

Występowanie komórek reakcji zapalnej w zespoleniach naczyniowych politetrafluoroetylenowych protez naczyniowych z układem tętniczym

JAN SKÓRA, ARTUR PUPKA

Katedra i Klinika Chirurgii Naczyniowej,
Ogólnej i Transplantacyjnej
Akademia Medyczna we Wrocławiu

Streszczenie

W celu określania komórkowej reakcji zapalnej w przebiegu wstawiania się protezy naczyniowej zaplanowaliśmy badania eksperymentalne.

Materiał i metody. Badania przeprowadzono na 16 psach. Zwierzętom wszczepiono jednostronne przeszło aortalno-udowe z prostej protezy naczyniowej z politetrafluoroetylenem. Po upływie 6 miesięcy wszystkie zwierzęta usypiano i sekcjonowano, pobierając przeszło wraz marginesem okolicznych tkanek. Wykonywano badania w mikroskopie elektronowym z okolic zespolenia proksymalnego i dystalnego protezy z układem tętniczym.

Wyniki. Stwierdzono znaczne istotne różnice w budowie neoitimy pomiędzy zespoleniem proksymalnym i dystalnym. W zespoleniu proksymalnym obserwowano występowanie fibroblastów i fibrocytów, nie wykazano obecności makrofagów, limfocytów, komórek plazmatycznych. Struktura histologiczna zespolenia proksymalnego świadczy o tym, że procesy zapalne ulegają wygaszeniu w trakcie wstawiania się protezy. W miejscu zespolenia dystalnego obserwowano obszary, w których zdecydowanie dominowały makrofagi i miofibroblasty, niektóre w trakcie aktywnego wydzielania kolagenu.

The inflammatory cells in vascular graft anastomosis an electron microscopy study

JAN SKÓRA, ARTUR PUPKA

Department of Vascular, General and Transplantation Surgery
Medical University Wrocław

Summary

In order to determine the processes arising during the healing in vascular grafts the following experiment was designed in 16 dogs.

Material and methods. The animals underwent implantation of unilateral bypass aorto-femoral (straight prosthesis from polytetrafluoroethylene – PTFE). After the 6 months all the animals sacrificed and vascular grafts were dissected and exam in electron microscopy.

Results. There were significant differences in the histological findings in structure of neoitima between the proximal and distal anastomoses vascular prostheses. There were evidence of presence of fibroblasts but not macrophages in proximal anastomoses. The histological structure of the proximal anastomoses indicates that inflammatory processes was ended during the prosthesis healing. There were presence of macrophages and myofibroblasts, some in the active secretion of collagen in distal anastomoses.

Conclusions. Theses images of vascular anastomoses of artery with politetrafluoroethylene prosthesis corresponds to the chronic inflammatory reaction in distal anastomoses.

Key words: vascular polytetrafluoroethylene prosthesis, remodeling of vascular anastomosis, myofibroblasts, collagen, macrophages

Wnioski. Uzyskany obraz w obrębie naczyniowego zespolenia dystalnego protezy naczyniowej politetrafluoroetylenowej z tętnicą, odpowiada przewlekłej reakcji zapalnej.

Słowa kluczowe: proteza naczyniowa z politetrafluoroetylen, przebudowa zespolenia naczyniowego, miofibroblasty, kolagen, makrofagi

Dalszy rozwój chirurgii naczyniowej zależy od rozwiązania problemu jak najdłuższego utrzymania prawidłowej drożności przeszczepów naczyniowych, w tym syntetycznych protez naczyniowych [1–3].

Od wielu lat badania doświadczalne ukierunkowane są na następujące zagadnienia: obniżenie trombogenności protezy, zapobieganie hiperplazji warstwy wewnętrznej wyścielającej protezę, zwiększenie odporności protezy na zakażenia bakteryjne [4–6]. Wszystkie wyżej wymienione zjawiska, mogą powodować wystąpienie ciężkich powikłań u chorych po wszczepieniu syntetycznej protezy naczyniowej w układ tętniczy [1–3]. Najczęstszym powikłaniem jest zakrzepica protezy, znacznie rzadszym, ale bardzo często śmiertelnym, zakażenie bakteryjne syntetycznej protezy naczyniowej [1–3].

W celu zmniejszenia liczby powikłań ograniczających czas funkcjonowania syntetycznego przeszczepu naczyniowego, są konieczne badania nad zmianami strukturalnymi zachodzącymi po wszczepieniu protez naczyniowych [7–11].

