

DOI: 10.15690/vramn560

Р.А. Мухамадияров¹, Н.В. Рутковская¹, О.Д. Сидорова², Л.С. Барбараш¹

¹ НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний,
Кемерово, Российская Федерация

² Кемеровская государственная медицинская академия Минздрава России,
Кемерово, Российская Федерация

Исследование клеточного состава кальцинированных биопротезов клапанов сердца

С позиций оценки возможных механизмов развития структурных дисфункций, ассоциированных с кальцификацией ксеноткани, исследован клеточный состав эксплантированных эпоксиобработанных ксеноаортальных биопротезов клапанов сердца. В створках ксеноклапанов выявлены многочисленные и разнообразные клетки с хорошо сохранившейся внутренней структурой. Наибольшую их концентрацию определяли в трех зонах: на поверхности образцов, в толще ксеногенной ткани в местах разволокнения и деструкции коллагена, а также вблизи отложений кальция. На поверхности створок наблюдали преимущественно моноциты. Клетки, идентифицируемые в толще образца и вблизи кальциевых минерализатов, по морфологическим признакам были отнесены к двум популяциям: элементам иммунной системы (макрофаги, гигантские многоядерные клетки, плазматические клетки, нейтрофилы) и клеткам соединительной и мышечной ткани (фибробласты, фиброциты, эндотелиальные и гладкомышечные клетки). Показано, что развитие дегенеративных изменений створок биопротезов клапанов сердца, ассоциированных с кальцификацией, сопровождается инфильтрацией клеток в их структуру, что позволяет предположить наличие клеточноопосредованных процессов патологической минерализации.

Ключевые слова: биопротезы клапанов сердца, кальцификация, клеточная инфильтрация.

(Для цитирования: Мухамадияров Р.А., Рутковская Н.В., Сидорова О.Д., Барбараш Л.С. Исследование клеточного состава кальцинированных биопротезов клапанов сердца. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (6): 662–668. Doi: 10.15690/vramn560)

662

Введение

Кальцификация химически модифицированного ксеногенного материала является одним из основных факторов, ограничивающих долговечность функционирования биопротезов (БП) клапанов сердца в организме реципиента и, соответственно, лимитирующих их широкое клиническое применение. Развитие структурных дисфункций вследствие первичной тканевой несостоятельности с отложением кальциевых депозитов в створках имплантированных протезов диктует необходимость выполнения повторных хирургических вмешательств у категории пациентов с ожидаемой продолжительностью жизни свыше десяти лет [1]. Несмотря на постоянное совершенствование моделей БП и продолжающийся поиск эффективных способов предимплантационной обработ-

ки, повышающих их минералорезистентность, данная проблема все еще далека от своего разрешения.

Существует теория, что кальцификация мягких тканей представляет собой активный процесс, управляемый на клеточном и биохимическом уровнях [2, 3], при этом стадийность его развития и сложная иерархия регулирующих факторов детально не исследованы. В настоящее время механизмы кальцификации (дистрофического обызвествления) активно изучаются на моделях атеросклеротического поражения сосудистой стенки и аортального стеноза [4–6], однако работы, посвященные исследованию дегенеративных изменений БП клапанов сердца, крайне немногочисленны. Вместе с тем их результаты дают основание полагать, что на темпы формирования структурных дисфункций БП, помимо механических воздействий и характеристик имплантируемого устройства, оказывают

R.A. Mukhamadiyarov¹, N.V. Rutkovskaya¹, O.D. Sidorova², L.S. Barbarash¹

¹ Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

² Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russian Federation

Cellular Composition of Calcified Bioprosthetic Heart Valves

With the aim to assess the mechanisms of the structural dysfunctions associated with xenograft tissue calcification, we investigated the cellular composition of the explanted xenoaortic epoxy-treated bioprosthetic heart valves. In the leaflets, we revealed multiple cells with retained internal structure. Most of them located on the leaflet surface, at the areas of collagen destruction, and near calcium deposits. Monocytes were the predominant cell fraction on the leaflet surface whilst immune (macrophages, multinucleated giant cells, plasma cells, neutrophils) and connective tissue (fibroblasts, fibrocytes, endothelial, and smooth muscle cells) cells prevailed at the areas of collagen destruction and near calcium deposits. Calcification of the leaflets was accompanied by cellular infiltration, therefore suggesting that pathological mineralization may be associated with cell-mediated processes.

Key words: bioprosthetic heart valves, calcification, cellular infiltration.

(For citation: Mukhamadiyarov R.A., Rutkovskaya N.V., Sidorova O.D., Barbarash L.S. Cellular Composition of Calcified Bioprosthetic Heart Valves. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (6): 662–668. Doi: 10.15690/vramn560)

влияние особенности метаболического статуса реципиента [2, 7, 8]. Из данных литературы известно о наличии идентичных патоморфологических изменений в атеросклеротических бляшках, створках нативного аортального клапана и БП, консервированных глутаровым альдегидом [6, 9, 10]. Приведенные выше факты позволяют предполагать существование универсальных механизмов патологической кальцификации мягких тканей [3, 6].

Целью настоящей работы явилось изучение клеточного состава эксплантированных эпоксиобработанных ксеноаортальных БП клапанов сердца с позиций оценки возможных механизмов развития структурных дисфункций, ассоциированных с кальцификацией ксеноткани.

