

УДК 616.132.2

## МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕОАТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЙ В СТЕНТИРОВАННЫХ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЯХ

*Владимирская Т. Э., Адзерихо И. Э., Швед И. А., Михневич Д. Л., Жилкевич А. В.*

*Государственное учреждение образования  
«Белорусская медицинская академия последипломного образования»,  
г. Минск, Республика Беларусь*

**Реферат.** В статье представлены результаты исследования неоатеросклеротических поражений стентированных коронарных артерий на аутопсийном материале умерших с инфарктом миокарда. Были использованы общегистологический и иммуногистохимический методы. Все полученные количественные данные подвергались статистической обработке. Установлено, что через 1–3 месяца после оперативного вмешательства признаки внутривенного атеросклероза обнаруживались у 26,7 % умерших. В 73,3 % случаев с неоатеросклерозом стенты стояли в коронарных артериях более года. Развившиеся неоатеросклеротические бляшки были зрелыми, 80 % неоатеросклеротических поражений относились к уязвимым бляшкам дистрофически-некротического или эрозивно-воспалительного типов. В коронарных артериях с неоатеросклерозом наблюдалось статистически значимое снижение экспрессии PDGF и Tgf- $\beta$ 1 ( $p < 0,001$ ) по сравнению с нестентированными атероматозными участками, что является неблагоприятным прогностическим фактором нестабильности бляшки.

**Ключевые слова:** неоатеросклероз, нестабильная бляшка, стентирование, тканевые факторы роста.

**Введение.** Эндоваскулярные вмешательства открыли новый этап в кардиологии, значительно расширив возможности лечения ишемической болезни сердца (ИБС), дополняя, а в некоторых случаях и вытесняя другие методы лечения. По интенсивности развития коронарное стентирование опередило все предыдущие технологии коронарной ангиопластики. Однако у данного метода был выявлен ряд факторов, лимитирующих его эффективность и применение, основным из которых был и продолжает оставаться рестеноз коронарных артерий (КА), возникающий через 6–12 месяцев после имплантации стента [1]. Возникновение рестеноза связано с нарушением целостности атеросклеротической бляшки (АСБ) и эндотелия сосуда. Причины и механизмы формирования неоатерогенных изменений в стентированных коронарных артериях до сих пор недостаточно изучены. Было предложено несколько механизмов, включая неполную эндотелизацию стента, приводящую к эндотелиальной дисфункции [2]. Эта неспособность поддерживать полностью функциональный, компетентный эндотелий проявляется плохо сформированными клеточными соединениями, сниженной экспрессией антитромботических молекул и

снижением продукции оксида азота. Нарушенная барьерная функция эндотелия позволяет проникать молекулам липопротеинов и протеогликанов в субэндотелиальное пространство на начальной стадии процесса неоатеросклероза [2]. В стентах с лекарственным покрытием (СЛП) регенерация эндотелиального барьера может замедляться действием антипролиферативных препаратов, которое усугубляется повреждением гладкомышечных (ГМК) и эндотелиальных (ЭК) клеток [3]. Неоатеросклероз в стенте гистологически характеризуется накоплением насыщенных липидами пенистых макрофагов с образованием липидно-некротического ядра и/или очагов кальцификации. Морфологическая картина обнаруженных поражений также соответствует по строению нестабильной фиброатеромы с тонкой крышкой [4]. Еще одним отличием неоатерогенных процессов от атеросклероза в нестентированных сосудах является скорость, с которой происходит их развитие, — если в нестентированных сегментах формирование атером занимает годы, то в стентированных участках признаки формирования атеромы проявляются уже через несколько месяцев после операции [4]. Неоатеросклероз не является добро-

