

DOI: 10.15825/1995-1191-2025-1-183-187

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЙ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЭПОКСИОБРАБОТАННОГО БИОПРОТЕЗА КЛАПАНА, ФУНКЦИОНИРОВАВШЕГО 25 ЛЕТ У ПАЦИЕНТА С РЕВМАТИЧЕСКИМ ПОРОКОМ СЕРДЦА: КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

А.Е. Костюнин, Т.В. Глушкова, Т.Н. Акентьева, Е.А. Овчаренко

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация

Ввиду развития дегенеративных изменений в створчатом аппарате биологических протезов клапанов сердца их долговечность редко превышает 20 лет. В настоящей статье мы приводим подробное патоморфологическое описание эпоксиобработанного биопротеза «КемКор», иссеченного из митральной позиции через 25 лет после имплантации. Анализ литературных источников показывает, что это самый продолжительный зарегистрированный период функционирования эпоксиобработанного имплантата.

Ключевые слова: биопротезы клапанов сердца, структурная дегенерация клапана, гистология, клинический случай.

PATHOMORPHOLOGICAL AND MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF AN EPOXY-TREATED BIOPROSTHETIC HEART VALVE FUNCTIONING FOR 25 YEARS IN A PATIENT WITH RHEUMATIC HEART DISEASE: A CASE REPORT

A.E. Kostyunin, T.V. Glushkova, T.N. Akentyeva, E.A. Ovcharenko

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

Bioprosthetic heart valves (BHVs) rarely last longer than 20 years due to the development of degenerative changes in their leaflets. We present a detailed pathomorphological description of KemCor, an epoxy-treated BHV that was removed from the mitral position 25 years after implantation. Literature review shows that this is the longest recorded lifespan of an epoxy-treated implant.

Keywords: bioprosthetic heart valves, structural valve degeneration, histology, clinical case.

ВВЕДЕНИЕ

Ограниченная долговечность является главным недостатком биологических протезов клапанов сердца (БП). В среднем эти медицинские изделия функционируют 10–15 лет, прежде чем потребуют замены из-за структурной дегенерации (СД) их биологического компонента [1]. С морфолого-гистологической точки зрения СД представляет собой необратимый процесс усталостного разрушения и кальцификации коллагеновой основы створчатого аппарата БП [1].

Дегенеративные изменения в створках становятся причиной гемодинамической дисфункции БП, обуславливая развитие стеноза и/или недостаточности клапана [1].

В нескольких работах подробно описана гистопатологическая картина СД, характерная для зарубежных БП [2, 3]. Важно отметить, что последние отличаются от ряда отечественных моделей способом консервации: при их изготовлении используют биоматериал животных, обработанный глутаровым

Для корреспонденции: Костюнин Александр Евгеньевич. Адрес: 650002, Кемерово, б-р акад. Л.С. Барбараша, 6. Тел. (900) 108-10-97. E-mail: rhabdophis_tigrina@mail.ru

Corresponding author: Alexander Kostyunin. Address: 6, Bul'var Barbarasha, Kemerovo, 650002, Russian Federation. Phone: (900) 108-10-97. E-mail: rhabdophis_tigrina@mail.ru

альдегидом (ГА), тогда как в России распространена уникальная технология стабилизации биоткани диглицидиловым эфиром этиленгликоля [4]. Долговечность консервированных диэпоксидными соединениями БП аналогична таковой зарубежных БП [4], однако гистопатологические черты СД слабо изучены для имплантатов этого типа [5, 6].

В настоящей статье мы приводим морфолого-гистологическое описание БП модели «КемКор» (ЗАО «НеоКор», Россия), который был иссечен по причине дисфункции через 25 лет после имплантации. Исследованный образец характеризуется самым длительным периодом функционирования среди эпоксиобработанных БП, которые получены в нашей клинике или описаны в литературе.

