Univerzita Karlova v Praze

1.lékařská fakulta

Autoreferát dizertační práce

Příspěvek k hemodynamice cévních spojení

MUDr.Tomáš Grus

Praha 2009

Doktorské studijní programy v biomedicíně

Univerzita Karlova v Praze
a Akademie věd České republiky

Obor: Experimentální chirurgie

Předseda oborové rady: Prof. MUDr. Jaroslav Živný, DrSc.

Školicí pracoviště: II.chirurgická klinika kardiovaskulární chirurgie

Autor: MUDr. Tomáš Grus

Školitel: Doc.MUDr.Jaroslav Lindner, CSc.

Oponenti: Doc. MUDr. Milan Krajíček, CSc.
Doc. MUDr. Lenka Veverková, CSc.
Prof. MUDr. Miloš Adamec, CSc.

S disertací je možno se seznámit na děkanátě
1.lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze

Anotace.

Hlavním cílem práce bylo optimalizovat cévní spojení infrainguinálních protetických rekonstrukcí v oblasti distální end–to-side anastomózy, jakožto místa, kde dochází k nejčastějšímu selhání rekonstrukce v důsledku negativního vlivu hemodynamiky a tím minimalizovat procento selhání bypassu.

Klinické i experimentální ověření jasně prokázalo, že hemodynamika – charakter krevního proudu v anastomóze, a především smykové napětí (WSS) hraje klíčovou roli ve vzniku, progresi a lokalizaci stenóz v případě intimomediální hyperplazie. Bylo potvrzeno, že maximum změn se odehrává ve špičce, patě a na dně anastomózy.

Při provedení celé řady experimentů se jednoznačně potvrdila hypotéza, stanovená na podkladě klinických vyšetření a numerické simulace, že úhel napojení distální anastomózy infrainguinálních protetických rekonstrukcí, sehrává klíčovou úlohu v selhání těchto rekonstrukcí v časové periodě od půl roku do dvou let po provedeném výkonu na vrub intimomediální hyperplazie. Právě úhel anastomózy, rozhoduje do jaké míry se rozvinou změny ve smyslu intimomediální hyperplazie. Prokázali jsme, že čím menší je úhel, pod kterým byla anastomóza našita, tím více se hodnoty WSS přibližují fyziologickým hodnotám.

Tím dochází k minimalizaci poškozování buněk endotelu a také eliminaci následné negativní stimulace buněk hladké svaloviny. Ze zkoumaných úhlů napojení (25°, 45°, 60°) jsme nejpříznivější výsledky stran hemodynamiky a fyziologických hodnot WSS dosáhli při napojení protézy na nativní tepnu v oblasti distální anastomózy pod úhlem 25°.

Annotation:

The primary objective of the research project was the optimization of geometry of the infrainguinal prosthetic bypass in the site of the distal end-to-side anastomosis. Due to the negative influence of hemodynamics, it is most frequently this location, which is responsible for the long-term failure of the graft.

Our prospective angiographic study in patients as well as experimental and computational simulations indicate that flow type in the anastomosis and wall shear stress (WSS) in particular are the key factors that determine the location of neointimal hyperplasia and promote its progression. Maximum of such changes was located in the toe, heel, and bottom of the anastomosis, and these clinical findings correspond with the results from the simulations.

We carried out several clinical experiments that suggest the importance of the angle of the distal anastomosis of an infrainguinal prosthetic bypass as a key factor in the development (both location and quantity) of neointimal hyperplasia 6 to 24 months following the procedure. The construction of the anastomosis at a more acute angle results in WSS values that are closer to physiological flow. This reduces both mechanical impairment of the endothelial cells and stimulation of the smooth muscle cells. From the researched set of anastomotic angles (25°, 45°, 60°) the most favourable flow with regard to hemodynamics and WSS was obtained when the connection of the distal anastomosis was constructed at 25° angle.

Obsah

1 Úvod..... 6
2 Přehled o současnem stavu problematiky..... 6
3 Cíl práce..... 11
4 Materiál a metodika..... 12
5 Výsledky..... 21
6 Závěr..... 30
7 Použitá literatura..... 32
8 Publikační činnost k tématu práce..... 34

1 Úvod

Je již dávnou minulostí, kdy se cévní výkony omezily pouze na podvaz poraněných cév či výdutí. V současné době se výrazně posunula hranice možností prováděných cévních výkonů a tím se rekonstrukční cévní chirurgie přiřadila k základním lékařským oborům. Zavedení protetické cévní náhrady znamenalo výrazný zlom v rozvoji cévní chirurgie.

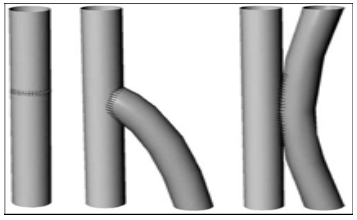
Nicméně více než 25% bypassu selhává během prvního roku po provedené operaci a více než 50% se jich uzavře během 10 let (pravděpodobně na podkladě progrese arteriosklerózy). Stenóza, která následně vede k uzávěru a tím k selhání rekonstrukce se vyskytuje nejčastěji v oblasti anastomózy. V drtivé většině je příčinou stenózy intimomediální hyperplazie (IH). Tento patologický jev vede k selhání rekonstrukcí v průběhu prvního roku po provedení bypassu (1, 2, 3, 4).

2 Přehled o současném stavu problematiky

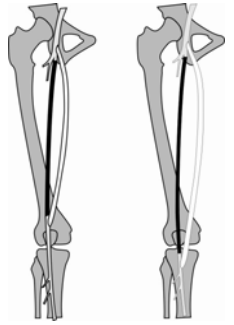
Femoropopliteální bypass (obrázek 2.2) je jedním z nejčastějších chirurgických výkonů používaných při léčbě uzávěru povrchní stehenní tepny a nedostatečném kolaterálním oběhu v oblasti stehna. Tento uzavřený nebo poškozený úsek tepny lze obejít náhradou z biologického či syntetického materiálu.

Proximální anastomóza bývá zpravidla umístěna na společnou stehenní tepnu, distální je umístěna na popliteální arterii, a to v úseku nad kolenem, v úrovni kolene, nebo pod kolenem s ohledem na její kvalitu.
Distální anastomóza femoropopliteálního bypassu je oblast, kde je výskyt změn v důsledku negativního vlivu krevního proudu ve smyslu intimomediální hyperplazie nejmarkantnější (1). Nejčastěji je vytvořena přišitím konce cévní náhrady ke straně cílové tepny (a. poplitea). Tento typ cévního spojení se nazývá koncem ke straně (end-to-side),obrázek 2.1.
Aby bylo dosaženo co nejoptimálnějšího výsledku, musí byt dodrženo několik zásad:

1. Centrální anastomóza musí zajistit dostatečný přívod krve, a proto bezpodmínečně musí být našitá nad stenózu.
2. Periferní anastomóza musí být naopak našitá vždy pod stenózu, na řečiště s dostatečným výtokovým ložem.
3. Je nutný dostatečně prostorný tunel pro náhradu, aby nedošlo k jejímu útlaku. Při vytváření tunelu se musí postupovat obezřetně vzhledem k okolním strukturám.
4. Velice důležité je zvolit optimální úhel napojení. Nejčastěji se v literatuře udává jako optimální uhel 30° (8).
5. Správně vytvořit poměr sestřiženého průsvitu náhrady k vytvořené arteriotomii. V současné době je doporučován poměr 1,6 - 1,7 : 1 (5, 6).
6. Náhrada musí být implantována pod optimálním napětím a s přísným zachováním podélné osy.



Obr. 2.1
Typy cévního spojení. Vlevo: koncem ke konci (end-to-end); uprostřed: koncem ke straně (end-to-side); vpravo: stranou ke straně (side-to-side).



