Ультраструктура стентированного участка выводного отдела правого желудочка у маловесных детей перед радикальной коррекцией тетрады Фалло

Мухамадияров Р.А., Ляпин А.А., Кутихин А.Г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», 650002, г. Кемерово, Российская Федерация

ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ

Мухамадияров Ринат Авхадиевич – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории фундаментальных аспектов атеросклероза отдела экспериментальной медицины ФГБНУ НИИ КПССЗ (Кемерово, Российская Федерация)
E-mail: rem57@rambler.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5558-3229>

Ключевые слова:

тетрада Фалло, дети с недостаточной массой, стентирование выводного отдела правого желудочка, радикальная хирургическая коррекция тетрады Фалло, неоваскуляризация

Актуальность. Рестеноз является типичным отдаленным осложнением стентирования артерий во взрослом возрасте, однако его патоморфологические особенности в детском возрасте, к примеру между первым и вторым этапами коррекции тетрады Фалло (ТФ), остаются неясными в силу сложности получения и исследования таких препаратов.

Цель – изучить особенности ультраструктурного строения стентированных участков выводного отдела правого желудочка (ВОПЖ), извлеченных во время радикальной хирургической коррекции ТФ у маловесных детей.

Материал и методы. Исследовано 15 образцов стентированных участков ВОПЖ, извлеченных во время радикальной хирургической коррекции ТФ у маловесных детей. Период стентирования составлял от 2,5 до 6 мес (в среднем 3,2 мес). Образцы фиксировали в забуференном формалине с постфиксацией и окрашиванием тетраоксидом осмия, обезживали в этаноле и ацетоне и пропитывали эпоксидной смолой. После полимеризации смолы образцы шлифовали и полировали до нужной глубины. Для повышения электронного контраста образцы обрабатывали спиртовым раствором уранилацетата в процессе обезживания и цитратом свинца по Рейнольдсу после полировки эпоксидных блоков. Образцы визуализировали посредством сканирующей электронной микроскопии в режиме обратно-рассеянных электронов.

Результаты. Структура извлеченного сосуда характеризовалась иерархичностью и включала 7 слоев: 1) эндотелий; 2) субэндотелиальный слой; 3) плотная волокнистая соединительная ткань с большим количеством коллагеновых волокон, ориентированных параллельно эндотелиальному слою; 4) рыхлая соединительная ткань; 5) плотная соединительная ткань, окружающая стенты; 6) прилегающая к каркасу стента мышечная оболочка (медия) исходного сосуда; 7) адвентиция. В то время как адвентиция имела типичное строение, аналогичное таковому в артериях во взрослом возрасте, эластические волокна медики имели значительно менее выраженную очерченность. Неointима стентированного сосуда характеризовалась преобладанием соединительнотканного компонента (внеклеточного матрикса) над клеточным и чередованием плотной и рыхлой соединительной ткани. Стойки стента инкапсулировались при активном участии макрофагов, часть из них трансформировалась в образующие небольшие скопления пенные клетки.

Заключение. После стентирования ВОПЖ как первого этапа коррекции ТФ происходит активное фибротическое ремоделирование, приводящее к формированию неointимы с выраженным и гетерогенным соединительнотканым компонентом.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0546-2019-0002 «Патогенетическое обоснование разработки имплантатов для сердечно-сосудистой хирургии на основе биосовместимых материалов, с реализацией пациент-ориентированного подхода с использованием математического моделирования, тканевой инженерии и геномных предикторов».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Мухамадияров Р.А., Ляпин А.А., Кутихин А.Г. Ультраструктура стентированного участка выводного отдела правого желудочка у маловесных детей перед радикальной коррекцией тетрады Фалло // Клиническая и экс-

периментальная хирургия. Журнал имени академика Б.В. Петровского. 2021. Т. 9, № 2. С. 46–58. DOI: <https://doi.org/10.33029/2308-1198-2021-9-2-46-58>

Статья поступила в редакцию 09.04.2021. Принята в печать 15.05.2021.

Ultrastructure of stented right ventricular outflow tract in low-birth-weight infants before surgical correction of tetralogy of Fallot

Mukhamadiyarov R.A., Lyapin A.A., Kutikhin A.G.

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, 650002, Kemerovo, Russian Federation

Background. In-stent restenosis is a typical long-term complication of endovascular surgery in adults, yet its pathological features in infants, e.g., those who undergo right ventricular outflow tract (RVOT) stenting because of tetralogy of Fallot (ToF), are obscure.

Aim. To investigate ultrastructural features of stented RVOT excised during surgical correction of ToF in low-birth-weight (<3 kg) infants.

Material and methods. We collected 15 samples of stented RVOT excised during surgical correction of ToF in low-birth-weight infants. Duration between RVOT stenting and surgical correction of ToF was from 2.5 to 6.0 months (average 3.2 months). Samples were fixed in 10% neutral phosphate buffered formalin, postfixed and stained in osmium tetroxide, dehydrated in ethanol and acetone, stained in alcoholic uranyl acetate, and embedded into epoxy resin. Upon epoxy resin polymerization, the samples were grinded and polished. Counterstaining was performed by Reynolds' lead citrate. Visualization was conducted by backscattered scanning electron microscopy.

Results. RVOT had a hierarchical structure and included seven consecutive layers: (1) endothelium; (2) subendothelial layer; (3) dense collagen-rich connective tissue; (4) loose connective tissue; (5) capsule of the stent struts; (6) tunica media; (7) tunica adventitia. While adventitial structure in infants was similar to that in adult state, nascent elastic fibers within media indicated its ongoing development. In RVOT, neointima was enriched by extracellular matrix while cells were sparsely distributed across the tissue. Dense and loose connective tissue alternated each other. Macrophages actively contributed to encapsulation of stent struts, and a major proportion of them transformed into foam cells.

