

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-1-255-262

ОСОБЕННОСТИ ОТЛОЖЕНИЯ АНТИТЕЛ КЛАССА IgG В БИОЛОГИЧЕСКОМ КОМПОНЕНТЕ ЭПОКСИОБРАБОТАННЫХ КСЕНОГЕННЫХ БИОПРОТЕЗОВ КЛАПАНОВ СЕРДЦА

А.Е. Костюнин, Т.В. Глушкова, А.А. Ключева, Т.Н. Акентьева, Л.А. Богданов, Р.А. Мухамадияров, К.Ю. Клышников, П.С. Онищенко, Е.А. Овчаренко
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация

Цель: оценить изменение иммуногенности эпоксиобработанных ксенобиопротезов клапанов сердца (БП) при их функционировании в организме реципиентов посредством детекции человеческих антител класса IgG в биоматериале explantированных образцов. **Материалы и методы.** Изучено 14 БП, удаленных в ходе репротезирования клапанов. Из них 3 клапана иссечены через 1, 20 и 42 дня после имплантации, тогда как 11 БП функционировали от 3 до 25 лет. Из створчатого аппарата исследуемых БП подготовлены гистологические срезы, которые окрашивали иммуногистохимически с помощью антитела к человеческому IgG и пентахромом по Расселу–Мовату. Часть фрагментов створок изучена методом сканирующей электронной микроскопии. **Результаты.** Удаленные по причине ранних дисфункций БП, функционировавшие 1, 20 и 42 дня, не имели дегенеративных изменений в биоматериале, однако на поверхности их створок присутствовали незначительные тромбы. В свою очередь, клапаны, функционировавшие от 3 до 25 лет, развили признаки структурной дегенерации биологической ткани, включающие наличие в створках разрывов и крупных кальцификатов. Также эти БП характеризовались умеренной макрофагальной инфильтрацией и незначительным нарастанием паннуса на поверхности створчатого аппарата. Иммуногистохимическое окрашивание гистологических срезов на иммуноглобулин IgG человека продемонстрировало интенсивное отложение антител в биоматериале всех исследуемых БП вне зависимости от времени их функционирования. Положительное окрашивание на IgG человека отмечено вдоль волокон ксеногенной ткани, но отсутствовало в тканях реципиента (в тромбах и паннусах). **Заключение.** Биологический элемент БП не теряет иммуногенных свойств даже при длительном (до 25 лет) функционировании в организме реципиента.

Ключевые слова: биопротезы клапанов сердца, структурная дегенерация клапана, антитела класса IgG, иммунный ответ, иммуногистохимия.

FEATURES OF IgG ANTIBODY DEPOSITION IN EPOXY-TREATED XENOGENEIC BIOPROSTHETIC HEART VALVES

A.E. Kostyunin, T.V. Glushkova, A.A. Klyueva, T.N. Akentyeva, L.A. Bogdanov, R.A. Mukhamadiyarov, K.Yu. Klyshnikov, P.S. Onishchenko, E.A. Ovcharenko
Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

Objective: to evaluate changes in the immunogenicity of epoxy-treated xenogeneic bioprosthetic heart valves (BHVs) during *in vivo* function by detecting human IgG antibodies in the biomaterial of explanted samples. **Materials and methods.** Fourteen BHVs explanted during repeat valve replacement were examined. Of these, three valves were removed at 1, 20, and 42 days after implantation, while 11 valves had functioned for periods ranging from 3 to 25 years. Histological sections were prepared from the valve leaflets and analyzed by immunohistochemistry using antibodies against human immunoglobulin G (IgG), as well as Russell–Movat pentachrome staining. Selected leaflet fragments were additionally examined by scanning electron microscopy. **Results.** BHVs removed due to early dysfunction after 1, 20, and 42 days of implantation showed no signs of biomaterial degeneration; however, small thrombi were detected on their leaflet surfaces. In contrast, valves that had functioned

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

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

for 3 to 25 years exhibited clear features of structural degeneration of the biological tissue, including leaflet tears and extensive calcification. These BHVs were also characterized by moderate macrophage infiltration and a slight increase in pannus on the valve surface. Immunohistochemical staining of histological sections for human IgG revealed intense antibody deposition within the biomaterial of all examined BHVs, irrespective of implantation duration. Positive IgG staining was localized along the fibers of the xenogeneic tissue and was absent in recipient tissues, including thrombi and pannus. **Conclusion.** The biological component of BHVs retains its immunogenic properties even after long-term (up to 25 years) function in the recipient's body.

Keywords: bioprosthetic heart valves, structural valve degeneration, IgG antibodies, immune response, immunohistochemistry.