Obr. 2.2. Provedení femoropopliteálního protetického bypassu s proximální anastomózou na arteria femoralis comunis a distální anastomózou : vlevo na oblast proximální arteria poplitea,
vpravo na distální arteria poplitea.

.

2.2 Hemoreologie

Hemodynamické síly působí na cévu komplexně. Tok krve je způsoben rozdílem tlaků mezi jednotlivými úseky krevního oběhu. Znamená to, že krev může proudit pouze z míst vyššího tlaku do míst tlaku nižšího. Tento tlakový gradient je generován srdcem a umožňuje toku krve překonat odpory v krevním řečišti, závislé na průsvitu cév, jejich délce a na viskozitě krve. Tlak krve je tedy považován za sílu odpovědnou za pohyb krve.

Z fyzikálního hlediska tok krve charakterizují dva parametry: smykové napětí (shear stress) a smyková rychlost (shear rate) (7, 8).
Smykové napětí je síla, která působí na jednotku plochy, deformuje ji a podporuje tok krve. Současně vyjadřuje tření mezi

jednotlivými vrstvami proudící tekutiny a mezi tekutinou a stěnou cévy. Vzniká vlivem hydrostatického tlaku krve. Má úzký vztah k rychlosti toku krve a průsvitu cévy.
Smyková rychlost je rychlostní gradient mezi přilehlými vrstvami tekutiny. Klesá od cévní stěny směrem k luminu a současně se zvyšuje směrem k periférii cirkulace, t.j. největší je v kapilárách a nejnižší ve venulách. Je to vlastně opak rychlosti toku krve.

Musíme si uvědomit, že kinetická energie objemové jednotky má rozměr tlaku. Vyplývá to ze zákona o zachování energie pro objemovou jednotku kapaliny, t.j. z Bernoulliho principu. U kapalin nedochází k deformaci struktury, jako je to u pružných těles, ale k posuvu molekul a překonávání třecích sil. Rychlost jakou se kapaliny „deformují“ závisí od dynamické viskozity, neboli vnitřního tření. Tento koeficient úměrnosti, označován písmenem ŋ, je proměnlivá veličina v závislosti na teplotě, rychlosti krevního toku.
Viskozita krve jakožto míra vnitřního tření v tekutinách je v cévách s rychlým prouděním přibližně dvakrát tak velká jako je rychlost plazmy a krev se tady chová více jako emulze než suspenze. Při zpomaleném toku krve se však viskozita značně zvýší a tím se značně změní reologické vlastnosti krve.
Za zcela optimálních podmínek je proudění krve laminární. To znamená, že směr toku všech vrstev krve v cévě je rovnoběžný s dlouhou osou cévy. Elementy postupují souběžně, sice s různou rychlostí, ale od minimální při stěnách tepny, až po maximální ve středu tepny.

Také uspořádání krevních elementů je dané. Koncentrace erytrocytů směrem do středu cévy roste a krevní plasma je na okraji cévy. Všechno se ale rázem změní, změnou smykového napětí, či změnou viskozity krve.
Za fyziologické situace není membrána cévního endotelu v přímém styku s proudící krví, protože endotel má schopnost vylučovat glykosaminy a mukoproteiny (tzv. glykokalyx) s antitrombotickými vlastnostmi. Tato ochranná vrstva dělá

endotel intaktním. V arteriích je endotel poměrně silný, má tloušťku 1 - 3 mm (v žilách jen 0,4 mm) (9).
V arteriálním řečišti je proudění krve velmi intenzivní, a proto v místě, kde není „klasicky“ porušen endotel, se neuplatní „klasická“ aktivace destiček, ale dochází k aktivaci destiček zvýšenou smykovou zátěží. V místě zvýšené turbulence dochází k adhezi destiček aktivovaných smykem k navázání na von Willebrandův faktor (vWf). Ten se naváže na destičkové membránové glykoproteiny (GP) tvořené komplexem GP Ib-IX-V (CD 42a/CD 42b). Destičkový GP V. je také vysoce afinitní k receptoru pro trombin. Toto je označováno jako tzv. „nepevná adheze“ destiček aktivovaných „smykem“ (9). V oblastech víru se již mění laminární proudění na turbulentní (krev proudí cévou ve směrech, které svírají s dlouhou osou cévy různé úhly i pravé), dochází ke změně tokových vlastností krve, odpor kladený krevnímu toku je zvětšen o tzv. rigidní odpor a vzniká riziko poškození cévního endotelu, zvýší se hladina f.VIII., fibrinogenu, které se navážou na erytrocyty, vzniká tzv. „sludge“ fenomén, který zvýší viskozitu krve.
Všechno však bývá jinak, když dojde i k nepatrnému poškození cévní stěny. Nastartuje se proces, který se označuje jako intimomediální hyperplazie (10, 11). IH je tedy univerzální reakce cév na poranění, přičemž dochází k chronickým strukturálním změnám. Jde o abnormální migraci a proliferaci buněk hladkého svalstva (5).

2.3 Hypotézy, základní rozdělení

Úkolem teoretické části bylo také provedení literárních rešerší. Hypotéz vyjadřujících se k vzájemnému vztahu hemodynamiky a cévní patologie na jejichž konci stojí selhání rekonstrukce je celá řada a jejich obsah, je velmi rozmanitý. Mezi nejčastěji diskutovanými parametry v literatuře, které se podílí na selhání rekonstrukcí je smykové napětí na stěně tepny (WSS) v anastomóze (8). Z toho důvodu bylo smykové napětí (WSS) vybráno jako hlavní optimalizační parametr při řešení

problematiky naší práce v oblasti distální anastomózy proximálního protetického femoropopliteálního bypassu. Základem bylo popsat jaké rozmezí hodnot WSS je ještě přijatelné pro cévní stěnu a jaké hodnoty ať nízké nebo vysoké již vedou ke spuštění dějů vedoucích k poškození buněk cévní stěny nebo progresi intimomediální hyperplazie.

3 Cíl práce

Konkrétní oblastí našeho zájmu byla distální anastomóza protetického femoropopliteálního bypassu, která je místem nejčastějšího selhání těchto rekonstrukcí. Na selhání rekonstrukce se v značné míře podílí nově vzniklé hemodynamické mechanismy, které vzniknou po našití bypassu. Proto jsme si jako cíl naší práce stanovili optimalizovat cévní spojení infrainguinálních rekonstrukcí distální end-to-side anastomózy z hlediska hemodynamiky a tím minimalizovat negativní vliv dynamiky proudění na cévní stěnu a krev, díky čemuž předpokládáme, že se sníží procento selhání bypassu.

Dílčí cíle práce:

- Rozbor jednotlivých hypotéz popisující vztah mezi hemodynamikou a cévními patologiemi v oblasti cévního spojení. Na základě tohoto rozboru vybrat optimalizační parametry, podle kterých se bude posuzovat proudění.
- Provedení vlastních klinických měření v femoropopliteální oblasti, která je nejčastějším místem, kde jsou prováděny cévní rekonstrukce v podobě bypassů pro stenózu nebo uzávěr na dolní končetině. Tato klinická měření budou sloužit jako podklady k vytvoření modelů cévního spojení a jejich požadované geometrie tak, aby modelová měření odrážela reálnou situaci v anastomóze u nemocných s ischemickou chorobou tepen dolních končetin.
- Vybudování experimentální tratě, která bude schopna simulovat proudění krve v modelovaných místech včetně pulzačního charakteru proudění.