Conclusion. Upon RVOT stenting, fibrotic remodeling leads to formation of neointima with a pronounced and heterogeneous connective tissue.

Funding. This work was supported by a comprehensive program of fundamental scientific research of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences within the framework of the fundamental theme of the Research Institute KPSSZ No. 0546-2019-0002 "Pathogenetic substantiation of the development of implants for cardiovascular surgery based on biocompatible materials, with the implementation of a patient-oriented approach using mathematical modeling, tissue engineering and genomic predictors".

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

For citation: Mukhamadiyarov R.A., Lyapin A.A., Kutikhin A.G. Ultrastructure of stented right ventricular outflow tract in low-birth-weight infants before surgical correction of tetralogy of Fallot. Clinical and Experimental Surgery. Petrovsky Journal. 2021; 9 (2): 46–58. DOI: <https://doi.org/10.33029/2308-1198-2021-9-2-46-58> (in Russian)

Received 09.04.2021. **Accepted** 15.05.2021.

CORRESPONDENCE

Rinat A. Mukhamadiyarov – MD,
Senior Researcher, Laboratory
of Fundamental Aspects
of Atherosclerosis, Department
of Experimental Medicine, Research
Institute for Complex Issues
of Cardiovascular Diseases
(Kemerovo, Russian Federation)
E-mail: rem57@rambler.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5558-3229>

Keywords:

tetralogy of Fallot,
underweight children,
low body weight, right
ventricular outflow tract
stenting, total surgical
repair, neovascularization

Стентирование стенозированных сосудов представляет собой эффективную малоинвазивную хирургическую процедуру, позволяющую значительно увеличить их просвет [1–4]. Поскольку эта процедура вызывает выраженное повреждение эндотелия, субэндотелиального слоя и мышечной оболочки сосуда (меди), структура стентированного сосуда впоследствии претерпевает значительные изменения, в том числе определяющие дальнейшую

проходимость сосуда и состояние кровоснабжаемого органа. Главным осложнением данного хирургического вмешательства является рестеноз стентированного участка за счет формирования неинтимы [1, 3, 5–7].

В настоящее время морфологическое строение стентированных сосудов у взрослых пациентов достаточно хорошо изучено, и эти данные широко применяются для оценки эффективности

Рис. 1. Локализация стента в составе выводного отдела правого желудочка и общая структура сосуда:
 А, Б – различия в электронной плотности медиального слоя сосуда;
 В – плотный слой меди, на которой находятся балки стента;
 Г – плотная соединительная ткань вблизи стойки стента со стороны просвета сосуда;
 Д – плотная соединительная ткань по периметру балок сосуда;
 Е – разрастание соединительной ткани в направлении просвета сосуда

Fig. 1. Localization of the stent in the VVL and the general structure of the vessel:
 A, B – differences in the electron density of the medial layer of the vessel;
 C – a dense layer of media on which the stent beams are located;
 D – dense connective tissue near the stent pillar from the side of the vessel lumen;
 E – dense connective tissue along the perimeter of the beams of the vessel;
 F – proliferation of connective tissue in the direction of the vessel lumen

стентирования (в том числе сравнительной эффективности различных модификаций стентов) и расшифровки механизмов развития рестеноза [8–11]. Однако структура стентированных сосудов у детей изучена довольно слабо. При этом можно ожидать, что ремоделирование сосудов в детском возрасте имеет специфические особенности, связанные с быстрым ростом организма в результате активного деления большого количества прогениторных клеток [12, 13]. Слабая изученность стентированных сосудов у этой категории больных связана как с редкостью хирургических вмешательств, требующих извлечения стента со-

вместно с прилежащими тканями сосуда, так и с технической сложностью получения качественных гистологических препаратов вследствие металлической природы стента, препятствующей сохранению целостности окружающих его тканей при резке [14–16].

Решением данной проблемы может быть применение разработанного нашей группой оригинального метода исследования, основанного на заключении цельных стентов с окружающими тканями в эпоксидную смолу после их окрашивания электронно-микроскопическими красителями [17, 18]. Далее образцы в эпоксидных блоках подвергаются

Рис. 2. Полиморфизм эндотелиального слоя на поверхности стентированного сосуда: А, Б – эндотелиоциты с типичным морфотипом; В – полиморфно ориентированные эндотелиоциты с электронноплотными ядрами; Г – уплощенные клетки со светлыми ядрами; Д – клетки паренхимной формы со светлой зернистой цитоплазмой и светлыми ядрами; Е – адгезия мононуклеарных клеток крови на поверхности эндотелиального слоя

Fig. 2. Polymorphism of the endothelial layer on the surface of the stented vessel: A, B – endothelial cells with a typical morphotype; C – polymorphically oriented endothelial cells with electron-dense nuclei; D – flattened cells with light nuclei; E – parenchymal cells with light granular cytoplasm and light nuclei; F – adhesion of mononuclear blood cells to the surface of the endothelial layer

шлифовке, полировке и контрастированию с последующей электронной микроскопией в режиме вторичных (обратно-рассеянных) электронов [17, 18]. Высокий электронный контраст при использовании указанного метода достигается за счет последовательного окрашивания биоплатов тетраоксидом осмия, уранилацетатом и цитратом свинца. Несмотря на ряд опубликованных к настоящему времени приложений указанного метода в экспериментальной и клинической хирургии сердца и сосудов [18–23], до настоящего времени отсутствовали доказательства его применимости для патоморфологического анализа результатов стентирования в детской хирур-

гии. В качестве клинического сценария, при котором целесообразно использование данного метода, было выбрано двухэтапное хирургическое лечение тетрады Фалло (ТФ) у маловесных (имеющих массу тела <3 кг) детей, первым этапом которого является стентирование выводного отдела правого желудочка (ВОПЖ), а вторым – радикальная хирургическая коррекция данного порока сердца, при которой собственно и извлекается стент [13].