ОПИСАНИЕ КЛИНИЧЕСКОГО СЛУЧАЯ И ХАРАКТЕРИСТИКА ЭКСПЛАНТИРОВАННОГО БИПРОТЕЗА

Мужчине 1960 года рождения, страдающему от ревматической болезни сердца и стеноза митрального клапана, в 1995 году был имплантирован БП «КемКор» (ЗАО «НеоКор», Россия). Замена БП выполнена в 2020 году (через 25 лет) из-за протезной недостаточности IV степени. В анамнезе пациента не отмечено гипертонии, сахарного диабета, дислипидемии или почечной недостаточности.

Эксплантированный в ходе репротезирования БП был направлен в лабораторию для изучения. Макроскопический анализ показал присутствие многочисленных перфораций в куполе створок (рис. 1, а).

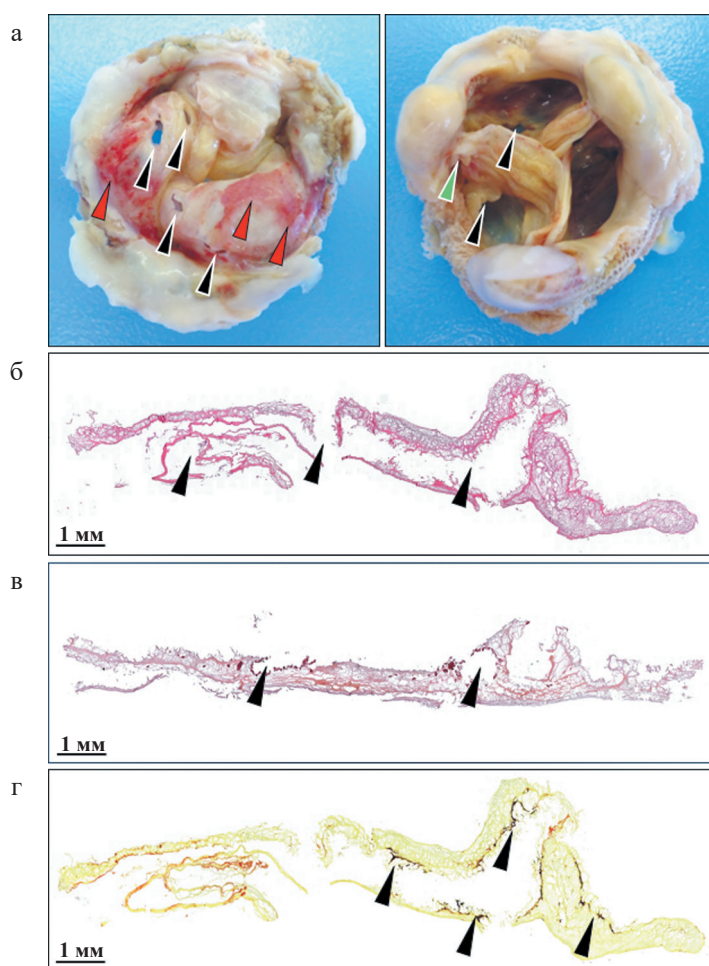


Рис. 1. Результаты макро- и микроскопического анализа исследованного биопротеза: а – изображение изученного образца (слева и справа – отдел притока и оттока соответственно; черные стрелки указывают на перфорации створок, красные – на внутривороточные кровоизлияния, зеленые – на участки нарастания паннуса); б – гистологический срез створки, окрашенный гематоксилином и эозином (стрелками отмечены участки расслоения и разрывов внеклеточного матрикса); в – срез, окрашенный ализариновым красным С (стрелки указывают на микрокальцификаты); г – срез, окрашенный по Граму (стрелками показаны колонии микроорганизмов)

Fig. 1. Results of macro- and microscopic analysis of the studied bioprosthetic heart valve: а – an image of the sample (left and right – inflow and outflow sections, respectively; black arrows indicate leaflet perforations, red indicate intravalvular hemorrhages, green shows pannus buildup areas); б – histological slice of the leaflet stained with hematoxylin and eosin (arrows indicate areas of delamination and ruptures of extracellular matrix); в – slice stained with alizarin red S (arrows indicate microcalcifications); г – slice stained by Gram staining (arrows indicate colonies of microorganisms)

