proteínov, aktivácii trombocytov, infiltrácii monocytov a neutrofilov a proliferácii endotelu a buniek hladkého svalstva.

Najviac zastúpenými proteínmi sú IgG, albumín, fibrinogén, fibronektín obsahujúce sekvenciu, na ktorú sa viaže IIb/IIIa receptor membrány trombocytu, ten sa týmto aktivuje a usadzuje. V menšom množstve sa trombocyty usadzujú aj priamo na povrchu graftu. Po naviazaní dochádza k zmene tvaru trombocytu a degranulácii. Uvoľňujú sa bioaktívne substancie ako serotonín, adrenalín, adenosín difosfát, tromboxán A₂. Tieto substancie aktivujú ďalšie trombocyty a tvorbu trombínu. V oblasti anastomózy uvoľnené rastové faktory zahŕňujúce PDGF – platelet derived growth factor, epidermal growth factor a TGF- β modulujú migráciu a proliferáciu endoteliálnych buniek a buniek hladkej svaloviny, zvyšuje sa tvorba extracelulárneho matrixu (41).

Trombogenita syntetického materiálu je jednou z hlavných vlastností podieľajúcich sa na dlhodobej priechodnosti graftu. V súčasnosti sa používajú viaceré metódy ovplyvnenia naviazania trombocytu na stenu protézy: impregnáciou materiálu rôznymi medikamentmi, alebo alternáciou náboja povrchu protézy. Syntetický povrch okrem pôsobenia na trombocyty spôsobuje aktiváciu komplementovej kaskády, ktorá ďalej akceleruje akumuláciu koagulačných proteínov a spôsobuje chemotaxiu monocytov. Experimentálne je aktivácia komplementu vyššia u dakronu v porovnaní s ePTFE (42).

Bolo dokázané, že väzba a imobilizácia monocytov na IgG naviazaného na stenu protézy paradoxne znižuje obranyschopnosť pred prípadnou infekciou (43). Makrofágy a aktivované neutrofily uvoľňujú proteázy a voľne kyslíkové radikály, ktoré pôsobia inhibujúco na tvorbu matrixu a bráni kompletnému prerastaniu endotelu do protézy. Proces uvoľnenia zápalových mediátorov indukovaný cudzím materiálom je výraznejší u Dakronu v porovnaní s ePTFE. Približne 2 dni po implantácii začínajú v oblasti anastomóz prerastať bunky endotelu a bunky hladkého svalstva do protézy. Tento proces končí väčšinou vo vzdialenosti 1-2 cm za anastomózou. Aj keď je popísaný výskyt ostrovčekov endotelu v strednej časti protézy, ku kompletnej endotelizácii nedochádza.

7. Typy cievnych protéz podľa použitia materiálu

Viac ako 50 rokov sa pre materiál protézy používajú dva typy polymérov. Polyetylén tereftalát (PET) - známy ako *Terylene*®, alebo *Dacron*® a polytertrafluóretylén (PTFE, ePTFE) - *Teflon*®, *Gore-Tex*®. V posledných rokoch začínajú do praxe prenikať protézy zhotovené z polyuretánu (PU) a pokračujú výskumy s biologickými protézami.

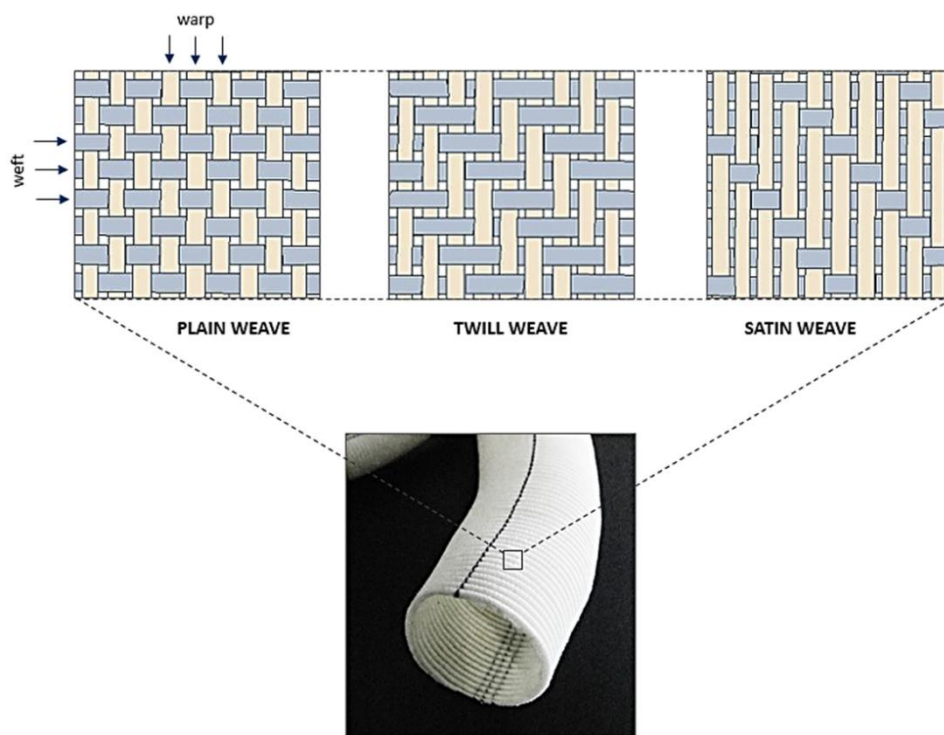
7.1. Polyetylén tereftalát - PET / Dacron

Bol vynájdený v roku 1939 vo Veľkej Británii a ďalej zdokonalený a patentovaný firmou *DuPont* v roku 1950. Je to termoplastický polymerizujúci polyester používaný vo forme syntetických vlákien v mnohých odvetviach. Tieto vlákna sú spletené do multifilamentózných nití, ktoré môžu byť ďalej tkané alebo pletené do textílií pre výrobu protéz požadovaného tvaru a rozmeru. Jedná sa o pevné hydrofóbne vlákno s dobrou biologickou stabilitou, dlhodobo bez karcinogénnych účinkov.

Podľa metodiky vzniku textílie rozdeľujeme dakronové protézy na tkané, pletené.

7.1.1. Tkané protézy

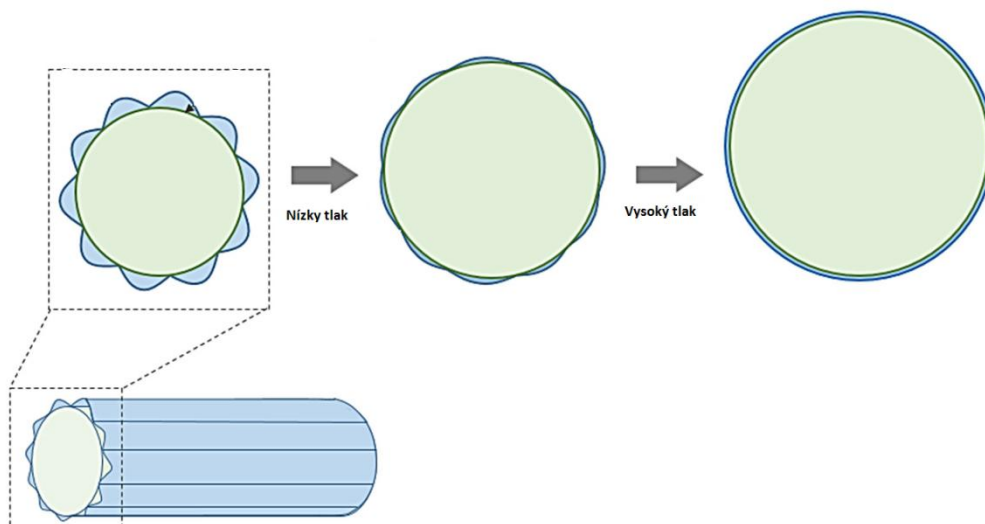
Tkaný materiál je spracovaný prekladaním 2 vlákien orientovaných voči sebe v 90° uhle. Rôznym prekladaním možno získať inú štruktúru tkaniny. (Obr. 15)



Obr. 15 Modifikácia vzoru tkania nemení významne vlastnosti steny protézy.

Hlavnými vlastnosťami, ktoré pri uvádzaní týchto protéz do praxe považovali za najdôležitejšie sú: hladkosť povrchu, ľahkosť manipulácie, biologická stabilita a schopnosť vhojenia, permeabilita vody a odolnosť pred ruptúrou. Na druhú stranu za 60 rokov používania tohto typu protéz sa neprihliadalo na biomechanickú optimalizáciu vlastností graftu. Vlákna polyetylénu korelujú svojimi vlastnosťami s kolagénom, avšak celkovo graft postráda vlastnosti elastických vlákien zdravej artérie. Štruktúra na seba kolmých vlákien tkaniny bráni pozdĺžnej rozťažnosti graftu a znižuje celkovú compliance (44). Chýbajúca axiálna rozťažnosť sa zlepšuje zvlnením povrchu protézy - crimping, no optimálna compliance zostáva nedosiahnutým cieľom (45).

V roku 2011 bol predstavený koncept dvojvrstvovej tkanej protézy (46), kde vnútorná vrstva je zkonštruovaná z polytrimetylén teraftalátu a vonkajšia polyesterom. (Obr. 16) Vonkajšia vrstva je oproti vnútornej zvlnená. Pri nízkom tlaku krvi dochádza k absorpcii vnútornou vrstvou a pri vyššom dochádza k ľahkej dilatácii a narovnaniu zvlnenia povrchu protézy, čím simuluje biomechanické vlastnosti artérie. Avšak až in vivo štúdie preukážu dlhodobú priechodnosť a zachovanie týchto vlastností po implantácii.