ВВЕДЕНИЕ

«Золотым стандартом» лечения тяжелых патологий клапанного аппарата сердца является протезирование пораженных клапанов биологическими или механическими протезами [1, 2]. В последние десятилетия с этой целью все чаще применяют ксеногенные биопротезы (БП), изготовленные из химически стабилизированных тканей животных – аортального комплекса свиньи, свиного, бычьего или лошадиного перикарда [3–5]. Низкая тромбогенность выгодно отличает БП от механических аналогов, поскольку позволяет реципиентам отказаться от пожизненной антикоагулянтной терапии и связанных с ней рисков геморрагических событий. Впрочем, в среднем через 15 лет после имплантации до половины БП требуют замены из-за развития протезных дисфункций, обусловленных структурной дегенерацией клапанов (СДК) [6–8]. В качестве одного из ведущих механизмов, стоящих за развитием СДК, выступает иммунное отторжение имплантатов [9, 10].

Несколько групп исследователей сообщили о присутствии плотных лейкоцитарных инфильтратов в створках БП, удаленных у пациентов по причине СДК [11–14]. Помимо клеточных элементов иммунной системы в поврежденном биоматериале клапанов выявлено отложение факторов гуморального иммунитета, включающих антитела класса IgM и IgG, C4d-компонент комплемента и мембран-атакующий комплекс C5b-9 [14–16]. Нужно отметить, что роль антител и компонентов системы комплемента в развитии СДК изучена хуже, нежели участие клеточно-опосредованного воспаления [17]. Обычно вклад антительного иммунитета в патогенез СДК рассматривают с позиции опсонизации антителами ксеногенных тканей БП, что в последующем способствует рекрутированию лейкоцитов [17]. Связываясь посредством Fab-фрагментов с остаточными антигенами животных в биоматериале, антитела могут взаимодействовать свободными Fc-концами с Fcγ-рецепторами моноцитов и других иммунных клеток, провоцируя их активацию и адгезию к поверхности БП [18]. Проникающие в биоматериал лейкоциты производят различные матрикс-деградирующие факторы (включая протеолитические и окислительные ферменты, а также кальций-связывающие белки),

что ведет к развитию дегенеративных изменений в створках имплантатов [9, 10].

Известно, что замена клапана ксеногенным БП вызывает у реципиента значительное (в 2–5 раз) повышение титров антител, специфичных к некоторым антигенам животных, например, галактоза-α-1,3-галактозе (α-Гал) и N-гликолилнейраминовой кислоте (N-ГНК) [16, 19, 20]. Повышенные уровни антител к α-Гал и N-ГНК у пациентов отмечены даже через 2–4 года после имплантации БП [16, 19]. Впрочем, первично увеличенные титры антител к указанным ксеногликанам демонстрируют тенденцию к снижению через 2 года после протезирования клапана, что косвенно указывает на элиминацию антигенов [16]. Клинические наблюдения подтверждают результаты иммуногистохимических исследований, проведенных нашей командой ранее: полученные данные свидетельствуют о постепенном разрушении N-ГНК в биоматериале БП с полной элиминацией этого антигена примерно через 2,5 года функционирования клапана в организме реципиента [21].

В совокупности вышеприведенные сведения указывают на снижение остаточной иммуногенности БП со временем, что плохо согласуется с результатами гистологических исследований, поскольку наиболее выраженную лейкоцитарную инфильтрацию наблюдают не на ранних, а на поздних сроках функционирования имплантатов [11–14]. Для изучения этого противоречия мы оценили изменение иммуногенности БП путем детекции человеческих антител класса IgG в тканях иссеченных ксеноклапанов, функционировавших в течение разных отрезков времени (от 1 дня до 25 лет).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемые образцы

Материалом для исследования стали 14 эпоксиобработанных ксеногенных БП, которые были удалены у реципиентов во время репротезирования клапанов из аортальной (n = 2) и митральной (n = 12) позиций. Изученные БП были представлены моделями производства ЗАО «НеоКор» (Кемерово, Россия), включающими ксеноперикардальные клапаны «ЮниЛайн» (n = 6) и «ТиАра» (n = 2), а также ксеноаортальные имплантаты «ПериКор» (n = 2) и «КемКор» (n = 4).

Только протезы модели «ТиАра» замещали аортальный клапан.

В исследованной серии образцов 3 ксеноперикардальных клапана иссекли после непродолжительного периода функционирования, составившего 1, 20 и 42 дня. При этом удаление БП через день после протезирования не было связано с дисфункцией имплантата и выполнено в ходе экстренного вмешательства из-за разрыва задней стенки левого желудочка. Клапаны «ТиАра», функционировавшие 20 и 42 дня, удалили по причине деформации каркаса, которая привела к их недостаточности. Наконец, остальные 11 БП эксплантировали ввиду СДК в период от 3 до 25 лет после протезирования. В среднем ксеноперикардальные БП функционировали меньший период времени по сравнению с ксеноаортальными – 68 [45,5–76,5; 34–78] месяцев против 194 [168,8–240,8; 129–300] месяцев соответственно (данные представлены в виде медианы, процентилей, минимальных и максимальных значений – Me [25–75%; min-max]). Детальная характеристика изученных БП приведена в таблице.