качественным процессом и может привести к позднему и очень позднему тромбозу стента вследствие разрыва стеновой бляшки. Нестабильность бляшки может быть связана с избыточной экспрессией тканевых факторов роста. Некоторые ростовые факторы, такие как тканевый фактор роста (TGF- $\beta$ 1), показаны в качестве промотора неоинтимальной гиперплазии [5, 6]. Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) является белком, стимулирующим неоангиогенез [7] в атероматозных бляшках и в гиперплазированной интима при атеросклерозе [8]. В настоящее время новой областью при изучении патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний является изучение роли фактора роста тромбоцитов (PDGF). PDGF-белковый фактор роста, участвует в регуляции процессов острого воспаления. Окисленные липопротеиды низкой плотности могут индуцировать секрецию фактора роста тромбоцитов и запускать активацию рецепторов к PDGF в ГМК сосудов [9]. Диагноз неоатеросклероза можно поставить на вскрытии или с помощью расширенной визуализации коронарных артерий [10]. Тем не менее, учитывая, что интракоронарная визуализация обычно не проводится и что многие кардиологи не знакомы с сущностью неоатеросклероза, некоторые врачи могут спутать поздний тромбоз стента из-за неоатеросклероза с неадекватной антитромбоцитарной терапией или нарушением целостности стента.

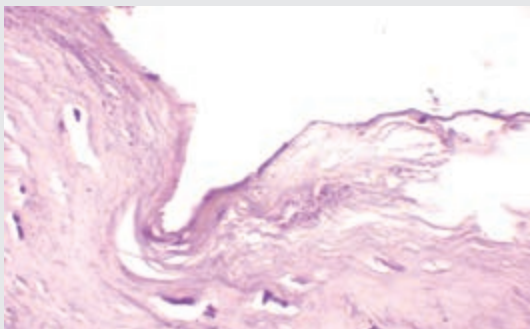
**Цель работы** — изучение патоморфологических изменений в стентированных коронарных артериях в участках неоатеросклеротических поражений на аутопсийном материале.

**Материалы и методы.** Забор аутопсийного материала осуществлялся на базах УЗ «Городское клиническое патологоанатомическое бюро» и УЗ «Минское областное патологоанатомическое бюро». Материалом для морфологического исследования были коронарные артерии со стентами 69 умерших с инфарктом миокарда. Артерии вскрывались в соответствии с методом патологоанатомического вскрытия коронарных артерий после стентирования [11]. Для исследования отбирались участки стентированных артерий в зоне и вне зоны стента. Полученный аутопсийный материал подвергался стандартной процедуре фиксации (10 % нейтральный формалин), проводке по спиртам возрастающей концентрации и заливке в парафиновые блоки. Из парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 3 мкм на микротоме Leica RM2265 (Leica, Гер-

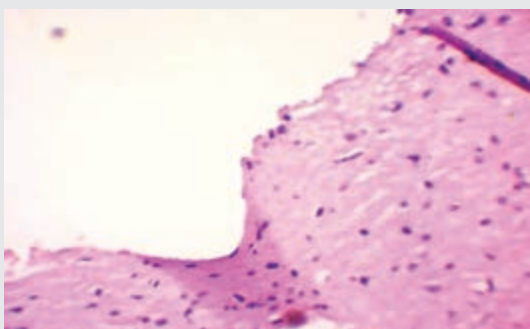
мания), которые окрашивали гематоксилин-эозином. Иммуногистохимическое исследование уровня экспрессии биомаркеров проводилось с использованием моноклональных антител PDGF-B (R&D systems, США) с разведением 1:100, TGF- $\beta$  и VEGF (Thermo Fisher Scientific, США) с разведением 1:30 и 1:300 соответственно. В качестве системы визуализации использовалась Expose Mouse and Rabbit Specific HRP/DAB Detection IHC Kit (Abcam, США), содержащая комплекс вторичных антител и хромоген диаминобензидин (DAB). Количественную оценку экспрессии биомолекулярных маркеров выполняли путем анализа цифрового изображения, полученного с помощью микроскопа Leica DMLS с программным обеспечением (Германия) и цифровой камерой JVC (при увеличении в 200 раз и минимальном количестве полей зрения 20) с использованием программы для морфометрии Aperio Image Scope 12.3.3. Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием пакета статистических программ Statistica 10.0 (Version10-Index, StatSoftInc., США). Представление результатов: Me (медиана) — значение, справа и слева от которого на оси значений признака располагаются равные количества значений признака данной выборки; 25; 75 перцентиль. Результаты считали достоверными при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** При микроскопическом исследовании коронарных артерий после извлечения стентов признаки внутривентрикулярного атеросклероза обнаружались на аутопсиях у 15 пациентов (количество сегментов КА с НСБ — 45, с АСБ — 30). Осложнения стентирования клинически и патологоанатомически были верифицированы у 7 (46,7 %) человек, из них тромбозы стента отмечались у 6 человек (40 %), рестеноз был выявлен у одного пациента, женщины 64 лет, срок после операции 3 месяца. Большинство умерших — мужчины, средний возраст 62 (49; 72) года. У четырех умерших признаки неоатеросклероза развились через 1–3 месяца после операции.

