

Современный взгляд на кальцификацию ксенобиопротезов клапанов сердца и стратегии их антикальцификационной защиты

А.Е. Костюнин✉, Т.В. Глушкова, А.Н. Стасев, Е.А. Овчаренко
ФГБНУ «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний»,
650002, Россия, Кемерово, Сосновый б-р, д. 6

✉ Автор, ответственный за переписку: Александр Евгеньевич Костюнин, канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, rhabdophis_tigrina@mail.ru

Аннотация

Цель. Цель настоящего обзора состоит в анализе публикаций, посвященных исследованиям патофизиологических механизмов кальцификации ксеногенных биопротезов клапанов сердца, а также в обосновании новых перспективных методов антикальцификационной защиты этих медицинских изделий.

Материал и методы. Анализируемые статьи представлены в базах данных и электронных библиотеках PubMed, Google Scholar и eLibrary. Поиск запросов основан на сочетаниях слов "bioprosthetic heart valves", "structural valve degeneration", "calcification", "cyclic loading", "inflammation", "proteolysis", "proteolytic enzymes", "decellularization", "anticalcium treatment". Также поиск происходил с использованием списков литературы, приведенных в релевантных статьях. Предпочтение отдавали работам, опубликованным с января 2013 по январь 2023 года.

Результаты. Нами рассмотрены ключевые аспекты кальцификации ксенобиопротезов клапанов сердца и основные стратегии их антикальцификационной обработки. Показано, что за кальцификацией искусственных клапанов стоит сложный комплекс механизмов, который включает, но не ограничивается: 1) связыванием кальция в химически стабилизированном биоматериале свободными группами консерванта; 2) осаждением кальция на остаточных клетках донора и клеточном дебрисе; 3) возникновением прокальцифицирующих изменений в биоткани под действием протеолиза, механического и оксидативного стресса; 4) клеточно-опосредованной биоминерализацией. Несмотря на современные многоступенчатые подходы к консервации биологической ткани, включающие обработку химическими агентами, которые препятствуют осаждению кальция в ее структуре, решить проблему кальцификации ксенобиопротезов пока не удалось. Вероятно, причина неудачи заключается в гетерогенности патофизиологических механизмов кальцификации: разработанные на текущий момент методы антикальцификационной защиты не способны противостоять всем путям развития кальциноза искусственных клапанов.

Заключение. Кальцификация створчатого аппарата ксенобиопротезов клапанов сердца – это сложный многофакторный процесс и главная причина дисфункций рассматриваемых медицинских изделий. Потенциально инновационный подход с использованием гидрогелей полимеров в качестве наполнителя биоткани может полностью предотвратить ее кальцификацию.

Ключевые слова: биопротезы клапанов сердца, структурная дегенерация клапана, кальцификация, гидроксипапатит, остеогенные кальций-связывающие протеины, циклические нагрузки, иммунное отторжение

Конфликт интересов Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы ФГБНУ «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» № 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»

Для цитирования: Костюнин А.Е., Глушкова Т.В., Стасев А.Н., Овчаренко Е.А. Современный взгляд на кальцификацию ксенобиопротезов клапанов сердца и стратегии их антикальцификационной защиты. *Трансплантология*. 2023;15(4):515–528. <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2023-15-4-515-528>

Modern view on calcification of xenogenic bioprosthetic heart valves and their anti-calcification treatment strategies

A.E. Kostyunin✉, T.V. Glushkova, A.N. Stasev, E.A. Ovcharenko

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases,
6 Sosnovy Blvd., Kemerovo 650002 Russia

✉Corresponding author: Alexander E. Kostyunin, Cand. Sci. (Biol.), Researcher of the Laboratory of New Biomaterials, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, rhabdophis_tigrina@mail.ru

Abstract

Aim. The aim of this review was to analyze publications describing studies focusing on the pathophysiological mechanisms of calcification of bioprosthetic heart valves, and to substantiate new and promising methods of calcification prevention for the implantable medical devices.

Material and methods. Databases and electronic libraries such as PubMed, Google Scholar and eLibrary were used for searching relevant articles. Search queries included the following word combinations: “bioprosthetic heart valves”, “structural valve degeneration”, “calcification”, “cyclic loading”, “inflammation”, “proteolysis”, “proteolytic enzymes”, “decellularization”, “anticalcification treatment”. The references in relevant articles were used for the search as well. Preference was given to works published from January 2013 to January 2023.

Results. We have considered the key aspects of bioprosthetic heart valves calcification and the main strategies of calcification prevention. Calcification of bioprosthetic heart valves incorporates a complex set of mechanisms that includes, but is not limited to: 1) binding of calcium in chemically stabilized biomaterial by free groups of the preservative; 2) precipitation of calcium on residual donor cells and cell debris; 3) pro-calcifying changes in biological material due to proteolysis, mechanical and oxidative stress; 4) cell-mediated biomineralization. Despite modern advances in biopreservation, such as treatment with chemical agents that prevent the deposition of calcium, the problem of bioprosthetic heart valves calcification still prevails. The cause of it lies in the heterogeneity of the pathophysiological mechanisms behind the mineralization of biomaterial: the currently developed methods of calcification prevention cannot block all ways of bioprosthetic heart valves calcification.

Conclusion. Calcification of bioprosthetic heart valves leaflets is a complex process that underlies the main cause of dysfunction of the medical devices. Supposedly, a new innovative approach that involves polymer hydrogel filler in biomaterials can completely prevent its calcification.

Keywords: bioprosthetic heart valves, structural valve degeneration, calcification, hydroxyapatite, calcium-binding proteins, cyclic loading, immune rejection

CONFLICT OF INTERESTS

Authors declare no conflict of interest

FINANCING

This research was funded by the Complex Program of Basic Research under the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences within the Basic Research Topic No. 0419-2022-0001 of the Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases entitled "Molecular, cellular and biomechanical mechanisms of the pathogenesis of cardiovascular diseases in the development of new cardiovascular disease treatments based on personalized pharmacotherapy, the introduction of minimally invasive medical devices, biomaterials and tissue-engineered implants"

For citation: Kostyunin AE, Glushkova TV, Stasev AN, Ovcharenko EA. Modern view on calcification of xenogenic bioprosthetic heart valves and their anti-calcification treatment strategies. *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation*. 2023;15(4):515–528. (In Russ.). <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2023-15-4-515-528>

Введение

Золотым стандартом лечения тяжелых форм приобретенных пороков сердца является протезирование пораженных клапанов [1]. Как правило, для этого применяют ксеногенные биологические протезы, изготовленные из химически стабилизированных тканей животного происхождения (аортального комплекса свиньи, свиного или бычьего перикарда), а также механические заменители, выполненные из искусственных

материалов (сплавов металлов и пиролитического углерода) [2]. В настоящее время большинство хирургов и пациентов отдают предпочтение ксенобиопротезам, поскольку они выгодно отличаются от своих механических аналогов низкой тромбогенностью, позволяя избежать рисков пожизненной антикоагулянтной терапии [2]. Вместе с тем ксенобиопротезы недолговечны из-за склонности их биологического компонента к структурной дегенерации [3]. Более чем в половине случаев она проявляется кальцино-

зом створчатого аппарата, который приводит к ограничению подвижности створок, уменьшению эффективной площади открытия и гемодинамической обструкции клапана [3]. Согласно статистике, от 20 до 50% ксенобиопротезов требуют замены по причине развития дегенеративных изменений через 15 лет функционирования [2]. Ввиду значительных рисков, возникающих при репротезировании несостоятельных клапанов, долговечность последних резко ограничивает применимость биопротезирования у лиц моложе 65 лет, чья ожидаемая продолжительность жизни превышает средние сроки функционирования имплантатов [1].