Описание серии случаев

Исследованы эпоксиобработанные ксеноаортальные БП клапанов сердца (КемКор и Перикор, ЗАО Неокор, Кемерово), эксплантированные из митральной позиции у восьми пациентов (62,5% мужчин, $n=5$) по причине развития кальциевой дегенерации. Средний возраст реципиентов при первичных хирургических вмешательствах составил $58,1 \pm 7,8$ года (от 43 до 66 лет). Преобладающим этиологическим фактором формирования порока митрального клапана явилась ревматическая болезнь сердца (87,5%, $n=7$), в одном случае (12,5%) имела место недостаточность митрального клапана на фоне синдрома изолированной соединительнотканной дисплазии. Средний срок функционирования БП составил $8,75 \pm 2,8$ года (от 6 до 12 лет). На момент определения показаний к репротезированию у всех пациентов отсутствовали клинические и лабораторные признаки активности воспалительного процесса, данных за наличие инфицирования ксеногенного материала клапанов, согласно результатам эхокардиографических исследований, также получено не было.

При макроскопическом исследовании удаленных БП кальциевые депозиты представляли собой белесовато-желтые отложения, расположенные на поверхности и/или в толще створчатого аппарата. Кальцификаты частично или полностью замещали биологическую ткань, что приводило к разрушению отдельных участков створки или тотальной ее деструкции.

Для гистологических исследований эксплантированные ксеногенные клапаны целиком фиксировали в 10% забуференном формалине, затем вырезали из них образцы створок и выполняли декальцинацию в 9% растворе ЭДТА при $pH = 7,8$. В последующем осуществляли стандартные методы заключения в парафин и изготовления гистологических срезов с окраской полученных препаратов гематоксилином-эозином и по Ван-Гизону. Оценку гистологической картины осуществляли методом световой микроскопии на микроскопе AXIO Imager A1 (Carl Zeiss, Германия).

Ультраструктурные исследования проводили с использованием оригинальной методики, позволяющей применять на одних и тех же образцах светооптическую и электронную микроскопию [11]. Уникальность данного метода состоит в возможности изучения биологических тканей без удаления кальциевых включений, что позволило исследовать непосредственно кальциевые депозиты в местах их контактов с клетками при сохранении тонкой архитектоники объекта. Принцип метода основан на заключении исследуемого образца в эпоксидные смолы, получении шлифов, окрашивании красителями для электронной микроскопии. Створки БП фиксировали в двух сменах 4% раствора параформальдегида, с 0,1 М фосфатным буфером по 12 ч в каждом, обезвоживали в серии спиртов возрастающей концентрации и абсолютном ацетоне и пропитывали смесью ацетон-смола. Далее их погружали в заливочную смолу в системе вакуумной импрегнации CitoVac (Struers, Дания) на 36 ч, переносили в свежую порцию смолы и полимеризовали в специальных контейнерах. В качестве заливочной смолы использовали Эпон (Sigma-Aldrich, США). Полученные образцы шлифовали до необходимой глубины и полировали поверхность при помощи прибора TegraPol-11 (Struers, Дания). Подготовленные пробы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца, напыляли углеродом и исследовали методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) в отраженных и обратно-рассеянных электронах с использованием электронного микроскопа Hitachi S 3400 N (Япония). Изображение, полученное в режиме обратно-рассеянных электронов, было аналогичным таковому при проведении просвечивающей электронной микроскопии, но имело негативный контраст.

В створках эпоксиобработанных клапанов, удаленных по причине развития кальциевой альтерации, были выявлены многочисленные и разнообразные по морфологии клетки с хорошо сохранившейся внутренней структурой. Наибольшую концентрацию клеточных элементов наблюдали в трех зонах: на поверхности образцов, в толще ксеногенной ткани в местах разволокнения и деструкции коллагена, а также вблизи отложений кальция.

На поверхности БП обнаруживали локальные клеточные скопления, как правило, в местах выраженной деструкции наружных слоев. В участках концентрации клеток коллагеновые волокна были разрыхлены и частично фрагментированы, а их окончания ориентированы перпендикулярно поверхности исследуемого образца (рис. 1а, б). Отмечены тесный контакт клеток с волокнами и их проникновение в толщу протеза в виде цепочек, расположенных вдоль волокон коллагена (рис. 1 в). При этом наблюдали различную глубину инвазии клеток, в некоторых областях ограниченную лишь поверхностным слоем, в других — значительно распространяющуюся в ткань створки (рис. 1в, г). По морфологическим характеристикам клетки на поверхности и в поверхностном слое БП могут быть отнесены

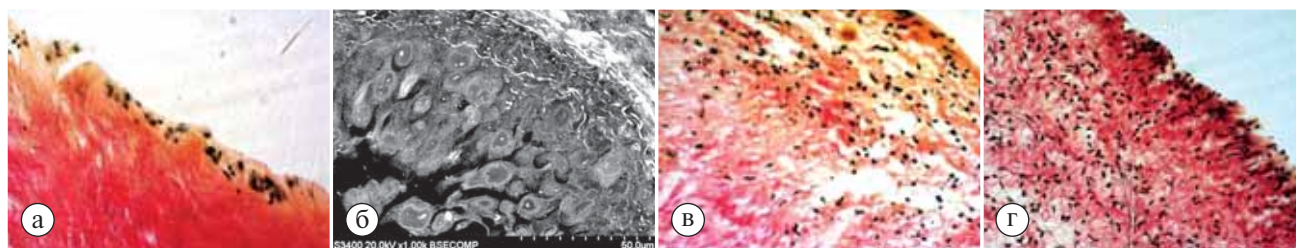


Рис. 1. Локализация клеток на поверхности (а, б) и близлежащих слоях (в, г) биопротеза. Условные обозначения: а, в, г — световая микроскопия, окраска по Ван-Гизону, ув. 400; б — сканирующая электронная микроскопия в обратно-рассеянных электронах, ув. 1000