Для двух створок были характерны обширные внутриворочные кровоизлияния, при этом створчатый аппарат сохранял эластичность и не имел видимых кальцификатов. Вегетаций на поверхности створок не отмечено, стойки каркаса покрывала соединительная ткань без признаков кальцификации. Паннус на БП присутствовал со стороны выводного отдела, но был слабо развит: соединительная ткань незначительно фиксировала примыкающие друг к другу створки в зоне комиссур по одной стойке каркаса.

С целью микроскопического анализа створки БП отделили от каркаса и подготовили криосрезы на микротом-криостате HM525 (Thermo Fisher Scientific, США) с использованием среды для быстрого замораживания тканей Neg-50 (6502, Thermo Fisher Scientific, США). Изучение срезов, окрашенных гематоксилином (05-06004, Bio-Optica, Италия) и эозином (НК-EV-A500, Биовитрум, Россия), показало выраженное расслоение и фрагментацию биоматериала. Ввиду значительного повреждения ткани срезы зачастую не были монолитны, а располагались в виде отдельных фрагментов на предметном стекле (рис. 1, б). Окрашивание срезов ализариновым красным С (ab142980, Abcam, Великобритания) продемонстрировало присутствие единичных мелких (до 1 мм) кальцификатов (рис. 1, в), тогда как окрашивание по Граму (ab150672, Abcam, Великобритания) выявило колонии бактерий у свободного края одной из створок (рис. 1, г). При гистологическом исследовании микроорганизмов отмечены грамположительные кокки и грамотрицательные палочковидные бактерии (рис. 2, а), однако попытки таксономической идентификации бактерий методом ПЦР с помощью тест-систем OneStep (Литех, Россия) не дали результатов (использовали наборы для детекции основных возбудителей инфекционного эндокардита (ИЭ) из родов: *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Proteus*, *Serratia*, *Staphylococcus* и *Streptococcus*).

Помимо прочего, створчатый аппарат исследуемого БП характеризовался умеренной клеточной инфильтрацией. Клетки располагались единично или формировали небольшие скопления (не более 30 шт.), локализованные на поверхности створок, в толще разрыхленных участков биоматериала и вблизи кальцификатов. Типирование клеток выполняли посредством иммуногистохимической реакции с использованием коммерческого набора Novolink Polymer Detection Systems (RE7150-CE, Leica Biosystems, США) и антител к пан-лейкоцитарному маркеру CD45 (ab10558, Abcam, Великобритания), маркеру макрофагов CD68 (ab955, Abcam, Великобритания), Т-лимфоцитов CD3 (ab16669, Abcam, Великобритания), В-лимфоцитов CD19 (MA5-32544, Invitrogen, США) и нейтрофилов MPO (ab208670, Abcam, Великобритания). Изучение клеточных инфильтратов

показало, что они состоят исключительно из лейкоцитов (CD45⁺), представленных преимущественно макрофагами (CD68⁺), а также единичными Т-лимфоцитами (CD3⁺) и нейтрофилами (MPO⁺) (рис. 2, б, в). Окрашивание срезов масляным красным позволило выявить скопления пенистых клеток и крупных липидных капель в биоматериале (рис. 2, б, в).

ОБСУЖДЕНИЕ

БП со сроками функционирования, превышающими 20 лет, редко становятся доступны для гистопатологического изучения. Такая ситуация связана как с относительно небольшой (в среднем 10–15 лет) долговечностью этих медицинских изделий, так и с использованием БП главным образом у пациентов старше 65 лет [7]. В последнем случае несостоятельные БП обычно недоступны для изучения ввиду естественной смерти реципиентов или невозможности эксплантации по причине репротезирования транскатетерным способом по методу «клапан в клапан» [7]. Соответственно, накоплено мало сведений о БП, функционировавших 20–25 лет после имплантации [8, 9].