Поскольку кальциноз является главным виновником дисфункций ксенобиопротезов, основные усилия их производителей и исследователей направлены на разработку методов, позволяющих снизить темпы кальцификации биоматериала. Так, в современное производство искусственных клапанов внедрены подходы, которые включают: 1) антикальцификационную обработку биоматериала химическими агентами, маскирующими отрицательно заряженные свободные группы консервантов и таким образом препятствующими осаждению кальция (см. ниже); 2) устранение первичных ядер зародышеобразования гидроксиапатитных кристаллов (остаточных тканевых липидов, погибших клеток донора и клеточного дебриса) посредством делипидизации и децеллюляризации ткани. Тем не менее, несмотря на определенные успехи в этой области, проблема кальцификации ксенобиопротезов все еще далека от окончательного решения. По-видимому, причина этого состоит в том, что вышеуказанные способы, позволяя исключить из процесса минерализации факторы биоматериала, не устраняют влияние на имплантаты про-кальцифицирующих факторов крови реципиента. Следовательно, неудачи на пути разработки устойчивых к кальцификации ксенобиопротезов закономерны: применяемые сегодня методы подавляют только часть механизмов, ответственных за развитие кальциноза.

Следует отметить, что за последние 20 лет взгляды на механизмы кальцификации ксенобиопротезов были серьезно пересмотрены. В частности, удалось выявить вовлеченность в этот процесс циркулирующих факторов реципиента, включающих ряд остеогенных кальций-связывающих белков и матрикс-деградирующих ферментов, а также клеток и молекулярных компонентов иммунной системы. И если ранее кальци-

фикация биологических заменителей клапанов представлялась исследователям как пассивный дегенеративно-дистрофический процесс, обусловленный неоптимальной химической стабилизацией биологической ткани и механическим стрессом, то сегодня ее все чаще рассматривают как явление, за которым стоит комплекс синергически действующих гетерогенных механизмов [4]. Понимание этой концепции в среде исследователей и производителей ксенобиопротезов очевидно является необходимым условием для разработки новых эффективных методов подавления клапанной кальцификации.

Настоящий обзор сконцентрирован на анализе актуальной информации о триггерах и патофизиологических механизмах кальцификации ксенобиопротезов. Также мы рассмотрели последние достижения в области разработки антикальцификационной защиты биоматериала, выделив наиболее перспективные направления в поиске окончательного решения проблемы кальциноза искусственных клапанов.

Стратегия поиска литературы

В этом обзоре проанализированы результаты релевантных статей, которые описывают патофизиологические механизмы кальцификации клинически используемых ксеногенных биопротезов клапанов сердца, стабилизированных глутаральдегидом или диглицидиловым эфиром этиленгликоля. Изученные работы представлены в базах данных и электронных библиотеках PubMed, Google Scholar и eLibrary. Поисковые запросы основаны на сочетаниях слов "bioprosthetic heart valves", "structural valve degeneration", "calcification", "cyclic loading", "inflammation", "proteolysis", "proteolytic enzymes", "decellularization", "anticalcium treatment" и их русскоязычных аналогов. Кроме того, поиск работ происходил с использованием списков литературы, приведенных в релевантных статьях. При анализе литературы предпочтение отдавали статьям, опубликованным с января 2013 по январь 2023 года. Также рассмотрены более ранние труды, являющиеся первоисточниками обсуждаемых концепций и содержащие важные исторические данные.

Факторы биоматериала в кальцификации ксенобиопротезов клапанов сердца

Биологическая составляющая ксенобиопротезов клапанов сердца представлена тканью животного происхождения, которая обработана специальными веществами-консервантами [5].

Консерванты стабилизируют коллагеновые волокна, повышая механическую прочность биоматериала и его устойчивость к ферментативной и окислительной деградации, а также способствуют частичному разрушению или экранированию иммунореактивных антигенов животных. Необходимость использования консервантов продиктована быстрой дегенерацией биоматериала в организме человека при отсутствии его химической фиксации. В частности, первые попытки протезирования клапанов сердца нестабилизированными ксенографтами аортального комплекса свиньи, выполненные командой хирургов под руководством Алена Карпентье в середине 60-х годов прошлого столетия, показали крайне неудовлетворительные результаты: у 40% трансплантатов развились дисфункции в течение 6 месяцев после имплантации и лишь около 30% из них продолжали нормально функционировать по истечении 3 лет [6]. Гистологический анализ иссеченных клапанов продемонстрировал, что основной причиной их дегенерации становилась иммунная реакция, сопровождающаяся распадом коллагеновой основы биоматериала и разрывами створок [6].

Создание полноценных коммерческих ксенобиопротезов стало возможным благодаря предложенному А. Карпентье методу консервации биоматериала глутаровым альдегидом [7]. Применение указанного химического агента для стабилизации ксеногенной биологической ткани позволило замедлить дегенерацию искусственных клапанов и значительно увеличить их долговечность [7]. Так, для первых ксенобиопротезов показатели свободы от структурной дегенерации через 5 лет функционирования составили 77% при имплантации в митральную позицию и 89% – в аортальную [7]. Впрочем, со временем стало понятно, что обработка ксенобиопротезов глутаральдегидом способствует развитию кальциноза створчатого аппарата [4]. Эта проблема сохраняется и при стабилизации биологической ткани диглицидиловым эфиром этиленгликоля, который был предложен в качестве альтернативы глутаральдегиду в середине 90-х годов как более резистентный к кальцификации вид консерванта [8].

Природа кальций-связывающей активности глутарового альдегида и диглицидилового эфира этиленгликоля основана на строении молекул этих веществ и ведущем механизме их взаимодействия с коллагеновыми волокнами. Принцип стабилизации биологической ткани рассматрива-

емыми консервантами заключается в формировании ковалентных связей между их молекулами и функциональными группами аминокислот, входящих в состав коллагена [5]. Молекулы глутарового альдегида и диглицидилового эфира этиленгликоля бифункциональны (то есть имеют два идентичных сайта связывания на противоположных концах углеродной цепочки), благодаря чему могут образовывать химические мостики между полипептидными цепочками коллагена, обеспечивая их химическую сшивку [5]. При этом часть молекул консерванта взаимодействуют с коллагеном только одним сайтом связывания, вследствие чего в химически стабилизированном биоматериале присутствуют свободные альдегидные или эпоксидные группы. Последние несут отрицательный заряд и улавливают катионы кальция из окружающей среды, способствуя дистрофической кальцификации. В частности, прямая зависимость между количеством свободных альдегидных групп и степенью кальцификации обработанного глутаральдегидом бычьего перикарда продемонстрирована в эксперименте *in vivo* на модели внутримышечной имплантации кроликам [9].

Нужно отметить, что помимо образования свободных групп консерванта химическая фиксация биоматериала провоцирует прокальцифицирующие изменения в его структуре. В частности, обработка вызывает потерю биологической тканью ассоциированных с коллагеном мукополисахаридов, которые связаны с коллагеновыми волокнами через так называемые зоны отверстий. Хорошо известно, что эти области являются главными центрами нуклеации и роста гидроксипатитных кристаллов вдоль коллагеновых волокон при физиологической минерализации костной ткани [10]. Логично предположить, что утрата мукополисахаридов и обнажение склонных к кальцификации участков может быть важным фактором формирования кальциевых депозитов в створках ксенобиопротезов. Следует добавить, что глутаровый альдегид и диглицидиловый эфир этиленгликоля не стабилизируют эластические волокна, в связи с чем они остаются уязвимыми для разрушающего действия циклических нагрузок, протеолитических и окислительных ферментов. Это предшествует и обуславливает эластин-ориентированную кальцификацию биоматериала [11].