Гистологические и иммуногистохимические окрашивания

Удаленные БП помещали в стерильный 0,9% раствор натрия хлорида и доставляли в лабораторию. После макроскопического анализа клапаны готовили для гистологических и иммуногистохимических окрашиваний. С этой целью фрагменты створчатого аппарата БП фиксировали в среде для быстрого за-

мораживания тканей Neg-50 (6502, Thermo Fisher Scientific, США) и использовали для подготовки гистологических срезов толщиной 6 мкм с помощью микротом-криостата HM525 (Thermo Fisher Scientific, США). Срезы размещали на предметные стекла. В качестве группы сравнения использовали срезы, полученные из интактных БП моделей «ЮниЛайн» и «КемКор».

Для дифференциации основных компонентов внеклеточного матрикса створок применяли пентахромное окрашивание по Расселу–Мовату, используя коммерческий набор реактивов (ab245884, Abcam, Великобритания) в соответствии с инструкцией производителя.

Детекцию человеческих иммуноглобулинов IgG в срезах производили с применением соответствующего антитела (MAA544Hu22, Cloud-Clone Corp., КНР) и набора для иммуногистохимических окрашиваний NovoLink Polimer DS (RE7150-CE, Leica Biosystems, США). Сначала срезы 10 минут инкубировали в 4% параформальдегиде при комнатной температуре, трижды отмывали (по 5 минут) в фосфатно-солевом буфере (ФСБ, pH 7,4), а затем выполняли иммуногистохимическую реакцию по протоколу производителя указанного набора. Антитело к человеческому иммуноглобулину разводили в 1% солевом растворе бычьего сывороточного альбумина в соотношении 1 : 16000. Инкубацию срезов с первичным антителом производили в закрытом коробе при 4 °C в течение 18 часов. После окрашивания срезы заключали под покровное стекло с помощью монтирующей среды

Таблица

Ключевые характеристики исследованных биопротезов клапанов сердца и их реципиентов
Key characteristics of the studied bioprosthetic heart valves and their recipients

Случай	Пол пациента	Возраст пациента на момент реоперации, лет	Модель БП	Долговечность БП
Ранние дисфункции				
1	Женщина	71	ЮниЛайн	1 день
2	Женщина	66	ТиАра	20 дней
3	Мужчина	75	ТиАра	42 дня
Поздние дисфункции				
4	Мужчина	72	ЮниЛайн	34 месяца
5	Женщина	77	ЮниЛайн	63 месяца
6	Мужчина	66	ЮниЛайн	68 месяцев
7	Женщина	37	ЮниЛайн	75 месяцев
8	Женщина	72	ЮниЛайн	78 месяцев
9	Женщина	67	ПериКор	129 месяцев
11	Мужчина	68	ПериКор	182 месяца
12	Женщина	70	КемКор	184 месяца
10	Женщина	59	КемКор	204 месяца
13	Мужчина	69	КемКор	221 месяц
14	Мужчина	60	КемКор	300 месяцев

Примечание. БП – биопротез клапана сердца.

Note. БП – bioprosthetic heart valve.

Витрогель (НМ-VI-A250, «БиоВитрум», Россия). Контролем выступали срезы, окрашиваемые без добавления первичного антитела.

Световая микроскопия и подготовка изображений

Для визуализации окрашенных срезов выполняли сканирование предметных стекол на автоматизированном лабораторном биологическом микроскопе MT5300L (Meiji Techno, США). Обработку гистологических слайдов и подготовку изображений производили в программе QuPath v.0.6.0 [22].

Сканирующая электронная микроскопия

Для ультраструктурного анализа створок удаленных БП применяли метод сканирующей электронной микроскопии, при этом образцы готовили к исследованию согласно ранее разработанному нами протоколу [23]. Так, фрагменты биоматериала сутки фиксировали в 2 сменах (по 12 часов каждая) 10% нейтрального забуференного формалина (B06-003, «ЭргоПродакшн», Россия) при 4 °С. Далее их 3 раза (по 10 минут) отмывали в ФСБ (рН 7,4) и последовательно инкубировали в 1% буферном и 2% водном растворах тетроксид осмия (19110, Electron Microscopy Sciences, США) в течение 16 и 40 часов соответственно. Затем фрагменты тканей 4 раза отмывали в ФСБ (по 15 минут) и дегидратировали в восходящей концентрации этилового спирта (50, 60, 70, 80 и 95%, 2 раза по 15 минут на каждую смену). После обработки этанолом выполняли окрашивание образцов в 2% спиртовом растворе уранилацетата (22400-2, Electron Microscopy Sciences, США) в течение 16 часов, обезвоживание в 95% этаноле (2 раза по 15 минут), а также изопропанол (06-002, «ЭргоПродакшн», Россия) и ацетоне (6-09-20-03-83, ЭКОС-1, Россия), по 2 часа на каждый. Далее исследуемые образцы пропитывали смесью (1 : 1) ацетона и эпоксидной смолы (13900, Electron Microscopy Sciences, США) в течение 16 часов, выдерживали в эпоксидной смоле 24 часа, в конце на сутки погружая в свежую эпоксидную смолу при 60 °С. После затвердевания смолы образцы обрабатывали на шлифовально-полировальном станке TegraPol-11 (Struers, Дания), 7 минут контрастировали цитратом свинца Рейнольдса (17810, Electron Microscopy Sciences, США) и промывали в бидистиллированной воде (3 смены по 5 минут). Наконец, образцы покрывали углеродным напылением с помощью настольной машины для нанесения покрытий Leica EM ACE200 (Leica Microsystems, Германия) и визуализировали на сканирующем электронном микроскопе S-3400N (Hitachi, Япония) в условиях высокого вакуума при ускоряющем напряжении 10 кВ в режиме обратно рассеянных электронов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Макроскопическое изучение эксплантированных БП не выявило признаков дегенерации биоматериала в трех образцах, удаленных в раннем послеоперационном периоде (1, 20 и 42 дня), тогда как остальные клапаны имели классические признаки СДК. При этом для ксеноперикардальных клапанов «ЮниЛайн» были характерны обширные кальцификаты, локализованные в комиссуральной зоне, основании и куполе створок. В ксеноаортальных клапанах («ПериКор» и «КемКор») помимо крупных кальцификатов выявлены разрывы в области комиссур и перфорации в куполе створок. Также мы наблюдали умеренное разрастание соединительной ткани (паннуса) в основании створок и в комиссуральной зоне БП со стороны оттока. Паннус отмечен в БП, функционировавших дольше 3 лет. Кроме того, на поверхности створок всех БП (включая клапаны, функционировавшие 1, 20 и 42 дня) присутствовали отдельные микротромбы, но крупных тромботических масс или вегетаций не выявлено.