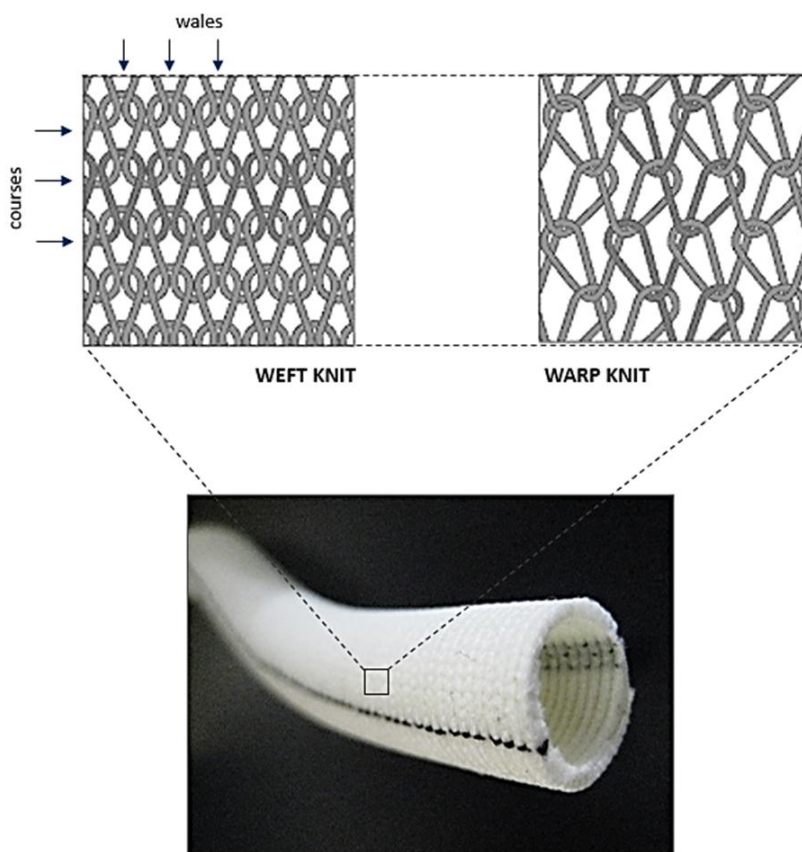


Obr. 16 Modifikácia tkanej protézy s dvomi vrstvami s rozdielnymi vlastnosťami so zlepšením hemodynamických vlastností.

7.1.2. Pletené protézy

Pletené protézy (Obr. 17) majú štruktúru slučkovito vinutého vlákna, ktoré vytvára reťazové špirály okolo obvodu protézy, čím sa definujú odlišné vlastnosti protézy v porovnaní s tkaným materiálom.

Vynikajú zvýšenou mäkkosťou, vyššou flexibilitou, lepšou compliance. Okraje protézy sú odolnejšie proti rozpletienu v porovnaní s tkaným materiálom. Pletené protézy boli prvýkrát predstavené pre použitie v roku 1955. Následne v roku 1958 bola pletená protéza *Dacron®* doporučená renomovaným chirurgom *DeBakeym*, čo zapríčinilo masové rozšírenie a použitie dakronu ako štandardu pred protézami zhotovenými z *Nylonu®* a *Orlonu®* (47).



Obr. 17 Spôsoby tkania Dacronovej protézy.

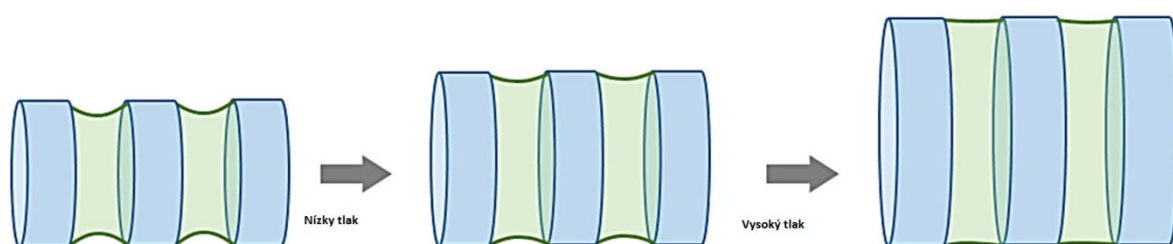
V porovnaní s dakronovými tkanými cievnyimi protézami vykazujú výrazne zlepšenú radiálnu compliance. Nevýhody vyplývajúce z technológie výroby boli upravené následnou modifikáciou. Vpletením rôznych vzorov do steny protézy sa dosahuje zlepšenie manipulácie s protézou a zvýšenie odolnosti. Znevýhodnenie vyššej priepustnosti bolo eliminované impregnáciou kolagénom, albumínom alebo želatínou a tým odstránená nutnosť predzrážania protézy prítomná u staršej generácie pletených protéz, pričom nie je ovplyvnená vlastná trombogenita a priechodnosť graftu.

Prospektívna randomizovaná štúdia s aortoiliackými protézami impregnovanými kolagénom dokázala, že nie je rozdiel v stimulácii koagulačnej kaskády medzi impregnovanými a konvenčnými dakronovými protézami (48). V dlhšom časovom období je pozorovaná dilatácia dakronových protéz, ale výskyt komplikácií s týmto javom spojeným je raritný. Ruptúra steny graftu sa publikuje v ojedinelých prípadoch, pričom mikroskopicky sa potvrdzuje nález početných zalomení a mikroruptúr dakronových vlákien so stratou pružnosti (49). Modifikáciou naviazania heparínu na vnútornú stenu protézy bola preukázaná o niečo vyššia priechodnosť bypassu v porovnaní s ePTFE bez

impregnácie (50).

Podobne ako tkané aj pletené protézy podstúpili modifikáciu s cieľom priblížiť sa vlastnosťami zdravej artérie. Boli vytvorené kompozitné materiály za použitia vlákien spandexu, vykazujúcich výraznú elasticitu polyester/spandex materiály (51).

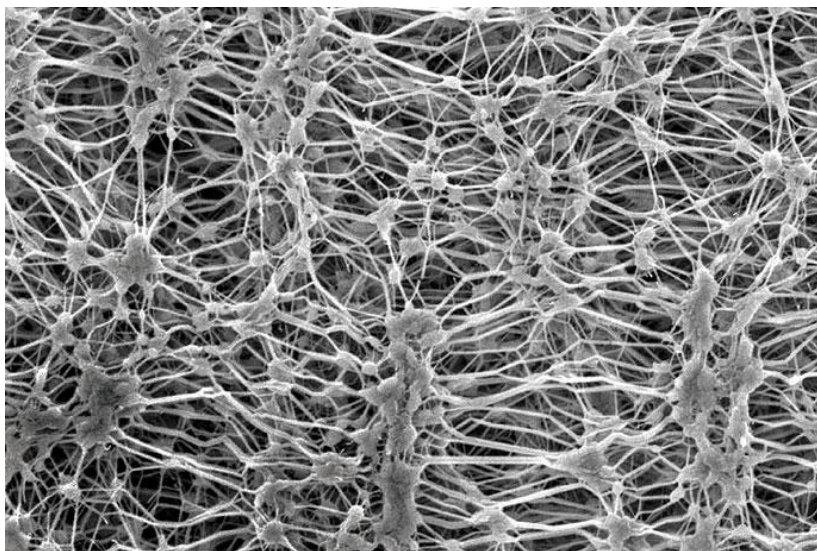
V najnovších štúdiách sa experimentuje s výraznou zmenou štruktúry steny a kombinácie materiálov, kde stena je rozdelená na striedajúce sa vyššie a nižšie moduly. (Obr. 18) Nižšie – tvorené pleteným polyuretánom majú vyššiu compliance a vyššie moduly tvorené pleteným polyesterom nižšiu compliance. Pri nižšom intraluminálnom tlaku krvi dochádza k dilatácii polyuretánových modulov a pri vyššom k simultánnej dilatácii oboch modulov, čo celkovo lepšie imituje chovanie zdravej artérie. Compliance sa blíži $7 \text{ mmHg} \times 10^{-2}$, čo je hodnota v medziach artérie a ďaleko najlepšia v porovnaní s ostatnými syntetickými graftami. Avšak potvrdenie týchto vlastností in vivo nie je zatiaľ k dispozícii (52).



Obr. 18 Kombinácia dvoch modulov s rôznymi vlastnosťami umožňuje protéze imitovať chovanie sa zdravej artérie.

7.2. ePTFE – expandovaný polytetrafluoretylén

PTFE bol patentovaný firmou *DuPont* v roku 1937 ako *Teflon®*. V roku 1969 bola otcom a synom *Wilbertom a Robertom Gore* vynájdená technológia výroby – expandovaného PTFE so širokým uplatnením novej textílie *Gore-Tex®*. Protéza sa zo základného materiálu PTFE vyrába procesom zahrievania, natáhovania a extrudácie (expansionia pomocou tlaku), čím sa vytvára mikroporózna hubovitá nodálno-vláknitá štruktúra s najčastejšou internodálnou vzdialenosťou 30µm. (Obr. 19) Hubovitá štruktúra steny napomáha adhézii okolitého tkaniva. Ani pri dlhom intervale implantácie neboli pozorované karcinogénne účinky materiálu.