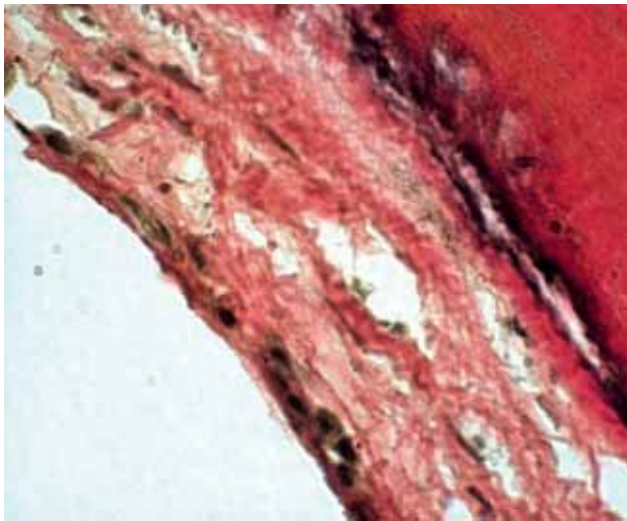


Рис. 2. Эндотелиоподобные клетки на поверхности исследуемого образца, ув. 400, окраска по Ван-Гизону

к моноцитам крови. Судя по морфофункциональным критериям (крупным и интенсивно окрашенным ядрам с четкими контурами), данные клетки находились в состоянии метаболической активности, некоторые из них — в стадии деления (см. рис. 1 б). Кроме того, на поверхности створки и прилегающем к ней внутреннем слое наблюдали большое количество неклеточного материала, окрашенного в желтый цвет, предположительно фибрина (см. рис. 1 в, г).

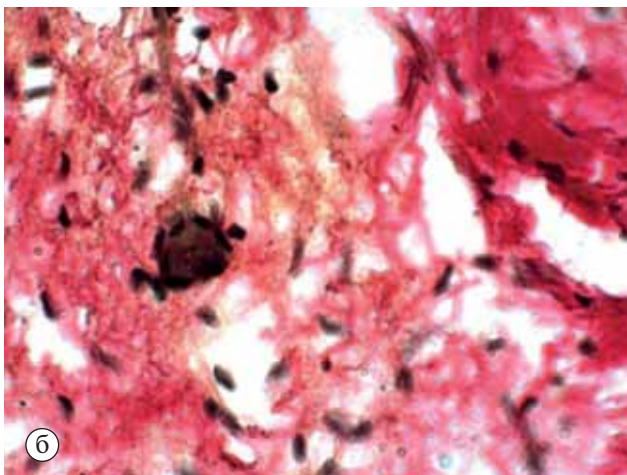
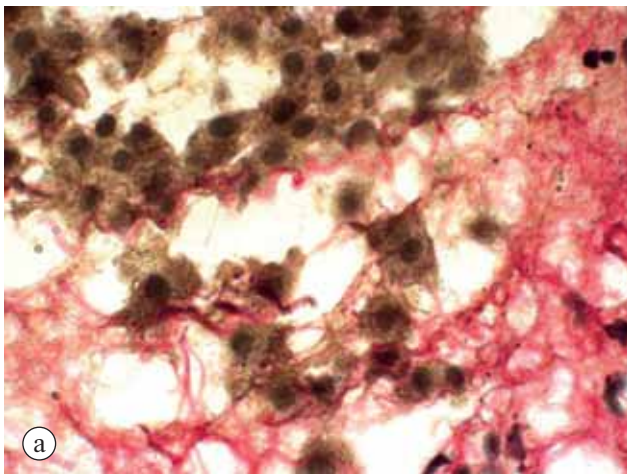


Рис. 3. Макрофаги (а) и гигантские многоядерные клетки (б) в составе биопротеза. Ув. 400, окраска по Ван-Гизону

Отдельные участки поверхностного слоя протеза были покрыты эндотелиоподобными клетками. В проекции этих зон в толще створки наблюдали лишь единичные клеточные элементы. Исходя из этого можно предположить, что эндотелизация поверхности препятствует взаимодействию моноцитов с тканью протеза и их миграции вглубь исследуемого образца (рис. 2).

Клетки, инфильтрирующие толщу створки, можно отнести к двум популяциям: элементам иммунной системы (макрофаги, гигантские многоядерные клетки, плазматические клетки, нейтрофилы) и клеткам соединительной и мышечной ткани (фибробласты, фиброциты, эндотелиальные и гладкомышечные клетки).

Макрофаги обычно наблюдали в зонах выраженной деструкции соединительнотканной основы БП. Часто они образовывали большие скопления и находились в тесном контакте с волокнами. В местах концентрации макрофагов отмечали нарушение структуры сложного переплетения пучков и волокон. При этом межпучковые пространства были расширены, а фрагментированные волокна образовывали ячеистые сети. Также выявляли деградацию и лизис коллагеновых структур. В цитоплазме макрофагов регистрировали большое количество вакуолей (рис. 3 а). Плазматические, нейтрофилы, эозинофилы и гигантские многоядерные клетки располагались поодиночке в окружении волокон коллагена в толще исследуемых образцов (рис. 3 б).