Биоматериал створчатого аппарата изученного БП характеризовался экстремальным расслоением и фрагментацией коллагеновых волокон, что, очевидно, связано с длительностью воздействия на клапан циклических нагрузок (за 25 лет БП совершил около 1 млрд циклов открытия и закрытия). В то же время кальцификация БП была незначительной. Эта картина отличается от известных случаев длительного (>20 лет) функционирования БП, обработанных ГА, для которых свойственен выраженный кальциноз створчатого аппарата [8, 9]. Полученные данные косвенно подтверждают мнение специалистов, согласно которому эпоксиобработанные БП считаются более устойчивыми к кальцификации по сравнению с консервированными ГА [4]. Впрочем, из-за отсутствия выборки пока невозможно сделать окончательный вывод о влиянии способа консервации ткани на характер дегенеративных изменений в БП при их экстремально длительном функционировании.

Неожиданным стало обнаружение в биоматериале изученного БП микроорганизмов, хотя результаты макроскопического анализа, посевов крови и сбора анамнеза не выявили любых признаков ИЭ у пациента. Важно подчеркнуть, что закономерности локализации бактериальных агентов не были характерны для классического ИЭ, при развитии которого бактерии заселяют микротромбы на поверхности створок с последующим формированием вегетаций. В рассматриваемом случае скопления бактерий располагались в толще створчатого аппарата на участках с выраженным повреждением ткани. По-видимому, наблюдаемая картина обусловлена улавливанием