Анализ гистологических срезов, окрашенных пентахромом по Расселу–Мовату, показал сходную гистопатологическую картину между ксеноперикардальными и ксеноаортальными БП. В частности, створки обоих типов имплантатов состояли исключительно из коллагена без признаков эластических волокон и мукополисахаридов, тогда как на их поверхности присутствовали незначительные отложения фибрина (рис. 1, а). Паннус, сформированный на створках, легко идентифицировался благодаря обилию мукополисахаридов в его структуре (рис. 1, б). Клеточные инфильтраты локализовались преимущественно в предповерхностных слоях биоматериала и на поверхности створчатого аппарата (рис. 1, в). При этом в тканях БП, удаленных в период 1–42 дня, клетки реципиента встречались единично, тогда как в остальных клапанах они образовывали плотные скопления. Следует отметить, что для ксеноаортальных, но не ксеноперикардальных, клапанов очаги клеточной инфильтрации отмечены в толще ткани, особенно по периферии перфораций и крупных кальциевых депозитов. Изучение ультраструктуры клеточных элементов показало, что их скопления главным образом состоят из канонических макрофагов, а также единичных нейтрофилов (рис. 1, г).

Результаты иммуногистохимического исследования продемонстрировали интенсивное положительное окрашивание на антитела класса IgG человека во всех исследуемых БП вне зависимости от их типа и времени функционирования (рис. 2). Важно отметить, что положительный сигнал был ассоциирован с волокнами биоматериала, однако присутствующие на поверхности створок микротромбы и паннус не окрашивались антителами к человеческому иммуноглобулину IgG, что свидетельствует о специфичном связывании последнего с биоматериалом.