- Provedení série kalibračních měření pro nepulzatilní a pulzatilní charakter proudění metodou Particle Image Velocimetry (PIV, jedna z nejmodernějších metod zviditelnění proudění pomocí laserové roviny) a Laser Dopller Anemometry (LDA, metoda měřící rychlost pomocí laserového paprsku) pro srovnání proudových charakteristik (smykové napětí, prostorový a časový gradient smykového napětí, intenzita turbulence,...). Následně vytvoření a provedení počítačových simulací – výpočtů, které umožní snížit počet proměřovaných modelů.
- Ověření vybraných proudových charakteristik, optimalizačních parametrů na vybraných typech vytvořených modelových situací. Určení kritických oblastí distální anastomózy femoropopliteální protetické rekonstrukce, kde dochází ke stenózám a následně uzávěru v důsledku negativního působení hemodynamiky.
- Porovnání namodelovaných situací s reálnou situací provedené femoropopliteální protetické rekonstrukce. Navržení modifikace operačního postupu pro vytvoření optimálního cévního spojení stran eliminace negativního působení hemodynamiky.

4 Materiál a metodika

Sonograficky byl vyšetřen soubor 50-ti probandů bez patologie na cévním řečišti s cílem zjištění zevního a vnitřního průměru vybraných tepen a dále měření rychlostí (časově střední hodnota)

Vybrané tepny: arteria femoralis comunis (AFC), arteria femoralis superficialis (AFS), arteria femoralis profunda (APF) a proximální arteria poplitea (AP).

2. Peroperační měření tepen.

Společnou femorální tepnu jsme preparovali spolu s jejími magistrálními větvemi: arteria femoralis superficialis a arteria profunda femoris. Oddělili jsme stehenní žíly a přistoupili k měření průměru 2 cm nad bifurkací při systolickém tlaku v rozmezí 120 – 140 mmHg. Měření jsme prováděli pomocí

posuvného měřítka. Následně jsme provedli preparaci proximální a. poplitea z mediálního přístupu a opět změřili průměr tepny 2-3 cm po výstupu z Hunterova kanálu. Nakonec jsme přistoupili k provedení vlastního výkonu, femoropopliteálnímu proximálnímu bypassu.

4.1 Výběr optimalizačních parametrů

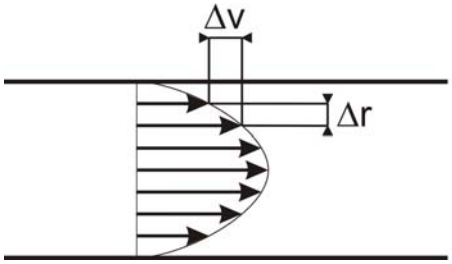
V každém časovém okamžiku dochází ke změnám vlastností krve – hustoty, viskozity (podle hydratace či dehydratace organismu), obsahu elementů a složek, které jsou krvi transportovány. Proudění v oblasti anastomózy a bezprostředně za ní po směru toku je závislé na geometrii anastomózy a na charakteru proudění v anastomóze. Na základě rozboru hypotéz popisujících vztah mezi hemodynamikou a cévní patologií v anastomóze, jsme se při optimalizaci tvaru cévního spojení zaměřili zejména na úhel napojení.

Viskozita krve závisí na vztahu mezi smykovým napětím a rychlosti smykové deformace. Tento vzájemný vztah je vyjádřen konstitutivním vztahem popisujícím vlastnosti tekutiny. V případě, že závislost mezi smykovým napětím a rychlosti smykové deformace je lineární, je chování tekutiny popsáno newtonským zákonem viskozity.

Hodnota rychlosti smykové deformace je tím vyšší, čím je větší rychlost dvou sousedních vrstev krevního proudu (obrázek 4.1). Při vysoké hodnotě rychlosti smykové deformace se nenewtonské chování krve velmi přibližuje chování newtonské tekutiny.

V tekoucí kapalině s laminárním prouděním dochází k vnitřnímu tření mezi vrstvami kapaliny a rychlost proudění klesá od středu směrem ke stěnám cévy.

Pro kalibr tepen pohybující se kolem 6-ti mm se nenewtonské chováními tekutiny přibližuje vlastnostem tekutiny s newtonovskými vlastnostmi. V případě tepen kalibru pod 1 mm, kde se průměr tepny začíná blížit průměru krevních elementů, se začíná projevovat nenewtonské chování krve.



$$\tau = \eta\dot{\gamma}$$

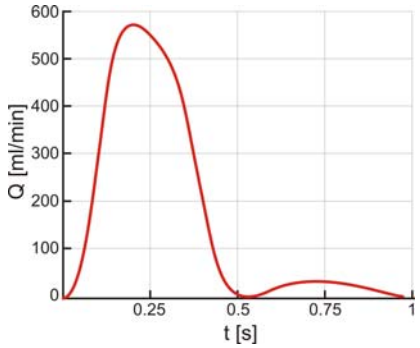
$$\dot{\gamma} \cong \frac{\Delta v}{\Delta r}$$

Obr.4.1 Newtonův zákon: τ – smykové napětí, η – dynamická viskozita, $\dot{\gamma}$ – rychlost smykové deformace, Δv – rozdíl rychlosti ve vzdálenosti Δr.

4.2 Doporučení pro výstavbu experimentálního modelu

Z předchozích měření a literárních údajů jsme zvolili následující parametry pro vytvoření experimentálního modelu:

- **Cílová tepna** bude o průměru 6 mm - vycházeli jsme z naměřených údajů, kde průměr proximální arterie poplitea byl 6 mm.
- Na tento průměr tepny budou **napojené cévní protézy** velikostí 5, 6 a 7 mm **pod úhlem** 60°, 45° a 25°.
- Dalším stanoveným parametrem byl **průtok** - charakteristiky proudu jsou také zásadně ovlivněny průtokem. Medicínsky nejzajímavější v oblasti femoropopliteálního bypassu jsou tři kategorie průtoku : 80 ml/min, 200 ml/min a 500 ml/min, které odpovídají klidovému stavu, pomalé chůzi a běhu (obrázek 4.2)



Obr.4.2
Závislost průtoku na čase, která byla zvolena jako podmínka na vstupu pro simulovaní proudění v distální anastomóze femoropopliteálního bypassu.

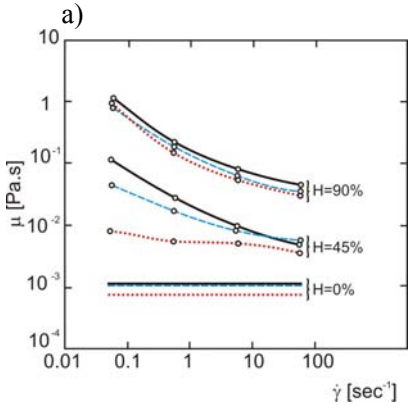
- **Tlakový rozdíl** nemá přímí vliv na tvorbu IH, ale tím, že dochází k víření proudu v oblasti anastomózy dochází ke zvětšení tlakové ztráty. Jeho hodnota se zvětšuje v případě většího víření proudu . Proto snaha o snížení víření a maximalizaci laminarity proudu v oblasti anastomózy.
- **Délka vytvořeného** a sledovaného **modelu** distální anastomózy podle obecných zkušeností vychází z informace nejčastějších míst výskytu IH, která vzniká na přední straně cílové cévy do vzdálenosti 15 - 20 mm od špičky napojení, v menší míře také na stěně zadní, ale to do vzdálenosti o něco kratší (12, 13).