Еще одним фактором, который играет роль в процессе кальцификации химически стабилизированной биологической ткани, является

ся наличие в ней остаточных клеток донора и клеточного дебриса. Результаты *in vitro* исследований показали, что при фиксации культуры интерстициальных клеток аортального клапана свиньи глутаровым альдегидом происходит их постепенная минерализация, сопровождающаяся истощением ионов кальция в культуральной среде [12]. С помощью электронной микроскопии визуализированы отложения кристаллов гидроксиапатита на внутренней поверхности плазматических мембран мертвых клеток и апоптотических телец [12]. Данные, полученные в модели подкожной имплантации крысам, подтвердили, что клетки донора выступают в качестве основных ядер зародышеобразования гидроксиапатита, тогда как стабилизированный матрикс служит субстратом для дальнейшего роста кальцификатов [13].

Механизм кальцификации фиксированных клеток, по-видимому, основан на притоке ионов кальция из окружающей среды в богатый фосфатами цитозоль после их гибели. Живые клетки поддерживают более низкие концентрации кальция в цитозоле по сравнению с внеклеточной жидкостью. Такая ионная асимметрия достигается благодаря системе активного транспорта, представленной кальций-зависимой АТФ-азой и натрий-кальциевым ионным обменником, осуществляющими перенос ионов кальция через плазмалемму из клетки в окружающую среду. Химическая обработка приводит к гибели клетки и прекращению деятельности ионных насосов, вследствие чего возникает поток ионов кальция, направленный в клетку по градиенту концентрации. Кроме того, происходит высвобождение кальция из его внутриклеточных депо.

Показано, что в обработанных глутаральдегидом фибробластах аортального клапана свиньи внутриклеточные концентрации кальция могут превышать таковые в живых клетках примерно в миллион раз [12]. Поскольку клеточные мембраны и иные внутриклеточные структуры богаты фосфатами, накапливающиеся в клетке ионы кальция начинают концентрироваться на их поверхности, формируя кальций-фосфатные комплексы. Таким образом, приток кальция в избыточную фосфатами цитозоль создает особую локализованную микросреду с высокими концентрациями кальций-фосфатных продуктов, достаточных для инициации осаждения гидроксиапатита.

Несмотря на существование методов дополнительной обработки биологической ткани, которые используются в производстве современных

моделей ксенобиопротезов и призваны нивелировать участие факторов биоматериала в кальцификации, последняя остается одной из главных причин дисфункций клапанных заменителей [14]. Также обращает на себя внимание связь между темпами кальцификации имплантатов и метаболическим или иммунным статусом реципиентов. В частности, прием кальция-содержащих препаратов или наличие заболеваний (например, гиперпаратиреоза и почечной недостаточности), сопровождающихся повышением уровней циркулирующих в крови кальций-фосфатных комплексов, ассоциированы с более быстрым прогрессированием кальциноза ксенобиопротезов [4]. Тенденция к ускоренной кальцификации заменителей клапанов характерна для молодых реципиентов по сравнению с более возрастными, что можно объяснить большей реактивностью их иммунной системы и более высокой интенсивностью метаболизма кальция [4]. Исходя из вышесказанного, следует заключить, что помимо факторов биоматериала значительный вклад в процесс кальцификации ксенобиопротезов вносят факторы реципиента.

Факторы реципиента и их вклад в кальцификацию ксенобиопротезов клапанов сердца

Влияние факторов реципиента на минерализацию искусственных клапанов сердца в настоящее время изучено довольно поверхностно, а многие выводы основаны на косвенных доказательствах. Тем не менее, опираясь на имеющиеся сведения, правомерно утверждать, что некоторые плазменные белки и клеточные элементы крови принимают непосредственное участие в формировании кальцификатов в створках ксенобиопротезов.

Еще в 80–90-х годах прошлого столетия было установлено, что в эксплантированных по причине кальциноза ксенобиопротезах содержатся протеины костного матрикса, такие как остеопонтин и остеокальцин, чего не наблюдается в некальцинированных клапанах [15–17]. Недавние иммуногистохимические исследования подтвердили полученные ранее результаты, кроме того в створках имплантатов были идентифицированы и другие регуляторы костного метаболизма, включая сиалопротеин кости и щелочную фосфатазу [18]. Источниками белков оказались популяции остеобластоподобных клеток, хотя продемонстрированный авторами диффузный характер окрашивания образцов антителами к

остеопонтину, остеокальцину и сиалопротеину кости указывает на имбибицию этих веществ в ткань клапанов из плазмы крови реципиентов [18].

Белки костного матрикса обладают высокой кальций-связывающей активностью [19]. Будучи иммобилизованными на поверхности коллагеновых волокон, они могут инициировать зарождение кристаллов гидроксиапатита в створках ксенобиопротезов подобно тому, как это происходит при формировании костной ткани [19]. Более того, эти протеины выступают в качестве сигнальных молекул, активирующих проостеогенные изменения в гладкомышечных клетках и фибробластах [20]. До сих пор не проводили исследований *in vitro*, нацеленных на проверку гипотезы об участии белков костного матрикса в минерализации искусственных клапанов. Тем не менее совпадение паттернов экспрессии таких белков в эксплантированных ксенобиопротезах с кальцинированными участками биоматериала, а также выявление прямой корреляционной зависимости между их концентрационными уровнями в ткани и степенью ее кальцификации дает основание предполагать правильность озвученной гипотезы [15–18].

Помимо белков костного матрикса в процессе минерализации ксенобиопротезов могут быть вовлечены различные протеазы. Многочисленные исследования демонстрируют, что в створчатом аппарате иссеченных клапанов присутствуют плотные клеточные инфильтраты, состоящие из макрофагов, гигантских многоядерных клеток, нейтрофилов, Т- и В-лимфоцитов [21–24]. Иммунные клетки являются источником широкого спектра матрикс-деградирующих ферментов, в том числе агрессивных коллагеназ и эластаз из группы цистеиновых катепсинов и матриксных металлопротеиназ [21]. Кроме того, некоторые протеолитические ферменты (например, желатиназа В) обильно поступают в протезный биоматериал из омывающей его крови [21]. Хотя механизм взаимодействия ферментов с биологической тканью сам по себе не подразумевает формирования кальциевых депозитов, протеолитическое расщепление волокон внеклеточного матрикса ответственно за прокальцифицирующие изменения в его структуре.

Протеолитическая деградация коллагеновых и эластиновых волокон способствует обнажению уязвимых к кальцификации участков и ускорению минерализации, что демонстрируют данные исследований, проведенных *in vitro* и *in*

vivo [25, 26]. Видимо, этот процесс может быть интенсифицирован в среде, богатой окислительными ферментами и реактивными формами кислорода, также создаваемой инфильтрирующими имплантаты иммунными клетками.

Стоит отметить, что помимо продукции остеогенных кальций-связывающих белков, матрикс-деградирующих ферментов и кислородных радикалов, клетки реципиента принимают участие в формировании кальциевых депозитов, подвергаясь минерализации после апоптоза [23]. Подтверждают это результаты электронно-микроскопических исследований створок ксенобиопротезов, которые демонстрируют присутствие кристаллических структур на поверхностных мембранах апоптирующих макрофагов, что предполагает их вовлеченность в процессы зарождения и роста гидроксиапатитных кристаллов [27].