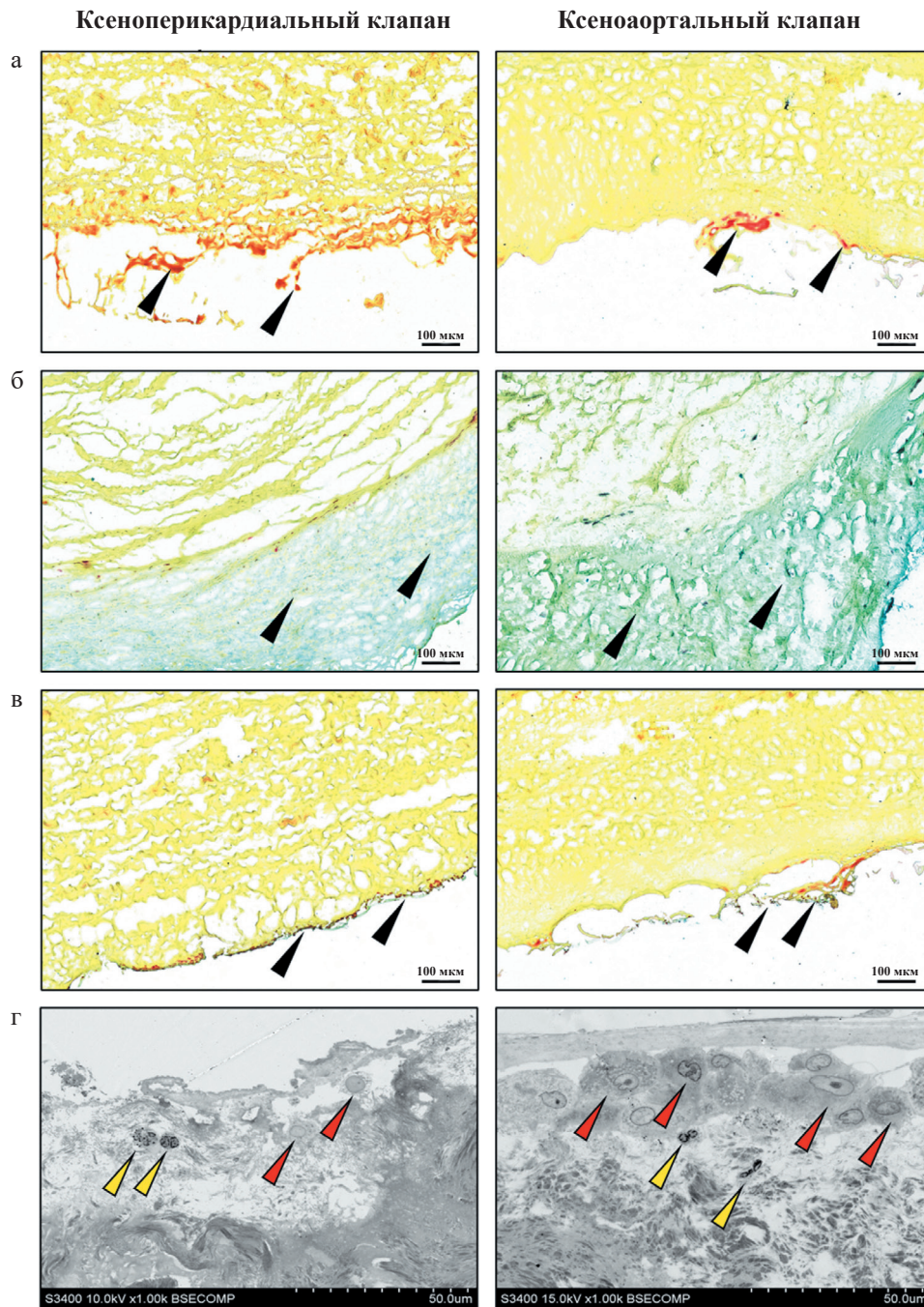


Рис. 1. Результаты окрашивания тканей исследованных биопротезов клапанов сердца пентахромом по Расселу–Мовату: а – створки ксеноперикардиальных и ксеноаортальных клапанов состоят из коллагеновых волокон (желтое окрашивание) без признаков эластина и мукополисахаридов, тогда как на их поверхности присутствуют незначительные отложения фибрина (красное окрашивание, стрелки указывают на микротромбы); б – паннус, сформированный на поверхности створчатого аппарата биопротезов, имел плотную структуру и состоял из богатых мукополисахаридами (зеленое окрашивание) коллагеновых волокон (стрелки указывают на паннус); в – как в случае ксеноперикардиальных, так и в случае ксеноаортальных клапанов клетки реципиента инфильтрировали в основном поверхность и рыхлые предповерхностные слои биоматериала (стрелки указывают на клетки реципиента); г – электронно-микроскопическое исследование показало, что клеточные инфильтраты в биопротезах составлены преимущественно макрофагами (красные стрелки) и единичными нейтрофилами (желтые стрелки)

Fig. 1. Movat pentachrome staining of tissues from the studied bioprosthetic heart valves: а – leaflets of xenopericardial and xenoaortic valves composed predominantly of collagen fibers (yellow staining), with no evidence of elastin or mucopolysaccharides; but minimal fibrin deposits are present on the surface (red staining; arrows indicate microthrombi); б – pannus formed on the surface of the bioprosthetic valve apparatus shows a dense structure composed of collagen fibers rich in mucopolysaccharides (green staining; arrows indicate pannus); в – as observed in both xenopericardial and xenoaortic valves, recipient cells infiltrate mainly the surface and superficial loose layers of the biomaterial (arrows indicate recipient cells); г – electron microscopy demonstrates that the cellular infiltrates within the bioprostheses consist predominantly of macrophages (red arrows) with occasional neutrophils (yellow arrows)