Цель работы – изучить особенности ультраструктурного строения стентированных участков ВОПЖ, извлеченных во время радикальной коррекции ТФ у маловесных детей.

Рис. 3. Структура субэндотелиального слоя. А, Б – субэндотелиальный слой между эндотелием и плотной коллагеновой соединительной тканью; В, Г – богатый коллагеновыми волокнами слой плотной соединительной ткани

Fig. 3. The structure of the subendothelial layer. A, B – subendothelial layer between the endothelium and dense collagenous connective tissue; C, D – a layer of dense connective tissue rich in collagen fibers

Материал и методы

В работе было использовано 15 образцов стентированных участков ВОПЖ, извлеченных при радикальной коррекции ТФ у маловесных детей. Первый этап оперативного вмешательства был выполнен в возрасте от 1 дня до 2,5 мес (в среднем 27,8 дней). Масса тела пациентов на первом этапе в среднем составляла $2,2 \pm 0,44$ кг при сатурации $68,7 \pm 5,4\%$. На этом этапе выполняли стентирование ВОПЖ с использованием голометаллических коронарных стентов PRO-Kinetic Energy (Biotronik) или «Синус» (Angioline) диаметром 4–5 мм и длиной 18–20 мм. Ко второму этапу вмешательства масса тела пациентов составляла $4,7 \pm 0,9$ кг при сатурации $96,5 \pm 3,2\%$. Радикальная хирургическая коррекция ТФ с извлечением стента была произведена в сроки от 2,5 до 6 мес (в среднем через 3,2 мес) после стентирования ВОПЖ. Эксплантация стента выполнялась при помощи его последовательного иссечения скальпелем и извлечения из ствола легочной артерии.

Извлеченные стенты промывали в охлажденном физиологическом растворе хлорида натрия и помещали в забуференный (pH 7,4) 10% водный раствор формалина (B06-003, BioVitrum, Россия) на 24 ч с однократной сменой формалина через первые 12 ч. На следующем этапе образцы постфиксировали в 1% тетраоксиде осмия (19110, Electron Microscopy Sciences), приготовленном на 0,1M фос-

фатном буфере, в течение 12 ч, и затем окрашивали 2% водным раствором тетраоксида осмия в течение 48 ч. Далее биоптаты обезживали в этаноле возрастающей концентрации (50%, 60%, 70%, 80%, 95%, по две 15-минутных смены в каждой указанной концентрации), докрашивали 2% спиртовым (95% этанол) раствором уранилацетата (22400-2, Electron Microscopy Sciences) в течение 5 ч, обезживали в изопропанол (06-002, БиоВитрум) в течение 5 ч и в ацетоне (150495, ЛенРеактив) в течение 1 ч. Затем образцы пропитывали смесью эпоксидной смолы Araldite 502 (13900, Electron Microscopy Sciences) и ацетона в соотношении 1:1 в течение 6 ч, чистой эпоксидной смолой в течение 24 ч и полимеризовали в свежей эпоксидной смоле в емкостях FixiForm (40300085, Struers) при 60 °C в течение 24 ч. Получившиеся эпоксидные блоки шлифовали до поверхности образца и полировали на установке TegraPol-11 (Struers) с последовательным использованием шлифовальных дисков с диаметром зерна 9, 6 и 3 мкм. После полировки образцы контрастировали цитратом свинца по Рейнольдсу (17810, Electron Microscopy Sciences) в течение 15 мин путем нанесения раствора на отполированную поверхность блока. После отмывки в бидистиллированной воде на эпоксидные блоки наносили углеродное напыление толщиной 10–15 нм с помощью вакуумного напылительного поста (EM ACE200, Leica).

Рис. 4. Рыхлая соединительная ткань в пространстве между стойками стента: А – участок рыхлой соединительной ткани, ограниченный сверху плотной волокнистой соединительной тканью, прилегающей к субэндотелиальному слою, снизу – плотной соединительной тканью слоя меди исходного сосуда, слева и справа – соединительной тканью, окружающей стойки стента; Б – общий вид рыхлой соединительной ткани, содержащей капилляры, сосудистые гладкомышечные клетки, фибробласты, макрофаги, коллагеновые волокна; В, Г – капилляры в составе рыхлой соединительной ткани; Д, Е – вышеперечисленные клетки рыхлой соединительной ткани

Fig. 4. Loose connective tissue in the space between the stent posts. А – a section of loose connective tissue, limited: from above – by dense fibrous connective tissue adjacent to the subendothelial layer, from below – by dense connective tissue of the media layer of the original vessel, on the left and right – by connective tissue surrounding the stent posts; В – general view of loose connective tissue containing capillaries, vascular smooth muscle cells, fibroblasts, macrophages, collagen fibers; С, D – capillaries in the composition of loose connective tissue; Е, F – the above cells of loose connective tissue

Визуализацию структуры образцов проводили при помощи сканирующей электронной микроскопии в режиме вторичных (обратно-рассеянных) электронов (BSECOMP) на электронном микроскопе Hitachi S-3400N (Hitachi) при ускоряющем напряжении 10 или 15 кВ.