Bezpośrednio po wszczepieniu protezy naczyniowej, powstaje przyścienna skrzeplina pokrywająca jej ścianę wewnętrzną. Następnie w wyniku działań komórek zapalnych – makrofagów, miofibroblastów – dochodzi do wytworzenia ubogokomórkowej błony z licznymi włóknami kolagenu w macierzy pozakomórkowej, określanej jako neointima [12–17].

Na podstawie badań w mikroskopie elektronowym, możliwa jest ocena aktywności oraz udziału komórek zapalnych w procesach naprawczych jak i degeneracyjnych, zachodzących w ścianie protezy naczyniowej, w miejscach przebudowy przyściennej skrzepliny w warstwę wewnętrzną – neointimę [16, 17]. Uzyskane dane umożliwią poznanie czynników wpływających na powstawanie powikłań klinicznych, po zabiegach naprawczych tętnic z wykorzystaniem protez naczyniowych [1–4].

The further development of vascular surgery depends on solving the problem of the long lasting patency of vascular grafts, including a synthetic vascular graft [1–3].

For many years the experimental research was focusing on the following issues: decreasing the prosthesis thrombogenicity, preventing hyperplasia of the inner prosthesis layer and increasing a prosthesis resistance to bacterial infections [4–6]. All the above specified problems may cause severe complications in patients after implantation of a synthetic arterial system vascular graft. The most frequent complication is a graft thrombosis and the least common, however most hazardous is a bacterial infection of prosthetic vascular graft [1–3].

In order to reduce complications that limit the durability of a synthetic vascular graft it is necessary to investigate the structural changes, occurring after the vascular graft implantation [7–11].

A thrombus develops immediately after the vascular prosthesis implantation. Next, the inflammatory cells, like macrophages and myofibroblasts play a role in formation of poorly cellular membrane with numerous collagen fibers within the extracellular matrix, known as neointima [12–17].

The electron microscopic analysis enables evaluating the activity and participation of the inflammatory cells in the healing, as well as in the degenerative processes, occurring in the vascular prosthesis wall at a site of reorganization of a thrombus into the inner layer, i.e. neointima [16, 17].

The obtained results will allow to identify factors generating clinical complications observed after the surgical arterial procedures with the use of vascular prosthesis [1–4].

THE AIM OF STUDY

The aim of the study was an attempt at determining the participation of the inflammatory cells in formation of neointima, based on our experimental model and available literature data. Therefore, the following questions were formulated:

1. Is there any difference between arrangement of inflammatory cells in the proximal and distal vascular graft anastomosis?
2. Are there any differences between metabolic activities of the inflammatory cells in the arterial system vascular graft?
3. Are there any differences between extracellular matrices in the proximal and distal anastomosis?

CEL PRACY

Celem pracy było podjęcie próby oceny udziału komórek reakcji zapalnej w powstawaniu neointymy, w oparciu o model doświadczalny oraz dane z literatury. Z tego powodu sformułowano następujące pytania:

1. Czy istnieje różnica w rozmieszczeniu komórek reakcji zapalnej, pomiędzy zespoleniem proksymalnym i dystalnym syntetycznej protezy naczyniowej?
2. Czy istnieją różnice w aktywności metabolicznej komórek zapalnych w zespoleniach naczyniowych protezy wszczepionej w układ tętniczy?
3. Czy istnieją różnice w macierzy pozakomórkowej, pomiędzy zespoleniem proksymalnym i dystalnym?

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na zwierzętach doświadczalnych – 16 psach nierasowych, ważących od 20 do 26 kg, w wieku od 2 do 4 lat, po uzyskaniu zgody miejscowej komisji bioetycznej.

W znieczuleniu ogólnym dotchawiczym z dostępu przezotrzewnowego oraz z prawej pachwiny, zwierzętom wszywano jednostronne przeszło aortalno-udowe z prostej protezy z ekspandowanego 5-tetrafluoroetylu (ePTFE), o średnicy 6 mm. Długość protezy wynosiła od 8 do 12 cm. Po upływie 6 miesięcy wszystkie zwierzęta usypiano i sekcjonowano, pobierając wszczepioną protezę naczyniową wraz z marginesem naczyń. Z okolic zespolenia proksymalnego (aorta) i zespolenia dystalnego (tętnica udowa wspólna), przeprowadzono badania w mikroskopie elektronowym.