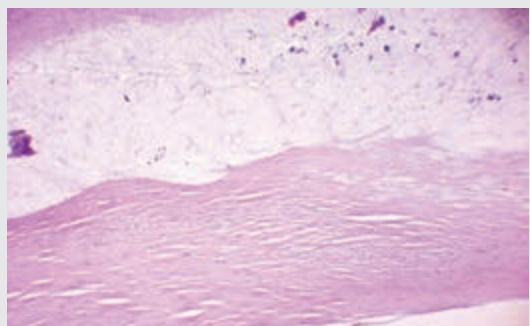
Микроскопическое исследование КА в области стента после его извлечения было затруднено вследствие механического повреждения стенки артерии, однако в большинстве микропрепаратов были визуализированы фрагменты АСБ с сохранившейся крышкой, все оболочки КА, а также неоинтима вокруг стента. Патогистологическое исследование аутопсий-



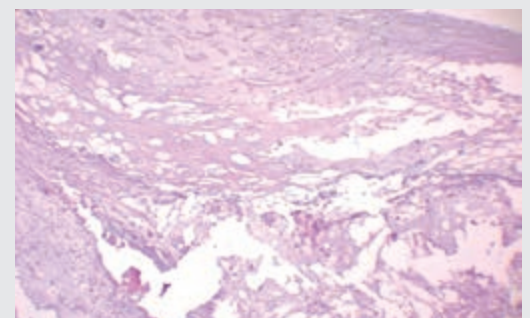
**Рисунок 1 — Сформированная капсула (неоинтима) вокруг стента, ×400**



**Рисунок 2 — Эндотелизация капсулы, миграция ГМК, ×400**



**Рисунок 3 — Атероматозная бляшка с плотной широкой фиброзной капсулой в очаге стентирования, ×100**



**Рисунок 4 — Сформированная неоатеросклеротическая бляшка, ×100**

ного материала выявило все признаки уязвимой бляшки: большое некротическое ядро, воспаление, тромбоз, внутривиточные кровоизлияния, тонкая фиброзная покрышка с разрывами и надрывами, васкуляризация. В зоне погружения стента в ткань сосуда наблюдались характерные углубления, соответствующие геометрии стента и формирование вокруг стента капсулы, по гистоструктуре подобной неоинтима (рисунок 1). В области соприкосновения витков стента с сосудистой стенкой наблюдалась очаговая эндотелизация и миграция ГМК (рисунок 2).

Во всех случаях отмечалась инкапсуляция стента, капсула (неоинтима), образующаяся вокруг стента, была сформирована плотной, очагово гиалинизированной фиброзной тканью (рисунок 3). В одном наблюдении отмечалась выраженная макрофагальная инфильтрация в неоинтима. Неоатеросклеротические бляшки (НСБ) обнаруживались внутрипросветно над капсулой стента и часто сопровождалась разрывами фиброзной покрышки (рисунок 4).

В областях инкапсуляции стентов со стороны меди наблюдались погружение бляшки в медию, ее истончение и деструкция мышечных волокон. В 80 % наблюдений фиброзная покрышка бляшки была истончена, сопровождалась разрывами, расслоением. В бляшках дистрофически-некротического типа в покрышке отмечался кальциноз, в бляшках эрозивно-воспалительного типа — инфильтрация пенистыми клетками и мононуклеарами.