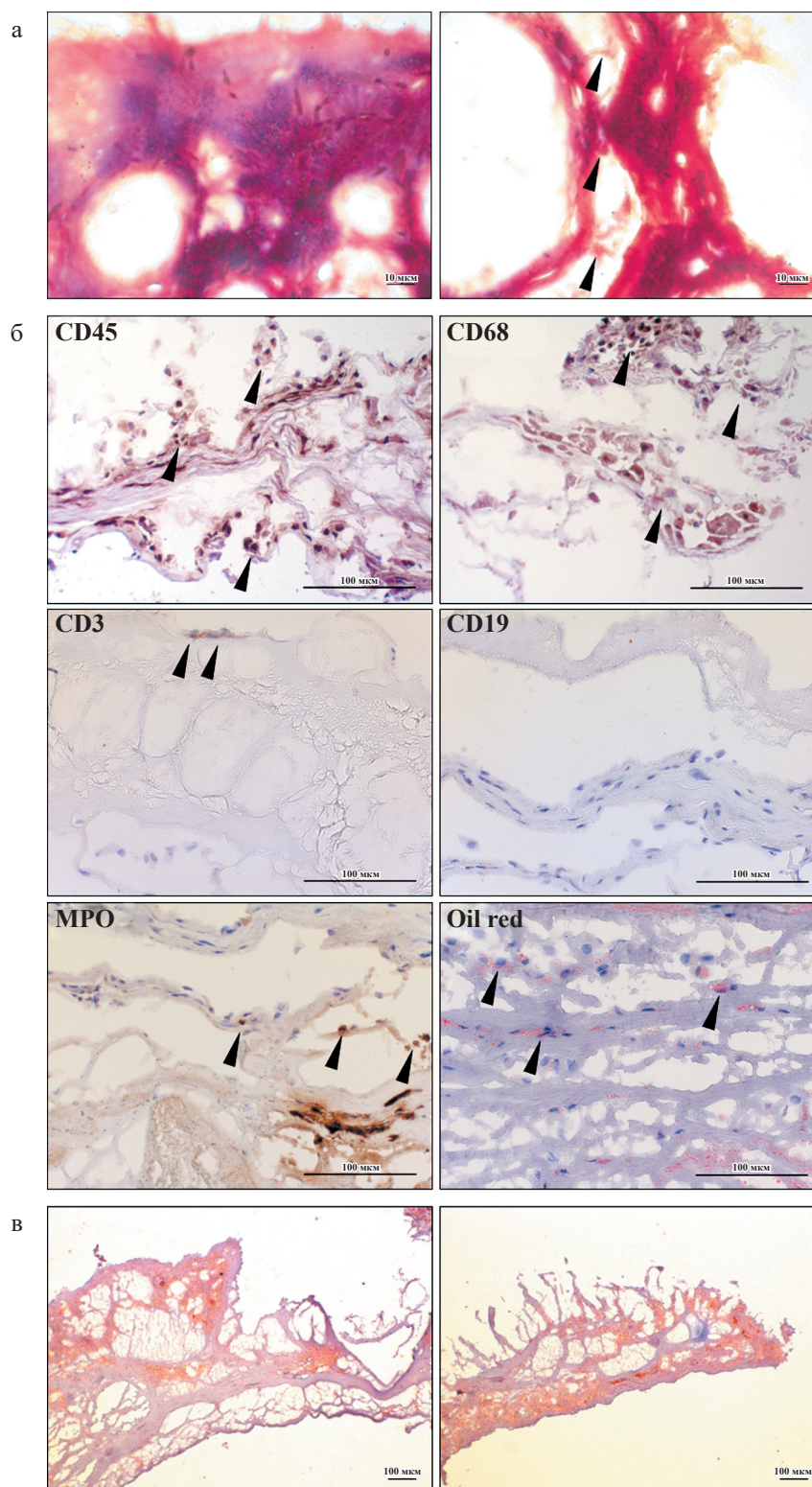


Рис. 2. Результаты гистологических и иммуногистохимических окрашиваний створок исследуемого биопротеза: а – окрашенные методом Грама колонии бактерий, составленные грамположительными кокками и грамтрицательными палочками (стрелками указаны клетки реципиента, сококализованные с микроорганизмами); б – результаты типирования клеток (стрелки указывают на положительно окрашенные клетки; иммуногистохимия и окрашивание масляным красным); в – визуализация липидных капель в створчатом аппарате биопротеза (слева – купол створки, справа – свободный край створки; окрашивание масляным красным)

Fig. 2. Results of histological and immunohistochemical staining of the bioprosthetic valve leaflets: а – Gram-stained bacterial colonies composed of gram-positive cocci and gram-negative bacilli (arrows indicate recipient cells colocalized with microorganisms); б – cell typing results (arrows indicate positively stained cells; immunohistochemistry and oil red O staining); в – visualization of lipid droplets in the bioprosthetic valve leaflet (on the left is the leaflet dome, on the right is the free edge of the leaflet; oil red O staining)

микроорганизмов из крови сетью разрыхленных коллагеновых волокон, составляющих основу биоматериала створок.

Помимо бактериальных агентов исследуемый БП был инфильтрирован разными типами лейкоцитов, проникающими в толщу биоматериала. Видимо, как и контаминация бактериями, клеточная инвазия створчатого аппарата связана с улавливанием циркулирующих иммунных клеток из кровотока разрыхленной ткани. Преобладание макрофагов и пенистых клеток в инфильтратах свидетельствует о хроническом воспалении, что согласуется с результатами предыдущих исследований [2, 3, 6]. В то же время присутствие единичных Т-лимфоцитов и нейтрофилов может быть обусловлено развитием латентного ИЭ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе мы сообщили об эпоксиобработанном БП, который был удален через 25 лет после замены митрального клапана. Анализ литературных источников показал, что это самый длительный зарегистрированный срок функционирования БП, обработанного диглицидиловым эфиром этиленгликоля. Выявление и описание похожих случаев в будущем поможет изучить механизмы СД этих медицинских изделий более подробно (в частности, оценить устойчивость эпоксиобработанного биоматериала к кальцификации в организме реципиента по сравнению со стабилизированным ГА при длительном функционировании БП).