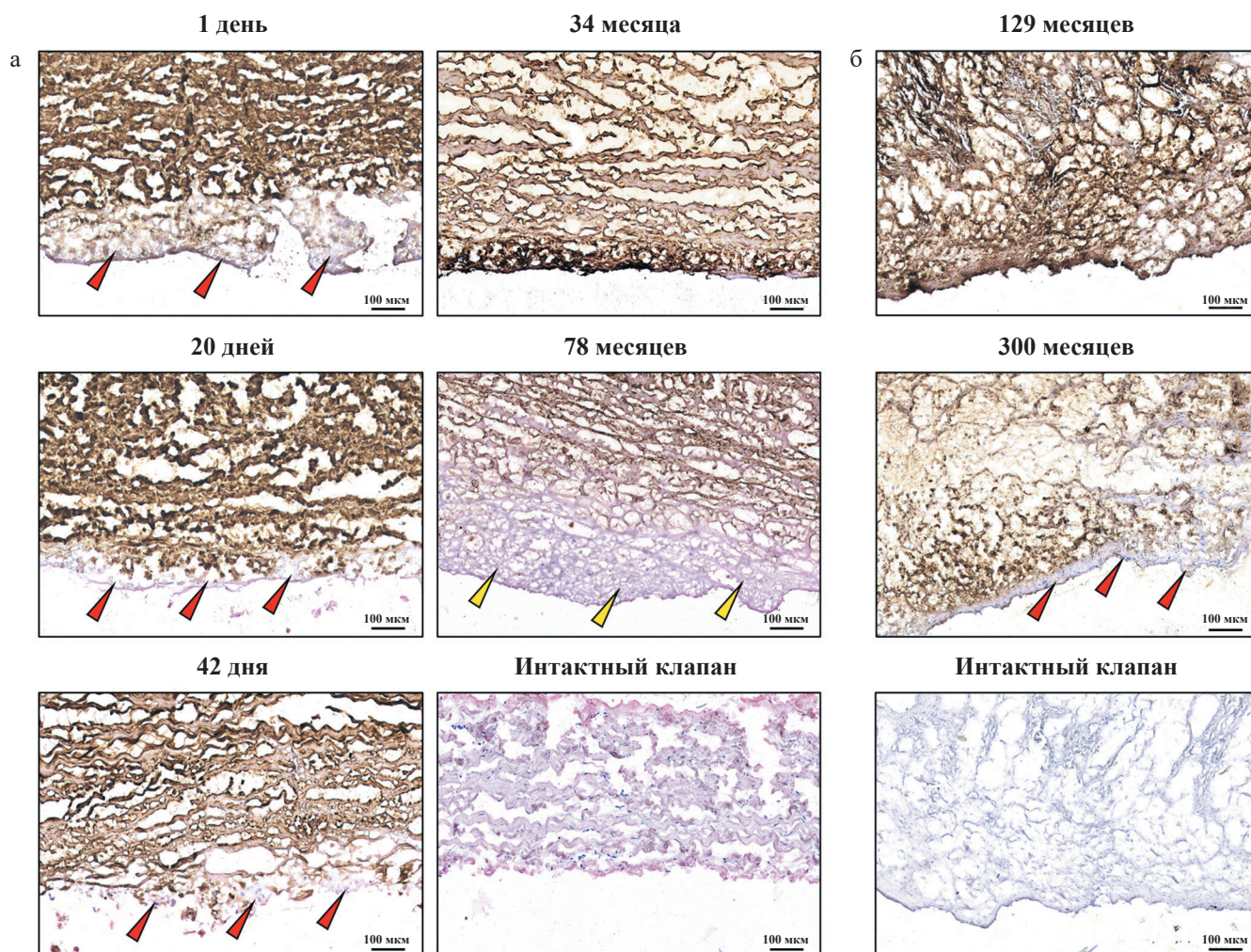


Рис. 2. Результаты иммуногистохимического исследования серии изученных биопротезов клапанов сердца. Биологический материал и ксеноперикардиальных (а), и ксеноаортальных клапанов (б), удаленных у пациентов, интенсивно окрашивался антителами к иммуноглобулину IgG человека вне зависимости от периода имплантации (на рисунке представлены биопротезы с крайними сроками функционирования). Обратите внимание, что ткани реципиента (тромбы и паннус) не демонстрируют положительного окрашивания к человеческому антителу (красные стрелки указывают на микротромбы, желтые стрелки указывают на паннус)

Fig. 2. Immunohistochemical staining of the studied bioprosthetic heart valves. Biomaterial from both xenopericardial (a) and xenoaortic (б) valves explanted from patients was intensely stained with anti-IgG antibodies, regardless of the implantation duration (bioprostheses with the shortest and longest functional periods are shown). In contrast, recipient-derived tissues, including thrombi and pannus, exhibited no positive staining for human IgG (red arrows indicate microthrombi; yellow arrows indicate pannus)

Ткани intactных (контрольных) БП показали отсутствие положительной окраски.

ОБСУЖДЕНИЕ

В биологическом материале всех изученных нами ксеногенных БП присутствовали как человеческие иммуноглобулины IgG, так и скопления лейкоцитов, составленные макрофагами и нейтрофилами. Характер клеточной инфильтрации БП (в частности, отсутствие в тканях клапанов лимфоцитов) свидетельствует о развитии неспецифического иммунного ответа, что согласуется с данными, полученными другими коллективами авторов [11–14]. Необходимо заметить, что несмотря на интенсивное отложение

антител реципиента в створках БП уже в первые часы функционирования клапанов, клеточная инвазия происходит значительно позже. Так, мы наблюдали лишь единичные моноциты/макрофаги на поверхности БП, удаленных в раннем послеоперационном периоде (через 1, 20 и 42 дня), тогда как крупные лейкоцитарные инфильтраты встречались в клапанах, функционировавших 3 года и более. Это наблюдение подразумевает, что опсонизация антителами химически фиксированного ксенобиоматериала может не являться ведущим триггером для миграции и адгезии иммунных клеток к имплантату.