Наконец, в качестве ядер зародышеобразования гидроксиапатита могут выступать отложения липидов крови, аккумулируемые в створчатом аппарате протезов при их функционировании [28].

Механический стресс как интенсификатор кальцификации ксенобиопротезов

Естественные клапаны сердца и их заменители функционируют в крайне агрессивной механической среде. Каждый клапан в течение года открывается и закрывается около 40 миллионов раз, тогда как за всю жизнь клапаны проходят через 3 миллиарда циклов [29]. В ходе сердечного цикла на створчатый аппарат действуют переменные механические нагрузки, вызванные пристеночным напряжением сдвига при открытом положении клапана, изгибными деформациями ткани, возникающими во время его открытия и закрытия, а также натяжением створок под действием обратного давления крови при их запертом положении [30].

Общепризнано, что испытываемый створками ксенобиопротезов механический стресс вносит значительный вклад в интенсификацию процесса их обызвествления. *In vivo* кальциевые депозиты в тканях ксенобиопротезов формируются преимущественно на участках, которые подвержены наибольшему механическому нагружению [31, 32]. Результаты *in vitro* тестирования показывают, что при инкубации в кальцинирующем растворе и воздействии циклических нагрузок минерализация пластинок бычьего перикарда начинается в местах изгиба [33]. На тесную связь между меха-

ническим стрессом и кальцификацией указывают также клинические наблюдения. В частности, более быстрые темпы кальцификации отмечают у пациентов с гипертонией и лиц, получивших ксенобиопротезы малого диаметра, эффективная площадь отверстия которых недостаточно велика по отношению к площади поверхности тела (так называемое пациент-протезное несоответствие) [34]. Также значимость механического стресса в минерализации искусственных клапанов демонстрируют данные, полученные при изучении пар идентичных ксеноаортальных биопротезов, которые включены в конструкцию прибора HeartMate XVE (Thoratec Corporation, США), используемого для поддержки работы левого желудочка сердца [35]. Было показано, что впускные ксенобиопротезы, испытывающие большее давление закрытия по сравнению с выпускными, кальцинировались чаще и имели большую площадь кальцификации [35].

Механизм интенсификации осаждения гидроксипатита в створках ксенобиопротезов при воздействии механического стресса основан на накоплении усталостных повреждений в структуре волокнистой матрицы биоматериала. Показано, что повреждения коллагеновых волокон на молекулярном уровне в обработанных глутаральдегидом образцах перикарда быка возникают уже после 20 миллионов циклов, что эквивалентно всего 6 месяцам работы клапана *in vivo* [36]. Поскольку биологическая ткань ксенобиопротезов не способна к регенерации, возникающие из-за циклических нагрузок дегенеративные изменения в коллагеновой сети являются необратимыми. При этом нарушение структурной целостности материала облегчает диффузию ионов кальция по пустотам и микротрещинам в его толщу, а также способствует формированию гидроксипатитных кристаллов на поврежденных участках коллагеновых и эластических волокон [4]. Аналогичным образом усталостное повреждение и расслоение волокнистой матрицы створок упрощает проникновение в них моноцитов и других клеточных элементов крови. Примечательно, что в соответствии с микроскопическими исследованиями клеточные инфильтраты располагаются преимущественно на участках с дезорганизованным и фрагментированным матриксом [21–24]. Следует добавить и то, что циклические нагрузки провоцируют потерю химических сшивок стабилизированной биологической тканью, постепенно снижая ее устойчивость к протеолитической деградаци [37].

Важно отметить, что кальцификация створчатого аппарата и связанное с этим стенозирование клапана ведут к повышению испытываемого им механического стресса. Изначально ксенобиопротез обеспечивает физиологичный поток крови, но по мере развития кальциноза происходит увеличение транспротезного градиента и многократное возрастание скорости струи. Высокая линейная скорость кровотока обуславливает чрезмерный рост воздействующего на створчатый аппарат напряжения сдвига. Так, формируется замкнутый цикл дегенерации: повышение жесткости и толщины створок из-за прогрессирующего кальциноза приводит к постепенному снижению их подвижности и формированию клапанного стеноза, вызывая все большее отклонение гидродинамических показателей транспротезного потока от нормальных значений; это в свою очередь способствует дополнительному повреждению биоматериала и ускорению кальцификации.

Профилактика кальцификации ксенобиопротезов: в поисках новых решений

Поиски решения проблемы кальцификации биологического компонента ксеногенных биопротезов клапанов сердца осуществляются исследователями в нескольких направлениях в соответствии с теоретическими представлениями о причинах и механизмах, стоящих за этим явлением. В целом, можно выделить пять основных стратегий: 1) поиск новых устойчивых к кальцификации консервантов; 2) нейтрализация свободных альдегидных и эпоксидных групп для снижения кальций-связывающего потенциала биологического материала, фиксированного стандартными консервантами; 3) удаление из структуры ткани первичных центров нуклеации гидроксипатита; 4) изготовление искусственных клапанов из низкоиммуногенных тканей генно-модифицированных животных; 5) создание композитов посредством комбинирования биологической ткани с полимерными гидрогелями.

Еще в 1987 году группой исследователей под руководством Гершона Голомба, которые изучали влияние глутаральдегидной обработки на процесс кальцификации биологических тканей, было сделано заключение, что полностью подавить минерализацию ксенобиопротезов возможно только путем замены консерванта [38]. За прошедший с этого времени период выявлен ряд альтернативных стабилизаторов, менее предрасположенных к связыванию ионов кальция по сравнению с глутаральдегидом. В их число входят

вещества растительного (генипин и дубильная кислота) и бактериального (реутерин) происхождения, метакриловый ангидрид и карбодиимиды [39–43]. Впрочем, несмотря на многообещающие результаты доклинических испытаний, основанные на применении этих соединений, методы консервации биоматериала не вышли на этап клинических исследований. Вероятно, низкий интерес к дальнейшему тестированию таких консервантов обусловлен сомнениями производителей ксенобиопротезов в их надежности ввиду слабой изученности как в фундаментальном, так и прикладном аспектах. Кроме того, стабилизация биоматериала с использованием указанных агентов сложно реализуема в условиях серийного производства и чрезвычайно затратна, что поднимает вопросы ее экономической целесообразности. Среди подходов, альтернативных глутаральдегидной стабилизации, в производство клапанных заменителей внедрен лишь метод эпоксидной консервации, основанный на применении диглицидилового эфира этиленгликоля. Эпоксидобработанный биоматериал считается более устойчивым к кальцификации, а изготовленные из него ксенобиопротезы показывают удовлетворительную долговечность даже у молодых пациентов [44–46]. Тем не менее фиксированные диглицидиловым эфиром этиленгликоля клапаны не получили широкого распространения и в настоящее время коммерчески доступны только в Российской Федерации [8].