Во внутренних слоях исследуемых створок БП обнаруживали фибробласты различной степени зрелости, которые встречались группами или в виде отдельных кле-

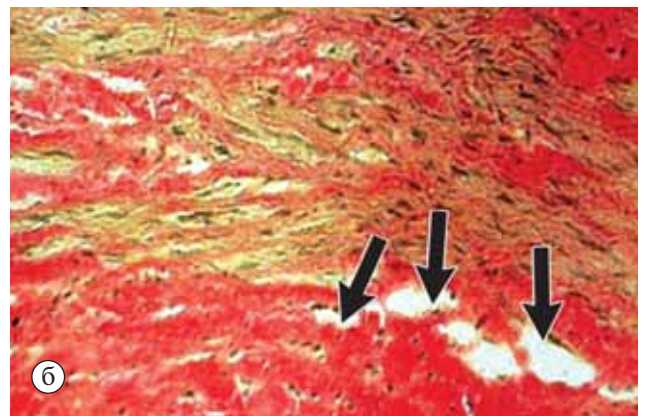
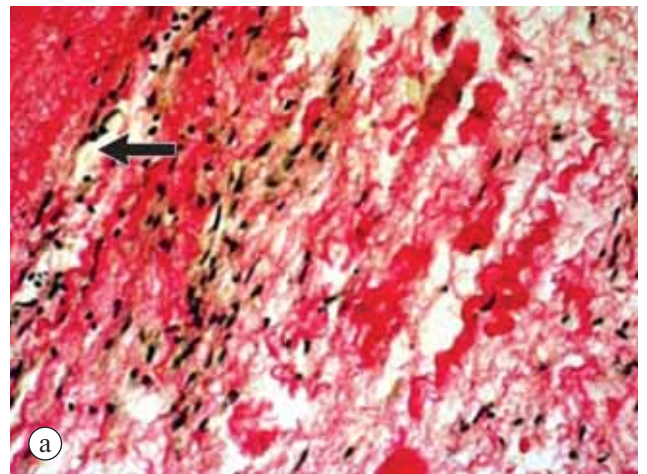


Рис. 4. Молодые фибробласты, заполняющие тканевые дефекты биопротеза. Условные обозначения: а — окраска гематоксилин-эозином; б — окраска по Ван-Гизону. Стрелками показаны капилляры. Ув. 200

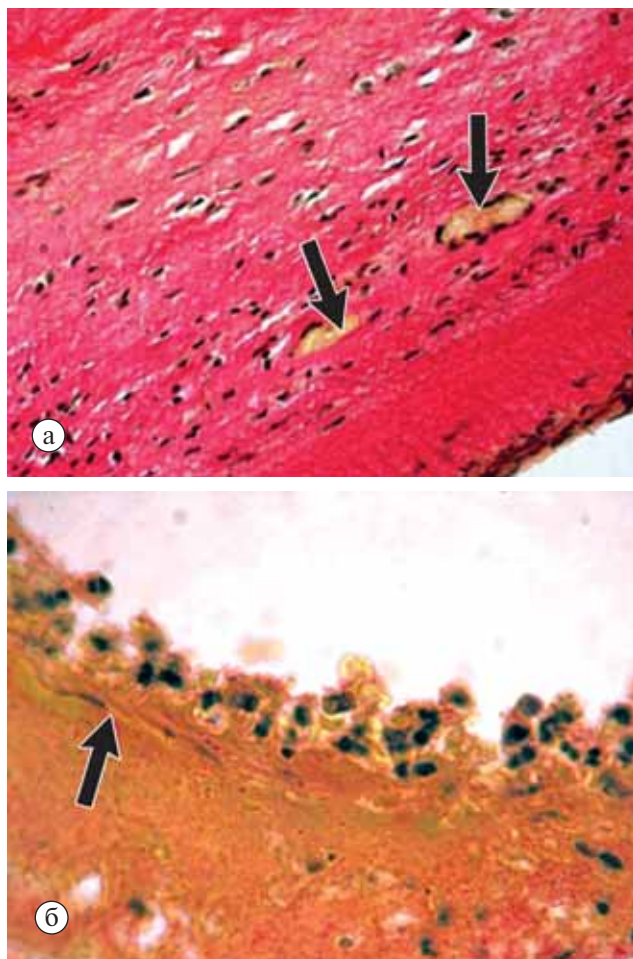
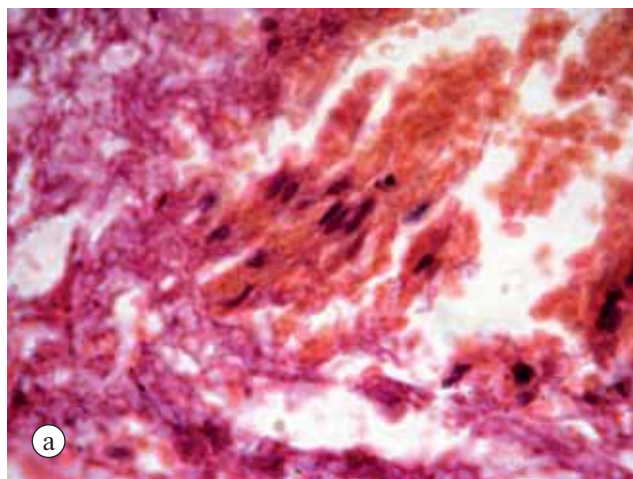


Рис. 5. Капилляры (показаны стрелками) вблизи поверхности биопротеза. Условные обозначения: а — поперечный срез капилляров, окраска гематоксилином-эозином, ув. 200; б — продольный срез через капилляр, окраска по Ван-Гизону, ув. 400

ток. Обычно они располагались между пучками волокон либо прикреплялись к стенкам полостей, образованных коллагеновыми структурами. В отдельных образцах в местах выраженной деструкции соединительнотканной основы и образования полостей большого объема отмечали фибробласты, активно формирующие новую ткань (рис. 4). Эта ткань образовывалась по типу своеобразных «заплат», закрывающих существующие дефекты створок.