Результаты

Извлеченные вместе со стентом фрагменты сосуда характеризовались иерархическим строением (в порядке перечисления от внутренней стороны

к внешней): 1) эндотелий; 2) субэндотелиальный слой; 3) плотная волокнистая соединительная ткань с большим количеством коллагеновых волокон, ориентированных параллельно эндотелиальному слою; 4) рыхлая соединительная ткань; 5) плотная соединительная ткань, окружающая стенты (капсула); 6) прилегающая к каркасу стента мышечная оболочка (медия), также богатая соединительной тканью; 7) адвентиция. Топографически стойки стента были погружены в ткани приблизительно до середины извлеченного фрагмента сосуда. На поперечном шлифе стойки стента нахо-

Рис. 5. Ткани вокруг стоек стента:
А, Б, В – соединительнотканная капсула, богатая мезенхимальными клетками и макрофагами;
Г, Д, Е – воспалительные инфильтраты вокруг капсулы;
Ж, З, И – пенистые клетки в зоне неполного примыкания стойки стента и канонические макрофаги возле нее

Fig. 5. Tissue around the stent posts:
A, B, C – connective tissue capsule, rich in mesenchymal cells and macrophages;
D, E, F – inflammatory infiltrates around the capsule;
G, H, I – foam cells in the area of incomplete adjoining of the stent rack and canonical macrophages near it

дились на различном расстоянии друг от друга, что определялось исходной конструкцией медицинского изделия (рис. 1, А, Б).

Каркас стента опирался на толстый и упорядоченный слой меди, занимающий около половины общего объема сосуда и имеющий неравномерную электронную плотность с плавным градиентом ее перехода (рис. 1, А, Б). По-видимому, неравномерное распределение электронной плотности по периметру сосуда было обусловлено гетерогенностью распределения механической нагрузки во время функционирования (участки с максимальной нагрузкой содержат повышенное количество плотной соединительной ткани). Как правило, внешняя сторона соединительнотканной капсулы вокруг стоек стента имела более высокую электронную плотность, чем внутренняя (рис. 1, В, Г), хотя встречались исключения из этого наблюдения (рис. 1, Д). В некоторых участках наблюдали наличие выростов неоинтимы, направленных в просвет сосуда (рис. 1, Е).

Со стороны просвета сосуд был покрыт сплошным слоем эндотелия. Обращает на себя внимание выраженный полиморфизм клеток в этом слое. В частности, наблюдали относительно малое количество клеток, которые по морфологическим

признакам могут быть однозначно отнесены к типичным эндотелиоцитам, характеризующимся удлиненной формой и уплощенным ядром со слоем конденсированного хроматина по периферии ядра. Как правило, ядра этих клеток и цитоплазма имели повышенную электронную плотность (рис. 2, А, Б). Часть клеток эндотелиального слоя имела форму, близкую к округлой, отличаясь плотной цитоплазмой с мелкими вакуолями и электронноплотными ядрами округлой или овальной формы (рис. 2, В). У других клеток форма была уплощенной, а ядра – овальными с низкой электронной плотностью (рис. 2, Г). Также встречались участки поверхности, покрытые эндотелиальными клетками овальной формы со светлой зернистой цитоплазмой и ядрами неправильной формы, содержащими светлый деконденсированный хроматин (рис. 2, Д). На поверхности эндотелия в ряде случаев отмечали адгезированные клетки крови (рис. 2, Е).

Субэндотелиальный слой, ограниченный с внешней стороны слоем плотной соединительной ткани, характеризовался наличием бесклеточного или содержащего малое количество клеток внеклеточного матрикса различной толщины (рис. 3, А, Б). За ним следовал бедный клетками слой плотной со-

А (А)

Б (В)

В (С)

Г (D)

Д (Е)

Е (F)

Рис. 6. Плотная соединительная ткань под стойками стента: А, Б – плотная соединительная ткань, содержащая зрелые фибробласты со стороны слоя меди сосуда; В, Г – разрастание инкапсулирующей стенты плотной соединительной ткани в рыхлую; Д, Е – медиа с формирующимися эластическими волокнами

Fig. 6. Dense connective tissue under the stent struts: А, В – dense connective tissue containing mature fibroblasts from the side of the vessel media layer; C, D – growth of dense connective tissue encapsulating stent into loose one; E, F – media with emerging elastic fibers

единительной ткани, в которой преобладал схожий по своей структуре с адвентицией коллагеновый матрикс (рис. 3, В, Г). Рыхлая соединительная ткань локализовалась в пространстве между стойками стента. Со стороны эндотелия она была ограничена плотной соединительной тканью, находящейся под субэндотелиальным слоем, с внешней стороны – медией, с боков – плотной соединительной тканью, окружающей стойки стентов (рис. 4, А, Б). Данный слой содержал значительное количество многочисленных сосудов, разнообразных по своему строению, в том числе типичных капилляров с уплощенными или удлинненными эндотелиоцитами

(рис. 4, В, Г). Кроме капилляров, в этой ткани присутствовало большое количество разнообразных клеток (рис. 4, Д, Е). По морфологическим характеристикам эти клетки можно было отнести к сосудистым гладкомышечным клеткам, фибробластам, макрофагам и тучным клеткам. Вблизи фибробластов наблюдали присутствие пучков коллагеновых волокон.

По периметру всех стоек стента наблюдали плотную соединительную ткань, формирующую капсулу и постепенно переходящую в медию (рис. 5). Толщина капсулы была неравномерной и могла быть выше как с внутренней (рис. 5, А, Б), так

Рис. 7. Слой адвентиции в стентированном участке сосуда.

А, Б – слой рыхлой соединительно-жировой ткани с большим количеством *vasa vasorum*; В – структура *vasa vasorum*; Г – макрофаги и тучные клетки в составе слоя адвентиции

Fig. 7. Tunica adventitia of the stented blood vessel.