Преимущества глутарового альдегида и диглицидилового эфира этиленгликоля перед другими консервантами (высокая скорость химического взаимодействия, надежность сшивки, растворимость в воде, а также дешевизна) подтолкнули исследователей и производителей ксенобиопротезов к поиску компромиссного решения. При этом большинство работ было посвящено методам деактивации альдегидных и эпоксидных групп, в значительной степени ответственных за дистрофическую кальцификацию. Так, к настоящему времени разработано несколько способов дополнительной обработки стабилизированной биологической ткани различными аминопроизводными, такими как аминодифосфонаты и 2-амино-олиевая кислота, которые используются при производстве коммерческих биопротезов [47]. Они позволили сдвинуть сроки развития кальциноза современных ксенобиопротезов по сравнению с более ранними моделями на 5–7 лет, хотя окончательно проблему кальцификации не решили.

Помимо химической деактивации свободных групп консервантов для снижения темпов кальцификации биологических заменителей клапанов в последние годы активно исследуют возможности децеллюляризации. Принцип этого метода основан на разрушении и последующем вымывании остаточных клеток донора посредством физического и химического воздействия [48]. Децеллюляризация позволяет устранить часть содержащихся в ткани ядер зародышеобразования гидроксиапатита (мертвых клеток донора и их фрагментов), а также снизить ее иммуногенность благодаря удалению ксеногликанов, связанных с клеточными мембранами. *In vivo* исследования на модели ортотопической имплантации ксенобиопротезов в митральную и легочную позиции овцам продемонстрировали меньшую склонность децеллюляризованных клапанов к кальцификации по сравнению с недецеллюляризованными [49, 50], но в коммерческом производстве этот подход получил ограниченное распространение. По-видимому, причина этого заключается в отсутствии оптимальных протоколов, которые позволяют не только удалить клетки донора из биологической ткани, но и сохранить ее исходную структуру без потери прочностных свойств.

В связи с ростом популярности гипотезы участия клеточных и молекулярных агентов иммунной системы в кальцификации ксенобиопротезов исследователями начаты разработки иммунологически инертных имплантатов. Известно, что стабилизации биологической ткани глутаральдегидом или диглицидиловым эфиром этиленгликоля, а также децеллюляризации недостаточно для полного устранения ее иммуногенности [51]. Ассоциированные с клетками донора и внеклеточным матриксом антигены животных, такие как галактоза-альфа-1,3-галактоза и N-гликолилнейраминаовая кислота, остаются в структуре химически измененной ткани, способствуя развитию гуморального и клеточного иммунного ответа на имплантаты [51]. Одним из решений описанной проблемы является выведение генно-модифицированных свиней и быков, которые не экспрессируют наиболее иммунореактивные ксеноантигены и могут выступать в качестве доноров низкоиммуногенного биоматериала [52].

Опираясь на современные представления о структурной дегенерации клапанов, можно предположить, что использование в производстве ксенобиопротезов тканей генетически модифи-

цированных животных будет способствовать увеличению их долговечности благодаря снижению эффекта связывания антител и уменьшению клеточной инфильтрации. Хотя эта гипотеза остается клинически не проверенной, косвенно ее правильность подтверждают данные ряда *in vitro* и *in vivo* исследований. В частности, клапаны и перикард свиней, нокаутных по галактоза-альфа-1,3-галактозе и N-гликолилнейраминовой кислоте, не связывают антитела человеческой сыворотки в отличие от тканей свиней дикого типа [53, 54]. У павианов, которым имплантировали биопротезы, изготовленные из клапанов генетически модифицированных свиней, не развился специфичный гуморальный ответ в отличие от обезьян в группе сравнения, получивших стандартные ксенобиопротезы [55]. Наконец, ферментативное удаление галактоза-альфа-1,3-галактозы из структуры бычьего перикарда способствовало двукратному снижению уровня его кальцификации по сравнению с неизмененным перикардом при подкожной имплантации мышам, дефицитным по указанному сахариду [56]. Важно отметить, что износостойкость биопротезов, изготовленных с применением тканей генетически модифицированных свиней, сопоставима с таковой современных коммерческих моделей, на что указывают испытания *in vitro* в течение 200 миллионов циклов и результаты имплантации в митральную позицию овцам на 90 дней [57, 58].

Необходимо заметить, что вышеперечисленные стратегии, позволяя снизить пассивное осаждение гидроксиапатита в биологическом материале и воспалительный клеточный ответ, не препятствуют имбибии в биоткань различных прокальцинирующих агентов из крови реципиента. Потенциально эту задачу может решить недавно предложенный инновационный подход, основанный на формировании композитных материалов посредством комбинирования биологической ткани с полимерными гидрогелями [59, 60]. Сущность этого метода сводится к заполнению коллагеновой матрицы ткани биостабильным и биосовместимым полимерным гидрогелем (например, на основе полиэтиленгликоля диакрилата или поливинилового спирта). Последний создает физическую преграду для проникающих в толщу биоматериала клеточных элементов крови и циркулирующих в плазме веществ, включая ионизированный кальций. Исследование *in vivo* бычьего перикарда, модифицированного полиэтиленгликоля диакрилатом, в модели подкожной имплантации крысам продемонстрировало трехкратное

снижение содержания кальция в тестируемых образцах по сравнению с контрольными [59]. Аналогичным образом фрагменты эпоксиобработанного ксеноперикарда, дополнительно модифицированного криоструктурированным поливиниловым спиртом, по сравнению с образцами в группе контроля содержали в 5 и 3 раза меньше кальция после инкубации в насыщенном кальцием растворе в течение 3 и 6 недель соответственно [60].

Заключение

Настоящий обзор предоставляет доказательства в пользу утверждения о том, что кальцификация ксеногенных биологических протезов клапанов сердца является сложным многофакторным процессом, реализующимся через несколько гетерогенных синергически действующих механизмов как пассивных, дегенеративно-дистрофических, так активных, иммунологически опосредованных. Достигнутые к настоящему времени успехи, связанные со значительным увеличением сроков службы современных ксенобиопротезов по сравнению с более ранними моделями, обусловлены совершенствованием дизайна конструкции клапанов и подходов к антикальцификационной обработке их биологического компонента. Последние нацелены преимущественно на деактивацию свободных химических групп консервантов, а также устранение первичных ядер зародышеобразования гидроксиапатитных кристаллов, но при этом они не влияют на иммунологические пути развития кальцификации. Многие исследователи высказывают мнение о том, что возможности данных подходов для решения проблемы кальциноза практически исчерпаны.

Среди недавно предложенных стратегий в разработке антикальцификационной защиты ксенобиопротезов пристального внимания заслуживает модификация биологической ткани гидрогелями полимеров. Потенциально этот подход может устранить влияние на биоткань всех прокальцифицирующих факторов реципиента (ионизированного кальция, растворенных в плазме остеогенных белков, протеаз и других веществ, а также клеточных элементов крови), предотвращая кальцификацию. Тем не менее в настоящее время нет данных о циклостойкости подобных композитных материалов и поэтому пока неизвестно, сохраняют ли гидрогели свои изолирующие свойства при воздействии циклических нагрузок.

Основываясь на вышесказанном, можно заключить, что метод заполнения внутренней структуры биоматериала гелями полимеров является наиболее перспективным направлением

будущих исследований, поскольку в отличие от прочих подходов он потенциально способен устранить действие всех механизмов развития кальциноза.