Любопытным открытием, сделанным в ходе настоящего исследования, стало то, что осаждение им-

муноглобулинов человека в биологическом компоненте БП не уменьшается со временем: створки всех изученных клапанов демонстрировали интенсивное положительное окрашивание на человеческие антитела изотипа IgG независимо от сроков функционирования. Хотя данные предыдущих исследований указывают на постепенную элиминацию некоторых антигенов животных (например, α -Гал и N-ГНК) в БП, очевидно, ксенобиоматериал сохраняет высокую иммуногенность даже через 25 лет после протезирования [16, 21]. Вероятнее всего, стабилизированный диэпоксидными соединениями свиной и бычий коллаген, составляющий основу клапанного биоматериала, сам по себе выступает в роли антигена, провоцирующего антителный иммунный ответ. Кроме того, недавно в фиксированном глутаровым альдегидом бычьим перикарде идентифицировали 19 белков, к которым у реципиентов БП вырабатываются специфичные антитела [20]. Подавляющее большинство из этих белковых антигенов имеют субклеточную локализацию и, по-видимому, связаны с остаточными клетками донора [20]. Это свидетельствует о важности иммунногенной роли клеточного компонента биоматериала.

Механизмы, посредством которых отложение антител в тканях БП способно ускорять развитие СДК, не изучены, но значимость роли антителного иммунного ответа в процессе дегенерации искусственных клапанов продемонстрирована *in vivo*. Так, предварительная обработка антителами фрагментов стабилизированного глутаровым альдегидом биоматериала усиливала их кальцификацию в мышинной, крысиной и кроличьей моделях подкожной имплантации [16, 24–26].

Следует заметить, что настоящее исследование является первой работой, оценивающей изменение иммуногенности эпоксиобработанных ксеногенных БП со временем. Впрочем, это исследование имеет некоторые ограничения. Самое главное из них состоит в том, что нами не идентифицированы конкретные компоненты ксенобиоматериала, провоцирующие выработку антител и обуславливающие их связывание с тканями БП. Выявление таких антигенов в будущем, а также изучение их стабильности может существенно улучшить подходы к созданию иммунологически инертных имплантатов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты настоящего исследования показывают, что в эпоксиобработанных тканях ксеногенных БП уже с первого дня имплантации наблюдается интенсивное отложение человеческих иммуноглобулинов IgG. Способность связывать антитела эпоксиобработанный ксенобиоматериал сохраняет даже после 25 лет функционирования клапана в организме реципиента. Это указывает на сохранение его иммуногенных свойств, несмотря на ранее установленное

постепенное разрушение некоторых углеводных ксеноантигенов.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование проведено в соответствии с принципами Надлежащей клинической практики и Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации и одобрено локальным этическим комитетом НИИ КПССЗ (протокол № 19 от 06.11.2018 г.). Пациенты подписали письменное информированное согласие.

Работа подготовлена в рамках комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН по фундаментальной теме 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 персонифицированной фармакотерапии, внедрения малоинвазивных медицинских изделий, биоматериалов и тканеинженерных имплантатов».

Авторы заявляют об отсутствии

конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. 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.
2. Vahanian A, Beyersdorf F, Praz F, Milojevic M, Baldus S, Bauersachs J et al. 2021 ESC/EACTS Guidelines for the management of valvular heart disease. *Eur Heart J*. 2022; 43 (7): 561–632. doi: 10.1093/eurheartj/ehab395.
3. Барбараш 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. Bioprosthetic 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.
4. Velho TR, Pereira RM, Fernandes F, Guerra NC, Ferreira R, Nobre Á. Bioprosthetic aortic valve degeneration: a review from a basic science perspective. *Braz J Cardiovasc Surg*. 2022; 37 (2): 239–250. doi: 10.21470/1678-9741-2020-0635.
5. Wen S, Zhou Y, Yim WY, Wang S, Xu L, Shi J et al. Mechanisms and drug therapies of bioprosthetic heart valve calcification. *Front Pharmacol*. 2022; 13: 909801. doi: 10.3389/fphar.2022.909801.
6. Capodanno D, Petronio AS, Prendergast B, Eltchinnoff H, Vahanian A, Modine T et al. Standardized de-