A, B – Loose connective/adipose tissue with high amount of *vasa vasorum*; C – *Vasa vasorum* structure; D – Macrophages and mast cells

А (A)

Б (B)

В (C)

Г (D)

и с наружной стороны (рис. 5, В). Клеточный состав капсулы также характеризовался значительной гетерогенностью, при этом в структуре капсулы с боковых сторон (рис. 5, Г) или со стороны сосудистого русла (рис. 5, Д, Е) наблюдали участки с активно идущим воспалительным процессом. Эти участки часто содержали пенные клетки, образующие небольшие скопления и имеющие высокую электронную плотность цитоплазмы (рис. 5, Е, Ж). Помимо пенных клеток, в месте контакта материала сосудистой ткани со стойками стента также наблюдались канонические макрофаги, часть из которых непосредственно контактировала с поверхностью стойки (рис. 5, 3, И). Кроме того, вблизи стоек часто наблюдали зернистый электронноплотный материал, не включенный в клетки.

Со стороны медиального слоя сосуда наблюдали слой плотной соединительной ткани (рис. 6, А, Б). В этой ткани вблизи контакта с стентом не наблюдали клеточных ядер (лишь их остатки), однако обильно присутствовали волокнистые структуры (рис. 6, А). В более глубоких слоях находились рыхло или плотно расположенные фибробласты (рис. 6, Б). Особенностью этого слоя было образование выростов плотной соединительной ткани от «углов» стента, которые выглядели как слоистые волокнистые структуры умеренной электронной плотности

и были хорошо различимы на фоне рыхлой соединительной ткани (рис. 6, В, Г). Как и во взрослых артериях, медиа обладала ярко выраженной иерархической структурой, однако эластические волокна все еще находились в процессе своего формирования, поскольку не очень хорошо контрастировали с коллагеновым матриксом (рис. 6, Д, Е).

Адвентиция сосуда к моменту извлечения стента была полностью сформирована и четко отличима от медиа (рис. 7, А, Б), она содержала как *vasa vasorum* с эндотелиальными клетками полиморфной формы и округлыми ядрами, свидетельствующими о низкой скорости кровотока (рис. 7, В), так и небольшие скопления резидентных макрофагов и тучных клеток (рис. 7, Г).

Обсуждение

Полученные электронно-микроскопические данные позволяют предположить, что ремоделирование неоинтимы после стентирования ВОПЖ с целью коррекции ТФ имеет адаптивный характер. В частности, различия в плотности соединительной ткани по периметру сосуда могут быть связаны с гетерогенностью распределения механической нагрузки в процессе кровообращения, учитывая ее выраженность за счет сокращения сердечных мышц. Именно

этим, вероятно, обусловлено морфологическое разнообразие эндотелия в стентированном участке ВОПЖ. Наличие адгезированных к эндотелию клеток крови свидетельствует об определенной их вовлеченности в процессы ремоделирования. Не до конца понятна роль субэндотелиального слоя внеклеточного матрикса, хотя непосредственное прилегание к нему эндотелия может свидетельствовать о его важности как структурной основы эндотелизации и об его демпфирующей роли при гемодинамической нагрузке. Нижележащий слой плотной волокнистой соединительной ткани, вероятно, является необходимой опорой для эндотелиального и субэндотелиального слоев и способствует сохранению структурной целостности формирующегося сосуда, предотвращая развитие аневризм.

Наличие рыхлой соединительной ткани в составе неоинтимы указывает на наличие продуктивного воспаления в этом слое. В его составе наблюдали разнообразие типичных для этой ткани клеток: сосудистых гладкомышечных клеток, фибробластов, макрофагов, тучных клеток, а также большого количества капилляров. Появление продуктивного (пролиферативного) воспаления и данного слоя, не характерного для артерий во взрослом возрасте, вероятно, связано именно со стентированием. Процедура установки стента во все еще формирующийся сосуд вызывает выраженное механическое повреждение и острое воспаление, результатом хронизации которого является формирование неоинтимы [24–26]. Причиной хронизации воспаления в стентированном ВОПЖ было отличие механических характеристик металлического материала стента от окружающих тканей, вследствие чего вокруг стоек стента даже при их инкапсуляции наблюдали локальные очаги воспаления с присутствием канонических макрофагов и производных от них – пенных клеток. Дополнительным фактором, усугубляющим хронизацию воспалительного процесса, является анатомическая близость сердца, поскольку его

ритмические сокращения могут оказывать дополнительное воздействие на стентированный участок сосуда.

Выраженный интерес представляют различия между формированием неоинтимы при стентировании сосудов в детском и взрослом возрасте. В частности, между первым и вторым этапом радикальной коррекции тетрады Фалло происходит формирование кровеносного русла на фоне двукратного увеличения массы тела ребенка с момента окончания первого этапа (стентирования ВОПЖ с целью повышения сатурации). У взрослых людей при стентировании коронарных сосудов главным механизмом стенозирования является смена фенотипа сосудистых гладкомышечных клеток с контрактильного на синтетический, приводящая к активной их пролиферации и обильному синтезу компонентов внеклеточного матрикса [25, 27]. При анализе рестеноза после стентирования ВОПЖ при тетраде Фалло преобладал соединительнотканый компонент, организованный в плотный коллагеновый слой под эндотелием и прослойкой субэндотелиального внеклеточного матрикса. Вероятно, такой тип ремоделирования способствует сохранению целостности сосуда, в то время как рыхлая соединительная ткань между коллагеновым слоем и медией способствует амортизации механической нагрузки (частично эту функцию выполняет также субэндотелий) на фоне еще не окончательно сформированных эластических волокон меди.

Заключение

Рестеноз, возникающий при стентировании ВОПЖ на первом этапе хирургической коррекции тетрады Фалло, характеризуется преобладанием соединительнотканного компонента и сложной многослойной организацией неоинтимы, направленной на сохранение структурной целостности и эластичности сосуда в условиях еще не окончательно сформированных эластических волокон меди.