Badania w transmisyjnym mikroskopie elektronowym

Materiał do badań w transmisyjnym mikroskopie elektronowym stanowiły aorta i tętnice udowe psów, które protezowano z użyciem protezy PTFE. Pobierano po kilka wycinków z okolic zespolenia proksymalnego i dystalnego. Następnie materiał utrwalano w 2,5% roztworze aldehydu glutarowego na 0,1 M. buforze kakodylowym przez 12 godz., w temp. 4°C i w 1% OS04 na buforze kakodylowym o pH 7,4 przez jedną godz. Skrawki zatapiano w Epsone 812. Preparaty półcienkie barwiono błękitem toluidyny i dokonywano wstępnej oceny w mikro-

MATERIAL AND METHODS

After obtaining an approval of the Ethics Committee at the Wrocław Medical University, for the purpose of the present study a group of 16 mongrel dogs, weighing from 20 kg to 26 kg and in the age from 2 to 4 years was selected and qualified as an experimental group.

Following a general intratracheal anaesthesia, after transperitoneal surgical approach in the right groin area, the animals were implanted a unilateral aorto-femoral by-pass of 6 mm in diameter 5-tetrafluoroethane (ePTFE) prosthesis. Prosthesis lengths were from 8 to 12cm. After 6 months all animals were sacrificed and the implanted vascular grafts together with margins were excised. The samples collected from the proximal anastomosis (aorta) and distal anastomosis (common femoral artery) were examined under an electron microscope.

The transmission electron microscopy

The specimen examined under the transmission electron microscope comprised aorta and femoral arteries from dogs with a PTFE prosthesis. The examined samples consisted of several segments from the proximal and distal anastomosis resection margins. The samples were fixed in 2,5% glutaraldehyde solution in 0,1M. cacodyl buffer at 4°C for 12 hours and then in 1% OsO₄ in cacodyl buffer at pH 7,4 for 1 hour. The slices were embedded in Epon-812. The semi-thin sections were stained with toluidine blue solution and pre-examined under a light microscope in order to select the most suitable area for trimming, i.e. a junction between vessel and graft. The ultra thin sections were stained with lead citrate and uranyl acetate and then examined under the JEM100B electron microscope. All slides were evaluated by an experienced pathologist.

RESULTS

All animals survived the surgical procedure and the whole 6 months period of postsurgical follow up. The course was not complicated.

The electron microscopic analysis revealed in:

1. **Proximal anastomosis** cellular elements of the connective tissue, i.e. fibroblasts and fibrocytes. The study revealed only single mast cells in specimen (Fig. 1).

skopie świetlnym. Następnie wybierano odpowiednie miejsca do trymowania, to jest styk protezy z naczyniem. Ultracienkie skrawki kontrastowano cytrynianem ołowiu i octanem uranylu i oglądano w mikroskopie elektronowym JEM 100B. Oceny preparatów dokonywał specjalista histolog (dr B. Krajewska – Pracownia Mikroskopii Elektronowej Zakładu Histologii AM we Wrocławiu).

WYNIKI

Wszystkie zwierzęta przeżyły zabieg operacyjny oraz zaplanowany 6-miesięczny okres obserwacji klinicznej. W każdym przypadku obserwowano przebieg pooperacyjny bez istotnych klinicznie powikłań.

Badania w mikroskopie elektronowym

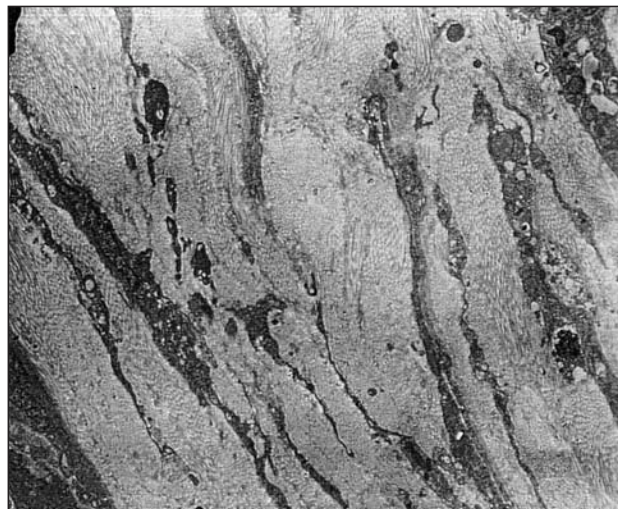
Materiał do badań uzyskiwano w trakcie sekcji zwierząt, którą przeprowadzano po zaplanowanym 6-miesięcznym okresie obserwacji. Ocenie w transmisyjnym mikroskopie elektronowym JEM 100B, poddano wycinki z miejsca zespolenia proksymalnego i dystalnego.