4.3 Pracovní kapalina

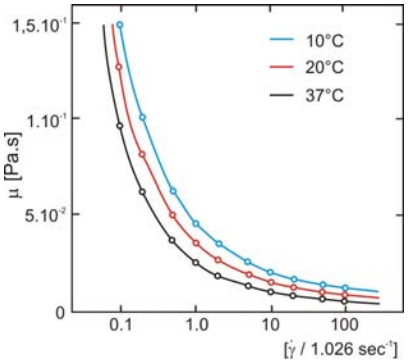
Vzhledem k tomu, že krev je nenewtonská tekutina s velmi složitými termofyzikálními vlastnostmi (obrázek 4.3) bylo nelehkým úkolem, jakou tekutinu zvolit, aby její vlastnosti se co nejvíce podobaly krvi.
Pracovní kapalina musela splňovat několik podmínek :

1. průhledná s vhodným indexem lomu, blízkým materiálu modelu
2. kapalina nesmí narušovat materiál trati
3. viskozita musí vyhovovat požadavkům fyzikálního modelování.

Empiricky byly zvažovány jako náhražka krve dvě pracovní tekutiny: 64 % roztok NaI a vodný roztok. Tyto dvě varianty pracovní tekutiny byly voleny z důvodu vhodnosti jednotlivého media pro daný typ metody měření, které budou probíhat v experimentu.
Jako značkovací částice přicházeli v úvahu polyamid, pokovené skleněné kuličky, dřevěné částice, mléko, fluorescenční částice. Nezbytným požadavkem bylo, aby jejich hustota byla téměř identická s hustotou pracovní kapaliny a současně sledovaly pohyb pracovní kapaliny. Jako pracovní kapalina byla nakonec vybrána voda s polyamidovými částicemi o průměru 20 μm. Kapalina byla osvětlována červenou laserovou diodou s vlnovou délkou 660 nm. Paprsek byl následně veden válcovou čočkou, která vytvářela laserový list. Přidané částice byly snímány kamerou.



b)



Obr.4.3
Nenewtonské vlastnosti lidské krve.
a) závislost viskozity na rychlosti smykové deformace a hematokritu
b) závislost viskozity krve na smykové rychlosti a teplotě.
(černá - krevní suspenze, modrá - krev bez fibrinogenu, červená - krvinky v Ringerově roztoku, H - hematokrit)

4.4 Teorie podobnosti

Charakter proudu je za optimálního stavu laminární. To znamená, že všechny elementy postupují souběžně, ale různou rychlostí, od minimální – při stěně, až po maximální, která se vyskytuje uprostřed cévy. To znamená, že zvětšující se rychlostí krevního proudu laminární proudění přechází do proudění turbulentního.
Různá velikost Reynoldsova čísla (Re) v experimentu umožňuje modelovat různé hodnoty průtoku krve anebo různé stavy vizkozity krve. Pro stavy klidu, chůze a běhu tedy pro různé průtoky byly stanoveny:

Re.....500 Re.....1000 Re.....1400

Pro potřeby hydrodynamického modelu anastomózy v experimentu bylo využito teorie podobnosti, která pro případ stacionárního proudění říká, že proudění je podobné tehdy, když jsou shodné hodnoty Reynoldsova čísla modelovaného případu (člověk) a modelu (experiment). Reynoldsovo číslo je definované vztahem:

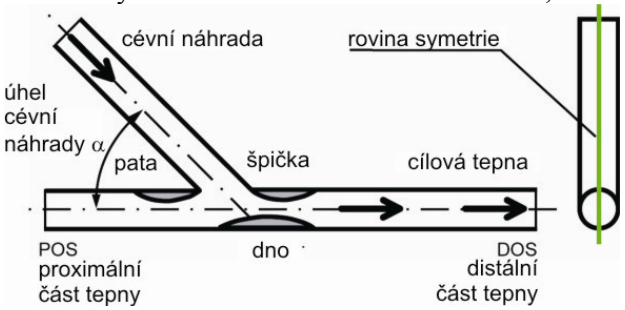
$$R = \frac{\rho.DV}{\eta}$$

Kde D je průměr trubice, V je rychlost a η je kinematická viskozita tekutiny a ρ je hustota kapaliny (14).

4.5 Modely

Posledním problémem bylo z jakého materiálu bude vyroben model. Byla navrhnuta varianta postupu výroby modelů založená na technologii vytavitelného (ztraceného) vosku. Technologický postup je podrobně popsán v literatuře (15). Po stanovení výše uvedených podmínek jsme mohli přistoupit k samotnému vytvoření experimentálních a matematických modelů. Opět pro maximální zjednodušení byl zvolen případ, kdy je úplný uzávěr AFS a tedy nulový přítok z nativního řečiště nad místem anastomózy (POS). Jediným přítokem do AP proximalis, je tedy jen protetická rekonstrukce (obrázek 4.4)

Schéma vytvořeného modelu a místa sledování,obr.4.4



4.6 Numerické zpracování

Numerická simulace byla nedílnou součásti projektu. Umožnila vzhledem k velké časové a finanční nákladnosti vybrat jen ty situace v anastomóze, které se jeví jako patologické stran negativního působení hemodynamiky a jejich následné ověření v experimentální části práce. Výsledky numerických řešení byly průběžně vyhodnocovány a porovnávány s výsledky experimentu.

4.7 Experimentální část

Při měření rychlosti proudící tekutiny byly preferovány neinvazivní metody, které neovlivňují proud. Pro tato měření se používají nejčastěji následující metody:

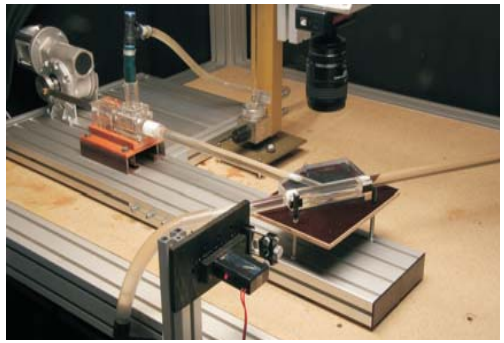
a) Ultrasonic Velocity Profiling (UVP)
b) Laser-doppler Anemometry (LDA)
c) Particle Image Velocimetry (PIV)

Při použití metody UVP byla rychlost měřená pomocí ultrazvuku. Kdežto LDA a PIV patří mezi optické metody a měří rychlost pohybu částic přidaných do pracovní kapaliny v modelu. LDA metoda měřící rychlost pomocí laserového paprsku. Po kalibračních měřeních na pracovišti ÚH AV ČR a porovnání těchto metod, jako nejvhodnější metoda pro oblast hemodynamického experimentu se ukázala PIV metoda. PIV nerozrušuje proudění, umožňuje změření okamžitého rychlostního profilu v dané rovině najednou. Kdežto LDA měří rychlost postupně v jednotlivých bodech, UVP v přímce.

Měření metodou PIV je nejpřesnější a nejméně časově náročné.

Stereo PIV je metoda, která vyhodnocuje pohyb částic dokonce v 3D obraze.

4.8 Vytvoření experimentální tratě



4.9 Intimomediální hyperplázie v anastomóze, klinické sledování.

Klinické ověření předchozích měření

V klinické části výzkumu jsme v průběhu pětiletého sledování vyhodnocovali průchodnost FP protetických proximálních rekonstrukcí. Zaměřili jsme se na sledování distální anastomózy, kde dochází nejčastěji ke změnám vedoucí k selhání těchto rekonstrukcí (16, 17, 18).

Ze souboru 486 pacientů s FP protetickým bypassem bylo nalezeno 51 uzavřených rekonstrukcí. U 43 pacientů došlo k uzávěru kolem jednoho roku od provedené rekonstrukce (uzavření rekonstrukce 6 - 12 měsíců po provedeném operačním výkonu). U všech 43 pacientů byla provedena trombolytická terapie, s následnou angiografii, která detekovala změny v oblasti bypassu a cévního řečiště DK. Ve všech případech jsme se setkali s maximem změn v oblasti distální anastomózy, které byly velmi suspektní příčinou selhání rekonstrukce.