Obr. 19 Špecifická vlákniťo-nodálna štruktúra ePTFE.

PTFE je biologicky stabilný takže protéza v tele nepodlieha rozkladu. Povrch protézy je inertný, elektronegatívny, čo minimalizuje reakciu s krvnými elementmi. Z dlhodobého hľadiska je prerastanie endotelu takmer zhodné s dakronovou protézou s maximom v okolí anastomóz. Z vonkajšej strany protézy je u niektorých výrobcov prítomné vrapovanie z pevnejšieho materiálu, ktoré bolo pridané v 70-tych rokoch pre zvýšenie mechanickej odolnosti steny graftu. Tieto prstence inhibujú prerastanie okolitého tkaniva k protéze a pri súčasných schopnostiach výroby steny s vyššou mechanickou odolnosťou vo väčšine prípadov strácajú opodstatnenie. Vrapovanie pomocou prstencov z externej strany protézy zvyšuje odolnosť proti tlaku z okolia a redukuje možnosť vytvorenia kinkingu protézy v oblasti kĺbov a ohybov.

V snahe o čo najlepšie hemodynamické vlastností sa vyvinulo viacero modifikácií stavby protézy. Tenkostenné grafty s hrúbkou steny 0,2-0,3 mm v porovnaní so štandardnou stenou 0,4-0,6 mm prinášajú zlepšený compliance a manipuláciu, ale žiadne zlepšenie priechodnosti v štúdiách (53). Strečovaná ePTFE umožňuje pozdĺžnu rozťažnosť protézy, pri natiahnutí sa dostáva mikroštruktúra vlákien do tvaru nestrečovaných vlákien. Takáto štruktúra graftu je vhodná na použitie pre protetický AV shunt, kde zabezpečujú lepšie zaťahovanie postkanylačných punkcií. Niektoré štúdie ale nepreukazujú zlepšenie dlhodobej priechodnosti v porovnaní s konvenčným ePTFE (54).

Iné modifikácie sa zamerali na vnútorný povrch a oblasť distálnej anastomózy.

U protéz s heparínovým povlakom sa preukázala vyššia odolnosť pred trombózou (55). Pokusy s povlakom z *polyethylénglykol-hirudínu/iloprostu* u protéz s priemerom 4 mm preukázali redukcii tvorby myointimálnej hyperplázie a celkovú dobrú priechodnosť protézy (56). Novšie sa experimenty posúvajú smerom k impregnácii rastových faktorov - *vascular endothelial growth factor*, *fibroblast growth factor* (57), impregnácii antiproliferatívnych látok *paclitaxel* (58), alebo látkami postupne uvoľňujúcimi NO *diazoniumdiolát* a *S-nitrosothiol* (59). Uhlíkový povlak (*Carbon coating*) je používaný na zvýšenie elektronegativity povrchu pre zabránenie tvorby trombu. Skoré štúdie preukazovali znížené usadzovanie trombocytov ale v porovnaní s nepovlečenými nedochádza k výraznému zlepšeniu priechodnosti (60).

Snaha o ovplyvnenie myointimálnej hyperplázie v oblasti distálnej anastomózy viedla k vytvoreniu preformovanej manžety na protéze. Táto je tvorená z tenšieho materiálu čím dochádza k zlepšeniu compliance a manipulácie a má preformovaný tvar, ktorý zlepšuje hemodynamiku v oblasti anastomózy. Využitie nachádza pri konštrukcii hemodialyzačných prístupov a infrapopliteálnych bypasov. Štúdiami bola preukázaná signifikantne lepšia priechodnosť v porovnaní s bežnými ePTFE (61).

Navrstvením materiálov rozdielnej kvality na seba sa podarilo výhody ePTFE a dakronu zjednotiť do jednej protézy. *FUSION BIOLINE®* je zkonštruovaná z dvoch vrstiev, kde vnútornú tvorí ePTFE s heparínovým povlakom a vonkajšiu tvorí pletený Dacron. Spojené sú pomocou polykarbónuretánového lepidla. Aplikácia dakronu umožnila stenčenie vrstvy ePTFE a tým zlepšenie výslednej compliance. Výhody protézy sú zlepšenie manipulácie pri konštrukcii anastomózy a zredukovanie krvácania z kanálov pri

súture a na druhej strane výrazne nižšia trombogenita vnútornej vrstvy. Podľa niektorých štúdií vykazujú lepšiu priechodnosť v porovnaní s štandardnou ePTFE protézou. Po 6 mesiacoch 86,4% ku 70% v prospech *FUSION BIOLINE®* a po 12 mesiacoch 76,5% ku 67% v prospech *FUSION BIOLINE®* (62).

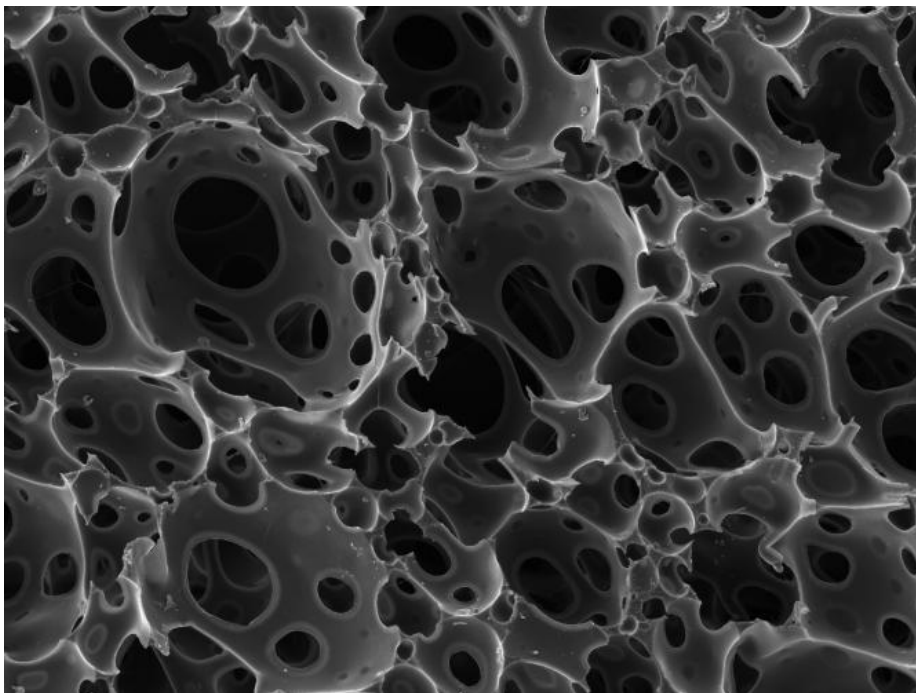
7.3. Polyuretán (PU)

Bol vyvinutý v Nemecku v 30-tych rokoch. Ďalší rozvoj prišiel až v 60-tych rokoch pod vedením firmy *DuPont®*. Polyuretánová protéza má vynikajúce elastické vlastnosti a splňuje compliance ideálneho graftu. Je to dané molekulárnou štruktúrou skladajúcou sa z troch rozdielnych monomérov.

1. derivovaný diizokyanát je zodpovedný za tuhosť protézy
2. polyol zodpovedný za flexibilitu protézy
3. reťazový predlžovač

Rôznym pomerom týchto monomérov je možno vytvoriť protézu požadovaných vlastností.

Nevýhodou prvej generácie PU protéz (protéza *Vascugraft* od Braun Melsungen) bola vysoká biodegradabilita, čo si vynútilo ukončenie štúdie (63). Ďalšia generácia odolávajúca hydrolýze podstúpila úspešné klinické pokusy ako hemodialyzačný graft a bola registrovaná *FDA* (Food and drug administration) v roku 2000. Neskôr bolo vyslovené podozrenie z oxidácie materiálu (64). Tretia generácia je odolná voči oxidácii i hydrolýze. Umožňuje rýchlejšiu endotelizáciu povrchu a znižuje výskyt myointimálnej hyperplázie v porovnaní s ePTFE. Po 36 mesiacoch implantácie aortoiliackých cievnych protéz z PU na laboratórnych zvieratách boli dokázané len minimálne známky hydrolýzy s dobrou tvorbou neointimy v oblasti anastomózy, pričom protéza si zachovala svoju compliance (65). (Obr. 20)



Obr. 20 Štruktúra PU, zobrazené pole zodpovedá 1.76 μm . Pozmenením výrobného procesu je možné dosiahnuť rozdielnu porozitu materiálu.

V súvislosti s technológiou výroby môže byť graft vyrobený z polyuretánu vláknitej alebo penovitej formy. Obe štruktúry tvoria nekomunikujúce kapsuly. Po implantácii sa vnútorný povrch pokrýva vrstvou fibrínu, ktorá je tenšia ako u dakronovej protézy. Vonkajšia vrstva sa obaluje jazvovitým tkanivom s minimálnym prerastaním kapilár (39).