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. PMID: 33332149 <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000923>
2. Pibarot P, Dumesnil JG. Prosthetic heart valves: selection of the optimal prosthesis and long-term management. *Circulation*. 2009;119(7):1034–1048. PMID: 19237674 <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.108.778886>
3. Marro M, Kossar AP, Xue Y, Frasca A, Levy RJ, Ferrari G. Noncalcific mechanisms of bioprosthetic structural valve degeneration. *J Am Heart Assoc*. 2021;10(3):e018921. PMID: 33494616 <https://doi.org/10.1161/JAHA.120.018921>
4. Барбараш Л.С., Рогулина Н.В., Рутковская Н.В., Овчаренко Е.А. Механизмы развития дисфункций биологических протезов клапанов сердца. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2018;7(2):10–24. Barbarash LS, Rogulina NV, Rutkovskaya NV, Ovcharenko EA. Mechanisms underlying bioprosthetic heart valve dysfunctions. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2018;7(2):10–24. (In Russ.). <https://doi.org/10.17802/2306-1278-2018-7-2-10-24>
5. Резцова М.А., Кудрявцева Ю.А. Современные подходы к химической модификации белков в биологических тканях, последствия и применение. *Биоорганическая химия*. 2017;44(1):1–16. Rezvova MA, Kudryavceva YuA. Modern approaches to protein chemical modification in biological tissue, consequences and application. *Bioorganicheskaya khimiia*. 2017;44(1):1–16. (In Russ.). <https://doi.org/10.7868/S0132342318010025>
6. Carpentier A, Lemaigre G, Robert L, Carpentier S, Dubost C. Biological factors affecting long-term results of valvular heterografts. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1969;58(4):467–483. PMID: 5344189 [https://doi.org/10.1016/S0022-5223\(19\)42561-0](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(19)42561-0)
7. Carpentier A, Deloche A, Relland J, Fabiani JN, Forman J, Camilleri JP, et al. Six-year follow-up of glutaraldehyde-preserved heterografts. With particular reference to the treatment of congenital valve malformations. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1974;68(5):771–782. PMID: 4214526 [https://doi.org/10.1016/S0022-5223\(19\)41639-5](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(19)41639-5)
8. Барбараш Л.С., Журавлева И.Ю. Эволюция биопротезов клапанов сердца: достижения и проблемы двух десятилетий. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2012;1(4):4–11. Barbarash LS, Zhuravleva IYu. Bioprosthetic heart valve evolution: two decades of advances and challenges. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2012;1(4):4–11. (In Russ.). <https://doi.org/10.17802/2306-1278-2012-1-4-11>
9. Tod TJ, Dove JS. The association of bound aldehyde content with bioprosthetic tissue calcification. *J Mater Sci Mater Med*. 2016;27(1):8. PMID: 26610931 <https://doi.org/10.1007/s10856-015-5623-z>
10. Дедух Н.В. Организация и функционирование костной ткани. В кн: Корж Н.А., Поворознюк В.В., Дедух Н.В., Зупанц И.А. (ред.) *Остеопороз: эпидемиология, клиника, диагностика, профилактика и лечение*. Харьков: Золотые страницы; 2002. с. 10–29. Dedukh NV. Organization and functioning of bone tissue. In: Korzh NA, Povoroznyuk VV, Dedukh NV, Zupants IA. (eds.) *Osteoporosis: epidemiology, clinic, diagnosis, prevention and treatment*. Kharkiv: Golden Pages Publ.; 2002. p. 10–29. (In Russ.).
11. Bailey MT, Pillarisetti S, Xiao H, Vyavahare NR. Role of elastin in pathologic calcification of xenograft heart valves. *J Biomed Mater Res A*. 2003;66(1):93–102. PMID: 12833435 <https://doi.org/10.1002/jbma.10543>
12. Kim KM, Herrera GA, Battarbee HD. Role of glutaraldehyde in calcification of porcine aortic valve fibroblasts. *Am J Pathol*. 1999;154(3):843–852. PMID: 10543435

- 10079262 [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65331-X](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65331-X)
13. Kim KM. Cells, rather than extracellular matrix, nucleate apatite in glutaraldehyde-treated vascular tissue. *J Biomed Mater Res.* 2002;59(4):639–645. PMID: 11774325 <https://doi.org/10.1002/jbm.10038>
 14. Барбараш Л.С., Караськов А.М., Семеновский М.Л., Журавлева И.Ю., Одаренко Ю.Н., Вавилов П.А. и др. Биопротезы клапанов сердца в России: опыт трех клиник. *Патология кровообращения и кардиохирургия.* 2011;2:21–26. Barbarash LS, Karas-kov AM, Semenovskiy ML, Zhuravleva IYu, Odarenko YuN, Vavilov PA, et al. Bioprosthetic heart valves in Russia: the experience of three clinics. *Circulatory pathology and cardiac surgery.* 2011;2:21–26. (In Russ.).
 15. Levy RJ, Zenker JA, Bernhard WF. Porcine bioprosthetic valve calcification in bovine left ventricle-aorta shunts: studies of the deposition of vitamin K-dependent proteins. *Ann Thorac Surg.* 1983;36(2):187–192. PMID: 6603825 [https://doi.org/10.1016/s0003-4975\(10\)60454-7](https://doi.org/10.1016/s0003-4975(10)60454-7)
 16. Shen M, Marie P, Farge D, Carpentier S, De Pollak C, Hott M, et al. Osteopontin is associated with bioprosthetic heart valve calcification in humans. *C R Acad Sci III.* 1997;320(1):49–57. PMID: 9099263 [https://doi.org/10.1016/s0764-4469\(99\)80086-9](https://doi.org/10.1016/s0764-4469(99)80086-9)
 17. Srivatsa SS, Harrity PJ, Maercklein PB, Kleppe L, Veinot J, Edwards WD, et al. Increased cellular expression of matrix proteins that regulate mineralization is associated with calcification of native human and porcine xenograft bioprosthetic heart valves. *J Clin Invest.* 1997;99(5):996–1009. PMID: 9062358 <https://doi.org/10.1172/JCI119265>
 18. Lu F, Wu H, Bai Y, Gong D, Xia C, Li Q, et al. Evidence of osteogenic regulation in calcific porcine aortic valves. *Heart Surg Forum.* 2018;21(5):E375–E381. PMID: 30311888 <https://doi.org/10.1532/hsf.2033>
 19. Fujisawa R, Tamura M. Acidic bone matrix proteins and their roles in calcification. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2012;17(5):1891–1903. PMID: 22201843 <https://doi.org/10.2741/4026>
 20. Carvalho MS, Cabral JMS, da Silva CL, Vashishth D. Bone matrix non-collagenous proteins in tissue engineering: creating new bone by mimicking the extracellular matrix. *Polymers (Basel).* 2021;13(7):1095. PMID: 33808184 <https://doi.org/10.3390/polym13071095>
 21. Kostyunin AE, Glushkova TV, Lobov AA, Ovcharenko EA, Zainulina BR, Bogdanov LA, et al. Proteolytic degradation is a major contributor to bioprosthetic heart valve failure. *J Am Heart Assoc.* 2023;12(1):e028215. PMID: 36565196 <https://doi.org/10.1161/JAHA.122.028215>
 22. Мухамадияров Р.А., Рутковская Н.В., Кокорин С.Г., Одаренко Ю.Н., Мильто И.В., Барбараш Л.С. Типирование клеток биопротезов клапанов сердца, эксплантационных вследствие развития кальций-ассоциированных дисфункций. *Бюллетень сибирской медицины.* 2018;17(4):94–102. Mukhamadiyarov RA, Rutkovskaya NV, Kokorin SG, Odarenko YuN, Milto IV, Barbarash LS. Cell typing of biological heart valves prosthesis explanted due to the development of calcium-associated dysfunctions. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2018;17(4):94–102. (In Russ.). <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-4-94-102>
 23. Sakaue T, Nakaoka H, Shikata F, Aono J, Kurata M, Uetani, T, et al. Biochemical and histological evidence of deteriorated bioprosthetic valve leaflets: the accumulation of fibrinogen and plasminogen. *Biol Open.* 2018;7(8):pii:bio034009. PMID: 30089611 <https://doi.org/10.1242/bio.034009>
 24. 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. PMID: 19490057 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2009.02132.x>
 25. Andrault PM, Panwar P, Mackenzie NCW, Brömme D. Elastolytic activity of cysteine cathepsins K, S, and V promotes vascular calcification. *Sci Rep.* 2019;9(1):9682. PMID: 31273243 <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45918-1>
 26. Vyavahare N, Jones PL, Tallapragada S, Levy RJ. Inhibition of matrix metalloproteinase activity attenuates tenascin-C production and calcification of implanted purified elastin in rats. *Am J Pathol.* 2000;157(3):885–893. PMID: 10980128 [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)64602-0](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)64602-0)
 27. Stein PD, Wang CH, Riddle JM, Magilligan DJ Jr. Leukocytes, platelets, and surface microstructure of spontaneously degenerated porcine bioprosthetic valves. *J Card Surg.* 1988;3(3):253–261. PMID: 2980025 <https://doi.org/10.1111/j.1540-8191.1988.tb00246.x>
 28. Butany J, Collins MJ, Nair V, Leask RL, Scully HE, Williams WG, et al. Morphological findings in explanted Toronto stentless porcine valves. *Cardiovasc Pathol.* 2006;15(1):41–48. PMID: 16414456 <https://doi.org/10.1016/j.carpath.2005.08.010>
 29. Курапеев Д.И., Лаврешин А.В., Анисимов С.В. Тканевая инженерия клапанов сердца: децеллюляризация алло- и ксенографтов. *Клеточная имплантология и тканевая инженерия.* 2012;7(1):34–39. Kurapeev DI, Lavreshin AV, Anisimov SV. Heart valve tissue engineering: decellularization of allo- and xenografts. *Cellular Transplantation and Tissue Engineering.* 2012;7(1):34–39. (In Russ.).
 30. Soares JS, Feaver KR, Zhang W, Kamensky D, Aggarwal A, Sacks MS. Biomechanical behavior of bioprosthetic heart valve heterograft tissues: characterization, simulation, and performance. *Cardiovasc Eng Technol.* 2016;7(4):309–351. PMID: 27507280 <https://doi.org/10.1007/s13239-016-0276-8>
 31. Thubrikar MJ, Deck JD, Aouad J, Nolan SP. Role of mechanical stress in calcification of aortic bioprosthetic valves. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1983;86(1):115–125. PMID: 6865456
 32. Sabbah HN, Hamid MS, Stein PD. Mechanical stresses on closed cusps of porcine bioprosthetic valves: correlation with sites of calcification. *Ann Thorac Surg.* 1986;42(1):93–96. PMID: 3729623 [https://doi.org/10.1016/s0003-4975\(10\)61845-0](https://doi.org/10.1016/s0003-4975(10)61845-0)
 33. Kiesendahl N, Schmitz C, Menne M, Schmitz-Rode T, Steinseifer U. In vitro calcification of bioprosthetic heart valves: test fluid validation on prosthetic material samples. *Ann Biomed Eng.* 2021;49(2):885–899. PMID: 32989592 <https://doi.org/10.1007/s10439-020-02618-6>
 34. Nitsche C, Kammerlander AA, Knechtelsdorfer K, Kraiger JA, Goliasch G, Dona C, et al. Determinants of bioprosthetic aortic valve degeneration. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2020;13(2Pt1):345–353. PMID: 30878425 <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2019.01.027>
 35. Liao KK, Li X, John R, Amatya DM, Joyce LD, Park SJ, et al. Mechanical stress: an independent determinant of early bioprosthetic calcification in humans. *Ann Thorac Surg.* 2008;86(2):491–495. PMID: 18640322