Následně provedená analýza angiografických nálezů změn v oblasti distální anastomózy vedla k určení kritických míst v anastomóze, kterými byly pata, špička a dno anastomózy (obrázek 4.4). Mimo jiné byly zaznamenané údaje buď o přítomnosti nějakého reziduálního toku nebo úplné obliteraci

nativního řečiště před distální anastomózou bypassu (POS – proximal outlet segment), tabulka 5.1.

5 VÝSLEDKY

Zpracováním angiografických nálezů (AG) jsme rozdělili provedené femoropopliteální rekonstrukce dle úhlu napojení protézy na nativní tepnu do dvou skupin. Dalším zaznamenávaným parametrem byl reziduální tok do anastomózy z původního magistrálního řečiště nad distální anastomózou. Zde byl detekován uzávěr v naprosté většině případů, a to v 86 % z reprezentativního souboru rekonstrukcí. Výskyt změn stenozujících lumen tepny se vyskytoval ve špičce, patě i na dně anastomózy a jejich procentuální zastoupení je patrné v tabulce č. 5.1.

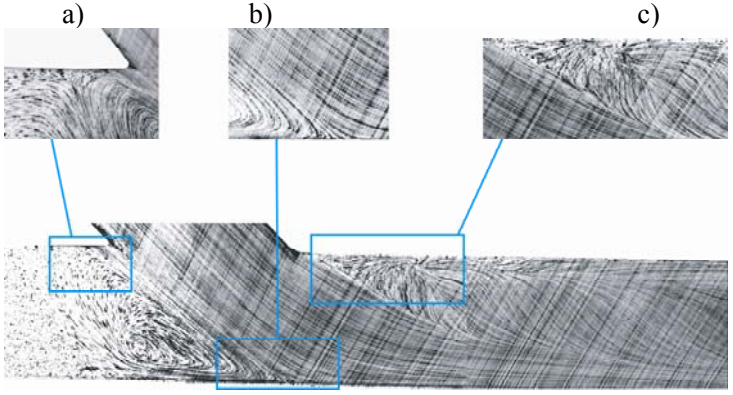
Úhel	Počet	Obliterace v POS	Špička	Patka	Dno
< 30°	9	8 (89%)	1 (11%)	9 (100%)	7 (78%)
> nebo = 30°	34	29 (85%)	33 (97%)	33 (97%)	33 (97%)

Tab.č. 5.1
V tabulce jsou vyhodnocena data pro dvě skupiny AG. Skupiny jsou rozděleny podle úhlu anastomózy. Hodnota v procentech je vypočtena vždy z příslušné skupiny.

Experimentální vizualizace

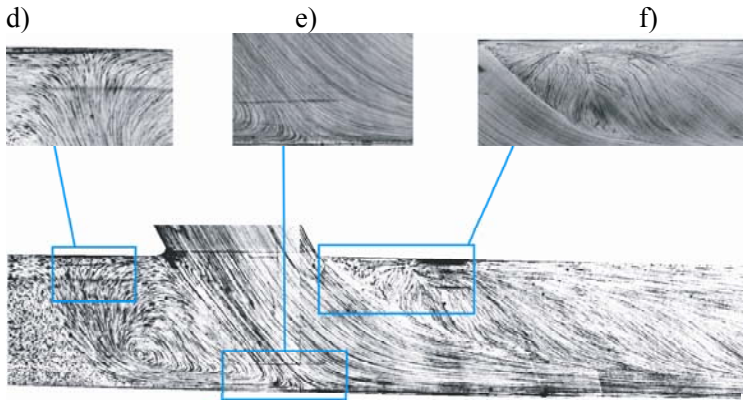
Rozbor obrázků získaných vizualizací umožnil určit oblasti vyplněné víry a recirkulační oblasti v závislosti na úhlu anastomózy, poměru průřezů a toku v cílové tepně. Poměr průměrů 1 : 1.

Z vizualizací jednotlivých napojení pod danými úhly je patrné, že čím menší byl úhel připojení, tím bylo menší zavíření proudu tekutiny v oblasti distální anastomózy. Zajímavým nálezem bylo nalezení maxima změn v podobě IH v místě stagnačního bodu a naopak vymizení stagnačního bodu při úhlech spojení 25° a nižším, kde v místě špičky při těchto úhlech napojení se žádné změny ve smyslu IH stenozující špičku tepny nevyskytovaly.



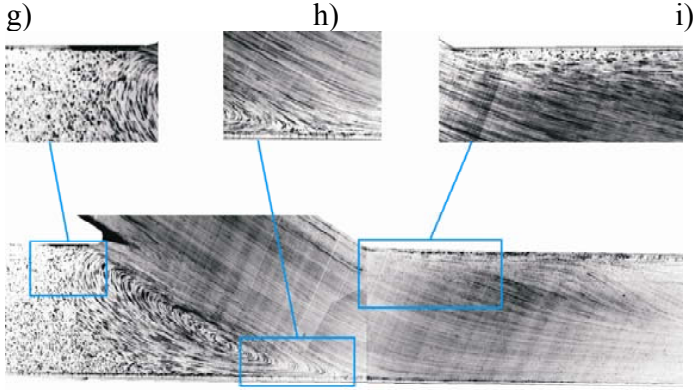
Obr.5.1
Vizualizace proudění v oblasti anastomózy při úhlu napojení 45°:

a) detail zavíření proudu tekutiny v oblasti paty anastomózy
b) oblast dna anastomózy a vznikající vír
c) oblast špičky anastomózy s přítomným vírem a oblastí stagnačního bodu.



Obr.5.2
Vizualizace proudění v oblasti anastomózy při úhlu napojení 60°:

- d) detail víru proudu tekutiny v oblasti paty anastomózy
- e) oblast dna anastomózy a rozdělení proudu tekutiny po nárazu na dno anastomózy
- f) oblast špičky anastomózy s velkým vírem zasahujícím téměř do celého průměru nativní tepny s patrným stagnačním bodem.



Obr.5.3
Vizualizace proudění v oblasti anastomózy při úhlu napojení 25°, kde je patrný laminární průchod proudu anastomózou:

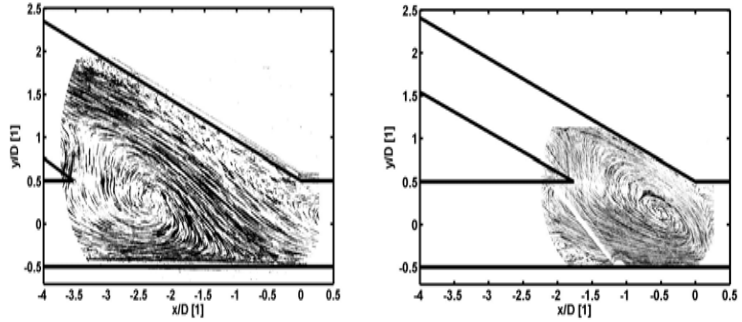
- g) detail nepatrného zavíření proudu oblasti paty anastomózy
- h) oblast dna anastomózy a vznikající vír
- i) oblast špičky anastomózy bez víru - laminární proudění a typické vymizení stagnačního bodu.

Vliv rozdílného poměru průměrů náhrady a tepny na proudový obraz

V části věnující se vlivu poměru průměrů náhrady a tepny na proudový obraz byl záměrně zvolen vyšetřovaný úhel napojení 25°, při kterém byly řešené hemodynamické charakteristiky nejoptimálnější ze zkoumaných úhlů napojení při poměru náhrady a cílové tepny 1:1. Co se týká poměru průměrů protetické náhrady k cílové tepně byly zvoleny dva poměry průměrů, u kterých při numerickém modelování byla změna proudění nejmarkantnější. Jednalo se o poměry průměrů 0,77 a 1,25. V experimentálním měření byla použita vizualizace a metoda PIV. Z PIV měření byla vyhodnocena pole okamžité rychlosti proudu a pole střední rychlosti. Byly také vypočteny fluktuace rychlosti a rychlostní gradienty v blízkosti stěny (obrázek 5.4).