Zespolenie proksymalne

W zespoleniu proksymalnym obserwowano występowanie następujących elementów komórkowych tkanki łącznej: fibroblastów i fibrocytów. Stwierdzono także obecność pojedynczych mastocytów (ryc. 1). Między komórkami występowały liczne, dobrze zorganizowane, ułożone linijnie wzdłuż fibrocytów i mastocytów pęczki włókien kolagenowych, które są głównym składnikiem macierzy pozakomórkowej. Brak makrofagów, limfocytów, komórek plazmatycznych i granulocytów świadczy o tym, że procesy zapalne nie miały patognomicznego znaczenia i uległy wygaszeniu w trakcie wgajania się zespolenia proksymalnego.

Zespolenie dystalne

W miejscu zespolenia dystalnego, podobnie jak w zespoleniu proksymalnym, stwierdzono fibroblasty i fibrocyty. Dodatkowo obserwowano obszary, w których zdecydowanie dominowały miofibroblasty, niektóre w trakcie aktywnego wydzielania



RYC. 1. Zespolenie naczyniowe proksymalne

FIG. 1. Proximal vascular anastomosis

There were numerous well organised bundles of collagen fibres arranged linearly along fibrocytes and mast cells that formed the main component of an extracellular matrix.

Lack of macrophages, lymphocytes, plasma cells and granulocytes indicated that the inflammatory processes were not of pathognomonic significance and that inflammatory processes subsided during the period of proximal anastomosis healing.

2. **Distal anastomosis** similarly to the proximal anastomosis, the presence of fibroblasts and fibrocytes was confirmed. Additionally several areas with numerous myofibroblasts were identified, some of which actively secreted collagen (Fig. 2).

The extracellular matrix contained a large number of collagen fibres in dense bundles. Several foci of numerous macrophages, plasma cells and fragments of disintegrating cells were also identified. A phagocytic activity of macrophages was documented (Fig. 3).

Myofibroblasts participated in healing of tissue defects and they were also found in granulation tissue. These cells participated in the early and middle stage of wound healing and disappeared after the healing was completed, i.e. after the scar was formed. The occurrence of active macrophages and plasma cells together with the collagen secreting myofibroblasts indicates simultaneity of inflammatory and healing processes within the distal anastomosis. The pattern observed in a distal anastomosis corresponds to a chronic inflammatory response characterized by a high level of inflammatory cell activity (Fig. 2).

kolagenu (ryc. 2). W macierzy pozakomórkowej wykazano istnienie bardzo dużej ilości włókien kolagenowych, w postaci gęsto pakowanych pęczków. Zlokalizowano również ogniska z licznymi makrofagami, komórkami plazmatycznymi i fragmentami rozpadających się komórek. Udokumentowano także aktywność fagocytarną makrofagów (ryc. 3).

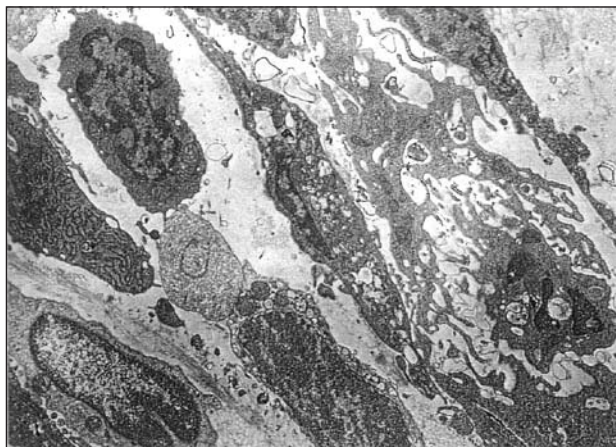
Miofibroblasty są komórkami, które pojawiają się w przebiegu gojenia się ubytków tkankowych w ziarninie. Komórki te obecne są w początkowej i środkowej fazie gojenia, natomiast zanikają w końcowym procesie tworzenia się blizny. Występowanie aktywnych makrofagów i komórek plazmatycznych równocześnie z miofibroblastami produkującymi kolagen, świadczy o współistnieniu procesów zapalnych z procesami naprawczymi w obrębie zespolenia dystalnego. Uzyskany obraz w obrębie zespolenia dystalnego, odpowiada przewlekłej reakcji zapalnej przebiegającej z dużą aktywnością komórek zapalnych (ryc. 2).

OMÓWIENIE

Spowolnienie hiperplazji oraz zmian wstecznych w obrębie zespoła, jest koniecznym warunkiem długotrwałego funkcjonowania wszczepionej protezy. W przypadku utrzymywania się utrwalonej aktywacji komórek reakcji zapalnej, obserwuje się stały postęp zmian przerostowych i wstecznych, które stwarzają duże ryzyko wystąpienia powikłań klinicznych [1–4].