Литература

1. Jalaie H., Steitz J., Afify M., Barbaty M.E., Hoeft K., Assar M.A.M. et al. In vivo endothelialization and neointimal hyperplasia assessment after angioplasty of sheep carotid artery with a novel polycarbonate polyurethane patch // *J. Biomater. Appl.* 2019. Vol. 34, N 2. P. 208–218. DOI: <https://doi.org/10.1177/0885328219849368>
2. Braga S.F., Neves J.R., Ferreira J., Carrilho C., Simões J.C., Mesquita A. Neointimal hyperplasia // *Rev. Port. Cir. Cardiorac. Vasc.* 2019. Vol. 26, N 3. P. 213–217.
3. Rekhi U., Piche J.E., Immaraj L., Febbraio M. Neointimal hyperplasia: are fatty acid transport proteins a new therapeutic target? // *Curr. Opin. Lipidol.* 2019. Vol. 30, N 5. P. 377–382. DOI: <https://doi.org/10.1097/MOL.0000000000000627>
4. McMonagle M.P. The quest for effective pharmacological suppression of neointimal hyperplasia // *Curr. Probl. Surg.* 2020. Vol. 57, N 8. Article ID 100807. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cpsurg.2020.100807>.
5. Lee T., Ul Haq N. New developments in our understanding of neointimal hyperplasia // *Adv. Chronic Kidney Dis.* 2015. Vol. 22, N 6. P. 431–437. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.ackd.2015.06.010>

6. Sadaghianloo N., Contenti J., Dardik A., Mazure N.M. Role of hypoxia and metabolism in the development of neointimal hyperplasia in arteriovenous fistulas // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. Vol. 20, N 21. P. 5387. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20215387>
7. He Y., Jiao D., Chen P., Li N., Jin C. The relationship of lumen diameter and neointimal hyperplasia with inflation pressure // *Technol. Health Care.* 2019. Vol. 27, N 4. P. 407–415. DOI: <https://doi.org/10.3233/THC-181184>
8. Amatruda C.M., Bona Casas C., Keller B.K., Tahir H., Dubini G., Hoekstra A. et al. From histology and imaging data to models for in-stent restenosis // *Int. J. Artif. Organs.* 2014. Vol. 37, N 10. P. 786–800. DOI: <https://doi.org/10.5301/ijao.5000336>
9. Brasiliense L.B., Albuquerque F.C., Spetzler R.F., Hanel R.A. Advances and innovations in revascularization of extracranial vertebral artery // *Neurosurgery.* 2014. Vol. 74, suppl. 1. P. S102–S115. DOI: <https://doi.org/10.1227/NEU.0000000000000218>
10. Pleva L., Kukla P., Hlinomaz O. Treatment of coronary in-stent restenosis: a systematic review // *J. Geriatr. Cardiol.* 2018. Vol. 15, N 2. P. 173–184. DOI: <https://doi.org/10.11909/j.issn.1671-5411.2018.02.007>
11. Maillard L., Corseaux D., Altié A., Ung A., Courageot J., Barakat M. et al. Time course of reendothelialization with Polyzene-F nanocoated Cobra PzFTM coronary stent on rabbit iliac arteries // *Cardiovasc. Res.* 2020. Vol. 21, N 2. P. 195–199. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carrev.2019.11.005>
12. Нохрин А.В., Тарасов Р.С., Мухамадияров Р.А., Барбараш Л.С. Этапный подход: стентирование выводного отдела правого желудочка с последующей радикальной коррекцией тетрады Фалло у маловесных детей – непосредственные и отдаленные результаты // *Детские болезни сердца и сосудов.* 2017. Т. 14, № 2. С. 90–100.
13. Nokhrin A.V., Tarasov R.S., Mukhamadiyarov R.A., Shishkova D.K., Kutikhin A.G., Barbarash L.S. et al. Two-stage approach for surgical treatment of tetralogy of Fallot in underweight children: clinical and morphological outcomes // *J. Card. Surg.* 2019. Vol. 34, N 5. P. 293–299.
14. Miller D.V., Jensen T.A., Bair T.L., Jensen T. A novel, rapid, and low cost method for preparing tissues with metallic stents for routine histology // *Cardiovasc. Pathol.* 2020. Vol. 45. Article ID 107177. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carpath.2019.107177>
15. Мухамадияров Р.А., Севостьянова В.В., Шишкова Д.К., Насонова М.В., Зинчук С.Ф., Кудрявцева Ю.А. Применение композиционного контраста для исследования биологических объектов методом сканирующей электронной микроскопии // *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2017. Т. 6, № 3. С. 93–103.
16. Maglio M., Salamanna F., Brogini S., Borsari V., Pagani S., Nicoli Aldini N. et al. Histological, histomorphometrical, and biomechanical studies of bone-implanted medical devices: hard resin embedding // *Biomed. Res. Int.* 2020. Vol. 2020. Article ID 1804630. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/1804630>
17. Mukhamadiyarov R.A., Sevostyanova V.V., Shishkova D.K., Nokhrin A.V., Sidorova O.D., Kutikhin A.G. Grinding and polishing instead of sectioning for the tissue samples with a graft: Implications for light and electron microscopy // *Micron.* 2016. Vol. 85. P. 1–7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micron.2016.03.005>
18. Mukhamadiyarov R.A., Kutikhin A.G. Backscattered scanning electron microscopy approach for assessment of microvessels under conditions of normal microanatomy and pathological neovascularization // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2020. Vol. 169, N 4. P. 525–530. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10517-020-04927-1>
19. Мухамадияров Р.А., Мильто И.В., Кутихин А.Г. Идентификация иммунокомпетентных клеток в тканях при сканирующей электронной микроскопии в обратно-рассеянных электронах // *Архив патологии.* 2020. Т. 82, № 4. С. 70–78.
20. Мухамадияров Р.А., Богданов Л.А., Мишинов С.В., Кутихин А.Г. Новый метод обработки, окрашивания и визуализации тканей, содержащих металлические имплантаты и очаги внескелетной минерализации // *Современные технологии в медицине.* 2020. Т. 12, № 4. С. 13–22.
21. Мухамадияров Р.А., Кутихин А.Г. Исследование особенностей структуры кальцификатов в составе атеросклеротических бляшек сонной артерии человека методом сканирующей электронной микроскопии вобратнорассеянныхэлектронах// *Атеросклероз.* 2020. Т. 16, № 2. С. 5–15.
22. Фролов А.В., Загородников Н.И., Богданов Л.А., Мухамадияров Р.А., Терехов А.А., Кутихин А.Г. Особенности анатомии адвентициального и периваскулярного микрососудистого русла как фактор долговременной эффективности аутоартериальной реваскуляризации миокарда // *Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал имени академика Б.В. Петровского.* 2020. Т. 8, № 4 (30). С. 65–73.
23. Мухамадияров Р.А., Кутихин А.Г. Исследование нормальной и патологической микроскопической анатомии кровеносных сосудов при помощи сканирующей электронной микроскопии в обратно-рассеянных электронах // *Фундаментальная и клиническая медицина.* 2019. Т. 4, № 1. С. 6–14.
24. Li D.J., Fu H., Tong J., Li Y.H., Qu L.F., Wang P. et al. Cholinergic anti-inflammatory pathway inhibits neointimal hyperplasia by suppressing inflammation and oxidative stress // *Redox Biol.* 2018. Vol. 15. P. 22–33. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.11.013>
25. Zain M.A., Jamil R.T., Siddiqui W.J. Neointimal hyperplasia // *StatPearls [Electronic resource]. Treasure Island, FL : StatPearls Publishing, 2021 Jan.*
26. Wang D., Gao B., Yue J., Liu F., Liu Y., Fu W. et al. Exosomes from mesenchymal stem cells expressing miR-125b inhibit neointimal hyperplasia via myosin IE //