<https://doi.org/10.1016/j.athorac-sur.2008.03.061>

36. Sellaro TL, Hildebrand D, Lu Q, Vyavahare N, Scott M, Sacks MS. Effects of collagen fiber orientation on the response of biologically derived soft tissue biomaterials to cyclic loading. *J Biomed Mater Res A*. 2007;80(1):194–205. PMID: 17041913 <https://doi.org/10.1002/jbma.30871>

37. Margueratt SD, Lee JM. Stress state during fixation determines susceptibility to fatigue-linked biodegradation in bioprosthetic heart valve materials. *Biomed Sci Instrum*. 2002;38:145–150. PMID: 12085592

38. Golomb G, Schoen FJ, Smith MS, Linden J, Dixon M, Levy RJ. The role of glutaraldehyde-induced cross-links in calcification of bovine pericardium used in cardiac valve bioprostheses. *Am J Pathol*. 1987;127(1):122–130. PMID: 3105321

39. Everaerts F, Torrianni M, van Luyn M, van Wachem P, Feijen J, Hendriks M. Reduced calcification of bioprostheses, cross-linked via an improved carbodiimide based method. *Biomaterials*. 2004;25(24):5523–5530. PMID: 15142734 <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.12.054>

40. Guo G, Jin L, Jin W, Chen L, Lei Y, Wang Y. Radical polymerization-cross-linking method for improving extracellular matrix stability in bioprosthetic heart valves with reduced potential for calcification and inflammatory response. *Acta Biomater*. 2018;82:44–55. PMID: 30326277 <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.10.017>

41. Jin W, Guo G, Chen L, Lei Y, Wang Y. Elastin stabilization through polyphenol and ferric chloride combined treatment for the enhancement of bioprosthetic heart valve anticalcification. *Artif Organs*. 2018;42(11):1062–1069. PMID: 30058211 <https://doi.org/10.1111/aor.13151>

42. Lim HG, Kim SH, Choi SY, Kim YJ. Anticalcification effects of decellularization, solvent, and detoxification treatment for genipin and glutaraldehyde fixation of bovine pericardium. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2012;41(2):383–390. PMID: 21683607 <https://doi.org/10.1016/j.ejcts.2011.05.016>

43. Tam H, Zhang W, Infante D, Parchment N, Sacks M, Vyavahare N. Fixation of bovine pericardium-based tissue biomaterial with irreversible chemistry improves biochemical and biomechanical properties. *J Cardiovasc Transl Res*.

2017;10(2):194–205. PMID: 28213846 <https://doi.org/10.1007/s12265-017-9733-5>

44. Барбараш Л.С., Борисов В.В., Рутковская Н.В., Бураго А.Ю., Одаренко Ю.Н., Стасев А.Н. и др. Клинико-морфологическое исследование причин дисфункций эпоксиобработанных ксеноортальных биопротезов в митральной позиции. *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия*. 2014;7(4):84–86. Barbarash LS, Borisov VV, Rutkovskaya NV, Burago AIu, Odarenko IuN, Stasev AN, et al. Clinical and morphological study of epoxy-treated xenoaortic bioprostheses dysfunctions in mitral position. *Cardiology and cardiovascular surgery*. 2014;7(4):84–86. (In Russ.).