- finitions of structural deterioration and valve failure in assessing long-term durability of transcatheter and surgical aortic bioprosthetic valves: a consensus statement from the European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI) endorsed by the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *Eur Heart J*. 2017; 38 (45): 3382–3390. doi: 10.1093/eurheartj/ehx303.
7. Dvir D, Bourguignon T, Otto CM, Hahn RT, Rosenhek R, Webb JG et al. Standardized definition of structural valve degeneration for surgical and transcatheter bioprosthetic aortic valves. *Circulation*. 2018; 137 (4): 388–399. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030729.
 8. Pibarot P, Dumesnil JG. Prosthetic heart valves: selection of the optimal prosthesis and long-term management. *Circulation*. 2009; 119 (7): 1034–1048. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.778886.
 9. Cote N, Pibarot P, Clavel MA. Incidence, risk factors, clinical impact, and management of bioprosthesis structural valve degeneration. *Curr Opin Cardiol*. 2017; 32 (2): 123–129. doi: 10.1097/HCO.0000000000000372.
 10. Kostyunin AE, Yuzhalin AE, Rezvova MA, Ovcharenko EA, Glushkova TV, Kutikhin AG. Degeneration of bioprosthetic heart valves: update 2020. *J Am Heart Assoc*. 2020; 9 (19): e018506. doi: 10.1161/JAHA.120.018506.
 11. Мухамадияров РА, Рутковская НВ, Сидорова ОД, Барбараш 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 bioprosthetic heart valves. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (6): 662–668. (In Russ.). doi: 10.15690/vramn560.
 12. Shetty R, Pibarot P, Audet A, Janvier R, Dagenais F, Perron J et al. Lipid-mediated inflammation and degeneration of bioprosthetic heart valves. *Eur J Clin Invest*. 2009; 39 (6): 471–480. doi: 10.1111/j.1365-2362.2009.02132.x.
 13. Sakaue T, Koyama T, Nakamura Y, Okamoto K, Kawashima T, Umeno T et al. Bioprosthetic 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.
 14. Nair V, Law KB, Li AY, Phillips KR, David TE, Butany J. Characterizing the inflammatory reaction in explanted Medtronic Freestyle stentless porcine aortic bioprosthesis over a 6-year period. *Cardiovasc Pathol*. 2012; 21 (3): 158–168. doi: 10.1016/j.carpath.2011.05.003.
 15. Manji RA, Hara H, Cooper DK. Characterization of the cellular infiltrate in bioprosthetic heart valves explanted from patients with structural valve deterioration. *Xenotransplantation*. 2015; 22 (5): 406–407. doi: 10.1111/xen.12187.
 16. Senage T, Paul A, Le Tourneau T, Fellah-Hebia I, Vadori M, Bashir S et al. The role of antibody responses against glycans in bioprosthetic heart valve calcification and deterioration. *Nat Med*. 2022; 28 (2): 283–294. doi: 10.1038/s41591-022-01682-w.
 17. Siddiqui RF, Abraham JR, Butany J. Bioprosthetic heart valves: modes of failure. *Histopathology*. 2009; 55 (2): 135–144. doi: 10.1111/j.1365-2559.2008.03190.x.
 18. Rosales C. Fcγ receptor heterogeneity in leukocyte functional responses. *Front Immunol*. 2017; 8: 280. doi: 10.3389/fimmu.2017.00280.
 19. Böer U, Schridde A, Anssar M, Klingenberg M, Sarikouch S, Dellmann A et al. The immune response to crosslinked tissue is reduced in decellularized xenogeneic and absent in decellularized allogeneic heart valves. *Int J Artif Organs*. 2015; 38 (4): 199–209. doi: 10.5301/ijao.5000395.
 20. Gates KV, Xing Q, Griffiths LG. Immunoproteomic identification of noncarbohydrate antigens eliciting graft-specific adaptive immune responses in patients with bovine pericardial bioprosthetic heart valves. *Proteomics Clin Appl*. 2019; 13 (4): e1800129. doi: 10.1002/prea.201800129.
 21. Костюнин АЕ, Глушкова ТВ, Резцова МА, Клышников КЮ, Онищенко ПС, Овчаренко ЕА. N-гликолилнейраминовая кислота как возможный триггер иммунного отторжения эпоксиобработанных ксеноперикардальных биопротезов клапанов сердца. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2023; 12 (3): 173–180. Kostyunin AE, Glushkova TV, Rezvova MA, Klyshnikov KYu, Onishchenko PS, Ovcharenko EA. N-glycolylneuraminic acid as a possible trigger for immune rejection of epoxy-treated xenopericardial heart valve bioprostheses. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2023; 12 (3): 173–180. (In Russ.). doi: 10.17802/2306-1278-2023-12-3-173-180.
 22. Bankhead P, Loughrey MB, Fernández JA, Dombrowski Y, McArt DG, Dunne PD et al. QuPath: Open source software for digital pathology image analysis. *Sci Rep*. 2017; 7 (1): 16878. doi: 10.1038/s41598-017-17204-5.
 23. Mukhamadiyarov RA, Bogdanov LA, Glushkova TV, Shishkova DK, Kostyunin AE, Koshelev VA et al. Embedding and backscattered scanning electron microscopy: a detailed protocol for the whole-specimen, high-resolution analysis of cardiovascular tissues. *Front Cardiovasc Med*. 2021; 8: 739549. doi: 10.3389/fcvm.2021.739549.
 24. Human P, Zilla P. Characterization of the immune response to valve bioprostheses and its role in primary tissue failure. *Ann Thorac Surg*. 2001; 71 (5 Suppl): S385–S388. doi: 10.1016/s0003-4975(01)02492-4.
 25. Lila N, McGregor CG, Carpentier S, Rancic J, Byrne GW, Carpentier A. Gal knockout pig pericardium: new source of material for heart valve bioprostheses. *J Heart Lung Transplant*. 2010; 29 (5): 538–543. doi: 10.1016/j.healun.2009.10.007.
 26. McGregor CG, Carpentier A, Lila N, Logan JS, Byrne GW. Cardiac xenotransplantation technology provides materials for improved bioprosthetic heart valves. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2011; 141 (1): 269–275. doi: 10.1016/j.jtcvs.2010.08.064.

Статья поступила в редакцию 14.07.2025 г.
The article was submitted to the journal on 14.07.2025