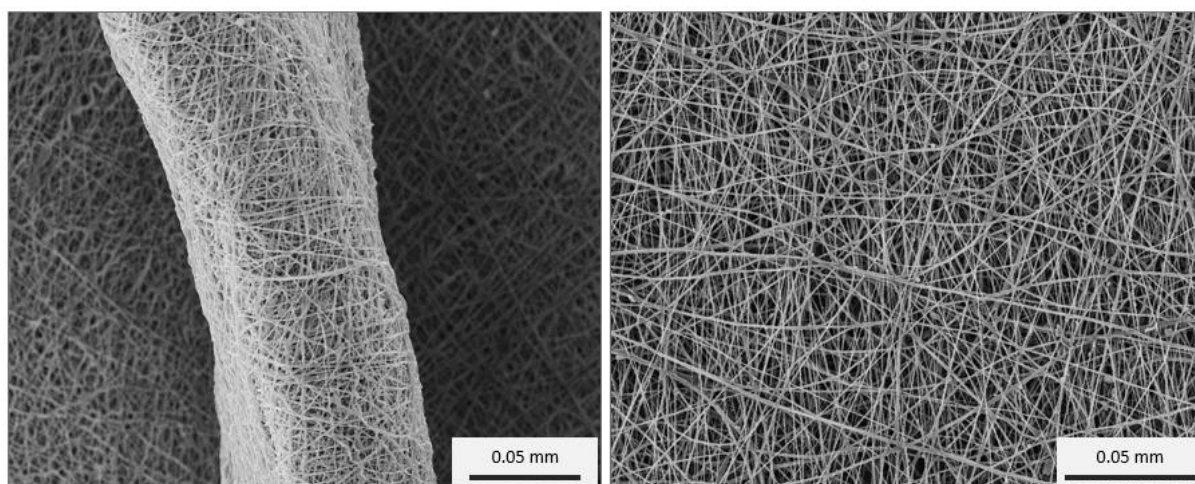
PU cievne protézy majú mnoho dobrých vlastností: vynikajúcu schopnosť vhojenia, prítomnosť endoteliálnych buniek aj pri hemodynamicky nepriaznivých podmienkach v anastomóze, minimálne krvácanie po vpichoch a ľahká manipulácia s protézou (66). Na druhej strane dlhodobá priechodnosť sa nelíši od ePTFE graftov a bol pozorovaný vyšší výskyt myointimálnej hyperplázie v oblasti distálnej anastomózy (67).

8. Elektrospinning

Výskumy v štruktúre stavby cievnych protéz a ich vplyvu na vhojenie a dlhodobú priechodnosť potvrdili, že porozita, compliance, vlastnosti povrchu a štruktúra materiálu priamo ovplyvňujú okolité bunky k fyziologickej inkorporácii, ale aj negatívne k indukcii myointimálnej hyperplázie a zlyhaniu bypassu. Snaha o imitáciu stavby artérie viedla k použitiu novej technológie známej ako elektrospinning. Pri tomto procese je vo vysokom elektrickom poli možné tvoriť vlákno polyméru podľa požadovanej hrúbky od niekoľkých nanometrov do mikrometrov. Materiál vytvorený z týchto vlákien nie je tkaný ani pletený a pripomína nepravidelnú sieť. Táto štruktúra pripomína prirodzenú štruktúru extracelulárneho skeletu steny artérie, čo uľahčuje fyziologické vrastenie buniek (Obr. 21) (68).

Technológia elektrospinningu umožňuje použitie rôznych syntetických ako aj prírodných polymérov a tým škálovateľnosť konečných vlastností cievnych protéz. Ďalšou možnosťou tejto technológie je tvorba viacvrstevných graftov použitím rôznych polymérov s maximálnou imitáciou steny artérie (69).

Možnosti tejto technológie ešte len objavujeme a štúdie *in vivo* potvrdia skutočný prínos rozdielnych polymérov a štruktúry graftu. Táto metóda si nachádza svoje miesto pri výskume nových technológií tvorby biosyntetických a biologických graftov.



Obr. 21 Netkaná štruktúra vzniknutá metódou elektrospinningu.

9. Biosyntetické / biohybridné cievne protézy

Výskum v oblasti biokompatibility a vhojenia protézy viedol k rozvoju hybridných graftov, ktoré kombinujú umelé materiály so živými biologickými elementami. Vrstva fyziologického endotelu predstavuje najlepší možný antitrombogénny povrch. Preto sa pozornosť už v sedemdesiatych rokoch 20. storočia upriamila na možnosti arteficiálnej kolonizácie vnútornej steny graftu endoteliálnymi bunkami.

Štandardne in vivo môže prebiehať proces endotelizácie protézy troma rôznymi spôsobmi. Prerastaním z artérie cez oblasť anastomózy, pórmi steny protézy z okolitého tkaniva a usídlením buniek priamo z krvi na vnútornej stene graftu s množením vo forme ostrovčekov. Celkový proces endotelizácie povrchu protézy u ľudí je cca 1-2 cm od hranice anastomózy, prerastaniu stenou protézy je zabránené stavbou steny a veľkosťou pórov protézy (39).

Koncom 70 rokov sa začala rozvíjať myšlienka usídlenia endoteliálnych buniek na stenu graftu ešte pred implantáciou (70), čo viedlo k pokusom autológnej transplantácie buniek na dakronovu protézu (71). Prvé pokusy neboli úspešné predovšetkým pre nedostatočnú hustotu osídlenia bunkami (72). Použitím pokročilejších metód extrakcie endoteliálnych buniek a následnej fixácie (73) sa výsledky podarilo zlepšiť (74).

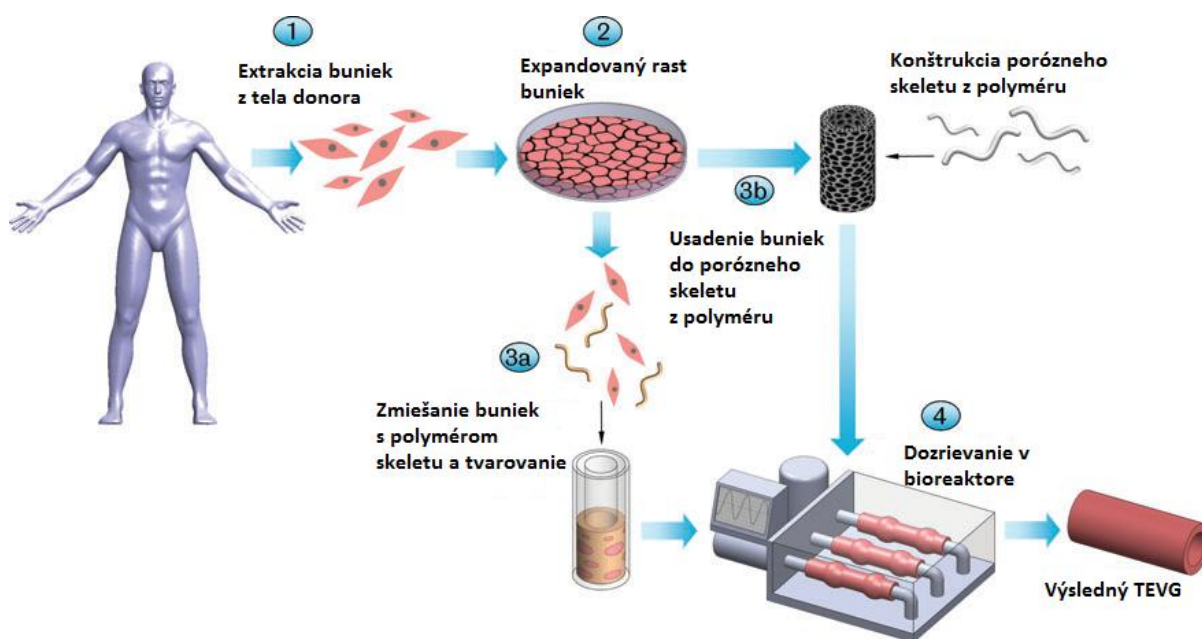
Ďalšie zlepšenie prinieslo rozfázovanie procesu, kde v prvej fáze sa odobrané bunky inkubujú a in vitro množia a až následne implantujú na stenu protézy (75). Prvé výsledky takto pripravených biosyntetických graftov boli úspešné a neskôr publikovaná 5 a 10 ročná priechodnosť protézy u femoro-popliteálneho bypasu bola 69% a 61% (76).

Alternatívnym prístupom je použitie prekursorových buniek z kostnej drene alebo extrakciou z krvi (77). Zárodočné bunky svojou proliferačnou schopnosťou a diferenciačným potenciálom predstavujú budúcnosť v technológii biosyntetických protéz (78).

Najnovšie experimenty pracujú s geneticky modifikovanými endoteliálnymi bunkami, ktoré majú modifikovanú tvorbu tkanivového plasminogén aktivátora (t-PA), zvýšenú produkciu endoteliálnej NO syntetázy, čo má eliminovať proces trombózy graftu (79). Proces genetickej manipulácie však vo všeobecnosti naráža na súčasnú legislatívu.

10. Biologické protézy – tissue-engineered vascular graft (TEVG)

V polovici 80-tych rokov bola predstavená Weinbergom a Bellom prvá biologická štruktúra kombinujúca boviné endotelové bunky, fibroblasty a bunky hladkej svaloviny (80). Konštruované boli v kolagénovom matrixe a následne tvarované do trubicového tvaru s podporou dakronovej sieťky ako skeletu protézy. Celkové mechanické vlastnosti boli chabé. Od tej doby sa vyvinulo viacero rozdielnych technológií tvorby biologických protéz. Tie sa líšia typom základnej kostry, použitím materiálov, alebo vlastným procesom tvorby. (Obr. 22)



Obr. 22 Výroba TEVG so skeletom vyrobeným z polyméru.