Исследование выполнено в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0419-2022-0001 «Молекулярные, клеточные и биомеханические механизмы патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний в разработке новых методов лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы на основе персонализированной фармакотерапии, внедрения малоинвазивных медицинских изделий, биоматериалов и тканеинженерных имплантатов».

Исследование проведено в соответствии с принципами Надлежащей клинической практики и Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации, а также одобрено локальным этическим комитетом НИИ КПССЗ (заключение ЛЭК № 19 от 06.11.2018). Пациент подписал письменное информированное согласие.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflict of interest.*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Head SJ, Çelik M, Kappetein AP. Mechanical versus bioprosthesis aortic valve replacement. *Eur Heart J*. 2017; 38 (28): 2183–2191. doi: 10.1093/eurheartj/ehx141.
2. Shetty R, Pibarot P, Audet A, Janvier R, Dagenais F, Perron J et al. Lipid-mediated inflammation and degeneration of bioprosthesis heart valves. *Eur J Clin Invest*. 2009; 39 (6): 471–480. doi: 10.1111/j.1365-2362.2009.02132.x.
3. Sakaue T, Koyama T, Nakamura Y, Okamoto K, Kawashima T, Umeno T et al. Bioprosthesis valve deterioration: accumulation of circulating proteins and macrophages in the valve interstitium. *JACC Basic Transl Sci*. 2023; 8 (7): 862–880. doi: 10.1016/j.jacbts.2023.01.003.
4. Барбараи ЛС, Журавлева ИЮ. Эволюция биопротезов клапанов сердца: достижения и проблемы двух десятилетий. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2012; 1: 4–11. Barbarash LS, Zhuravleva IYu. Bioprosthesis heart valve evolution: two decades of advances and challenges. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2012; 1: 4–11. (in Russ.). doi: 10.17802/2306-1278-2012-1-4-11.
5. Мухамадияров РА, Рутковская НВ, Мильто ИВ, Сидорова ОД, Кудрявцева ЮА, Барбараи ЛС. Исследование структуры функционально сохранного ксеноперикардального биопротеза после продолжительного периода имплантации. *Архив патологии*. 2017; 79 (5): 25–33. Mukhamadiyarov RA, Rutkovskaya NV, Milto IV, Sidopova OD, Kudryavtseva YuA, Barbarash LS. Investigation of the structure of a functionally intact xenopericardial bioconduit after long-term implantation. *Arkhiv Patologii*. 2017; 79 (5): 25–33. (In Russ.). doi: 10.17116/patol201779525-33.
6. Мухамадияров РА, Рутковская НВ, Сидорова ОД, Барбараи ЛС. Исследование клеточного состава кальцинированных биопротезов клапанов сердца. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (6): 662–668. Mukhamadiyarov RA, Rutkovskaya NV, Sidorova OD, Barbarash LS. Cellular composition of calcified bioprosthesis heart valves. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (6): 662–668. (In Russ.). doi: 10.15690/vramn560.
7. Otto CM, Nishimura RA, Bonow RO, Carabello BA, Erwin JP, Gentile F et al. 2020 ACC/AHA guideline for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on clinical practice guidelines. *Circulation*. 2021; 143 (5): e72–e227. doi: 10.1161/CIR.0000000000000923.
8. Kubota S, Wakasa S, Ooka T, Tachibana T, Shiiya N, Matsui Y A case of Carpentier-Edwards pericardial bioprosthesis in mitral position explanted 22 years after implantation. *J Artif Organs*. 2010; 13 (1): 48–50. doi: 10.1007/s10047-010-0483-2.
9. Koizumi S, Fukunaga N, Ikeda T, Koyama T. A case of an explanted 26-year-old Carpentier-Edwards supra-annular valve in the tricuspid position. *J Cardiol Cases*. 2016; 15 (1): 36–38. doi: 10.1016/j.jccase.2016.10.003.

*Статья поступила в редакцию 13.05.2024 г.
The article was submitted to the journal on 13.05.2024*