Таким образом, при гистологическом исследовании сегментов КА после извлечения стента отмечалась инкапсуляция витков стента с интеграцией капсулы в ткань сосудистой стенки. Капсула (неоинтима) была выполнена фиброзной или склерозированной тканью, характеризовалась неполной эндотелизацией. НСБ имели признаки нестабильности: тонкая фиброзная покрышка, воспалительная инфильтрация покрышки, скопления в ней пенистых макрофагов, повреждения покрышки, отложения депозитов кальция.

Количественный анализ экспрессии PDGF показал достоверное снижение уровня экспрессии PDGF и TGF- $\beta$ 1 ( $p < 0,0001$ ) в НСБ по сравнению с атероматозной бляшкой (таблица).

Таблица — Экспрессия факторов роста в стентированных коронарных артериях умерших с ИМ (ИЭ %; Ме (25; 75))

Группа	PDGF	TGF-β1	VEGF
АСБ	5,51 (4,02; 7,23)	5,77 (3,65; 8,89)	7,71 (4,48; 11,27)
НСБ	3,42* (2,22; 5,70)	4,49* (2,59; 7,74)	6,19 (3,88; 8,29)

Отмечалась тенденция к уменьшению экспрессии фактора роста сосудистого эндотелия в НСБ по сравнению с АСБ.

Иммуногистохимическое исследование показывает снижение экспрессии PDGF ( $p < 0,001$ ) в НСБ. PDGF является регулятором воспаления, стимулятором пролиферации клеток фибробластного дифферона и перехода ГМК сократительного типа в ГМК синтетического типа. Таким образом, избыточная экспрессия PDGF, также как и противовоспалительного цитокина Tgf-β1, способствует в ткани КА хроническому воспалению, накоплению внеклеточного матрикса и, как следствие, фиброзу и рестенозу. Таким образом, PDGF и Tgf-β1 в АСБ регулируют толщину фиброзного покрова бляшки. Снижение синтеза этих белковых молекул может способствовать истончению фиброзной покрывки бляшки, и, как следствие, ее уязвимости. Также Tgf-β1 обладает противотромбозным действием, препятствуя синтезу адгезивных молекул, снижение уровня его экспрессии может потенцировать тромбоз стента.

VEGF является белком, стимулирующим неоангиогенез в АСБ, что является одним из факторов нестабильности бляшки, также может усугубить рестеноз, воздействуя на прогрессирование атеросклеротической бляшки и индуцируя воспаление. В то же время избыточная экспрессия в ткани стентированной КА может способствовать полной эндотелизации стента и снизить риски развития неоатеросклероза.

**Заключение.** При микроскопическом исследовании коронарных артерий после извлечения стентов признаки внутривиткового атеросклероза обнаруживались у 26,7 % умерших уже через 1–3 месяца после оперативного вмешательства. В 73,3 % случаев с неоатеросклерозом стенты стояли в коронарных артериях более года. При этом развившиеся неоатеросклеротические бляшки были зрелыми, 80 % исследованных НСБ относились к уязвимым бляшкам дистрофически-некротического или эрозивно-воспалительного типов.

В микропрепаратах отмечалась инкапсуляция витков стента, капсула (неоинтима) в контактных участках была выполнена фиброзной или склерозированной тканью, характеризовалась неполной внутрипросветной эндотелизацией. По периметру неоинтимы формировалась эксцентрическая, в большинстве наблюдений, неоатеросклеротическая бляшка.

В коронарных артериях с неоатеросклерозом наблюдалось статистически значимое снижение экспрессии PDGF и Tgf-β1 ( $p < 0,001$ ) по сравнению с нестентированными участками, что является неблагоприятным прогностическим фактором нестабильности бляшки.