10.1. Typy skeletu

Samotné bunky v kultúre sa nedokážu samy organizovať do trojdimenzionálnej štruktúry, preto sa pre tento účel používa základná kostra graftu, ktorá tvorí vzor. V tomto procese sa používajú rôzne materiály syntetického ale aj prírodného pôvodu.

10.1.1. Syntetické polyméry

Najväčšie skúsenosti sú s použitím syntetických polymérov – najčastejšie biodegradibilná porózna kostra tvorená polylaktidom (PLLA) v kombinácii s polykaprolaktónom (PCL) a polyglykolidom (PGA) (81). Tieto grafty boli osídlené autológnyimi bunkami kostnej drene. Všetky grafty v štúdiu boli bez záznamu ruptúry, aneuryzmy, alebo ektopickej kalcifikácie, ale u malého počtu pacientov bola potrebná následná angioplastika k zachovaniu priechodnosti (82). Počas štúdie bol zaznamenaný exitus u štyroch pacientov nesúvisiaci s implantáciou graftu. U týchto pacientov bola následne prevedená explantácia bypassu, pričom sa potvrdila kompletná rezorbcia skeletu, stena bola tvorená bunkami hladkej svaloviny a vnútorná vrstva pozostávala z endoteliálnych buniek. Tieto grafty boli ale širokého priemeru 12-24 mm a použité vo vysoko-prietokovom a zároveň nízko-tlakom riečisku.

Niklason a Langer si dali za cieľ vytvoriť graft malého priemeru a začali tvoriť grafty pomocou bioreaktorového systému s použitím biomimetickej mechanickej stimulácie a kóstrou zo syntetického polyméru (PGA). Bunkovú zložku tvorili bovinné endotelové bunky a myocyty. Celý proces prebieha in vitro a v priebehu 8 týždňov sa pomocou pulzného toku a výsledkom je graft vlastnosťami podobný fyziologickej artérii (83).

10.1.2. Prírodné polyméry

Pre skelet graftu bolo pri výskume použitých viacero prírodných polymérov. Významné úspechy boli zaznamenané pri použití fibrínovej kóstry. Tento materiál sa vyrába polymerizáciou fibrinogénu izolovaného z plazmy pacienta (84). Vytvorená základná kostra je podrobená podobne ako u syntetických polymérov mechanickej stimulácii, čo zvyšuje výslednú odolnosť steny. V niektorých modeloch sa používa tiež metóda decelularizácie s podobnými výsledkami. Iné skupiny pracujú s použitím fibroinu, kolagénu, chitosanu (85).

Hlavnými výhodami prírodných polymérov proti syntetickým polymerom je biokompatibilita a bunková adhézia materiálu. Nevýhodou je slabšia mechanická odolnosť.

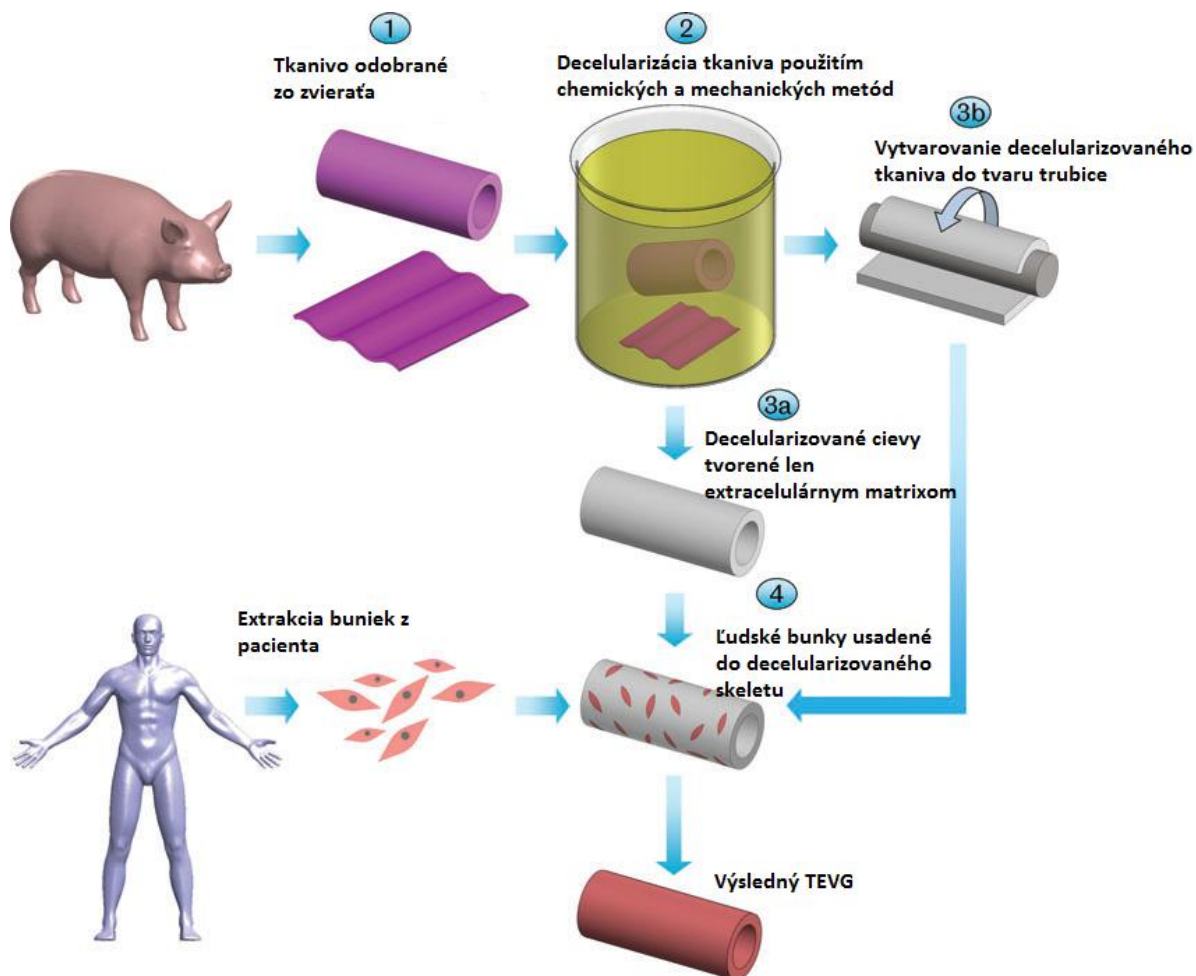
10.1.3. Hybridné polyméry

Použitím hybridnej kostry, kde syntetické polyméry tvoria jadro zabezpečujúce dostatočnú odolnosť a sú prekryté prírodnými polymérmi, zvyšujúc celkovú biokompatibilitu a bunkovú adhéziu spájame výhody oboch polymérov, čo posúva tento biomateriál na čelo výskumu (86). Takto pripravené grafty majú podobné mechanické vlastnosti ako ľudské artérie s dobrou vhojivosťou a odolnosťou pred adhéziou trombocytov. Výraznou nevýhodou je drahý a hlavne časovo náročný proces, čo v súčasnosti odsúva tieto grafty mimo klinické použitie.

10.2. Acelulárne grafty

Decelularizované grafty prinášajú proti celulárnym výhodou neprítomnosti imunologickej odpovede na cudzie bunkové elementy. Už v 60-tych rokoch boli vyvinuté prvé decelularizované grafty, ktoré boli aj komerčne dostupné – *Artegraft®*, *Solcograaft®*, *ProCol®*. Ich základom boli boviné decelularizované cievy, alebo v prípade *SynerGraftu®* boviný ureter. (Obr. 23)

Následné štúdie však nepriniesli v porovnaní s konvenčnými syntetickými cievnyimi protézami lepšiu priechodnosť a nedosiahlo sa ich širšie použitie (87). Najčastejším zlyhaním bola trombóza graftu, infekcia a pseudoaneuryzmy. Ako príčina týchto komplikácií bola vyslovená acellularita. To viedlo k modifikácii tohto procesu, kde sa hotový xenogénny alebo allogénny graft pomocou enzýmov a detergentov zbavuje živých buniek, ostáva len extracelulárny matrix, ktorý je následne osídlený autológnyimi endoteliálnymi bunkami tesne pred implantáciou (88). V literatúre je popísaných viacero štúdií použitia acelulárnych graftov. Vo všetkých prípadoch implantácie graft preukazoval významnú remodeláciu v smere priblíženi sa vlastnosťami k prírodným cievam. Myointimálna hyperplázia bola zaznamenaná len v malom počte. Napríklad: (89, 90).



Obr. 23 Výroba decelularizovaného TEVG metódou odberu tubulárneho útvaru alebo tkaniva s následnom modeláciou tvaru *in vitro*.