Při vizualizaci proudění napojení buď většího průměru náhrady ku průměru tepny nebo naopak menšího průměru náhrady ke kalibru tepny je z vizualizací patrné, že zavíření se v oblasti distální anastomózy vyskytuje v obou případech, avšak víření při větším kalibru tepny se objevuje jen v malé části proudového pole, na dně anastomózy, zatímco při malém průměru protézy k většímu kalibru tepny víření proudu zasahuje prakticky celý průměr distální anastomózy – oblasti kde se vír dotýká: pata, špička i dno anastomózy. Stagnační bod se vyskytoval u obou případů. Rozdílem však bylo, že rozsah

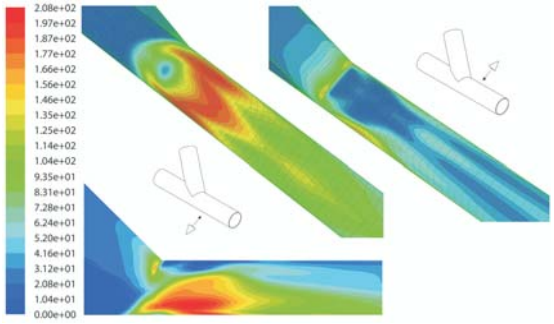
stagnačního bodu byl na diametrálně menší ploše při širší protéze než při napojení menší protézy vzhledem k nativní tepně.



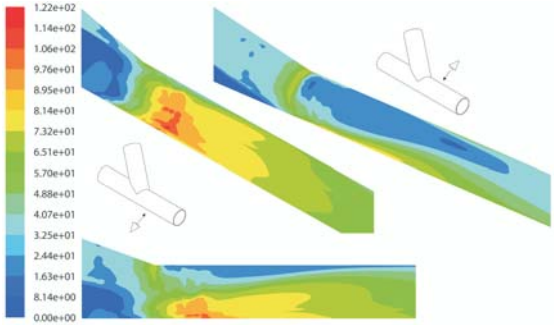
Obr.5.4
Vizualizace proudění pro dva modely anastomózy s úhlem napojení 25° a poměrem průměrů $PM = 1.25$ a $PM = 0.77$

Zpracování smykového napětí z experimentu

Z přiložených grafických zpracování velikosti výskytu smykového napětí v oblasti distální anastomózy je patrné, že kritických hodnot WSS vedoucích k progresi IH je dosaženo při úhlech 45° a větších, a to především v oblasti špičky anastomózy, kde WSS dosahuje hodnot nižších než je 5 dynes/cm² (19).
Dále jsou patrná místa, s velmi vysokou hodnotou WSS - nad 70 dynes/cm², kde již dochází k mechanickému poškození endotelových buněk anastomózy krevním proudem (znázorněno červenou barvou) a následné progresi IH, což je při úhlu napojení kolem 45° a vyšším. Při úhlu napojení bypassu kolem 25° se nacházejí hodnoty WSS ve fyziologickém rozmezí.



Obr.5.5
Rozložení hodnot WSS při úhlu napojení 45°, barevná škála ukazuje rozložení velikosti WSS v jednotlivých oblastech anastomóze.
V pravé části obrázku pohled na oblast špičky anastomózy shora.
V středu obrázku pohled na dno anastomózy zdola.
V levé části obrázku pohled na anastomózu zboku.

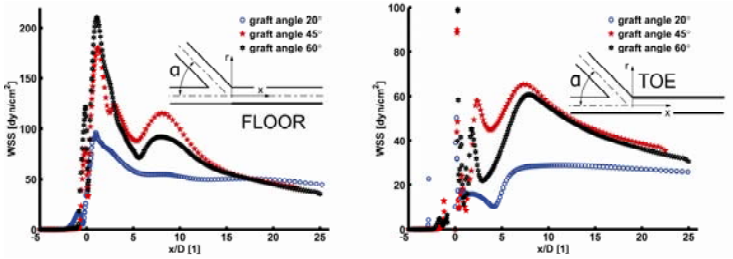


Obr.5.6
Rozložení hodnot WSS při úhlu napojení 25°, barevná škála ukazuje rozložení velikosti WSS v jednotlivých oblastech anastomóze.
V pravé části obrázku pohled na oblast špičky anastomózy shora.

V středu obrázku pohled na dno anastomózy zdola.
V levé části obrázku pohled na anastomózu zboku.

Zpracování smykového napětí z numerického modelování

Z numerického zpracování distribuce WSS při různých úhlech napojení v různé vzdálenosti od středu anastomózy (bod 0 na ose y) platí pro oblast špičky i paty anastomózy pravidlo, čím je menší úhel napojení, tím je menší hodnota WSS.

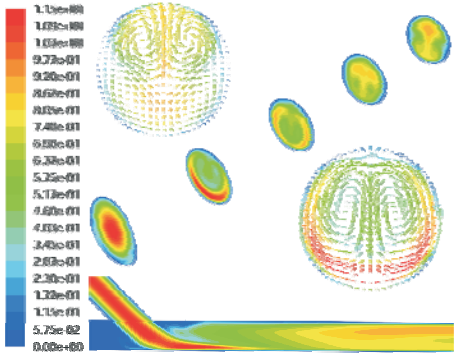


Obr.5.7
Grafické znázornění rozložení hodnot WSS v oblasti dna anastomózy od místa napojení do dané vzdálenosti od spojení po směru proudu – měřená oblast znázorněna zesílenou linií na schématu (obrázek vlevo).
Graf v pravé části znázorňuje rozložení hodnot WSS v oblasti špičky a distálně po směru proudu – měřená oblast znázorněna zesílenou linií na schématu grafického zobrazení vpravo.

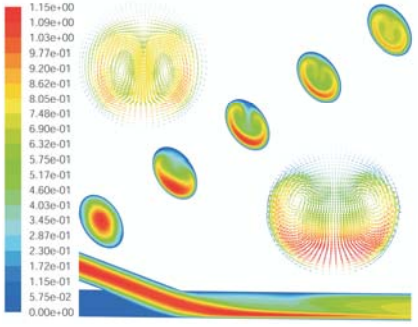
Charakter proudění v oblasti anastomózy

Z níže zobrazených zpracování je patrné, že při úhlu napojení 45° dochází při dopadu krevního proudu na dno anastomózy k zavíření přímo v oblasti cévního spojení a krevní proud se srovnává do laminárního až ve velké vzdálenosti distálně od anastomózy. Prakticky spirála zavíření krevního proudu patrná z obrázku je zachycena i v distální části modelu. Oproti tomu při úhlu napojení 25° prochází krevní proud

anastomózou téměř v celém průběhu laminárně, bez víření, ke kterému dochází až daleko za anastomózou, tedy mimo kritickou oblast cévního spojení.