ки. Свежеобразованные «заплаты» были представлены фибробластами и компактными пучками коллагеновых волокон, сохранившими извитость и менее интенсивно, чем окружающий ксеногенный материал, окрашивающихся по Ван-Гизону. В некоторых случаях вновь образованная соединительная ткань занимала достаточно большой объем.

Кроме того, в толще ксеногенных образцов были выявлены клетки, идентифицированные как эндотелиоциты. Они выстилали щелевидные пространства между волокнами коллагена, образуя элементы, схожие с капиллярами. Нередко просветы таких новообразованных сосудов содержали эритроциты (рис. 5). Вблизи тканевых «заплат» наблюдали хорошо структурированные капилляры, которые, как правило, близко примыкали к участкам регенерации тканей и, вероятно, принимали участие в их кровоснабжении.

Часть клеток, обнаруженных в створках эксплантированных ксеногенных клапанов, по морфологическим признакам была отнесена к гладкомышечным. Они располагались как поодиночке, так и образовывали линейные структуры или скопления, окруженные свободным пространством (рис. 6).

При идентификации минеральных отложений отмечено, что наиболее распространенной локализацией являются внутренние слои створок БП, преимущественно в области оснований. Депозиты кальция характеризовались разнообразием форм, размеров и клеточного окружения. В результате исследования взаимодействия минерального материала с биологическими структурами обнаружены два варианта взаимоотношений. В первом случае кальцинат контактировал лишь с ксенотканью самой створки, при этом наблюдали ее интеграцию в структуру кальцината, в составе которого визуализировали волокна коллагена (рис. 7а). Во втором варианте в местах контакта минерального и биологического материала наблюдали присутствие клеток (рис. 7 б, г). Они либо образовывали плотный слой на границе с кальцинатом, либо располагались диффузно, формируя губчатую структуру, заполняющую пространство между минеральным депозитом и собственной тканью БП (см. рис. 7 г). По морфологическим характеристикам клетки, окружающие кальцинат, можно отнести к моноцитарному ряду и фибробластической группе.

В ряде случаев в толще исследуемых образцов створок наряду с клеточными элементами отмечали нали-

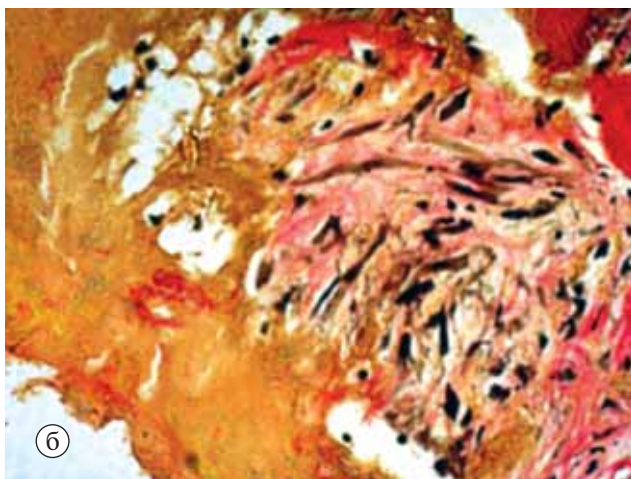


Рис. 6. Гладкомышечные клетки в структуре биопротеза. Условные обозначения: а — окраска гематоксилином-эозином, б — окрасивание по Ван-Гизону, ув. 400