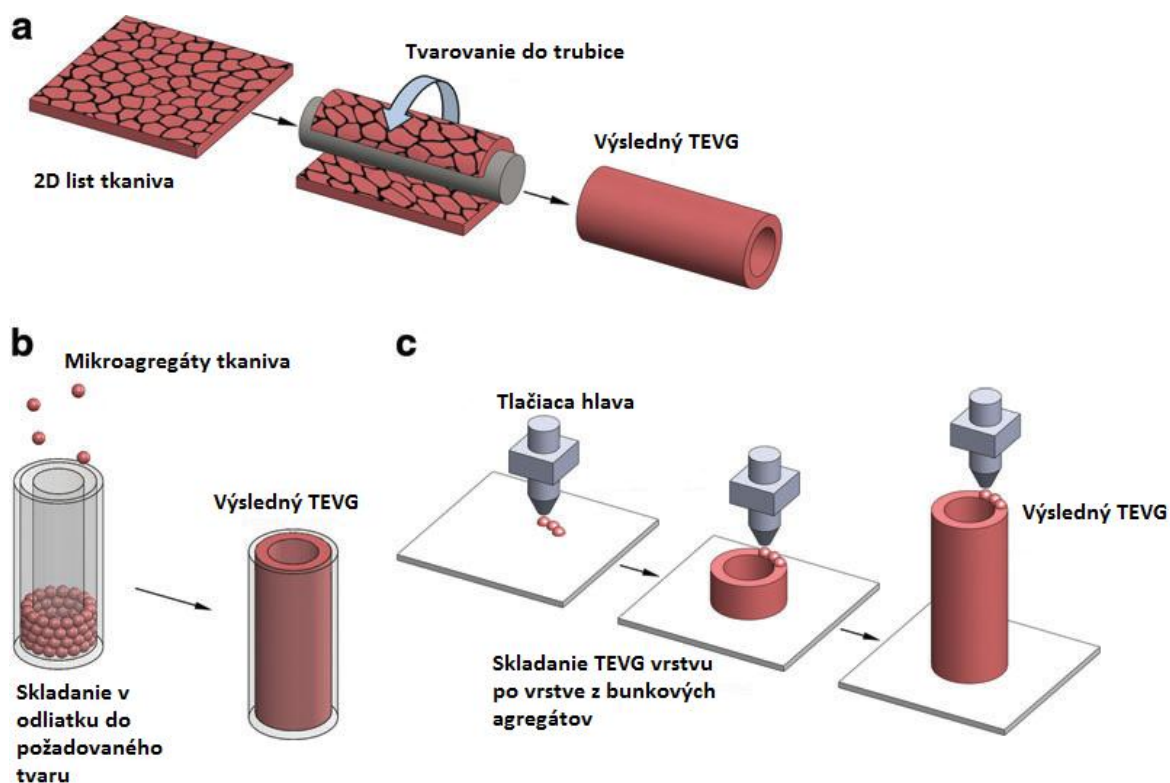
11. 2D, 3D technológie výroby graftu (TESA-Tissue engineering by self-assembly)

Nové technológie prinášajú možnosti tvorby cievnych protéz bez použitia podpornej kostry. V prípade 2D sa pestuje vrstva tkaniva, ktorá je následne rolovaná do požadovaného tvaru. V prvých štúdiách sa osobitne pestovali vrstvy endotelových buniek, vrstvy myocytov a vrstvy fibroblastov, ktoré sa následne spájali a formovali do tvaru trubice. Svojou odolnosťou pripomínali stenu vena saphena. A preukazovali následkom buniek hladkej svaloviny aj fyziologické kontraktilné vlastnosti (91).

Urýchlenie tvorby graftu priniesla technológia 3D výroby cievnej protézy. Výrobnými technológiami podobnými pri výrobe syntetického graftu – pleteniu, tkaniu sa z bunčných vlákien produkovaných in vitro zostavuje graft priamo požadovaného tvaru. Grafty pripravené touto metódou disponujú väčšou odolnosťou a vyžadujú kratší čas produkcie v porovnaní s 2D technológiou (92). Ďalšími metódami 3D výroby sú zostavenie graftu pomocou tkanivových mikroagregátov (93), alebo použitím 3D tlače (94). (Obr. 24)

Napriek veľkým rozdielom vo výrobe TEVG, pri všetkých technológiách vedci čelia rovnakým problémom. Aký najvhodnejší typ bunky použiť, ako dosiahnuť najlepšie mechanické vlastnosti graftu, ideálnu post implantačnú remodeláciu a integráciu graftu s cievny systémom hostiteľa?

Najčastejšie sa používajú nasledovné vaskulárne bunky: endotelové bunky, myocyty a fibroblasty, u ktorých je však limitácia odberu z tela hostiteľa invazívnym prístupom a komorbiditou. V niektorých prípadoch je nemožné získať bunky adekvátnej kvality a kvantity. Použitie nevaskulárnych buniek limituje ich reprodukčnú schopnosť in vitro a taktiež ich následná skorá involúcia in vivo (95). Nové možnosti priniesla technológia použitia indikovaných pluripotentných zárodočných buniek (96). Použitie týchto buniek sa javí ako optimálne pri tvorbe TEVG.



Obr. 24 Výroba TEVG bez použitia podpornej kostry.

Mechanické vlastnosti ako compliance a odolnosť voči tlaku sú najdôležitejšími vlastnosťami pri výrobe TEVG. Ako zlatý štandard pri manipulácii, odolnosti a ďalších vlastnostiach sa považuje vena saphena a mnohé technológie stále nie sú schopné priniesť graft s danými vlastnosťami. V budúcnosti sa počíta s možnosťami modifikácie vlastností na mieru podľa umiestnenia graftu a potrebami hostiteľa, čo však vyžaduje ďalší výskum v oblasti biotechnológie tak v biomechanike a hemodynamike in vivo.

Štúdie in vivo preukázali, že grafty s danými vlastnosťami sa po implantácii remodelujú a menia svoje vlastnosti. Dôsledkom degradácie skeletu, dysbalancie bunkovej zložky, kalcifikácie sa graft stáva tuhším, alebo naopak jeho stena ochabuje (97, 98). Výskum zatiaľ nezodpovedal ako rýchlo a ako výrazne sa budú meniť vlastnosti pripraveného graftu. Vzhľadom k závislosti tvorby myointimálnej hyperplázie pri zmene vlastností, bude pochopenie tohto procesu rozhodujúce v ďalšom vývoji TEVG.

Ďalšou neznámou je proces integrácie graftu hostiteľom, kde môže dochádzať k aktivácii monocytov, tvorbe rastových faktorov, produkcii cytokínov (99). Ovplyvnenie môže byť kľúčové pri dlhodobej priechodnosti graftu a je nutné mu venovať ďalšiu pozornosť.

12. Použitie cievnych náhrad pri zabezpečení cievnych prístupov pre hemodialýzu

Zvyšujúca sa prevalencia cukrovky s nárastom pomeru starších pacientov s chronickou renálnou insuficienciou spolu so zdokonalením hemodialyzačnej techniky a predĺžením doby, počas ktorej sú pacienti schopní podstupovať dialýzu vedie k rastu počtu pacientov, u ktorých je problém zabezpečiť prístup autológou AV fistulou. Ako alternatíva prichádza v úvahu použitie protetických cievnych náhrad.

Cievna náhrada musí splňovať podobne ako u graftov používaných konvenčne (arterio-arteriálnych a veno-venózných) všetky základné vlastnosti plus jednu špeciálnu vlastnosť – schopnosť opakovanej kanylácie. Opakované punkcie kladú na graft vysoké nároky ohľadne schopnosti samozaťahovania a prevencie krvácania ako aj dlhodobú odolnosť steny pred oslabením a tvorbou pseudoaneuryzmy.

Ako materiál sa používajú dakron, ePTFE, kombinované viacvrstvové materiály a v menšom množstve PU protézy. Bovinné heterografty: *Procol®* – graft z bovinnej mezenterickej vény, *SynerGraft Vascular Graft Model 100 – SGVG 100®* – použitý decelularizovaný bovinný ureter, zabezpečujú bezpečnú alternatívu AVF u pacientov s mnohopočetnými zlyhaniami syntetických AV graftov (100).

Pôvodná myšlienka lepšej odolnosti pri kanyláciách a vrastu okolitého tkaniva do vláknitej štruktúry dakronovej protézy sa v praxi nepotvrdila a metódou voľby sa stala implantácia ePTFE graftu (101). Niektoré prospektívne štúdie dokázali lepšiu dlhodobú priechodnosť graftov zo strečovaného ePTFE v porovnaní s klasickým ePTFE (102).

Z novších materiálov polyuretánové protézy skracujú dobu od implantácie k použitiu pri hemodialýze, majú vynikajúcu schopnosť samouzatvárania vpichov po kanylácii, čo znižuje počet komplikácií (103). Na druhej strane dlhodobá priechodnosť sa nelíši od ePTFE graftov a bol pozorovaný vyšší výskyt myointimálnej hyperplázie v oblasti distálnej anastomózy (104).

Prietok protetickým graftom je striktne limitovaný priemerom protézy v oblasti distálnej anastomózy alebo veľkosťou drenážnej vény. Preto akákoľvek stenóza v oblasti

odtoku znamená spomalenie toku a trombózu graftu. Proces trombózy AV graftu začína pri prietoku nižšom ako 600 ml/min (105). Pri implantácii protetického AV graftu je z toho dôvodu obzvlášť dôležité venovať pozornosť distálnej anastomóze a možnostiam odtokovej vény. Riziko myointimálnej hyperplázie sa znižuje zmenšením hrúbky steny graftu, čím sa zvyšuje compliance v oblasti anastomózy a zmenou geometrie anastomózy – podobne ako u protéz arteriálnych.