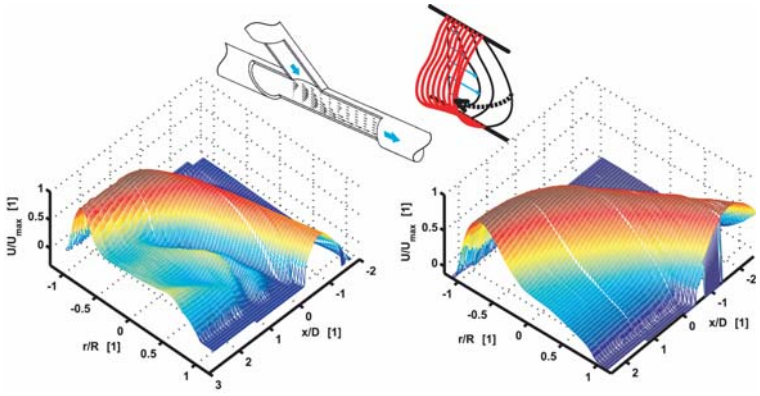
Obr.5.8
Chování krevního proudu při průchodu anastomózou při úhlu napojení 45°.
V střední části obrázku jsou patrné příčné řezy v daném místě anastomózy a distálního nativního řečiště. Vektory na příčných řezech znázorňují zavíření krevního proudu při průchodu anastomózou a bezprostřední vzdálenosti za ní. Patrné výrazné zavíření po nárazu krevního proudu na dno anastomózy.



Obr.5.9

Chování krevního proudu při průchodu anastomózou - úhel napojení 25°.
V střední části obrázku jsou patrné příčné řezy v daném místě anastomózy a distálního nativního řečiště. Vektory na příčných řezech znázorňují zavíření krevního proudu v různých místech anastomózy. Patrný téměř laminární průchod krevního proudu anastomózou a k zavíření dochází daleko za anastomózou**.**

Rozložení rychlosti při průchodu krevního proudu anastomózou
Z níže uvedeného grafického zpracování je patrný velmi pravidelný rychlostní profil krevního proudu při úhlu napojení 25° a četné proudové disturbance při úhlu napojení 45°, zejména v okrajových zónách krevního proudu.



Obr.5.10
Zobrazení spektra rychlostního pole krevního proudu při úhlu napojení 45° vlevo, vpravo pro úhel napojení 25°. Měřeno metodou PIV.

6 Závěr

Hlavním cílem práce bylo optimalizovat cévní spojení infrainguinálních protetických rekonstrukcí v oblasti distální end–to-side anastomózy, jakožto místa, kde dochází k nejčastějšímu selhání rekonstrukce v důsledku negativního vlivu hemodynamiky a tím minimalizovat procento selhání bypassu.
Klinické i experimentální ověření jasně prokázalo, že hemodynamika – charakter krevního proudu v anastomóze a především WSS hraje klíčovou roli ve vývoji a lokalizaci stenóz v případě intimomediální hyperplazie. Bylo potvrzeno, že maximum změn se odehrává ve špičce, patě a na dně anastomózy.
Při provedení celé řady experimentů se jednoznačně potvrdila hypotéza stanovená na podkladě klinických vyšetření a numerické simulace, že úhel napojení v oblasti distální anastomózy protetického proximálního femoropopliteálního bypassu sehrává klíčovou úlohu v selhání této rekonstrukce, v časové periodě od půl roku do dvou let po provedeném výkonu na vrub intimomediální hyperplazie. Právě úhel anastomózy, rozhoduje do jaké míry se rozvinou změny ve smyslu intimomediální hyperplazie. Intimomediální hyperplazie charakterizovaná zvýšenou proliferací buněk hladkého svalstva je problémem, který se vyskytuje velmi často, jak udávají statistické hodnoty, a to nejen v případě infrainguinálních rekonstrukcí.
Prokázali jsme, že čím menší je úhel, pod kterým byla anastomóza našita, tím více se hodnoty WSS přibližují fyziologickým hodnotám. Tím dochází k minimalizaci poškozování buněk endotelu a také eliminaci následné negativní stimulace buněk hladké svaloviny. Ze zkoumaných úhlů napojení (25°,45°,60°) jsme nejpříznivější výsledky stran hemodynamiky a fyziologických hodnot WSS dosáhli při napojení protézy na nativní tepnu v oblasti distální anastomózy pod úhlem 25°. Čím je menší úhel napojení, tím se více přibližujeme k laminárnímu

proudění v oblasti anastomózy a tím je WSS menší. Za fyziologické hodnoty WSS, které nemají negativní vliv na endotel cévní stěny ve smyslu vzniku a progrese IH se dle dostupné literatury považují hodnoty WSS v rozmezí 10 - 70 dynes/cm^2 (12, 13). Některé literární zdroje udávají, že toto rozmezí hodnot WSS má naopak účinek protektivní na cévní stěnu a tedy působí proti vzniku a progresi IH (12, 13).

Ani v případě krevního proudu v oblasti anastomózy tomu není jinak. Disturbance neboli víření v oblasti anastomózy jsou nejmenší v případě úhlu napojení 25°, a to i při různých poměrech průměrů nativní tepny a protézy, kdy se z dostupných experimentů jeví jako optimální napojení menšího průměru protézy k danému průměru tepny. Vzhledem k tomu, že nejmenší víření v oblasti distální anastomózy se objevuje v případě užití stejných poměrů průměrů nativní tepny a protetické náhrady přikláníme se v klinické praxi k užití poměrů 1:1. Detailnější výzkum spojení různých průměrů protézy a nativní tepny jsou otázkou dalšího výzkumu a pro potřeby této práce bylo v experimentu provedeno hodnocení pouze jako orientačně doplňující naši problematiku. Dalším významným zjištěním bylo vymizení stagnačního bodu při úhlu napojení 25° v oblasti špičky. Toto je velmi důležité, vzhledem k tomu, že místo výskytu stagnačního bodu je při srovnání AG nálezů totožné s místem výskytu změn ve smyslu IH v oblasti špičky anastomózy. Taktéž i hodnoty WSS se při vymizení stagnačního bodu dostávají v místě špičky do fyziologického intervalu hodnot WSS. Charakter krevního proudu v oblasti špičky v místě původního stagnačního bodu při úhlu napojení 25° byl téměř lineární. Také v oblasti dna i paty došlo k výraznému snížení turbulentního proudění.

Závěrem tedy můžeme konstatovat, že kritickými místy v oblasti distální anastomózy kde dochází k výskytu změn ve smyslu IH jsou špička, pata a dno anastomózy. Tuto hypotézu podporuje i nález změn v oblasti distální anastomózy trombolyzovaných femoropopliteálních proximálních protetických rekonstrukcí, u

kterých došlo k uzávěru v časovém intervalu od 6 do 18 měsíce po provedení rekonstrukce.

Přínos práce pro klinickou praxi

Jak vyplývá ze závěrů práce (20), které jsou ve shodě i s jinými literárními prameny (5, 6) doporučujeme provádět distální anastomózu s co nejmenším úhlem spojení mezi protézou a nativní tepnou. Tím je automaticky daná i délka arteriotomie. Na otázku, jakou velikost protézy k danému kalibru tepny by měl chirurg zvolit, aby byl negativní vliv krevního proudu na stěnu tepny maximálně eliminován, odpovídáme přibližně stejný kalibr protézy jako je průměr tepny.

Z předchozích odstavců vyplývá nezanedbatelný vliv chirurga provádějícího distální anastomózu rekonstrukce. Především ve výběru vhodné velikosti našívané protézy k danému kalibru tepny. a úhlu pod jakým je protéza k nativnímu řečišti našita. Očekávaným výsledkem je prodloužení doby průchodnosti těchto provedených rekonstrukcí. „Operující chirurg se tedy do určité míry stává klíčem k dlouhodobé průchodnosti prováděných rekonstrukcí“.

Použitá literatura

(1) Cheshire NJ, Wolfe JH. Infrainguinal Graft Surveillance: a Biased Overview. Semin Vasc Surg 1993;6(2):143-9.

(2) Callow AD, Welch CS. Arterial Anastomosis in Experimental Arterial Injury. Surg Gyn Obstet 1950;90:77-85.

(3) Netrebska H, Schmirler M, Matecha J, et al. The Stenosis Shape Influence on the Flow Pattern in Distal End-to-Side Anastomosis. The 17th International Symposium on Transport Phenomena, Toyama, Japan 2006.