J. Cell. Mol. Med. 2019. Vol. 23, N 2. P. 1528–1540. DOI: <https://doi.org/10.1111/jcmm.14060>

27. Curcio A., Torella D., Indolfi C. Mechanisms of smooth muscle cell proliferation and endothe-

lial regeneration after vascular injury and stenting: approach to therapy // *Circ. J.* 2011. Vol. 75, N 6. P. 1287–1296. DOI: <https://doi.org/10.1253/circj.11-0366>

References

1. Jalaie H., Steitz J., Afify M., Barbati M.E., Hoeft K., Assar M.A.M., et al. In vivo endothelialization and neointimal hyperplasia assessment after angioplasty of sheep carotid artery with a novel polycarbonate polyurethane patch. *J Biomater Appl.* 2019; 34 (2): 208–18. DOI: <https://doi.org/10.1177/0885328219849368>
2. Braga S.F., Neves J.R., Ferreira J., Carrilho C., Simões J.C., Mesquita A. Neointimal hyperplasia. *Rev Port Cir Cardiorac Vasc.* 2019; 26 (3): 213–7.
3. Rekhi U., Piche J.E., Immaraj L., Febbraio M. Neointimal hyperplasia: are fatty acid transport proteins a new therapeutic target? *Curr Opin Lipidol.* 2019; 30 (5): 377–82. DOI: <https://doi.org/10.1097/MOL.0000000000000627>
4. McMonagle M.P. The quest for effective pharmacological suppression of neointimal hyperplasia. *Curr Probl Surg.* 2020; 57 (8): 100807. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cpsurg.2020.100807>
5. Lee T., Ul Haq N. New developments in our understanding of neointimal hyperplasia. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2015; 22 (6): 431–7. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.ackd.2015.06.010>
6. Sadaghianloo N., Contenti J., Dardik A., Mazure N.M. Role of hypoxia and metabolism in the development of neointimal hyperplasia in arteriovenous fistulas. *Int J Mol Sci.* 2019; 20 (21): 5387. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20215387>
7. He Y., Jiao D., Chen P., Li N., Jin C. The relationship of lumen diameter and neointimal hyperplasia with inflation pressure. *Technol Health Care.* 2019; 27 (4): 407–15. DOI: <https://doi.org/10.3233/THC-181184>
8. Amatruda C.M., Bona Casas C., Keller B.K., Tahir H., Dubini G., Hoekstra A., et al. From histology and imaging data to models for in-stent restenosis. *Int J Artif Organs.* 2014; 37 (10): 786–800. DOI: <https://doi.org/10.5301/ijao.5000336>
9. Brasiliense L.B., Albuquerque F.C., Spetzler R.F., Hanel R.A. Advances and innovations in revascularization of extracranial vertebral artery. *Neurosurgery.* 2014; 74 (suppl 1): S102–15. DOI: <https://doi.org/10.1227/NEU.0000000000000218>
10. Pleva L., Kukla P., Hlinomaz O. Treatment of coronary in-stent restenosis: a systematic review. *J Geriatr Cardiol.* 2018; 15 (2): 173–84. DOI: <https://doi.org/10.11909/j.issn.1671-5411.2018.02.007>
11. Maillard L., Corseaux D., Altié A., Ung A., Courageot J., Barakat M., et al. Time course of reendothelial-
12. lial regeneration after vascular injury and stenting: approach to therapy // *Circ. J.* 2011. Vol. 75, N 6. P. 1287–1296. DOI: <https://doi.org/10.1253/circj.11-0366>
13. ization with Polyzene-F nanocoated Cobra PzF™ coronary stent on rabbit iliac arteries. *Cardiovasc Revasc Med.* 2020; 21 (2): 195–9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carrev.2019.11.005>
14. 12. Nokhrin A.V., Tarasov R.S., Mukhamadiyarov R.A., Barbarash L.S. Staged approach: stenting of right ventricular outflow tract followed by tetralogy of Fallot definitive repair in low birthweight children – immediate and long-term results. *Detskie bolezni serdtsa i sosudov [Children's Heart Troubles and Vessels].* 2017; 14 (2): 90–100. (in Russian)
15. 13. Nokhrin A.V., Tarasov R.S., Mukhamadiyarov R.A., Shishkova D.K., Kutikhin A.G., Barbarash L.S., et al. Two-stage approach for surgical treatment of tetralogy of Fallot in underweight children: clinical and morphological outcomes. *J Card Surg.* 2019; 34 (5): 293–9.
16. 14. Miller D.V., Jensen T.A., Bair T.L., Jensen T. A novel, rapid, and low cost method for preparing tissues with metallic stents for routine histology. *Cardiovasc Pathol.* 2020; 45: 107177. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carpath.2019.107177>
17. 15. Mukhamadiyarov P.A., Sevostyanova V.V., Shishkova D.K., Nasonova M.V., Zinchuk S.F., Kudryavtseva U.A. Composite contrast using to research biological objects by scanning electron microscopy. *Kompleksnye problemy serdechno-sosudistykh zabolevaniy [Complex Problems of Cardiovascular Diseases].* 2017; 6 (3): 93–103. DOI: <https://doi.org/10.17802/2306-1278-2017-6-3-93-103> URL: <https://www.nii-kpssz.com/jour/article/view/310/274> (in Russian)
18. 16. Maglio M., Salamanna F., Brogini S., Borsari V., Pagani S., Nicoli Aldini N., et al. Histological, histomorphometrical, and biomechanical studies of bone-implanted medical devices: hard resin embedding. *Biomed Res Int.* 2020; 2020: 1804630. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/1804630>
19. 17. Mukhamadiyarov R.A., Sevostyanova V.V., Shishkova D.K., Nokhrin A.V., Sidorova O.D., Kutikhin A.G. Grinding and polishing instead of sectioning for the tissue samples with a graft: Implications for light and electron microscopy. *Micron.* 2016; 85: 1–7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micron.2016.03.005>
20. 18. Mukhamadiyarov R.A., Kutikhin A.G. Backscattered scanning electron microscopy approach for assessment of microvessels under conditions of normal microanatomy and pathological neovascularization. *Bull Exp Biol Med.* 2020; 169 (4): 525–30. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10517-020-04927-1>