45. Barbarash L, Rutkovskaya N, Barbarash O, Odarenko Y, Stasev A, Uchasova E. Prosthetic heart valve selection in women of childbearing age with acquired heart disease: a case report. *J Med Case Rep*. 2016;10:51. PMID: 26956734 <https://doi.org/10.1186/s13256-016-0821-y>

46. Karaskov A, Sharifulin R, Zheleznev S, Demin I, Lenko E, Bogachev-Prokophiev A. Results of the Ross procedure in adults: a single-centre experience of 741 operations. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2016;49(5):e97–e104. PMID: 27130952 <https://doi.org/10.1093/ejcts/ezw047>

47. Shang H, Claessens SM, Tian B, Wright GA. Aldehyde reduction in a novel pericardial tissue reduces calcification using rabbit intramuscular model. *J Mater Sci Mater Med*. 2017;28(1):16. PMID: 28000112 <https://doi.org/10.1007/s10856-016-5829-8>

48. Яблонский П.П., Чеботарь С., Тудорахе И., Хаверих А. Тканевые матрицы клапанов сердца: состояние проблемы и перспективы. *Вестник Санкт-Петербургского университета*. 2016;11(2):51–61. Iablonskii PP, Cebotari S, Tudorache I, Haverich A. Heart valve matrices: state of art and perspectives. *Saint Petersburg University Bulletin*. 2016;11(2):51–61. (In Russ.). <https://doi.org/10.21638/11701/spbu11.2016.206>

49. Collatusso C, Roderjan JG, de Noronha L, Klosowski A, Suss PH, Guarita-Souza LC, et al. Decellularization as a method to reduce calcification in bovine pericardium bioprosthetic valves. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2019;29(2):302–311. PMID: 30848795 <https://doi.org/10.1093/icvts/ivz041>

50. Collatusso C, Roderjan JG, Vieira ED,

Myague NI, de Noronha L, Costa FD. Decellularization as an anticalcification method in stentless bovine pericardium valve prosthesis: a study in sheep. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2011;26(3):419–426. PMID: 22086579 <https://doi.org/10.5935/1678-9741.20110017>

51. Human P, Bezuidenhout D, Aikawa E, Zilla P. Residual bioprosthetic valve immunogenicity: forgotten, not lost. *Front Cardiovasc Med*. 2022;8:760635. PMID: 35059444 <https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.760635>

52. Manji RA, Eksler B, Menkis AH, Cooper DKC. Bioprosthetic heart valves of the future. *Xenotransplantation*. 2014;21(1):1–10. PMID: 24444036 <https://doi.org/10.1111/xen.12080>

53. Lee W, Long C, Ramsoondar J, Ayares D, Cooper DK, Manji RA, et al. Human antibody recognition of xenogeneic antigens (NeuGc and Gal) on porcine heart valves: could genetically modified pig heart valves reduce structural valve deterioration? *Xenotransplantation*. 2016;23(5):370–380. PMID: 27511593 <https://doi.org/10.1111/xen.12254>

54. Zhang R, Wang Y, Chen L, Wang R, Li C, Li X, et al. Reducing immunoreactivity of porcine bioprosthetic heart valves by genetically-deleting three major glycan antigens, GGTA1/β4GalNT2/CMAH. *Acta Biomater*. 2018;72:196–205. PMID: 29631050 <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.03.055>

55. McGregor CG, Kogelberg H, Vlasin M, Byrne GW. Gal-knockout bioprostheses exhibit less immune stimulation compared to standard biological heart valves. *J Heart Valve Dis*. 2013;22(3):383–390. PMID: 24151765

56. Kim MS, Lim HG, Kim YJ. Calcification of decellularized and alpha-galactosidase-treated bovine pericardial tissue in an alpha-Gal knock-out mouse implantation model: comparison with primate pericardial tissue. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2016;49(3):894–900. PMID: 25994817 <https://doi.org/10.1093/ejcts/ezv189>

57. Rahmani B, McGregor C, Byrne G, Burriesci G. A durable porcine pericardial surgical bioprosthetic heart valve: a proof of concept. *J Cardiovasc Transl Res*. 2019;12(4):331–337. PMID: 30756359 <https://doi.org/10.1007/s12265-019-09868-3>

58. McGregor C, Salmonsmith J, Burriesci G, Byrne G. Biological equivalence of GGTA-1 glycosyltransferase knockout and standard porcine pericardial tissue

using 90-day mitral valve implantation in adolescent sheep. *Cardiovasc Eng Technol*. 2022;13(3):363–372. PMID: 34820778 <https://doi.org/10.1007/s13239-021-00585-0>

59. Ding K, Zheng C, Huang X, Zhang S, Li M, Lei Y, et al. A PEGylation method of fabricating bioprosthetic heart valves based on glutaraldehyde and 2-amino-4-pentenoic acid co-cross-linking with improved antithrombo-

genicity and cytocompatibility. *Acta Biomater*. 2022;144:279–291. PMID: 35365404 <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2022.03.026>

60. Костюнин А., Резцова М.А., Глушкова Т.В., Шишкова Д.К., Кутихин А.Г., Аментьева Т.Н. и др. Модификация поливиниловым спиртом эпоксиобратанного ксеноперикарда повышает его резистентность к кальцификации in vitro. *Трансплантология*. 2023;15(1):34–

45. Kostyunin AE, Rezvova MA, Glushkova TV, Shishkova DK, Kutikhin AG, Akentieva TN, et al. Polyvinyl alcohol improves resistance of epoxy-treated bovine pericardium to calcification in vitro. *The Russian Journal of Transplantation*. 2023;15(1):34–45. (In Russ.). <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2023-15-1-34-45>

Информация об авторах

**Александр Евгеньевич
Костюнин**

канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов ФГБНУ «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», <https://orcid.org/0000-0001-6099-0315>, rhabdophis_tigrina@mail.ru
60% – анализ литературы, написание рабочего варианта статьи

**Татьяна Владимировна
Глушкова**

канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов ФГБНУ «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», <https://orcid.org/0000-0003-4890-0393>, bio.tv@gmail.ru
20% – редактирование текста статьи

**Александр Николаевич
Стасев**

канд. мед. наук, научный сотрудник лаборатории пороков сердца ФГБНУ «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», <https://orcid.org/0000-0003-1341-204X>, StasAN@kemcardio.ru
10% – редактирование текста статьи

**Евгений Андреевич
Овчаренко**

канд. техн. наук, заведующий лабораторией новых биоматериалов ФГБНУ «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», <https://orcid.org/0000-0001-7477-3979>, ov.eugene@gmail.com
10% – редактирование и финальное утверждение текста статьи

Information about the authors

Alexander E. Kostyunin

Cand. Sci. (Biol.), Researcher of the Laboratory of New Biomaterials, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases,
<https://orcid.org/0000-0001-6099-0315>, rhabdophis_tigrina@mail.ru
 60%, literature analysis, writing the draft version of the article manuscript

Tatyana V. Glushkova

Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher of the Laboratory of New Biomaterials, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases,
<https://orcid.org/0000-0003-4890-0393>, bio.tvg@mail.ru
 20%, editing the text of the article

Alexander N. Stasev

Cand. Sci. (Med.) Researcher of the Laboratory of Heart Diseases, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases,
<https://orcid.org/0000-0003-1341-204X>, StasAN@kemcardio.ru
 10%, editing the text of the article

Evgeny A. Ovcharenko

Cand. Sci. (Tech.), Head of the Laboratory of New Biomaterials, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases,
<https://orcid.org/0000-0001-7477-3979>, ov.eugene@gmail.com
 10%, editing and the final approval of the article text

Статья поступила в редакцию 10.07.2023;
 одобрена после рецензирования 28.07.2023;
 принята к публикации 27.09.2023

The article was received on July 10, 2023;
 approved after reviewing July 28 2023;
 accepted for publication September 27, 2023