Analiza danych uzyskanych w przebiegu całego schematu badań umożliwia następujące stwierdzenia, dotyczące aktywności komórek zapalnych w miejscu wszczepienia protezy naczyniowej. Wykazana aktywność makrofagów jest stałym elementem odpowiedzi humoralnej, a następnie komórkowej organizmu, która powstaje po wszczepieniu syntetycznej protezy. Jednym z możliwych kierunków działania aktywnych makrofagów, jest podtrzymywanie procesów proteolitycznych w tkance łącznej, otaczającej zespolenia sztucznego naczynia z tętnicą; proces ten dotyczy zespolenia dystalnego [18–20].

W przypadku przedłużonej proteolizy w miejscu zespoła sztucznego naczynia z tętnicą, istnieje realne zagrożenie wystąpienia opisanych poniżej zmian. Pierwszą potencjalnie niebezpieczną zmianą jest ponowne odsłonięcie włókien protezy i ich kontakt z czynnikami układu krzepnięcia. Wynikiem tego są powikłania zakrzepowe [1, 21]. Odsłonięte wtórnie w przebiegu proteolizy włókna, sprzyjają infiltracji przez komórki bakteryjne. Zjawisko to może



RYC. 2. Zespolenie naczyniowe dystalne

FIG. 2. Distal vascular anastomosis



RYC. 3. Zespolenie naczyniowe dystalne

FIG. 3. Distal vascular anastomosis

DISCUSSION

The necessary condition of the long-term function of an implanted graft is slowing down the progression of hyperplasia and retrogressive changes occurring within anastomosis site. Constant progression of hypertrophic and retrogressive changes that increase the risk of clinical complications is observed in case of the sustained activity of inflammatory cells [1–4].

The analysis of all the data obtained during the whole study enables the following conclusions concerning the role of inflammatory cells present in the vascular graft site:

The demonstrated activity of macrophages is a constant feature of the humoral immune response and, in consequence, of the cellular response that develops after the implantation of a synthetic vascular graft. One of the possible function of the activated

doprowadzić do infekcji wszczepionej protezy naczyniowej [1–3].

Następną niekorzystną zmianą, jest znaczne zmniejszenie odporności na odkształcenia mechaniczne ściany protezy naczyniowej w miejscu zespoleń z tętnicą. Klinicznym wyrazem tego są tętniaki w miejscu zespoleń dystalnych [1–4]. Należy przy tym podkreślić fakt znacznie zwiększonej aktywności komórek zapalnych w miejscu zespoleń dystalnego, w porównaniu do zmian w zespoleniu proksymalnym. Wynika to z pobudzenia komórek zapalnych przez turbulentny przepływ krwi i znaczny wzrost ciśnienia krwi w zespoleniu dystalnym, w porównaniu do analogicznych zmian przepływu krwi w zespoleniu proksymalnym [9, 19, 20, 22]. Wzrost sił prostopadle działających na ścianę naczynia jako towarzyszy turbulentnemu przepływowi krwi, jest jednym z podstawowych czynników aktywującym komórki zapalne w zespoleniu [9, 16, 19].

Proteoliza macierzy pozakomórkowej, nie jest jedynym negatywnym efektem obecności aktywnych makrofagów i komórek plazmatycznych w zespoleń dystalnych. Makrofagi i komórki plazmatyczne wspólnie z komórkami endotelialnymi, stymulują znajdujące się w tkance łącznej miofibroblasty do wzmożonej stałej produkcji kolagenu [23, 24]. Wynikiem tego procesu jest znaczny przerost warstwy wewnętrznej – neointimy. W skrajnych przypadkach proces ten doprowadza do zwężeń wewnętrznej średnicy naczyń [25, 26]. Sytuacja ta dotyczy zespoleń dystalnych, w obrębie których aktywność komórek zapalnych oraz zaburzenia przepływu krwi są największe [20, 22, 27]. Ewentualną amplifikacją kliniczną tych zmian, jest zakrzepica syntetycznej protezy naczyniowej w miejscu zespoleń dystalnego z tętnicą [1, 3, 5].

W przedstawionym materiale potwierdzeniem utrwalonej przebudowy macierzy pozakomórkowej warstwy wewnętrznej – neointimy, są badania w transmisyjnym mikroskopie elektronowym z okolic zespoleń. Uzyskane wyniki w sposób bezpośredni świadczą o obecności makrofagów, plazmacytów i wzmożonej produkcji kolagenu przez osiadłe w miejscach zespoleń miofibroblasty [22, 24, 27–29]. Należy przy tym zwrócić uwagę na stwierdzenie występowania skupisk makrofagów i plazmacytów tylko w zespoleniu dystalnym. Zjawisko to jest bezpośrednim dowodem utrwalonej przewlekłej reakcji zapalnej w miejscu zespoleń dystalnego.