Тенденция к уменьшению уровня экспрессии VEGF в неоатеросклеротических поражениях ( $p > 0,05$ ) по сравнению с нестентированными участками с АСБ может свидетельствовать о неполной эндотелизации стента при избыточной васкуляризации бляшки и воспалении.

### Список цитированных источников

1. Влияние коронарной ангиопластики и стентирования на воспалительные биомаркеры у больных стабильной ишемической болезнью сердца / В. В. Тишко [и др.] // Атеросклероз и дислипидемии. — 2015. — № 1. — С. 17–23.
2. Mazin, I. Neoatherosclerosis—from basic concept to clinical implication / I. Mazin, G. Paul, E. Asher // Thrombosis Research. — 2019. — Т. 178. — С. 12–16.
3. Local determinants of thrombus formation following sirolimus-eluting stent implantation assessed by optical coherence tomography / H. Otake [et al.] // J. ACC: Cardiovascular Interventions. — 2009. — Т. 2, № 5. — С. 459–466.
4. Very early in-stent neoatherosclerosis assessed by optical coherence tomography / A. Vergara-Martel [et al.] // International J. of Cardiovascular Imaging. — 2019. — Т. 35, № 10. — С. 1793–1794.

5. TGF-Beta through Smad3 Signaling Stimulates Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation and Neointimal Formation / S. Tsai [et al.] // American J. of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. — 2009. — Vol. 297 — P. 540–549.
6. Transforming Growth Factor Beta 1 Induces Neointima Formation through Plasminogen Activator Inhibitor-1-Dependent Pathways / G. Otsuka [et al.] // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. — 2006. — Vol. 26. — P. 737–743.
7. VEGF in neoplastic angiogenesis / V. P. Chekhonin [et al.] // Vestn. Ross. Akad. Med. Nauk. — 2012. — Vol. 2. — P. 23–33.
8. An increase of VEGF plasma levels is associated with restenosis of drug-eluting stents / K. M. Katsaros [et al.] // EuroIntervention. — 2014. — Vol. 10 (2). — P. 224–230.
9. Тромбоцитарный фактор роста (PDGF) и рестенозирование коронарных артерий после интервенционных вмешательств / Л. А. Бокерия [и др.] // Бюллетень НЦССХ им. А. Н. БАКУЛЕВА РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания». — 2004. — № 5. — С. 301–305.
10. Mechanisms of very late drug-eluting stent thrombosis assessed by optical coherence tomography / M. Taniwaki [et al.] // Circulation. — 2016. — Т. 133, № 7. — С. 650–660.
11. Способ патологоанатомического вскрытия коронарных артерий после стентирования : пат. 2725858 РФ : МПК А 61В 16/00 / С. С. Тодоров [и др.]. — Оpubл. 06.07.20. — 6 с.

## Morphological and immunohistochemical characteristics of neoatherosclerotic lesions in stented coronary arteries

*Vladimirskaya T. E., Adzerikho I. E., Shved I. A., Mikhnevich D. L., Zhilkevich A. V.  
State educational institution “Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education”,  
Minsk, Republic of Belarus*

The paper presents the results of a study of neoatherosclerotic lesions of stented coronary arteries on autopsy material from those who died with myocardial infarction. General histological and immunohistochemical methods were used. All obtained quantitative data were subjected to statistical processing. It was found that 1–3 months after surgery, signs of intra-stent atherosclerosis were found in 26.7 % of the dead. In 73.3 % of cases with neoatherosclerosis, stents were in place in the coronary arteries for more than a year. The developed neoatherosclerotic plaques were mature, 80 % of neoatherosclerotic lesions were vulnerable plaques of dystrophic-necrotic or erosive-inflammatory types. In coronary arteries with neoatherosclerosis, a statistically significant decrease in the expression of PDGF and Tgf- $\beta$ 1 ( $p < 0.001$ ) was observed compared with non-stented atheromatous areas, which is an unfavorable prognostic factor for plaque instability.

**Keywords:** neoatherosclerosis, unstable plaque, stenting, tissue growth factors.

*Поступила 10.06.2022*