Na základe týchto znalostí sa výrobcovia snažia upravovať už vo výrobe oblasť distálnej anastomózy, zosilňuje sa stena v oblasti strednej časti protézy, kde dochádza ku kanyláciám a impregnuje sa vnútorná časť heparínom, uhlíkovým povlakom a inými látkami znižujúcimi riziko trombózy. Typickým príkladom je protéza *Venaflow®* ePTFE protéza s karbonovým povlakom a prefabrikovanou manžetou, ktorá v štúdiu potvrdila lepšiu dlhodobú priechodnosť v porovnaní s konvenčnou ePTFE protézou (106).

Aj v oblasti AV graftov sa experimentuje s použitím TEVG a biohybridných graftov. Konštrukcia týchto graftov je v štádiu výskumu a nepredpokladá sa použitie v najbližších rokoch (111).

13. Špecifická infekčného procesu u protetického graftu

Závažnosť postihnutia protetického graftu infekciou spočíva v komplikáciách, významnému predĺženiu hospitality pacienta a výraznému rastu nákladov na liečbu.

K infekcii graftu dochádza u malého množstva pacientov 0,2-5%, pričom jej dôsledky vedú k až 50% incidencii amputácie končatiny a 25-75% mortalite (13). Významným činiteľom ovplyvňujúcim vznik infekcie je komorbidita, prítomnosť infekčného ložiska u pacienta, lokalita anastomózy a materiál protézy. Riziko infekcie výrazne rastie pri reoperáciách, u diabetických pacientov, renálnej insuficiencie a imunodeficientných pacientov. Samotná infekcia ako ložisko chronickej infekcie ovplyvňuje kardiovaskulárny, hepatorenálny systém, zhoršuje metabolické ochorenia, neliečená vedie k SIRS a septickému šoku.

Grampozitívne baktérie produkujú glykokalix, ktorý má vyššiu schopnosť väzby s protetickým materiálom v porovnaní s gramnegatívnymi baktériami a preto dochádza k častejšiemu výskytu infekcií spôsobených týmito baktériami. Iniciálnym aktom je prilnutie baktérie k stene protézy a následné lokálne množenie baktérie. Adherencia dakronu pre baktérie je 10-100 násobne vyššia než adherencia u ePTFE protéz. Niektoré štúdie poukazujú na zvýšenú rezistenciu a zmenšený výskyt infekcie pri použití *Rifampicin* impregnovanej protézy, pričom iné multicentrické štúdie nepreukázali štatisticky významné rozdiely medzi typom implantovanej protézy (107). Ako alternatíva sa javí použitie impregnácia striebrom. Výsledky štúdií sú zmiešané a obsiahla retrospektívna štúdia s celkovým počtom 913 pacientov s implantáciou 430 *silver graft* vs. 483 štandardných protéz nepreukázala výhodu použitia týchto protéz (108). Pričom iné preukázali bezpečné použitie pri náhrade infekcie aortálneho graftu v porovnaní s použitím allogénym štepom (109). Najnovšie sa objavujú štúdie pracujúce s kombináciou impregnácie protézy striebrom a *Triclosanom* – silným antibakteriálnym a antimykotickým činidlom so sľubnými výsledkami (110).

Je možné predpokladať, že TEVG grafty s dokonalou imitáciou cievnej steny a ideálnou inkorporáciou do tela donora prinesú prirodzenú obranyschopnosť čím sa výrazne zníži riziko infekcie. Doposiaľ ale nebola vyrobená protéza s inertnosťou voči infekcii a chýbanie obranných mechanizmov protézy v porovnaní s komplexnou obranou zdravej artérie nás núti dodržiavať perioperačne prísnu asepsu a antisepsu ako základný predpoklad zabránenia infekcie.

14. Záver

Budúcnosť cievnych protéz:

Ideálna cievna náhrada by mala splňovať všetky požiadavky operátora: ľubovoľný priemer a dĺžku, odolnosť steny graftu s požadovanou elasticitou, compliance podľa lokality implantácie, vnútorná stena by mala byť netrombogénna, akceptácia donora bez vzniku imunologickej odpovede s úplným vhojením. Tvar a materiál anastomózy by mal zabráňovať tvorbe myointimálnej hyperplázie a dlhodobá priechodnosť náhrady by mala byť v trvaní zdravej cievy. V druhom kroku adaptácia podľa meniacich sa potrieb človeka a možnosť tvorby vetiev do okolia cievnej náhrady.

Všetci vedci sa zhodujú na tom, že budúcnosť graftov je v biotechnológii a výrobe graftov na mieru. Súčasný progres v tomto odvetví však zatiaľ nedokáže vytvoriť graft s dostatočnou rýchlosťou. Biologickým graftom zatiaľ chýba adekvátne odolnosť steny. Štúdie zatiaľ len skúmajú základné vlastnosti a výrobná cena nesignalizuje skorý posun do klinickej praxe. A samozrejme tieto grafty nespĺňajú základnú vlastnosť: byť k dispozícii v ktoromkoľvek čase v požadovanom priemere a dĺžke.

Literatúra:

- 1 Hoernle A.F.R. Studies in the Medecine of Anciant India 1907.
- 2 Vivian Nutton et al. Ancient medicine 2004.
- 3 Steven G.Friedman, MD A history of vascular surgery sec. ed. 2005.
- 4 Heidenhain L. Uber naht von arterienwunden 1895.
- 5 Murphy J.B. : Resection of arteries and veins injured in continuity – end-to-end suture 1897.
- 6 Callow AD. Historical development of vascular grafts 1978.
- 7 Payr E. Weitere mittheilungen uber verwundug des magnesiums bei der blutgefassen 1901.
- 8 Carrel A. La technique operatoire des anastomoses vasculaires et de la transplantation des visceres 1902.
- 9 Douglas Wardrop and David Keeling, The story of the discovery of heparin and warfarin 2008.
- 10 Smith RB III. Arthur B.Voorhees, Jr. Pioneer vascular surgeon 1993.
- 11 Junqueira et al. Basic histology text and atlas 2005.
- 12 Lullman-Rauch, Histologie 2012.
- 13 R.B.Rutherford et al.: Vascular surgery 2005.
- 14 Švíglerová: Laminární proudení 2009.
- 15 Chmelík F. Skripta Fyzika 2010.
- 16 Theodoros et al. Vascular wall shear stress: Basic principles and methods 2004.
- 17 Zarins C.K. et al.: Differential enlargement of artery segments in response to enlarging atherosclerotic plaques 1988.
- 18 Papaioannou T.G. et al.: Assesment of vascular wall shear stress and implication for atherosclerotic disease 2006.
- 19 Malek A. et al.: Hemodynamic shear stress and its role in atherosclerosis 1999.
- 20 Jeng-Jiann Chiu, Shu Chien: Effects of Disturbed Flow on Vascular Endothelium: Pathophysiological Basis and Clinical Perspectives 2011.
- 21 Sunamura et al.: Flow patterns and preferred sites of intimal thickening in diameter-mismatched vein graft interpositions 2007.
- 22 Haruguchi H et al.: Intimal hyperplasia and hemodynamic factors in arterial bypass and av grafts 2003.
- 23 Loth F. et al.: Relative contribution of wall shear stress and injury in experimental intimal thickening at PTFE end to side arterial anastomoses 2002.
- 24 Brien TO et al.: On reducing abnormal hemodynamics in the femoral end-to-side anastomoses: the influence of mechanical factors 2005.
- 25 Bonert M. et al.: A numerical study of blood flow in coronary artery bypass graft 2002.
- 26 Keynton et al.: Intimal hyperplasia and wall shear in arterial bypass graft distal anastomoses 2001.
- 27 Miller JH et al.: Interposition vein cuff for anastomosis of prosthesis to small artery 1984.
- 28 Kisin et al.: Vein interposition cuffs decrease the intimal hyperplastic response of PTFE bypass grafts 2000.
- 29 Norbeto JJ et al.: The protective effect of vein cuffed anastomoses is not mechanical in

- origin 1995.
- 30 Norbeto JJ et al.: The protective effect of vein cuffed anastomoses is not mechanical in origin 1995.
 - 31 Wijesinghe LD et al.: Axial flow fields in cuffed end-to-side anastomoses: effect of angle and disease progression 1999.
 - 32 Anandbabu S, Neville R: Distal venous patch improves result in PTFE bypasses to tibial arteries 2006.
 - 33 Yeung KK et al: Improved patency of infrainguinal PTFE bypass grafts using a distal Taylor vein patch 2001.
 - 34 Tyrrell MR et al.: New prosthetic venous collar anastomotic technique: combining the best of other procedures 1991.
 - 35 Walsh et al.: Surgical feasibility study of a novel polytetrafluoroethylene graft design for the treatment of peripheral arterial disease 2007.
 - 36 Chua et al.: Numerical simulation of steady flows in designed sleeve models at distal anastomoses 2005.
 - 37 Kabinejadian et al.: Compliant model of a coupled sequential coronary arterial bypass graft: effects of vessel wall elasticity and non-Newtonian rheology on blood flow regime and hemodynamic parameters distribution 2012.
 - 38 O' Brian T et al.: Altering end to side anastomosis junction hemodynamics: the effects of flow-splitting 2006.
 - 39 Zilla P et al.: Prosthetic vascular grafts: Wrong models, wrong questions and no healing 2008.
 - 40 Anandbabu S, Neville R: Distal venous patch improves result in PTFE bypasses to tibial arteries 2006.
 - 41 Ito R.K. et al.: Monitoring platelet interactions with prosthetic graft implants in canine model 1990.
 - 42 Shepard A.D. et al.: Complement activation by synthetic vascular prostheses 1984.
 - 43 De La Cruz C. et al.: Immobilized IgG and fibrinogen differentially affect the cytoskeletal organisation and bactericidal function of adherent neutrophils 1998.
 - 44 Tremblay D et al.: A comparison of mechanical properties of materials used in aortic arch reconstruction 2009 .
 - 45 Lantelme P et al: Effect of abdominal aortic grafts on aortic stiffness and central hemodynamics 2009.
 - 46 Chen Y et al.: A bilayer prototype woven vascular prosthesis with improved radial compliance 2011.
 - 47 De Bakey M.E. et al: Clinical application of a new flexible knitted dacron arterial substitute 1958.
 - 48 De Mol Van Otterloo et al: Systemic effect of collagen-impregnated aortoiliac Dacron vascular prostheses on platelet activation and fibrin formation 1991.
 - 49 Nunn D.B.: Intrinsic Dacron graft failure 19 years post implantation 1997.
 - 50 Devine C. et al.: Heparinbonded Dacron and polytetrafluoroethylene for femoropopliteal bypass: five years results of a perspective randomized multi-centre clinical trial 2004.
 - 51 Yang H. et al.: Influence of weft-knitted tubular fabric on radial mechanical property of coaxial three-layer small-diameter vascular graft 2012.