Stwierdzenie różnic w obecności makrofagów i plazmacytów pomiędzy zespoleńiami jest osiągnięciem odkrywczym przedstawionej pracy. Stanowi tak-

macrophages is their constant maintaining the proteolytic processes in the connective tissue surrounding the graft site; this function concerns the distal anastomosis [18–20]. There is a high risk of development of changes described above in case of a prolonged proteolysis, occurring at the junction of artificial blood vessel and an artery.

The first potentially risky change is repeated surgical exposure of the prosthesis fibers and their contact with the system of coagulation. This may lead to thrombotic complications [1, 21]. A secondary exposure of fibers in the proteolytic process may facilitate bacterial penetration thus leading to the infection of the implanted vascular graft [1–3].

The second disadvantageous change is the considerable lowering of the resistance to mechanical deformations of the vascular graft wall at its junction with the artery. A clinical expression of such a change is represented by aneurysms forming at a level of the distal anastomosis [1–4].

The considerably increased activity of the inflammatory cells at the level of the distal anastomosis in comparison to changes in the proximal anastomosis should be emphasized. It is a consequence of the additional stimulation of the inflammatory cells in the distal anastomosis by the turbulent inflow of blood and increase of blood pressure acting on a vessel wall [20, 22].

Proteolysis of the extracellular matrix is not the only negative consequence of the activated macrophages and plasma cells in the distal anastomosis. Macrophages and plasma cells along with endothelial cells stimulate myofibroblasts present in the connective tissue to the enhanced constant secretion of the collagen [23, 24]. A result of this process is the considerable hypertrophy of the internal „neointima” layer. This process leads to narrowing of the internal diameter of vessel in extreme cases [25, 26]. This situation refers to the distal anastomosis, wherein the activity of inflammatory cells and disturbances of the blood flow are greatest [20, 22, 27]. A possible clinical amplification of these changes is the thrombosis of the synthetic vascular graft at the level of a junction of the distal anastomosis with the artery [1, 3, 5].

The rearrangement of the extracellular matrix internal „neointima” layer was confirmed by examining the samples taken from the anastomosis area under the transmission electron microscope. The obtained results in a direct way proved the presence of macrophages, plasma cells and the enhanced production of the collagen by the smooth muscle cells, myofibroblasts, residing in the area of junction [22, 24,

że nowy ważny dowód, świadczący o wpływie aktywacji komórek zapalnych w tym makrofagów, na przebieg wgajania się syntetycznych protez naczyniowych. W opublikowanych pracach doświadczalnych z tego zakresu, brak jest tak dokładnie udokumentowanych różnic w obrazie histologicznym pomiędzy zespoleniem proksymalnym a dystalnym [12, 16, 22, 24].

Zjawisko wzmożonej stałej produkcji kolagenu przy zwiększonej aktywności proteolitycznej makrofagów, stanowi o odmienności procesów wgajania się syntetycznej protezy naczyniowej w miejscu zespolenia dystalnego, w stosunku do zmian naprawczych w zespoleniu proksymalnym. W dostępnym piśmiennictwie nie wykazano tak istotnych różnic pomiędzy zespoleniem proksymalnym i dystalnym w odpowiedzi immunologicznej organizmu, spowodowanej obecnością sztucznego naczynia w układzie tętniczym [8, 11, 12, 14, 16].

Dotychczas nie przedstawiono publikacji dotyczących możliwych konsekwencji klinicznych, spowodowanych długotrwałą aktywacją komórek zapalnych w zespoleniu dystalnym. W przedstawionej pracy staje się to możliwe, dzięki powiązaniu wyników badań w mikroskopie elektronowym i danym z literatury [12, 16, 21, 23].

WNIOSKI

1. Wykazano różnice w budowie histologicznej zespolenia proksymalnego i dystalnego.
2. W zespoleniu proksymalnym procesy zapalne uległy wygaszeniu w czasie 6-miesięcznej obserwacji.
3. W zespoleniu dystalnym wykazano obecność przewlekłej reakcji zapalnej, przebiegającej z dużą aktywnością komórek zapalnych.
4. Istnienie utrwalonej reakcji zapalnej w zespoleniu dystalnym, stwarza realne zagrożenie dla długotrwałego funkcjonowania protezy naczyniowej w układzie tętniczym.

LITERATURA

- [1] HALLETT J. W., JR, MARSHALL D. M., PETTERSON T. M., GRAY D. T., BOWER T. C., CHERRY K. J., JR, GLOVICZKI P., PAIROLERO P. C.: Graft-related complications after abdominal aortic aneurysm repair: reassurance from a 36-year population-based experience. *J. Vasc. Surg.* (1997) Feb., 25, (2), 277–284; discussion 285–286.