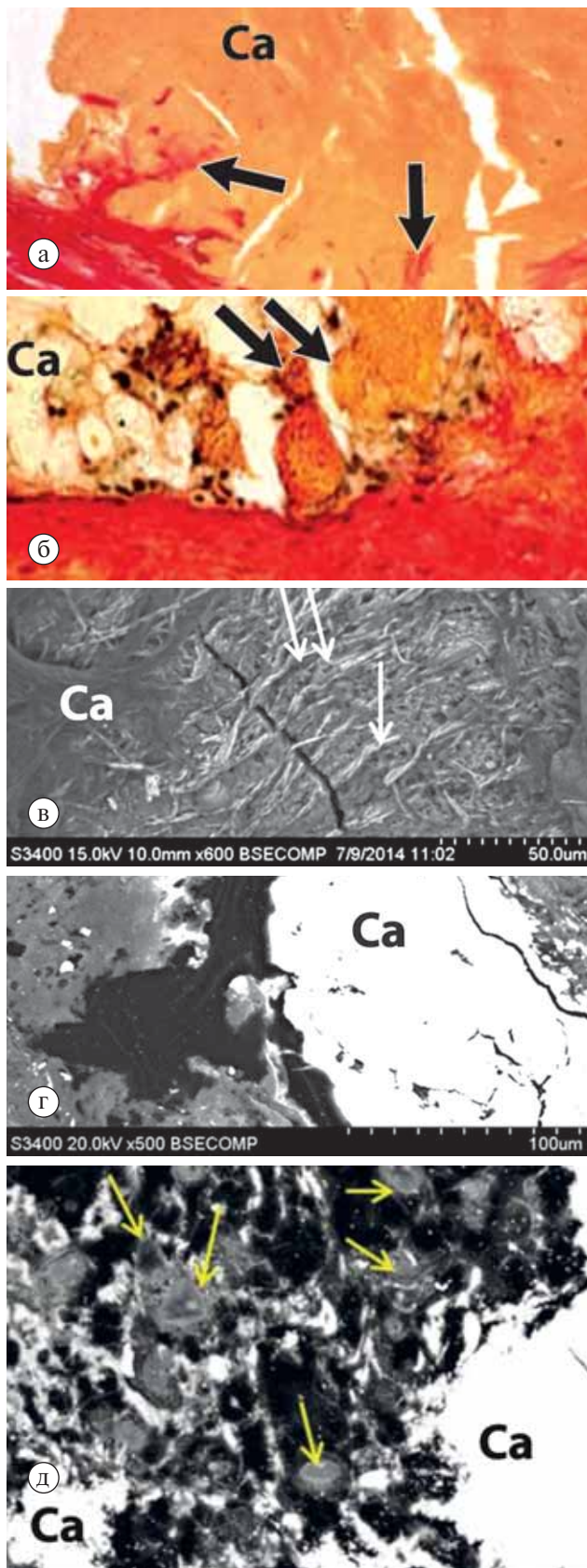


Рис. 7. Распределение отложений кальция в биологическом материале протеза. Условные обозначения: а, в, г — отсутствие клеток на границе между кальциевыми включениями и материалом биопротеза; б, д — наличие клеток вблизи включений кальция; а, б — световая микроскопия, окраска по Ван-Гизону; г, д — СЭМ в обратно-рассеянных электронах; в — СЭМ в отраженных электронах. Стрелками показаны: а, в — коллагеновые структуры в составе кальцификата; б, д — клетки. Ув: а, б — 400, в — 600, г — 500, д — 1000



Рис. 8. Кристаллические отложения холестерина. Ув. 200, окраска по Ван-Гизону

чие структурированных отложений, имеющих морфологическое сходство с кристаллами холестерина (рис. 8).

Обсуждение

Современные подходы к решению проблемы prolongации сроков функционирования БП клапанов сердца реализуются в нескольких направлениях, включающих усовершенствование конструктивных и механических характеристик имплантируемых клапанов, методов химической обработки ксеноткани, а также исследование факторов реципиента, способных оказывать влияние на темпы развития структурных дисфункций, и изучение тонких механизмов и процессов, лежащих в основе дистрофического обызвествления.

На основании существовавшей ранее гипотезы о решающем влиянии на структурную стабильность ксенотканной особенности консервирующего агента в клинике НИИ КПССЗ был разработан и внедрен альтернативный способ обработки БП. Использование диглицидилового эфира этиленгликоля вместо традиционного глутарового альдегида стало итогом длительной исследовательской работы в области поиска путей повышения минералорезистентности биологических имплантатов, но отдаленные результаты наблюдений, к сожалению, не продемонстрировали ожидаемой устойчивости эпоксиобработанных клапанов к биодеградации, ассоциированной с кальцификацией.

В настоящее время к проблеме патологической минерализации мягких тканей привлечено внимание широкого круга исследователей, однако работы, изучающие различные нюансы данного процесса, по большей части касаются механизмов развития атеросклеротического поражения сосудистой стенки и/или дегенеративного стеноза нативного аортального клапана [4–6]. В связи с потенциальным вовлечением клеточных механизмов в реализацию данного патологического процесса возникает особый интерес к изучению состава эксплантированных БП с дальнейшей оценкой возможного участия идентифицированных клеток в развитии кальциевой альтерации эпоксиобработанной ксеноткани.

В настоящее время большинство исследователей разделяют предположение, что темпы развития кальцификации биологических материалов, определяемые совокупным влиянием факторов имплантата и реципиента,

подвержены активной регуляции на генетическом, клеточном и гуморальном уровне [12–16]. В свою очередь, на моделях атеросклероза и кальцинированного аортального стеноза убедительно продемонстрировано, что в основе кальцификации лежит проостеогенная клеточная трансформация, ассоциированная с экспрессией и транскрипцией тех же специфических маркеров и регуляторных белков, что и процессы физиологического остеогенеза [17–20]. Современная теория патологической минерализации мягких тканей подразумевает существование субпопуляций полипотентных клеток-предшественников, способных реагировать на внешние стимулы фенотипической трансформацией в направлении проостеогенных линий [21–23].

Результаты проведенного исследования демонстрируют, что в процессе кальцификации происходит заселение БП клеточным материалом. Большое разнообразие и структурная сохранность клеток с высокой долей вероятности позволяют предполагать их принадлежность реципиенту. В пользу данного утверждения также свидетельствует выявленная миграция клеточных элементов с поверхности в глубину ткани створок. Установлено, что наиболее активное проникновение клеток из крови происходит в местах деструкции поверхностных слоев БП, откуда через образовавшиеся дефекты они перемещаются по ходу волокон. Еще одной морфологической особенностью взаимодействия клеток реципиента со структурами имплантированного клапана является наличие в зоне контакта фибрина, локализованного не только на поверхности, но и в прилегающем к ней слое исследуемых образцов створок. Имеющиеся данные не позволяют однозначно судить о роли фибрина в миграции клеток, однако не исключают его возможности обеспечивать адгезию клеточных элементов с поверхностью протеза.

Следует отметить, что среди клеток, инфильтрирующих ксеноткань клапана, нейтрофилы, лимфоциты и плазмциты составляют лишь небольшую часть. Таким образом, проявления иммуновоспалительной реакции организма реципиента на имплантат, на наш взгляд, нельзя считать достаточно убедительными.

Наиболее представительной явилась группа клеток фибробластического дифферона, в том числе активно продуцирующих экстрацеллюлярный матрикс, что, вероятно, может отражать течение процессов ремоделирования, проявляющихся образованием так называемых тканевых заплат. Наличие неоваскуляризации ксеногенного материала, в свою очередь, способствует поддержанию репопуляции БП и обеспечению нормального функционирования клеток.