19. Mukhamadiyarov R.A., Mil'to I.V., Kutikhin A.A. Identification of immunocompetent cells in tissues by scanning electron microscopy in backscattered electrons. *Arkhiv patologii* [Archive of Pathology]. 2020; 82 (4): 70–8. DOI: <https://doi.org/10.17116/patol20208204170> (in Russian)
20. Mukhamadiyarov R.A., Bogdanov L.A., Mishinov S.V., Kutikhin A.G. A Novel technique for preparation, staining, and visualization of tissue with metal implants and extraskeletal calcification areas. *Sovremennye tekhnologii v meditsine* [Modern Technologies in Medicine]. 2020; 12 (4): 13–20. DOI: <https://doi.org/10.17691/stm2020.12.4.02> (in Russian)
21. Mukhamadiyarov R.A., Kutikhin A.G. Structure of calcificates in human carotid artery atherosclerotic plaques by means of backscattered scanning electron microscopy. *Ateroskleroz* [Atherosclerosis]. 2020; 16 (2): 5–15. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.15372/ATER20200201> (in Russian)
22. Frolov A.V., Zagorodnikov N.I., Bogdanov L.A., Mukhamadiyarov R.A., Terekhov A.A., Kutikhin A.G. Anatomy of adventitial and perivascular vasa vasorum as a key factor of a long-term coronary artery bypass graft surgery success. *Klinicheskaya i eksperimental'naya khirurgiya. Zhurnal imeni akademika B.V. Petrovskogo* [Clinical and Experimental Surgery. Petrovsky Journal]. 2020; 8 (4): 65–73. (in Russian)
23. Mukhamadiyarov R.A., Kutikhin A.G. Histology and histopathology of blood vessels: backscattered scanning electron microscopy approach. *Fundamental'naya i klinicheskaya meditsina* [Fundamental and Clinical medicine]. 2019; 4 (1): 6–14. (in Russian)
24. Li D.J., Fu H., Tong J., Li Y.H., Qu L.F., Wang P., et al. Cholinergic anti-inflammatory pathway inhibits neointimal hyperplasia by suppressing inflammation and oxidative stress. *Redox Biol.* 2018; 15: 22–33. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.11.013>
25. Zain M.A., Jamil R.T., Siddiqui W.J. Neointimal hyperplasia. In: *StatPearls* [Electronic resource]. Treasure Island, FL: StatPearls Publishing, 2021 Jan.
26. Wang D., Gao B., Yue J., Liu F., Liu Y., Fu W., et al. Exosomes from mesenchymal stem cells expressing miR-125b inhibit neointimal hyperplasia via myosin IIE. *J Cell Mol Med.* 2019; 23 (2): 1528–40. DOI: <https://doi.org/10.1111/jcmm.14060>
27. Curcio A., Torella D., Indolfi C. Mechanisms of smooth muscle cell proliferation and endothelial regeneration after vascular injury and stenting: approach to therapy. *Circ J.* 2011; 75 (6): 1287–96. DOI: <https://doi.org/10.1253/circj.11-0366>