- 52 Singh C. et al.: A biomimetic approach for designing stent-graft structures: Caterpillar cuticle as design model 2014.
- 53 Lenz B.J et al.: A three-year follow-up on standard versus thin wall ePTFE grafts for hemodialysis 1998.
- 54 Almonacid P.J. et al.: Comparative study of use of diastat versus standard wall PTFE grafts in upper arm hemodialysis access 2000.
- 55 Bosiers M. et al.: Heparin-bonded expanded polytetrafluoroethylene vascular graft for femoropopliteal and femorocrural bypass grafting: 1-year 2006.
- 56 Heise M. et al.: PEG-hirudin/iloprost coating of small diameter ePTFE grafts effectively prevents pseudointima and intimal hyperplasia development 2006.
- 57 Sato S. et al.: Enhanced perigraft angiogenesis prevents prosthetic graft infection 2008.
- 58 Lim H.J. et al.: A novel technique for loading of paclitaxel-PLGA nanoparticles onto ePTFE vascular grafts 2007.
- 59 Varu V.N. et al.: Basic science review: nitric oxide-releasing prosthetic materials 2009.
- 60 Kapfer X. et al.: Comparison of carbon-impregnated and standard ePTFE prostheses in extra-anatomical anterior tibial artery bypass: a prospective randomized multicenter study 2006.
- 61 Sorom AJ et al.: Prospective, randomized evaluation of a cuffed e-PTFE graft for hemodialysis vascular access 2002.
- 62 Lumsden A.: Fusion Bioline provides significant clinical benefit over standard ePTFE femoropopliteal grafts 2015.
- 63 Zhang Z. et al.: Vascugraft polyurethane arterial prosthesis as femoro-popliteal and femoro-peroneal bypasses in humans: pathological, structural and chemical analyses of four excised grafts 1997.
- 64 Glickman M.H. et al.: Multicenter evaluation of a polytetrafluoroethylene vascular Access graft as compared with the expanded polytetrafluoroethylene vascular access graft in hemodialysis applications 2001.
- 65 Seifalian A.M. et al.: In vivo biostability of a poly(carbonate-urea)urethane graft 2003.
- 66 Tiwari A. et al.: New prostheses for use in bypass grafts with special emphasis on polyurethanes 2002.
- 67 Wiese P. et al.: Clinical and Doppler ultrasonography data of a polyurethane vascular access graft for hemodialysis: a prospective study 2003.
- 68 Xu C.Y. et al.: Aligned biodegradable nanofibrous structure: A potential scaffold for blood vessel engineering 2004.
- 69 McClure M.J et al.: Tri-layered vascular grafts composed of polycaprolactone, elastin, collagen, and silk: Optimization of graft properties 2012.
- 70 Herring M. et al.: A single-staged technique for seeding vascular grafts with autogenous endothelium 1978.
- 71 Herring M. et al.: Seeding human arterial prostheses with mechanically derived endothelium 1984.
- 72 Bordenave L. et al.: Clinical performance of vascular grafts lined with endothelial cells 1999.
- 73 Tiwari A. et al.: Tissue engineering of vascular bypass grafts: role of endothelial cell extraction 2001.
- 74 Alobaid N. et al.: Single stage cell seeding of small diameter prosthetic cardiovascular grafts

- 2005.
- 75 Bordenave L. et al.: In vitro endothelialized ePTFE prostheses: clinical update 20 years after the first realization 2005.
 - 76 Deutsch M. et al.: Long-term experience in autologous in vitro endothelialization of infrainguinal ePTFE grafts 2009 .
 - 77 Asahara T. et al.: Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis 1997.
 - 78 Riha G.M. et al.: Review: application of stem cells for vascular tissue engineering 2005.
 - 79 Zabriv G. et al.: Engineering blood vessels by gene and cell therapy 2007.
 - 80 Weinberg, C.B., and Bell, E. A blood vessel model constructed from collagen and cultured vascular cells 1986.
 - 81 Hibino N. et al.: Late-term results of tissue-engineered vascular grafts in humans 2010.
 - 82 Shin'oka T. et al.: Midterm clinical result of tissue-engineered vascular autografts seeded with autologous bone marrow cells 2005.
 - 83 Niklason L.E. et al.: Functional arteries grown in vitro 1999.
 - 84 Haisch A. et al.: Preparation of a pure autologous biodegradable fibrin matrix for tissue engineering 2000.
 - 85 Marelli B. et al.: Collagen reinforced electrospun silk fibroin tubular construct as small calibre vascular graft 2012.
 - 86 Dubey G. et al.: Conjugation of fibronectin onto three-dimensional porous scaffolds for vascular tissue engineering applications 2011.
 - 87 Dukkipati R. et al.: Biological grafts for hemodialysis access: historical lessons, state-of-the-art and future directions 2013.
 - 88 Quint C. et al.: Allogenic human tissue-engineered blood vessel 2012.
 - 89 He W. et al.: Pericyte-based human tissue engineered vascular grafts 2010.
 - 90 Matsumura G et al: Long-term results of cell-free biodegradable scaffolds for in situ tissue engineering of pulmonary artery in a canine model 2013.
 - 91 L'Heureux N. et al.: A human tissue-engineered vascular media: a new model for pharmacological studies of contractile responses 2001.
 - 92 L'Heureux N. et al.: Abstracts from the emerging science series 2013.
 - 93 Kelm J.M. et al.: A novel concept for scaffold-free vessel tissue engineering: self-assembly of microtissue building blocks 2010.
 - 94 Norotte C. et al: Scaffold-free vascular tissue engineering using bioprinting 2009.
 - 95 Poh M. et al.: Blood vessels engineered from human cells 2005.
 - 96 Hibino N. et al.: Evaluation of the use of an induced pluripotent stem cell sheet for the construction of tissue-engineered vascular grafts 2012.
 - 97 Roeder R. et al.: Mechanical remodeling of small-intestine submucosa small-diameter vascular grafts-a preliminary report 2000.
 - 98 Syedain Z.H. et al.: Implantation of completely biological engineered grafts following decellularization into the sheep femoral artery 2014.
 - 99 Roh J.D. et al.: Tissue-engineered vascular grafts transform into mature blood vessels via an inflammation-mediated process of vascular remodeling 2010
 - 100 Katzman H.E. et al.: Multicentre evaluation of the bovine mesenteric vein bioprosthesis for hemodialysis access in patients with an earlier failed prosthetic graft 2005
 - 101 Kapoian T. et al.: A brief history of vascular Access for hemodialysis: an unfinished story

- 1997.
- 102 Tordoir J.H. : Early experience with stretch polytetrafluoroethylene grafts for haemodialysis access surgery: results of a prospective randomised study 1995.
- 103 Peng C.W. et al.: Polyurethane grafts: a viable alternative for dialysis arteriovenous access? 2003.
- 104 Wiese P. et al.: Clinical and Doppler ultrasonography data of a polyurethane vascular access graft for hemodialysis: a prospective study 2003.
- 105 Sullivan K.L. et al.: Hemodynamics of failing dialysis grafts 1993.
- 106 Sorom A.J. et al.: Prospective, randomized evaluation of a cuffed e-PTFE graft for hemodialysis vascular access 2002.
- 107 Earnshaw J.J. et al.: The current role of Rifampicin-impregnated grafts: Pragmatism versus science 2000.
- 108 Axel Larena-Avellanda et al.: Prophylactic use of the silver-acetate-coated graft in arterial occlusive disease: A retrospective, comparative study 2009.
- 109 Pupka A. et al.: In situ revascularisation with silver - coated polyester prostheses and arterial homografts in patients with aortic graft infection – a prospective, comparative, single-centre study 2011.
- 110 Berard X. et al.: Comparison of the antimicrobial properties of silver impregnated vascular grafts with and without Triclosan 2015.
- 111 Samand Pashneh-Tala et al.: The Tissue-Engineered Vascular Graft—Past, Present, and Future 2015.

Konflikt záujmov

Autor ani jeho pracovisko nie sú v konflikte záujmov s danými firmami a nie sú s nimi finančne zainteresovaní.