Наряду с новообразованием соединительной ткани в толще исследуемых образцов створок наблюдали зоны деструкции, являющиеся местами концентрации элементов моноцитарно-макрофагальной системы, активно лизирующих продукты деградации коллагена. Не исключено, что в одних участках данные клетки могли «уступать» место предшественникам фибробластов, что закономерно завершается новообразованием волокнистых структур, а в других — полипотентным клеткам, дифференцирующимся в направлении проостеогенных линий. В пользу последнего предположения свидетельствует обнаружение клеточных скоплений на границе кальцификата и материала БП.

В настоящее время ряд авторов разделяет точку зрения, что через дефекты поверхностного слоя БП в его толщу из системного кровотока наряду с мононуклеарами могут проникать полипотентные предшествен-

ники, способные подвергаться фенотипической проостеогенной трансформации [6, 22, 23]. В данном случае девитализированная ткань протеза выполняет роль своеобразной матрицы для фиксации стволовых и других клеток реципиента, циркулирующих в крови. Этот механизм минерализации известен как «циркулирующая клеточная теория» [23]. В роли хемоаттрактантов для клеток-предшественников, по всей вероятности, могут выступать окисленные липиды и/или холестерин, содержащиеся в ксеногенной ткани имплантируемых протезов [24]. Присутствие кристаллов холестерина в тесном контакте с клеточными элементами образцов створок может либо подтверждать его роль в обеспечении процессов клеточной миграции, либо свидетельствовать об идентичных механизмах, лежащих в основе патологической минерализации БП и атеросклеротического поражения стенок артерий. Последнее предположение совпадает с мнением исследователей о наличии универсальных процессов, лежащих в основе патологической минерализации элементов сердечно-сосудистой системы и биоимплантатов [3, 6].

Таким образом, на основании полученных данных можно сделать вывод, что в изучаемом материале параллельно протекают два разнонаправленных клеточно-опосредованных процесса: санация ксеногенной ткани при участии макрофагов и ее структурная регенерация, ассоциированная с активностью фибробластов реципиента. Можно ожидать, что удаление в процессе консервации и предимплантационной обработки протеза девитализированных клеток и деструктурированных участков экстрацеллюлярного матрикса должно способствовать подавлению его кальцификации [2]. С другой стороны, часть клеток реципиента из клеточного пула, активно заселяющего БП, способна, дифференцируясь в клетки остеобластического ряда, потенцировать возникновение кальцийассоциированных дисфункций.

Представленных данных, безусловно, недостаточно для установления роли идентифицированных клеточных элементов в развитии кальциевой алтерации образцов эпоксиобработанных створок. В свою очередь, выявленное многообразие клеток предполагает различные варианты их контактов друг с другом и с окружающим ксеногенным материалом, который, видимо, также способен оказывать модулирующее влияние на межклеточные взаимодействия [18, 25] и гуморальные сигналы регуляции. Для понимания сложных процессов клеточной интеграции и трансформации в направлении остеобластных или остеокластных фенотипов, безусловно, необходимо проведение дальнейших углубленных и масштабных исследований.

Заключение

Полученные результаты позволяют подтвердить жизнеспособность известной теории об участии клеточно-опосредованных механизмов в развитии дистрофического обызвествления биоматериалов в организме реципиента применительно к использованию эпоксиобработанных ксеноаортальных протезов клапанов сердца. Наличие многочисленных структурно сохраненных клеток при гистологическом исследовании кальцинированных образцов створок может свидетельствовать о возможности реализации различных вариантов меж- и внутриклеточных взаимодействий, потенцирующих возникновение структурных дисфункций имплантированных клапанов. В свою очередь, параллелизм патоморфологических из-

менений, наблюдаемых при исследовании нативных элементов сердечно-сосудистой системы и девитализированных в процессе консервации БП, может предполагать наличие универсальных звеньев, составляющих патогенетическую основу развития минерализации мягких тканей. Последующие работы в данном направлении, в том числе исследования внутриклеточного проостеогенного сигнального каскада и модулирующего влияния комплекса разнообразных экзогенных и эндогенных факторов, по-