27–29]. It ought to be emphasized that the presence of accumulated macrophages and plasma cells was revealed only at the distal anastomosis. This phenomenon is a direct evidence of the persisted chronic inflammatory reaction at the level of the distal anastomosis.

The identification of the differences in the presence of macrophages and plasma cells within the anastomosis is the original achievement of the present study. This seems to be also the new and important evidence of the influence of the activation of inflammatory cells, including macrophages, on the course of healing of the synthetic vascular grafts. Experimental studies published so far lack the exactly and well documented evidence of differences in the histological picture between the proximal and distal anastomosis [12, 16, 22, 24].

It is the phenomenon of the enhanced constant production of collagen with the increased proteolytic activity of macrophages that makes the healing processes of the synthetic vascular graft in the distal anastomosis so distinct from the same process in the proximal anastomosis. The available literature does not support significant differences between the proximal and distal anastomosis in relation to immunological response of the organism to the presence of the artificial vessel in the arterial system [8, 11, 12, 14, 16].

There are no contributions so far dealing with possible clinical consequences resulting from the long-lasting activation of inflammatory cells in the distal anastomosis. In the present study this becomes possible owing to the correlation of the own electron microscope findings with the data published in the literature [12, 16, 21, 23].

CONCLUSIONS

1. The study demonstrated significant differences between the histological pattern of the proximal and distal anastomosis.
2. All inflammatory processes in the proximal anastomosis subsided during the 6-month period of observation.
3. The chronic inflammatory response involving a high level of inflammatory cell activity was demonstrated in the distal anastomosis.
4. A fixed inflammatory reaction within the distal anastomosis area poses the substantial threat to the long-term function of an arterial system vascular graft.