(4) Bryan AJ, Angelini GD. The Biology of Saphenous Vein Graft Occlusion: etiology and strategies for prevention. Curr Opin Cardiol 1994;9(6):641-9.

(5)Rutherford RB. Vascular Surgery. 6th ed. Philadelphia (PA): Elsevier Saunders; 2005.

(6) Hobson RW, Wilson SE, Veith FJ. Vascular Surgery. 3rd ed. New York: Marcel Dekker, 2004.
(7) Davies PF. Flow-Mediated Endothelial Mechanotransduction. Physiol Rev 1995;75(3):519-60.
(8) Haruguchi H, Teraoka S. Intimal Hyperplasia and Hemodynamic Factors in Arterial Bypass and Arteriovenous Grafts: a Review. J Artif Organs 2003;6(4):227-35.
(9) Yamamoto K, et al. Tissue distribution and regulation of murine von Willebrand factor gene expression in vivo. Blood, 1998;92:2791-2801.
(10) Passerini AG, Milsted A, Rittgers SE. Shear stress magnitude and directionality modulate growth factor gene expression in preconditioned vascular endothelial cells. J Vasc Surg. 2003;37(1):182-90.
(11) Malek AM, Alper SL, Izumo S. Hemodynamic shear stress and its role in atherosclerosis. JAMA. 1999;282(21):2035-42.
(12) Passerini AG, Milsted A, Rittgers SE. Shear stress magnitude and directionality modulate growth factor gene expression in preconditioned vascular endothelial cells. J Vasc Surg. 2003;37(1):182-90.
(13) Malek AM, Alper SL, Izumo S. Hemodynamic shear stress and its role in atherosclerosis. JAMA.1999;282(21):2035-42.
(14) Šrámek BB, Valenta J, Klimeš F. Biomechanics of the Cardiovascular System. Praha: Czech Technical University Press, 1995.
(15) Netřebská, H., Schmirler, M., Matěcha, J., and Adamec, J. Výroba transparentních modelů metodou vytavitelného vosku pro měření metodou PIV. Výzkumná zpráva - České vysoké učení technické v Praze, 2007
(16) Ojha M, Cobbold RS, Johnston KW. Influence of Angle on Wall Shear Stress Distribution for an End-to-Side Anastomosis. J Vasc Surg 1994;19(6):1067-73.
(17) Walsh MT, Kavanagh EG, O'Brien T, et al. On the Existence of an Optimum End-to-Side Junctional Geometry in Peripheral Bypass Surgery - a Computer Generated Study. Eur J Vasc Endovasc Surg 2003;26(6):649-56.
(18) Papaharilaou Y, Doorly DJ, Sherwin SJ. The Influence of Out-of-Plane Geometry on Pulsatile Flow Within a Distal End-to-Side Anastomosis. J Biomech 2002;35(9):1225-39.
(19) Leon L, Greisler HP. Vascular grafts. Exper Rev Cardiovasc Ther 2003;1(4):581.
(20) Grus T, Lindner J, Vidim T, Tosovsky J, Matecha J, Rohn V, Lambert L, Grusova G. The anastomosis angle is a key to improved long-term patency of proximal femoropopliteal bypass. Ann Vasc Surg. 2009; 23(5):598-605.

8 Publikační činnost k tématu práce

1. Grus T, Lindner J, Vidim T, Tosovsky J, Matecha J, Varejka P, Rohn V, Tuma L,
Grusova G. **The Anastomosis Angle is a Key to Improved Long-Term Patency of the Proximal Femoropopliteal Bypass.** Ann Vasc Surg 2009; 23(5):598-605 **IF 1.751**
2. Grus T, Lindner J, Vik K, Tosovský J, Matecha J, Netrebská H, Tůma J, Adamec J. **Particle image velocimetry measurement in the model of vascular anastomosis.** Prague Med Rep. 2007;108(1):75-86. *Práce vyhrála publikaci roku časopisu Prague Medical Report v roce 2007.*
3. Lindner J, Jansa P, Kunstyr J, Mayer E, Blaha J, Palecek T, Aschermann M, Grus T, Ambroz D, Tosovský J, Vitkova I. **Implementation of a new programme for the surgical treatment of CTEPH in the Czech Republic-Pulmonary endarterectomy.** Thorac Cardiovasc Surg. 2006 Dec;54(8):528-31 **IF 0.753**
4. Lindner J, Šimo J, Grus T. **A case report of an Extra Anatomical Carotico-iliac Bypass.** Eur Jour Vasc Endovasc Surg Extra. 2005;9:16-18 **IF 1.774**

5. Tikhonoff V, Staessen JA, Kuznetsova T, Thijs L, Hasenkamp S, Bäumer V, Stolarz K, Seidlerová J, Filipovský J, Nikitin Y, Peleska J, Kawecka-Jaszcz K, Casiglia E, Brand-Herrmann SM, Brand E; et investigators (..Grus T..) European Project On Genes in Hypertension (EPOGH) investigators. **SAH gene variants revisited in the European Project On Genes in Hypertension.** J Hypertens 2008; 26(2):244-50 **IF 4.364**
6. Grus T. **Příspěvek k hemodynamice cévních spojení I.** Kurz cévních anastomóz. Vzdělávací akce ČLK v rámci celoživotního vzdělávání lékařů pod č. 16518, Praha 2008
7. Grus T. **Příspěvek k hemodynamice cévních spojení II.** Kurz cévních anastomóz. Vzdělávací akce ČLK v rámci celoživotního vzdělávání lékařů pod č. 17360, Praha 2008
8. Grus T, Lindner J, Krajicek M, Vik K, Tosovsky J, Matecha J, Netrebska H, Tuma J, Adamec J. **Hemodynamic Parameters of End to Side Anastomosis – Experimental study.** 35th Annual Symposium Society for Clinical Vascular Surgery, 2007, Orlando, Florida,USA. In: Book of abstrakt 35th Annual . Symposium Society for Clinical Vascular Surgery, 2007, Orlando, Florida, USA, pp. 142
9. Schmirler M, Netrebska H, Matecha J, Adamec J, Jezek J, Grus T. **Experimental Study of Bypass of Critical Locations in Relation to Vessel Wall Shear Stress.** 4th Latin American Congress on Biomedical Engineering 2007 - Bioengineering Solutions for Latin America Health, 2007 Margarita Isl Venezuela Source: IV Latin American Congress On Biomedical Engineering 2007, Bioengineering Solutions For Latin America Health, Vols 1 And 2 2008;18(1,2):753-757
10. Grus T, Lindner J, Krajicek M, Maresch M, Tosovsky J, Matecha J, Netrebska H, Tuma J, Adamec J. **The Effect of Angle and Hemodynamics upon long-term patency in Distal Vascular Graft Anastomoses – experimental study.** 5th Annual Current Trends in Cardiothoracic Surgery, Baylor College of Medicine Division of Cardiothoracic Surgery, Houston, Texas, 2007.

11. Grus T, Lindner J, Krajíček M, Tošovský J. **Chirurgická léčba stenóz a uzávěrů tepen**. Workshop na téma Teoretická a experimentální optimalizace cévních rekonstrukcí z hlediska hemodynamiky, 2005, Odbor mechaniky tekutin a termodynamiky Fakulta strojní, ČVUT v Praze.
12.Krajíček M, Novotný K, Pasák K, Grus T. **Bezstehové cévní spojení.** I. Sjezd České společnosti kardiovaskulární chirurgie, Brno, Česká republika, 2004. In: 1. sjezd České společnosti kardiovaskulární chirurgie. Sborník abstrakt 2004 (Angiochirurgická sekce).