зволят не только проникнуть в суть данных изменений, но и определить возможности их фармакологической коррекции.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Tillquist M., Maddox T. Cardiac crossroads: deciding between mechanical or bioprosthetic heart valve replacement. *Patient Prefer. Adherence*. 2011; 5: 91–99.
2. Schoen F.J., Levy R.J. Calcification of tissue heart valve substitutes: progress toward understanding and prevention. *Ann. Thorac. Surg.* 2005; 79: 1072–1080.
3. Aronow W.S. Osteoporosis, osteopenia and atherosclerotic vascular disease. *Arch. Med. Sci.* 2011; 7 (1): 21–26.
4. Miller J.D., Weiss R.M., Heistad D.D. Calcific aortic valve stenosis: methods, models and mechanisms. *Circ. Res.* 2011; 108: 1392–1412.
5. Hjortnaes J., Butcher J., Figueiredo J.L., Riccio M., Kohler R.H., Kozloff K.M., Weissleder R., Aikawa E. Arterial and aortic valve calcification inversely correlates with osteoporotic bone remodelling: a role for inflammation. *Eur. Heart J.* 2010; 31 (16): 1975–1984.
6. Sophie E.P., Aikawa E. Molecular imaging insights into early inflammatory stages of arterial and aortic valve calcification. *Circ. Res.* 2011; 108: 1381–1391.
7. Mahjoub Y., Mathieu P., Senechal M., Larose E., Dumesnil J., Després J.P., Pibarot P. ApoB/ApoA ratio is associated with increased risk bioprosthetic valve degeneration. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2013; 61 (7): 752–761.
8. Barbarash O., Rutkovskaya N., Hryachkova O., Gruzdeva O., Uchassova E., Ponasenko A., Kondyukova N., Odarenko Y., Barbarash L. Impact of recipient related factors on structural dysfunction rates of xenoaortic bioprosthetic heart valve. *Patient Pref. Adher.* 2015; 9: 389–399.
9. Cote C., Pibarot P., Despres J.P., Mohty D., Cartier A., Arsenault B.J., Couture C., Mathieu P. Association between circulating oxidized low density lipoprotein and fibrocalcific remodelling of the aortic valve in aortic stenosis. *Heart.* 2008; 94: 1175–1180.
10. Shetty R., Pibarot P., Auger A., Janvier R., Dagenais F., Perron J., Couture C., Voisine P., Després J.P., Mathieu P. Lipid-mediated inflammation and degeneration of bioprosthetic heart valves. *Eur. J. Clin. Invest.* 2009; 39: 471–480.
11. Мухамадияров Р.А., Севостьянова В.В., Нохрин А.В., Головкин А.С. Способ изготовления образцов биологических тканей в комплексе с имплантированными элементами для исследования световой микроскопией. Патент РФ на изобр. № 2564895. 10 октября 2015.
12. Peacock J.D., Levay A.K., Gillaspie D.B., Tao G., Lincoln J. Reduced sox9 function promotes heart valve calcification phenotypes in vivo. *Circ. Res.* 2010; 106: 712–719.
13. Honge J.L., Funder J.A., Pedersen T.B., Kronborg M.B., Hasenkam J.M. Degenerative processes in bioprosthetic mitral valves in juvenile pigs. *J. Cardiothorac. Surg.* 2011; 6: 72.
14. Cremer P.C., Rodriguez L.L., Griffin B.P., Tan C., Rodriguez R., Johnston D.R., Pettersson G.B., Menon V. Early Bioprosthetic Valve Failure: A Pictorial Review of Rare Causes. *JACC.* 2015; 8 (6): 737–740. DOI: 10.1016/j.jcmg.2014.06.025.
15. Gang-Jian G., Tao Chen, Hong-Min Zhou, Ke-Xiong Sun, Jun Li. Role of Wnt/ β -catenin signaling pathway in the mechanism of calcification of aortic valve. *J. of Huazhong University of Science and Technology.* 2014; 34 (1): 33–36.
16. Naira V., Lawa K. B., Lia A.Y., Phillips K.R.B., Davidd T.E., Butanya J. Characterizing the inflammatory reaction in explanted Medtronic Freestyle stent less porcine aortic bioprosthesis over a 6 year period. *Cardiovascular. Pathology.* 2012; 21: 158–168.
17. Miller J.D., Weiss R.M., Serrano K.M., Castaneda L.E., Brooks R.M., Zimmerman K., Heistad D.D. Evidence for active regulation of pro-osteogenic signaling in advanced aortic valve disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2010; 30: 2482–2486.
18. Chen J.H., Simmons C.A. Cell matrix interactions in the pathobiology of calcific aortic valve disease: critical roles for matricellular, matricrine, and matrix mechanics cues. *Circulation Research.* 2011; 108: 1510–1524.
19. Hénaut L., Mentaverri R., Liabeuf S., Bargnoux A.S., Delanaye P., Cavalier E., Cristol J.P., Massy Z., Kamel S. Pathophysiological mechanisms of vascular calcification. *Ann. Biol. Clin.* 2015; 1; 73 (3): 271–287.
20. Demer L.L., Tintut Y. Inflammatory, Metabolic, and Genetic Mechanisms of Vascular Calcification. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2014; 34: 715–723.
21. Wylie-Sears J., Aikawa E., Levine R.A., Yang J.H., Bischoff J. Mitral valve endothelial cells with osteogenic differentiation potential. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2011; 31: 598–607.
22. Evrard S., Delanaye P., Kamel S., Cristole J.P., Cavalier E. Vascular calcification: from pathophysiology to biomarkers. *Clinica Chimica Acta.* 2015; 438: 401–414.
23. Pal S.N., Golledge J. Osteo-progenitors in vascular calcification: a circulating cell theory. *J. Atheroscler. Thromb.* 2011; 18: 551–559.
24. Muratov R., Britikov D., Sachkov A., Akatov V., Soloviev V., Fadeeva I., Bockeria L. New approach to reduce allograft tissue immunogenicity. Experimental data. *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* 2010; 10 (3): 408–412.
25. Lavenus S., Ricquier J.C., Layrolle P. Cell interaction with nanopatterned surface of implants. *Nanomedicine.* 2010; 5 (6): 937–947.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Мухамадияров Ринат Авхадиевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела клинической и экспериментальной кардиологии НИИ КПССЗ

Адрес: 650002, Кемерово, Сосновый б-р, д. 6, тел.: +7 (3842) 64-42-38, e-mail: rem57@rambler.ru

Рутковская Наталья Витальевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории кардиоваскулярного биопротезирования отдела клинической и экспериментальной кардиологии НИИ КПССЗ

Адрес: 650002, Кемерово, Сосновый б-р, 6, тел.: +7 (3842) 64-53-60, e-mail: weny@mail.ru

Сидорова Ольга Дмитриевна, кандидат медицинских наук, заведующая кафедрой патологической анатомии Кемеровской государственной медицинской академии

Адрес: 650056, Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22А, тел.: +7 (3842) 73-48-48, e-mail: goopy-777@rambler.ru

Барбараш Леонид Семёнович, академик РАН, главный научный сотрудник НИИ КПССЗ

Адрес: 650002, Кемерово, Сосновый б-р, д. 6, тел.: +7 (3842) 64-33-08, e-mail: director@kemcardio.ru