- [2] BROTHERS T. E., ROBISON J. G., ELLIOTT B. M.: Predictors of prosthetic graft infection after infrainguinal bypass. *Am Coll Surg.* (2009) Apr., 208, (4), 557–561
- [3] CHIESA R., MARONE E. M., TSHOMBA Y., LOGALDO D., CASTELLANO R., MELISSANO G.: Aortobifemoral bypass grafting using expanded polytetrafluoroethylene stretch grafts in patients with occlusive atherosclerotic disease. *Ann. Vasc. Surg.* (2009) Nov-Dec., 23, (6), 764–769.
- [4] VARDANIAN A. J., CHAU A., QUINONES-BALDRICH W., LAWRENCE P. E.: Arterial allograft allows in-line reconstruction of prosthetic graft infection with low recurrence rate and mortality. *Am. Surg.* 222.
- [5] ENOMOTO S., SUMI M., KAJIMOTO K., NAKAZAWA Y., TAKAHASHI R., TAKABAYASHI C., ASAKURA T., SATA M.: Long-term patency of small-diameter vascular graft made from fibroin, a silk-based biodegradable material. *J. Vasc. Surg.* (2010), Jan., 51, (1), 155–164...1009 Oct., 75 (10), 1000–1003.
- [6] PEKTOK E., NOTTELET B., TILLE J. C., GURNY R., KALANGOS A., MOELLER M., WALPOTH B. H.: Degradation and healing characteristics of small-diameter poly(epsilon-caprolactone) vascular grafts in the rat systemic arterial circulation. *Circulation.* (2008), Dec., 9, 118, (24), 2563–2570.
- [7] ABBOTT W. M., CALLOW A., MOORE W., RUTHERFORD R., VEITH F., WEINBERG S.: Evaluation and performance standards for arterial prostheses. *J. Vasc. Surg.* (1993), 17, 746–756.
- [8] PARSSON H. N., NASSBERGER L., NORGREN L.: Inflammatory response to aorto-bifemoral graft surgery. *Int. Angiol.* (1997), 16, 55–64.
- [9] DE WU M. H., ONUKI Y., KAPLAN S., SAUVAGE L. R.: Implant site influence on arterial prosthesis healing: A comparative study with a triple implantation model in the same dog. *J. Vasc. Surg.* (1997), 25, 528–536.
- [10] BOERBOOM L. E., OLINGER G. N., TIE-ZHU L., RODRIGUEZ E. R., FERRANS Y. I., KISSEBAH A. H.: Histologic, morphometric, and biochemical evolution of vein bypass grafts in nonhuman primate model. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* (1990), 99, 97–106.
- [11] ALLAIRE E., CLOWES A. W.: The intimal hyperplastic response. *Ann. Thor. Surg.* (1997), 64, 4 Suppl. S38–S46.
- [12] CORDERO I. A. JR., QUIST W. C., HARNCLAN A. D., PHANEUF M. D., CONTRERAS M. A., LOGERFO F. W.: Identification of multiple genes with altered expression at the distal anastomosis of healing polytetrafluoroethylene grafts. *J. Vasc. Surg.* (1998), 28, 157–166.
- [13] Seidel C.: Cellular heterogeneity of the vascular tunica media. Implications for vessel wall repair. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* (1997), 17, 1868–1871.
- [14] STERPETTI A. V., CUCINA A., D'ANGELO L. S., CARDILLO B., CAVALLARO A.: Shear stress modulates the proliferation rate, protein synthesis, and mitogenic activity of arterial smooth muscle cells. *Surgery* (1993), 113, 691–699.
- [15] SHI Y., O'BRIEN I.: Adventitial myofibroblasts contribute to neointimal formation in injured porcine coronary arteries. *Circulation* (1996), 94, 1655–1664.
- [16] BERCELI S. A., DAVIES M. G., KENAGY R. D., CLOWES A. W.: Flow-induced neointimal regression in baboon polytetrafluoroethylene grafts is associated with decreased cell proliferation and increased apoptosis. *J. Vasc. Surg.* (2002), Dec. 36, (6), 1248–1255.
- [17] BOYLE E. M. JR., LILLE S. T., ALLAIRE E., CLOWES A. W., VERRIER E. D.: Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: Atherosclerosis. *Ann. Thorac. Sur.* (1997), 63: 885–894.
- [18] BOYLE E. M. JR., POHLMAN T. H., JOHNSON M. C., VERRIER E. D.: Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: The systemic inflammatory response. *Ann. Thor. Surg.* (1997), 63, 277–284.
- [19] DE WU M. H., KOUCHI Y., ONUKI Y., SHI Q., YOSHIDA H., KAPLAN S., VIGGERS F., GHALI R., SAUVAGE L. R.: Effect of differential shear stress on platelet aggregation, surface thrombosis, and endothelialization of bilateral carotid-femoral grafts in the dog. *J. Vasc. Surg.* (1995), 22, 382–392.
- [20] SEEGER I. M., BORGENSEN M., LAWSON G.: Pseudointimal thrombogenicity changes in small arterial grafts. *Surgery* (1990), 107, 620–626.
- [21] KENAGY R. D., FISCHER J. W., LARA S., SANDY J. D., CLOWES A. W., WIGHT T. N.: Accumulation and loss of extracellular matrix during shear stress-mediated intimal growth and regression in baboon vascular grafts. *J. Histochem Cytochem.* (2005), Jan. 53, (1), 131–140.
- [22] ZALEWSKI A., SHI Y.: Vascular myofibroblasts. Lessons from coronary repair and remodeling. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* (1997), Mar. 17, (3), 417–422. Review.
- [23] VARCOE R. L., MIKHAIL M., GUIFFRE A. K., PENNINGS G., VICARETTI M., HAWTHORNE W. J., FLETCHER J. P., MEDBURY H. J.: The role of the fibrocyte in intimal hyperplasia. *J. Thromb. Haemost.* (2006), May. 4, (5), 1125–1133.

- [24] SCHWARTZ R. S., HOLMES D. R., TOPOL E. I.: The restenosis paradigm revisited: an alternative proposal for cellular mechanisms. *J. Am. Coll. Cardiol.* (1992), 20, 1284–1293.
- [25] SCHWARTZ S., DEBLOIS D., O'BRIEN E.: The intima. Soil for atherosclerosis and restenosis. *Circ. Res.* (1995), 77, 445–465.
- [26] STARK V. K., WARNER T. F., HOCH I. R.: An ultrastructural study of progressive intimal hyperplasia in rat vein grafts. *J. Vasc. Surg.* (1997), 26, 94–103.
- [27] BRZEZIŃSKA-BŁASZCZYK E., ZALEWSKA A.: Mastocyty i fibroblasty – obojętni sąsiedzi czy przyjaźni partnerzy? *Postępy Biologii Komórki* (1997), 24, 127–143.
- [28] VERRIER E. D., MORGAN E. N.: Endothelial response to cardiopulmonary bypass surgery. *Ann. Thorac. Surg.* (1998), 66, 5 Supplement S17–S19.

Adres do korespondencji

Katedra i Klinika Chirurgii Naczyniowej,
Ogólnej i Transplantacyjnej
ul. Borowska 213, 50-556 Wrocław
Tel./fax. 071 7332009,
e-mail: apupka@chirn.am.wroc.pl

